

雷公藤有效成分制备的研究进展

曹伟平¹, 杨更亮^{1,2*}, 张红医¹, 宋秀荣¹, 赵敬湘¹

(1. 河北大学化学与环境科学学院, 河北 保定 071002; 2. 中国科学院化学研究所 分子科学中心, 北京 100080)

摘要: 简要介绍了近年来有关中药雷公藤有效成分的制备方法 & 研究进展, 提出应将液相色谱应用在雷公藤有效成分纯品的制备上。

关键词: 雷公藤; 有效成分; 制备

中图分类号: R282.71

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)02-0186-03

Progress in studies on preparation of effective components in Chinese herbal plant, *Tripterygium wilfordii*

CAO Wei-ping¹, YANG Geng-liang^{1,2*}, ZHANG Hong-yi¹, SONG Xiu-rong¹, ZHAO Jing-xiang¹

(1. College of Chemistry & Environmental Science, Hebei University, Baoding Hebei 071002, China;

2. Center of Molecular Science, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

Key words *Tripterygium wilfordii* Hook. f.; effective components; preparation

雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 系卫茅科雷公藤属植物, 全世界共有 4 种, 中国产 4 种, 3 种入药。由于雷公藤具有抗炎、免疫抑制、抗肿瘤、抗癌、抗生育等显著生理活性, 近 10 多年来, 已广泛应用在风湿病、皮肤病、肾病等疾病的治疗上; 它的免疫抑制作用已在器官移植方面显示了巨大的应用前景。但是雷公藤的毒性很大, 特别是对肝脏、心血管系统、泌尿系统、生殖系统、消化系统及神经系统有很大的毒副作用以及致突变作用, 中毒死亡率高达 29.6%^[1], 这些都限制了它在临床中的应用。因此研究提取制备雷公藤有效成分纯品的有效方法, 是其临床用药安全的保证。另外, 采用现代化的手段对雷公藤进行分离纯化, 不仅为今后研究降低或消除其毒性提供了依据, 而且对开发寻找新的雷公藤生药资源, 拓展新的药用部位, 具有重要的意义。本文就近年来有关雷公藤有效成分的分离制备作一概述, 以供参考。

1 制备方法

1.1 物理法: 常用的提取法包括浸渍法、渗漉法、煎煮法、回流法。这些方法中有优缺点, 耗时均较长, 有人提出了破碎提取法^[2], 该法是通过将植物原料在适当溶剂中充分破碎而达到提取目的, 优点是快速、完全、且不需加热, 提取充分; 能够在室温下破碎植物, 破碎提取 1 次仅需 1~2 min。超临界提取法、微波提取法和超声提取法近年来也受到了人们的关注。提取雷公藤有效成分的溶剂一般为水、乙醇、甲醇、氯仿、乙酸乙酯等。因提取法所需的设备简单, 成本较低, 目前人们大都采用提取法获取雷公藤的有效成分。但由提取法得到的物质一般为多组分混合物, 还需进一步分离纯化。

1.2 化学法: 化学法是指根据已知药物的化学结构, 对于一

些小分子生化药物进行合成。雷公藤的主要有效成分是二萜内酯类化合物, 如雷公藤内酯醇 (triptolide)、雷公藤内酯二醇 (triptodioid)、雷公藤内酯酮 (triptonide), 三萜内酯类化合物及生物碱等。因其显著的生理活性和特殊结构, 国内外学者对萜类、生物碱的合成进行了研究。

90 年代初, 为降低雷公藤的毒性, 人们开始研究对雷公藤有效成分进行氧化或修饰, 成功地将雷公藤内酯醇氧化为雷公藤内酯酮, 并通过修饰雷公藤内酯醇得到了双萜内酯及毒性较小、无致突变作用的雷公藤氯内酯醇、雷公藤溴内酯醇, 收率均较高。1997 年, Kutney^[3]提出了由脱氢松香烯酸合成双萜类似物的合成路线, 研究表明双萜类似物的酶催化产物——异雷酚内酯能提供一系列新二萜烯类化合物, 其中的醌类环氧化合物具有抗癌和免疫功效。据最新报道, 有人^[4,5]合成了治疗自动免疫疾病的雷公藤内酯醇衍生物和毒性较小、水溶性较高的用于免疫抑制和抗炎的雷公藤内酯醇药物前体, 并申请了专利。Yang 等^[6]首次完成了 (-) 雷公藤内酯醇 (triptophenolide), (-) 雷公藤内酯酮 (triptonide), (-) 雷酚内酯 (triptophenolide), (-) 雷醌内酯酮 (triptoquinonide) 对映选择体的全合成。

雷公藤中的生物碱具有免疫抑制作用, 而且能够非常有效的治疗类风湿性关节炎。Li Ya^[7]等人由 frontalin analogs 和类异戊二烯合成了新生物碱。前人的工作为将来的较大规模合成制备雷公藤有效物质提供了有利的依据, 并为发展新中药制剂开拓了思路。

1.3 生物法

1.3.1 组织培养法: 80 年代起, 人们由组织培养法得到并

收稿日期: 2001-03-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20075005); 河北省自然科学基金资助项目 (200077)

作者简介: 曹伟平, 女, 在读硕士研究生, 主要从事中草药标准品及蛋白质的制备分离。

* 通讯联系人 Tel (0312) 5079788 E-mail ygk@hbu.edu.cn

分离雷公藤内酯醇、雷公藤内酯二醇、蛇藤醇生物碱等物质，并详细研究了 PRL-4medium PRO_{2.0}Co₁₀₀及 PRD₂Co₆₀等培养基的组成对生成物及其产量的影响；成功地分离了 18 种二萜和三萜族化合物。之后，有人根据二萜烯的产生，对建立细胞流水线进行了详细的分析，并建议了三环氧衍生物雷公藤内酯二醇的生物合成路线^[8]。90年代后期，细胞培养制备雷公藤有效成分又掀起一个热潮。Nakano Kimiko 等^[9-11]从雷公藤的愈合组织中提取了新的环氧三萜和去甲三萜烯类；后来由 agobacterium rhizogenes 转型培养得到了类萜和倍萜。并研究了以培养基 Gamborg B5 诱导雷公藤移植体产生愈合组织的情况，并从其愈合组织中分离得到了 triptocolol 和 triptocallic acid A triptocallic acid B，测定了其结构。

组织培养中愈合组织的诱导是很关键的步骤。尹作鸿详细研究了雷公藤茎、叶愈伤组织诱导、生长及产物成分，比较了愈伤组织在 MS 6,7-V White 3 种培养基上的诱导情况，重点研究了优良无性系 D_{121(y)} 的培养及驯化，同时他们也研究了光照、生长素、酸度等理化因素对愈伤组织的影响。

1.3.2 发酵法：Milanove 等^[12]借助 filamentous 真菌、cunninghumella echinlata 和 cunninghumella elegans 培养已合成的异雷酚内酯和雷酚内酯得到了新的松香烯二萜化合

物。

1.3.3 遗传工程法：它是 70 年代发展最迅速的新兴领域，建立在分子水平上。在生物体外用人工方法进行遗传物质的重组，以改变遗传性状，是创造生物新品种的科学技术。它绕过生物正常进化过程，把无亲源关系的不同物质之间的遗传基因切割裁剪，重组新的基因，创造出新的菌种，再利用这些新的菌种制造出生化药物。Van Tamelen 等人曾对该法进行过研究^[13]。

2 大规模制备

前人在研究雷公藤的过程中，部分研究成果申请了专利（表 1）。上述化学法和生物法大多是在实验内进行的，较大规模的生产工艺还有待进一步研究。为满足临床需要，较大规模制备雷公藤有效成分势在必行。现阶段，工艺规模制备雷公藤有效成分都采用物理提取法，较成形的有雷公藤内酯醇、生物碱及多苷制备工艺。

雷公藤内酯醇制剂的提取工艺基本路线有 3 条：醇提水沉法，水提醇沉法和醇提乙酸乙酯萃取法。夏志林等研究了一套从醇提水沉沉淀物提取生物碱的提取工艺：盐酸渗漉—氢氧化钠沉淀法。现行雷公藤多苷的制备工艺有两种：水提氯仿萃取法和醇提氯仿萃取法。这些工艺均已应用于工业生产上。

表 1 雷公藤有效成分研究专利

申请年	国别	主 题	参考文献
1982	日本	抗癌物质	[13]
1995	美国	自动治疗组分和方法	[14]
1995	美国	雷公藤提取物用于治疗冠状动脉硬化	[15]
1995	日本	白血球对抗菲衍生物的提取	[16]
1996	日本	治疗免疫抑制及抗炎物的提取	[17]
1996	美国	雷公藤有效组分的制备和应用	[18]
1997	美国	多苷接收配合体的筛选方法	[19]
1997	日本	新白血球对抗物的提取及纯化	[20]
1997	日本	血管新生抑制剂去甲三萜烯的提取	[21]
1998	美国	根部生物碱治疗早老年痴呆症的口服形式	[22]
1998	美国	免疫抑制药物的提取、雷公藤提取物或雷公藤内酯醇抑制异体器官移植抗阻	[23]
1998	美国	免疫抑制和根提取物对移植抗阻的治疗	[24]
1996	中国	天然植物杀虫剂	[25]
1996	中国	有效氨基酸化合物受孕剂	[26]
2000	美国	用于免疫抑制和抗炎治疗较高水溶性的雷公藤药物前提的合成	[4]
1999	美国	治疗自动免疫疾病的雷公藤内酯醇衍生物的制备	[5]
1998	美国	治疗自动免疫疾病的雷公藤内酯醇衍生物的合成	[27]
1998	美国	治疗自动免疫疾病的雷公藤内酯醇衍生物的合成	[28]

3 小结

纵观各种制备方法，物理法是最经典的方法，缺点是耗时较长，效率低，提取物一般为混合物。生物法和化学合成法为大规模制备雷公藤的有效成分提供了广阔的前景，但相应的制备技术还需进一步完善。所以现代化的分离手段与传统的提取方法相结合对中草药有效成分的制备将起到极大的推进作用。液相色谱法是迄今人类已掌握的对复杂混合物分离能力最强的手段，并已应用在制备和大规模分离生物样品上，将液相色谱应用于制备中草药有效成分纯品对提高其疗效，控制生产质量，进行化学合成或结构改造，探索中草药治病的原理，将起到很大的促进作用，从而为进一步的药理研

究和发展更高效、经济的医药奠定基础。

参考文献：

[1] 万明,陈红燕,胡晓雪.雷公藤中毒死亡 83 例死亡分析[J].时珍国医国药,1999,10(2):128.
 [2] 袁珂,刘延泽,冀春茹.中草药化学成分研究中几种不同提取方法的比较研究[J].天然产物研究与开发,1997,9(4):57-61.
 [3] Kutney J P, Han Kang. Studies with plant cell culture of the Chinese herbal plant, *Tripterygium wilfordii*, Synthesis and bio transformation of diterpene analogs [J]. Heterocycles, 1997, 44 95-104.
 [4] Musser J H. Synthesis of triptolide prodngs having high aq-

- uous solubility for immunosuppressive and anti-inflammatory treatment [P]. 美国专利: 0012483, 2000-03-09.
- [5] Jung M J, Wickramaratne M, Hepperle M. Preparation of triptolide derivatives useful in the treatment of autoimmune disease [P]. 美国专利: 6004999, 1999-12-21.
- [6] Yang D, Ye X Y, Xu M. Enantioselective total synthesis of (-)-triptolide, (-)-triptonide, (+)-triptophenolide, (+)-triptoquinonide [J]. J Org Chem, 2000, 65(7): 2208-2217.
- [7] L Y. New alkaloids synthesis of frontalin analogs and isoprenoids [J]. Diss Absir Int B, 1995, (8): 3291.
- [8] Kutney J P, Han Kang. Studies with plant-cell culture of the Chinese herbal plant, *Tripterygium wilfordii* [J]. Recl Trav Chim Pays-Bas, 1996, 115(1): 77-93.
- [9] Nakano K. A novel epoxy-triterpene and nortriterpene from callus of *Tripterygium wilfordii* [J]. Phytochemistry, 1997, 46(7): 1179-1182.
- [10] Nakano K. Tripenoids in transformed root culture of *Tripterygium wilfordii* [J]. Phytochemistry, 1998, 49(6): 1820-1824.
- [11] Nakano K. A diterpenoid and triterpenes from tissue culture of *Tripterygium wilfordii* [J]. Phytochemistry, 1997, 45(2): 293-296.
- [12] Milanove R, Han K, Moor M. Oxidation and glucose conjugation of synthesis abietane diterpenes by Cunningham hamella sp II. Novel routes to the family diterpenes from *Tripterygium wilfordii* [J]. J Nat Prod, 1995, 58(1): 68-73.
- [13] Kyowa H K Co, Ltd. Antitumor substance [P]. 日本专利: 8202699, 1982-01-08.
- [14] Wiedmann T W T, Wang Jian, Plian N B, et al. Immunotherapy composition and method [P]. 美国专利: 9513082, 1995-05-18.
- [15] Wiedmann T W T, Wang Jian. Use of extracts of *Tripterygium wilfordii* for treatment coronary arterial restenosis [P]. 美国专利: 9515174, 1995-01-08.
- [16] Ikegawa T, Ikegawa A. Extracts of leucotriene antagonist phenanthrene derivatives from *Tripterygium wilfordii* [P]. 日本专利: 95267895, 1995-10-17.
- [17] Tamaaki T, Nunome C, Komatsu Y, et al. Extracts of demethylzey lastral from *Tripterygium wilfordii* as immunosuppressive and anti-inflammatory agent [P]. 日本专利: 96113538, 1996-05-07.
- [18] Lipsky P E, Tao X L, Cai J. Preparation of *Tripterygium wilfordii* and use of it [P]. 美国专利: 5580562, 1996-12-03.
- [19] Lipsky P E, Tao X L, Cai J. *Tripterygium wilfordii* hook F extracts and components, use for treatment of inflammation or an immune disorders with concomitant lack of steroidal effect, and screening method for glucocorticoid receptor ligands [P]. 美国专利: 5616458, 1997-04-01.
- [20] Momiya T, Saito K, Komatsu Y, et al. Extracts of new leukotriene antagonist for therapeutic use [P]. 日本专利: 9752899, 1997-02-25.
- [21] Ushiro M, Ono M, Kono K, et al. Extracts of nortriterpenoids [P]. 日本专利: 97100294, 1997-04-15.
- [22] Vigo-Pelfreg Canmen. The use of celestrol to treat Alzheimer's disease [P]. 美国专利: 9825573, 1998-06-18.
- [23] Wiedman T W T, Wang Jian. Method for suppressing xenograft rejection [P]. 美国专利: 5759550, 1998-06-02.
- [24] Wiedmann T W T, Wang J, Plian N B, et al. Immunosuppressants and root extracts of *Tripterygium wilfordii* for treatment of transplant rejection [P]. 美国专利: 5843452, 1998-11-09.
- [25] Wu C A, Wang Z M, Li N. Natural plant insecticide [P]. 中国专利: 1120890, 1996-04-24.
- [26] Zhang H C, Kong F R. Amino-acid compound fertilizer [P]. 中国专利: 1137030, 1996-12-04.
- [27] Jung M J, Wickramaratne M, Hepperle M. Synthesis and activity of triptolide derivatives useful in the treatment of autoimmune disease [P]. 美国专利: 9852933, 1998-11-26.
- [28] Jung M J, Wickramaratne M, Hepperle M. Synthesis and activity of triptolide derivatives useful in the treatment of autoimmune disease [P]. 美国专利: 9852951, 1998-11-26.

刺玫果化学成分及药理作用研究进展

俞作仁, 王文莉, 吕娟涛

(甘肃省人民医院 药剂科, 甘肃 兰州 730000)

中图分类号: R282.71

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)02-0188-03

刺玫果系蔷薇科蔷薇属植物山刺玫 *Rosa davurica* Pall. 的成熟果实, 又名野蔷薇果, 广泛分布于东北及内蒙、山西等省。该果实性温, 味酸, 营养丰富, 民间大量采食或用于泡茶、泡酒等。《中药大辞典》谓其有健脾理气、养血调经的作用^[1]。前苏联第八、九版药典亦有收载, 用于治疗坏血病。近年来国内的大量研究表明它还有抗衰老、防治心血管疾病等作用。目前刺玫果正在作为一种天然保健药物被日益重视和广泛

开发。市场上已出现由该果汁为主研制的保健食品及保健饮料, 临床已研制出以刺玫果为原料的注射液及口服液^[2]。我们就刺玫果化学成分、药理作用及临床应用的研究进展作一综述。

1 化学成分

1.1 维生素类^[3]: 刺玫果含丰富的维生素 (mg/100 g): Vit C 1 274~ 2 264, 远高于苹果、桔子、猕猴桃等水果。 Vit A