

天然植物性激素 DHEA 的研究进展

大连理工大学化工学院 (116012) 秦学孔* 李楠

摘要 概述了天然植物性激素去氢表雄酮 (DHEA) 的分子结构及其生理活性,对其制备及分离分析方法作了介绍。

关键词 去氢表雄酮 生理活性 制备 分离分析

去氢表雄酮 (dehydroepiandrosterone, DHEA) 的化学名称为 3β 羟基雄甾-5烯-17酮 (androst-5-en-17-one, 3β -hydroxy), 是在人体肾上腺皮质中合成的 C_{19} 肾上腺甾类化合物。近几年来,国外对其生理和病理作用已作了大量研究,研究范围涉及抗衰老、糖尿病、治疗癌症、肿瘤等,并取得重大进展。通过化学合成、生物合成、天然产物分离、提取等方式获得了 DHEA。现将国内外对 DHEA 的研究概况作一综述。

1 生理活性

1.1 对各种疾病的作用

1.1.1 肥胖症: DHEA 与肥胖的相互关系是人们最早研究的课题。DHEA 有拟甲状腺作用,抑制食物和脂肪的摄入,国外已有此类产品的专利^[1]。

1.1.2 糖尿病: Coleman 等发现, DHEA 具有改善葡萄糖耐量、提高胰岛素水平和抗糖尿病的作用。Ishizaka 等^[2]研究了其作用机制。

1.1.3 抗致癌作用: DHEA 对预防和抑制肿瘤生长具有作用,用于化疗肿瘤时具有保护、协调作用,并认为 DHEA 通过抑制过多线粒体 (NADPH) 和 5 磷酸核糖酯而起到抑制癌症的作用。DHEA 能抑制胰腺癌细胞的生长,并推测其机制是 DHEA 通过调节血浆中雌激素浓度的交替变化,从而抑制胰癌细胞的生长^[3]。

1.1.4 皮质疾病: 已发现 DHEA 能增强内分泌系统活性,降低皮质醇水平,对各种病理过程起抵抗作用^[4]。在系统性红斑狼疮 (SLE) 病人服用 DHEA 后,症状有很大改善,表明 DHEA 治疗 SLE 病有一定作用^[5]。DHEA 能帮助人体获得皮质抗体。血浆中 DHEA 浓度与各种皮质疾病有很大关系,浓度越低患病的危险性越大^[6]。

1.2 延缓衰老作用: 研究发现^[7],人在 25~30 岁

时,体内 DHEA 的含量最高,30 岁后逐渐下降,每年下降的速率为 2% 左右,人到 70 岁时,体内 DHEA 的含量已下降到其年轻时的 25% 以下,与此同时,与 DHEA 下降有关的老年发病率亦随之上升。Morales 等观察到^[8],老年男性和女性口服补充 DHEA 6 个月后,可以改善睡眠质量,使心情更好,增加应激能力。最近研究发现, GnRH (gonadotrophin-releasing hormone) 基因表达功能下降导致衰老,认为 DHEA 可恢复 GnRH 神经元活性,通过刺激 GnRH 的生物合成,阻止或改善某些与 DHEA 下降有关的疾病^[9]。

1.3 免疫反应: 近年来发现在衰老中, DHEA 具有恢复受损的免疫反应,提高 T 细胞和 B 细胞的免疫功能。Khorram^[10]等实验证实, DHEA 可能在提高类胰岛素生长因子 (IGF-1) 的生理活性中起重要作用,是治疗免疫缺乏症的潜在有益的药物。Angele 等^[11]的研究证实,雄、雌激素对创伤性出血后产生的免疫性抑郁症起一定作用,提示用 DHEA 治疗创伤性出血后抑郁症是一安全、新颖的途径。

1.4 对骨质的影响: 研究发现 DHEA 本身不能直接独立地影响人体成骨细胞的成长和分化,但可通过影响 $1,25$ -二羟基维生素 D_3 [$1,25(OH)_2D_3$] 的变化来实现成骨细胞的生长和分化^[12]。据专利报道^[13],使用低水平烷基 L -三甲基羟丁酰甜菜碱或药理上可接受的盐类,并加入 DHEA 可促进成骨细胞生长,加速治愈骨折。DHEA 对骨质的影响效力取决于性激素在骨细胞中的存在形式和他们对成骨细胞的内分泌作用^[14]。

1.5 其他方面: 目前 DHEA 在治疗绝经期综合征、硬皮病、冠心病、痛风、牛皮癣、艾滋病等已作广泛的临床研究。发现结核病胞质变形的致病机制与肾上腺皮质激素与抗肾上腺皮质激素的浓度有关^[15],胎

* Address: Qin Xuekong, School of Chemical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian

秦学孔 男,1996年毕业于大连理工大学,学士。现就读于大连理工大学化工学院应用化学系研究生。研究方向:天然活性物质的分离与分析。

儿血浆中皮质醇 (cortisol) /DHEAS 的浓度与分娩期有很大关系^[16]。

2 制备及分离分析方法

2.1 化学合成: 1953年 Schering^[17]从木材副产物

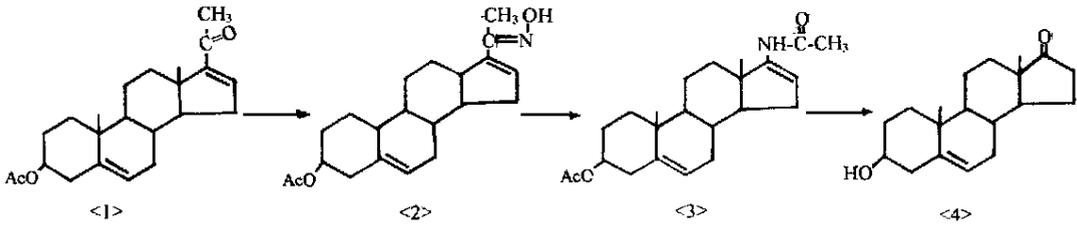


图 1 用薯蓣皂苷元合成 DHEA 工艺路线

25 g 的 <1>, 30 mL 的吡啶, 130 mL 95% 的乙醇和 8.5 g 盐酸羟胺, 回流 30 min, 在冰中冷却, 沉淀物用热水洗涤, 然后干燥, 得 24.5 g 的 <2>, 熔点 $228^{\circ}\text{C} \sim 230^{\circ}\text{C}$; <2> 用 70 mL 的无水吡啶溶解, 冷却至 0°C , 在 5°C 以下加入 70 mL 吡啶溶解的 30 g 对乙酰氨基苯磺酰氯, 10°C 下搅拌 2 h, 室温下搅拌 2 h; 反应物倒入 500 g 冰, 150 mL 浓硫酸在冰箱中过夜, 过滤, 沉淀用热水洗涤, 红外光谱分析知为 DHEA <3> 及乙酰化酯的混合物; 混合物在 150 mL 2.5% 的氢氧化钾甲醇溶液中回流 30 min, 在甲醇中重结晶得 15.0 g DHEA, 含量为 74%, 熔点为 $151^{\circ}\text{C} \sim 153^{\circ}\text{C}$, 旋光度 $+5.5^{\circ}$ 。

Hosod 等人在 1973 年用雄甾-5 烯-3, 17 二醇合成了 DHEA 的反式异构体 DHIA (dehydroisandrosterone)^[18]。

2.2 生物法合成: Meio 等^[19]在 1958 年生物合成了 DHEA 睾酮 雌酮及雌二醇-17 β 硫酸酯。系统中需 Mg^{2+} 和三磷酸腺苷或被还原的二磷酸吡啶核苷酸增强活性。

2.3 从天然产物中提取: 甾体激素多方面的生物活性引起了人们的高度重视。从天然产物中提取 DHEA 是当前研究的一大课题。但到目前为止这方面的报道很少。1936 年德国专利报道^[20], 通过用丙酮溶除类脂和脂肪, 剩余物再用稀盐酸或醋酸在 50°C 下水解, 从脑垂体叶、孕妇尿液和血液中分离出了 DHEA。科学家们注意到^[21], 甾体激素与神经系统尤其是大脑的功能关系密切, 认为甾类在大脑中的存在形式是 ST-SO₂-OL (ST 甾体; L 类脂部分), 因为这是一种非极性的硫酸酯共轭化合物, 可以用一种有机碱, 如三乙胺将其从其他产物中分离出来。最近报道红薯 *Ipomeas batatas* (Lam.) L. 中含有 DHEA。

3 提纯及分离分析方法

中含 β 谷甾醇等植物甾醇的混合物中人工合成了 DHEA, 但收率太低, 而且过程复杂, 污染严重。1956 年, Rosenkranz 等^[18]用薯蓣皂苷元合成了 DHEA 具体步骤如图 1。

3.1 薄层色谱 (TLC) 法: 1978 年, Tinschert 等^[22]用色谱法成功地分离鉴定了 13 种甾体化合物。以硅胶 G (60F254) 为固定相, 用氯仿-乙醚-石油醚 ($60^{\circ}\text{C} \sim 80^{\circ}\text{C}$, 50: 45: 5) 作展开剂, 空气中干燥后在紫外灯下观察, 或喷以 0.2% 的 2,4-二硝基苯肼的盐酸 (2 mol/L) 溶液显色 (橄榄黄-棕黄); 3.5% 的磷钼酸的乙醇溶液喷后, 在 120°C 下烘 10 min 显色 (蓝绿色) 及 1% (g/v) 的香草醛浓硫酸液喷后在 120°C 烘 10 min 显色 (紫红色斑点)。1988 年 Brown 等^[23]用二维薄层色谱分离鉴定了 37 种甾体化合物。首先用二氯甲烷-甲醇-水 (225: 15: 1.5) 展开, 然后在石油醚 ($37^{\circ}\text{C} \sim 55^{\circ}\text{C}$) 乙醚-醋酸 (48: 50: 2) 下二次展开, 晾干后喷以 SbCl_5 的丙酮液, 130°C 下烘 5~10 min 显色 (DHIA 为紫色)。

3.2 高效液相色谱法 (HPLC): HPLC 法可实现薄层法较难实现的定量分析。Chi 等^[24]用 HPLC 法对 DHEA 的定量分析做了研究。该方法的回收率为 99.27%, 相对标准偏差为 0.63%。

3.3 其它方法: 气相色谱-质谱 (GC/MS) 联用技术和放射免疫测定法 (Radioimmunoassay) 是一较为有效的定性、定量鉴定 DHEA 的方法。由于 DHEA 在天然产物中的含量太低, 需要灵敏度非常高的检测器。生物酶免疫法是最近发展起来的一种测定化合物含量的新颖方法, 由于酶的含量较低, 放射化学法检测酶活性有一定的困难。Shivanadappa 等^[25]采用了一种称为“Colorimetric”的测定方法来测定 3β -羟基甾类化合物。1998 年, Makoto 等^[26]报道了用 Gas chromatography combustion isotope ratio mass spectrometer (GC-CIRM S) 法测定了尿液中 DHEA 含量, 缺点是易产生统计误差。另外还有重结晶法^[18]、升华法^[27]来提纯 DHEA。

4 展望

DHEA 有广泛的生理和病理生理作用,是性激素的前体,可调节糖尿病、肥胖、抗致癌和病毒感染、免疫反应和应激反应、减轻紧张等,在临床上的应用是当前研究的一大热点,国外已有产品上市。但目前的研究也有很多不足的地方:如 DHEA 随年龄下降是否是最有意义的内分泌生物标志?在衰老引起的病理和功能变化中起什么作用?在各种不同疾病如肥胖、冠心病、糖尿病、肿瘤中 DHEA 的低水平,目前仅是试验提供两者之间的关系,尚不能作简单解释。据最近的研究观点^[28],DHEA 有一定的副作用,例如 Parker^[29]发现雌鼠给与 DHEA 后,出现多囊的卵巢疾病,导致不能生殖,且对胸腺、脾有一定的负面影响。另外 DHEA 产品的获得也是当前一大难题。由于 DHEA 有特定的化学结构,一般的化学合成有一定的困难,且分离难度大,难以保证与天然产物中 DHEA 相同的结构和活性;从天然产物中提取是保证 DHEA 生物活性的有效方法,但目前用于获取 DHEA 的天然产物报道太少,且大都集中在动物的器官、组织中,含量低,提取困难,难以实现大规模的推广使用。继续寻找含 DHEA 的天然资源及其提取分离工艺研究或者用化学法合成出与天然产物一样高活性的产品是当前需要解决的难题。

参考文献

- 1 Frank S, Johnny P. US 5, 795, 880, 1998-08-18
- 2 Tatsuo I. Am J Physiol, 1999, 276 (1, Pt, 1): E 196
- 3 Peter M, Boros T, Laszlo G. J Surg Res, 1998, 79(2): 154
- 4 Oliver W T, Birthe K, Clemens K. Biol Psychiatry, 1997, 42 (9): 845

- 5 Hechter O, Geossman A, Chatterton R T. Med Hypothese, 1997, 49(1): 85
- 6 Morales A J, Nolan J J, Nelson J C. J Clin Endocrinol Metab, 1994, 78 1360
- 7 Sulcova J, Hill M, Hampal R, et al. J Endocrinology, 1997, 54(1): 57
- 8 Li S Y, Laurent G, Georges P. Ederine, 1997, 6(3): 265
- 9 Omid K, Lan V, Samuels S C. J Gerontol Ser A, 1997, 52A (1): M 1
- 10 Martin A K, Robert C A, Alfred A. Arch Surg (Chicago), 1998 133(12): 1281
- 11 Ben Aa, John M S. Life Sci, 1998 (Publ 1997), 62 (1): 59
- 12 Claudio C. PCT Int Appl WO 98, 46 233
- 13 Martel C. J Endocrinol, 1998, 157(3): 435
- 14 Pando H R. Immunology, 1998, 95(2): 234
- 15 Yoon B H, Roberto R. Am J Obstet Gynecol, 1998, 179(5): 1107
- 16 Scheing A G. Ger 886, 911, 1953-08-17
- 17 Rosenkranz G, Mancera O, Sondheimer F, et al. Steroids, 1986, 21(5): 520
- 18 Hisoda H, David K, Fishman F J. J Org Chem, 1973, 38 (24): 4209
- 19 De Meio R H, Lewycka C. Biochem J, 1958, 68 1
- 20 Kogan N A, Raskin L M. Ger 639, 674, 1936-12-10
- 21 Chandra Mathur V V K, Prasad Veegesna S, Raju M, et al. Biochemistry, 1993, 90(5): 85
- 22 Tinschert W, Trager L. J Chromatogr, 1978, 152 447
- 23 John W B, Anders C, Lawrence M. J Chromatogr, 1988, 439 441
- 24 Chi H, Liu Y L, Gu S J. J Chin Pharm Sci, 1992, 1(1): 75
- 25 Schivanandappa T, Venkatesh S. Anal Biochem, 1991, 254 (1): 57
- 26 Makoto V, Masato O, Akihiro S. Jpn J Forensic Toxicol, 1998, 16 (2): 152 (Jpn)
- 27 Itlich G. Monatsber Deut Akad Wiss Berlin, 1996, 8 (1): 27
- 28 Bates G W, John B E, Caasson P R. Curr Opin Endocrinol Diabetes, 1998, 5 (4): 357
- 29 Parker C R, Conway-Myers B A. Endocr Res, 1998, 24(2): 113

(2000-04-26收稿)

淫羊藿药理作用研究概况

中国医学科学院 药用植物研究所 (北京 100094) 韩冰* 杨峻山
中国协和医科大学

摘要 综述了淫羊藿对免疫系统、生殖系统、核酸代谢、心脑血管系统、神经内分泌系统、抗衰老、骨代谢和抗肿瘤等方面的药理作用。

关键词 淫羊藿 淫羊藿苷 淫羊藿黄酮 药理作用

淫羊藿为中国传统的补益中药,历代本草均有记载,始载于《神农本草经》,别名仙灵脾,为小檗科 (*Berberidaceae*) 淫羊藿属 (*Epimedium* L.) 植物。《本草纲目》^[1]记载:茎、叶入药,辛温无毒,有坚筋

骨、益精气、补腰膝、强心力等作用,丈夫久服令人无子,丈夫绝阳无子,老年昏耄,中年健忘,四肢不仁,偏风不遂,真阳不足者宜之。现代药理研究表明:生品,无促进且抑制性机能,即性寒;炮制品,经温的羊

* Address: Han Bing, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing
韩冰女, 24岁, 现为 中国医学科学院药用植物研究所博士研究生。