

藤黄酸的研究进展

侯文洁¹, 萧伟^{2*}

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210000

2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

摘要: 藤黄为藤黄科植物藤黄树分泌的干燥树脂, 具破血散结、解毒、止血、杀虫之功效, 用于癌症、脑水肿等多种病症的治疗, 其中藤黄酸是其主要有效成分。从藤黄酸的抗肿瘤作用、药动学和新剂型等方面阐述藤黄酸的研究进展, 讨论研究过程中存在的问题, 为今后藤黄酸的进一步研究开发提供参考。

关键词: 藤黄酸; 藤黄; 生物活性; 药动学; 新剂型

中图分类号: R282.71 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)03-0617-04

Advances in studies on gambogic acid

HOU Wen-jie¹, XIAO Wei²

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

Key words: gambogic acid; gamboge; bioactivity; pharmacokinetics; new formulation

藤黄(gamboge)为藤黄科植物藤黄树 *Garcinia hanbaryi* Hook. f.分泌的干燥树脂。其主产于柬埔寨、印度、泰国和越南, 我国广东省和海南省均有栽培。祖国医学对其早有记载, 藤黄性寒, 味酸、辛、涩, 有毒, 具破血散结、解毒、止血、杀虫之功效, 自古以来就被用于治疗瘰癧、痈疽、疔肿等顽疾^[1]。藤黄在国外常被用作利尿剂, 治疗水肿和脑出血时的血压升高, 现已收载于《美国药典》第10版^[2]。

藤黄主要成分由70%~80%的树脂和15%~25%的树胶组成。主要含藤黄酸(gambogic acid)、新藤黄酸(neogambogic acid)、别藤黄酸(allogambogic acid)、桑藤黄素(morellin)、异桑藤黄素(isomorellin)、桑藤黄酸(morellic acid)、异桑藤黄酸(isomorellic acid)等成分, 其中藤黄酸是其主要有效成分^[3-6]。近20年来, 国内外特别是我国学者对藤黄酸的药理作用、药动学和制剂等方面进行了大量的研究工作。本文从这几方面对藤黄酸的研究进展进行综述。

1 藤黄酸理化性质

藤黄酸分子式为 $C_{38}H_{44}O_9$, 相对分子质量为

628.34, 为橙黄色无定型粉末, 具有光学活性^[7]。在醇类、酮类等有机溶剂中溶解度较大, 但是在水中溶解度很小, 仅为0.002 g/mL。该成分稳定性较差, 在生产应用过程中易受到溶剂、湿度、温度、光照以及pH值等条件的影响而分解^[8]。由于藤黄酸显弱酸性, 其PKa为7.8, 只能溶于强碱性水溶液, 在pH值大于12的碱性条件下极其不稳定, 很容易发生水解^[9]。甲醇作为藤黄酸的常用溶剂, 亦会影响到藤黄酸的稳定状态。实验表明, 藤黄酸在甲醇溶液中回流4 h, 藤黄酸的量下降约10%, 而将藤黄酸60℃放置10 d, 浓度下降6%^[10]。因此在实验、生产或贮藏过程中需要密切关注不同环境, 不同处理方法对于藤黄酸稳定性的影响, 以保证实验材料稳定以及实验过程的准确无误。

2 藤黄酸的抗肿瘤作用

藤黄酸对于多数肿瘤细胞都具有抑制作用, 有研究^[11-12]表明藤黄酸对人肝癌细胞株SMMC-7721和QGY-7701的增殖有明显的剂量依赖性抑制作用, 而对正常人肝组织细胞株L-02作用相对较弱。藤黄酸还可明显抑制人胃腺癌细胞株SGC-7901的

收稿日期: 2010-07-19

作者简介: 侯文洁(1985—), 女, 江苏南京, 南京中医药大学2008级硕士研究生, 研究方向为中药制剂的研发。

Tel: 15150997850 E-mail: nickyn529@hotmail.com

*通讯作者 萧伟 E-mail: wzsh-nj@tom.com

增殖。陆跃鸣等^[13]研究发现藤黄酸以及藤黄 115 ℃、1~2 h 高压蒸制后对 K562 细胞生长抑制作用最强；Han 等^[14]也发现藤黄酸对 K562 细胞和阿霉素抵抗的 K562 细胞表现出很强的细胞毒性。这些研究均表明藤黄酸具有较为明显的抗肿瘤作用，尤其是对非血液系统肿瘤具有较好的应用前景。

藤黄酸抗肿瘤作用机制是多方面的，包括诱导肿瘤细胞凋亡、抑制细胞周期、影响癌基因和抑癌基因及其相关蛋白的表达等。

2.1 诱导细胞凋亡

凋亡是细胞死亡的一种方式，是能量依赖的对一定刺激发生反应的程序化事件。在细胞凋亡过程中细胞发生特征性的形态学事件和生化事件，各种刺激如放疗、化疗、生长因子等因素均会启动细胞凋亡。崔国惠等^[15]观察不同浓度藤黄酸 (0.125~8.0 μmol/L) 对 K562 细胞生长抑制的情况，结果发现藤黄酸能明显抑制 K562 细胞增殖，其 24 h 的 IC₅₀ 为 (2.637 ± 0.208) μmol/L。洪铁艳等^[16]以人 MDS-RAEB 细胞株 MUTZ-1 细胞为研究对象考察藤黄酸的细胞毒性，结果表明，藤黄酸可抑制 MUTZ-1 细胞的生长，0.4、0.6、0.8 μg/mL 的细胞凋亡率分别为 (13 ± 0.5) %、(37 ± 0.7) % 和 (56 ± 0.6) %，且凋亡率随着药物浓度增加而增加。藤黄酸还可诱导乳腺癌细胞 T47D 的凋亡^[17]。

2.2 抑制细胞增殖周期

细胞在自我复制过程中，细胞周期调控的分子机制是高度有序的，肿瘤细胞往往表现为细胞增殖的调控异常，藤黄酸可以阻滞肿瘤细胞的细胞周期，从而抑制细胞增殖。舒文秀等^[18]研究表明藤黄酸能阻滞 U937 细胞于 G₀/G₁ 期，从而诱导 U937 细胞凋亡，且抑制作用呈时间剂量依赖关系，其 24 h 的 IC₅₀ 为 (1.019 ± 0.134) mg/L。刘静冰等^[19]研究藤黄酸对胰腺癌细胞株 PC-3 的抑制作用，流式细胞术分析发现藤黄酸可阻滞细胞周期于 S 期，且抑制作用与作用时间有一定的依赖关系，作用时间越长抑制率越高，而药物浓度与抑制率关系不明显。

2.3 影响癌基因、抑癌基因及其相关蛋白表达

肿瘤的发生、发展和转移与基因的异常有着密切的关系。卢娜等^[20]采用 cDNA 基因芯片及 RT-PCR 技术检测藤黄酸影响 SMMC-7721 基因表达情况，结果表明藤黄酸作用于 SMMC-7721 24 h 后，有 31 个基因改变，48 h 后有 56 个基因改变。黄恺飞等^[21]分析藤黄酸对胃癌细胞 survivin 基因表达的影响。

结果表明藤黄酸对 BGC-803 细胞的抑制率与药物浓度和作用时间呈依赖关系，其可下调 Survivin 蛋白表达。王勇等^[22]发现藤黄酸能明显抑制 Raji 细胞增殖，推测可能是通过下调 Cyclin D3、Cyclin E 和 NF-κB 蛋白表达，阻滞细胞周期进程，从而产生抗肿瘤作用。张洪明等^[23]采用 Western-blotting 技术检测不同浓度的藤黄酸作用肺腺癌 SPC-A-1 细胞后 Caspase9、Caspase10 及 P53 蛋白表达的变化，结果表明 Caspase9、Caspase10 及 P53 均参与了藤黄酸诱导 SPC-A-1 细胞凋亡，且随着藤黄酸浓度的增高，Caspase9、Caspase10 及 P53 蛋白的表达均上调。许晓源等^[24]通过 Western blotting 方法检测藤黄酸对 A375 细胞作用过程中 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达情况。结果在给药 24、36 和 48 h 后，IC₅₀ 值分别为 (1.57 ± 0.05)、(1.31 ± 0.20) 和 (1.12 ± 0.19) μg/mL，不同浓度藤黄酸 (2.5~7.5 μg/mL) 处理 36 h 后，早期凋亡细胞数量以剂量依赖性方式增加 27.6%~41.9%，同时，可下调 Bcl-2 蛋白表达，上调 Bax 蛋白表达。黄恺飞^[25]研究发现藤黄酸对胃癌细胞 BGC-803 有明显的生长抑制作用，可显著促进肿瘤细胞凋亡和抑制肿瘤细胞转移，其机制与下调 bcl-2、ICAM-1 及上调 bax 的表达有关。

2.4 藤黄酸对造血及免疫功能的影响

藤黄酸作为抗肿瘤药物对动物移植性肿瘤的生长有明显的抑制作用，但是抗肿瘤药物往往会产生不良反应，对于造血系统和免疫系统极易造成不可逆的损伤。郭青龙^[26]等通过考察荷瘤小鼠外周血中白细胞数，正常大鼠体质量、胸腺及脾脏系数、外周血中白细胞数和骨髓有核细胞数，并且以正常小鼠的血清半数溶血值 (HC₅₀) 及吞噬指数 α 等为指标，观察藤黄酸的不良反应。荷瘤小鼠 iv 不同剂量藤黄酸后，外周血中白细胞总数无明显影响；对正常大鼠外周血中白细胞总数、骨髓有核细胞数、体质量、胸腺及脾脏系数无明显影响；并且对小鼠的血清溶血素及巨噬细胞吞噬能力无明显影响。表明在有效剂量范围内，藤黄酸抗肿瘤过程中对于造血和免疫系统是安全的。

3 藤黄酸的药动学研究

谭成等^[27]尾 iv 藤黄酸于小鼠，结果发现藤黄酸在体内分布广泛，以肝、肾、肠最多。郝琨等^[28] iv 藤黄酸于大鼠，测定大鼠血浆、组织、粪便、胆汁及尿液中的藤黄酸，结果发现藤黄酸在大鼠体内的平均消除半衰期仅为 15 min，AUC 与剂量呈现良好

的线性关系; iv 给药后藤黄酸广泛分布于肝、肺、脾、肾、胃、肠和心脏, 平均血浆蛋白结合率为31.1%。藤黄酸主要通过胆汁排泄, 在给药后16 h内藤黄酸在胆汁中的平均累积排泄百分率为36.5%。对犬分别iv 藤黄酸0.5、1、2 mg/kg后, 显示3个剂量的藤黄酸消除半衰期为57.95~60.95 min, 分布容积为0.66~0.71 L/kg, AUC 分别为58.95、130.46和266.37 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, 剂量和AUC呈线性相关^[29]。

4 藤黄酸的剂型研究

4.1 藤黄酸剂型开发现状

目前临床使用的藤黄酸常以注射剂为主, 由于藤黄酸水溶性很差, 目前报道的藤黄酸原料主要是使用硼砂溶液溶解配制的, 该方法稳定性差, 临床使用不安全。为增强藤黄酸的片剂、胶囊剂、口服液、颗粒剂以及注射剂等多种剂型开发的可行性, 需要解决藤黄酸溶解度差这一问题。现有研究表明在藤黄酸原料药中加入L-精氨酸、葡甲胺、赖氨酸等助溶剂或者聚氧乙烯蓖麻油、聚山梨酯等增溶剂制备藤黄酸溶液可显著改善其溶解度和稳定性, 适用于各种剂型的开发; 而通过直接添加L-精氨酸或者联合使用L-精氨酸、葡甲胺、赖氨酸等作为助溶剂均可制备藤黄酸的冻干制剂, 这对于藤黄酸的注射剂研究极为重要^[30-32]。但是长期使用这些助溶剂或增溶剂, 可能引起一系列不良反应, 如过敏、心血管毒性、肾毒性、神经毒性等。

4.2 藤黄酸新剂型研究

随着各种制剂技术的不断发展, 纳米材料、脂质体的出现使得药物原有的制剂缺陷可以得到有效的解决, 对于藤黄酸而言可以针对其溶解性和稳定性差的缺点进行合理的新剂型设计。纳米材料是近些年被广泛关注的药物材质, 对人体无毒, 生物相容性较好, 并且没有抗原反应, 更为重要的是包载药物后可以降低对其他正常器官、组织及全身的不良反应, 增加药物的稳定性, 减少药物的用量, 使制剂具有缓释或控释特性^[33]。李树珍等^[34]用改良的溶剂蒸发法制备藤黄酸聚乳酸纳米粒(GA-PLA-NPs), 结果表明处方工艺确定在水相-有机相为2:1, 表面活性剂在有机相中的浓度为0.5%, 藤黄酸在有机相中的浓度为0.1%, 藤黄酸-PLA为1:4时效率最高, 安全性最好; 所制得的纳米粒平均粒径为51.36 nm; 平均包封率与载药量分别为98.87%和13.3%; 质量稳定、分散性良好,

并且经小鼠ip后LD₅₀值高于无纳米粒包封的原药, 表明藤黄酸聚乳酸纳米粒可以部分降低藤黄酸的毒性。随着相关产业和理论的不断成熟与完善, 藤黄酸的剂型开发将不断有所突破。

5 结语与展望

藤黄酸在抗癌方面具有明显的优势, 对于其新剂型的开发、药动学的研究目前也在逐步深入和开展, 这些研究成果表明藤黄酸在药学领域内的研究正处在快速的发展时期, 具有很大的研究潜质。

目前, 在药效学研究的基础上如何开发有效的剂型以解决藤黄酸水不溶性的问题, 产生理想的药效、减轻不良反应成为藤黄酸进一步研究的关键问题。如何克服藤黄酸的缺陷而发挥其特有的抗癌作用将成为今后研究的主要工作。纳米粒、缓控释技术的出现提供了新的思路, 并将为藤黄酸的临床前研究开辟一条新的途径。

参考文献

- [1] 杨企铮, 贾淑杰, 李德华. 中药藤黄的近代研究 [J]. 中国肿瘤临床, 1994, 21(6): 464-466.
- [2] 王 鸣, 冯 煦, 赵友谊. 中药藤黄的研究和应用 [J]. 中国野生植物资源, 2003, 22(1): 1-3.
- [3] 叶定红, 吴 皓. 藤黄及其炮制品中藤黄酸的含量比较 [J]. 中国中药杂志, 1995, 20(10): 601.
- [4] 雷秋模, 刘金妹. 藤黄抗癌作用研究回顾与展望 [J]. 肿瘤防治杂志, 2003, 10(2): 216-219.
- [5] Yu J, Guo Q L, Yu Q D, et al. Repression of telomerase reverse transcriptase mRNA and hTETRPromoter by gambogic acid in human gastric carcinoma cells [J]. Cancer Chemother Phnnaacol, 2006, 10(1): 1-10.
- [6] Guo Q L, Lin S S, You Q D, et al. Inhibition of human telomerase reverse transcriptase gene expression by gambogic acid in human hepatoma SMMC-7721 cells [J]. Life Sci, 2006, 78(11): 1238-1245.
- [7] 柳文媛. 抗肿瘤新药藤黄酸的结构、代谢产物及构效关系的研究 [D]. 南京: 中国药科大学, 2004.
- [8] Ollis W D, Ramsay M V J. The constitution of gambogic acid [J]. Tetrahedron, 1965, 21(6): 1453 - 1470.
- [9] 金 彪, 乔 林, 沈国伟, 等. 藤黄酸类化合物的盐其制备方法和以该盐为活性成分的药物组合物 [P]. 中国专利: CN1498889A, 2004-05-26.
- [10] 柳文媛, 冯 锋, 尤启冬, 等. RP-HPLC法测定总藤黄酸中藤黄酸的含量 [J]. 中草药, 2003, 34(8), 706-707.
- [11] 郭青龙, 赵 丽, 尤启东, 等. 藤黄诱导人胃癌SGC-7901细胞的凋亡作用 [J]. 中国天然药物, 2004, 2(2): 106-108.
- [12] 刘静冰, 秦叔逵, 李 进. 藤黄酸抗胰腺癌作用的实验

- 研究 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2005, 10(3): 472.
- [13] 陆跃鸣, 王 耿, 叶定江. 藤黄及其炮制品对 K₅₆₂ 肿瘤细胞生长抑制作用的研究 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21(2): 90-91.
- [14] Han Q B, Wang Y L, Yang L, et al. Cytotoxic poly-prenylatedxanthenes from the resin of *Garcinia hanburyi* [J]. *ChemPharm Bull*, 2006, 54: 265.
- [15] 崔国惠, 舒文秀, 吴 青. 藤黄酸对 K562 细胞 hERG 钾通道蛋白的调控作用 [J]. 中草药, 2009, 40(6): 915-919.
- [16] 洪铁艳, 陈宝安, 高 冲. 藤黄酸对 MUTZ-1 细胞生长抑制作用及其机理研究 [J]. 中国实验血液学杂志, 2009, 17(2): 373-376.
- [17] Zhang H Z, Kasibhatla S, Wang Y, et al. Discovery, characterization and SAR of gambogic acid as a potent apoptosis inducer by a HTS assay [J]. *Bioorg Med Chem*, 2004, 12(2): 309-317.
- [18] 舒文秀, 陈 燕, 何 静. 藤黄酸对急性白血病细胞 U937 增殖和凋亡的影响及对核孔蛋白 Nup88 的调控作用 [J]. 中草药, 2008, 39(1): 74-78.
- [19] 刘静冰, 秦叔逵, 李 进. 藤黄酸抗胰腺癌作用的实验研究 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2005, 10(3): 274-277.
- [20] 卢 娜, 顾红燕, 尤启冬. 藤黄酸对人肝癌细胞株 SMMC-7721 的基因表达谱的影响 [J]. 中国药科大学学报, 2007, 38(5): 424-428.
- [21] 黄恺飞, 陆云华, 何 睿. 藤黄酸对胃癌 BGC-803 细胞凋亡的作用及对 survivin 基因表达的影响 [J]. 中国药科大学学报, 2008, 39(5): 474-478.
- [22] 王 勇, 陈 燕, 吴小建. 藤黄酸抑制 NF- κ B 信号通路阻滞 Raji 细胞周期进程 [J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2009, 38(2): 169-172.
- [23] 张洪明, 朱晓莉, 陈保安. 藤黄酸诱导 SPC-A-1 肺腺癌细胞凋亡机制的探讨 [J]. 实用临床医药杂志, 2009, 13(2): 44-47.
- [24] 许晓源, 吴红波, 徐 建. 藤黄酸诱导 A375 细胞凋亡 [J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(15): 2277-2285.
- [25] 黄恺飞. 藤黄酸诱导胃癌细胞凋亡及抗肿瘤转移的实验研究 [J]. 中草药, 2010, 41(11): 1823-1828.
- [26] 郭青龙, 赵 丽, 吴照球. 藤黄酸对实验性动物造血功能及免疫功能的影响 [J]. 中国天然药物, 2003, 1(4): 229-232.
- [27] 谭 成, 俞惠新, 林秀峰. 藤黄酸的标记及其小鼠体内分布实验 [J]. 核化学与放射化学, 2008, 30(1): 39-42.
- [28] 郝 琨, 柳晓泉, 王广基. 藤黄酸在大鼠体内的药代动力学 [J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(4): 338-341.
- [29] 郝 琨, 柳晓泉, 王广基. 犬血浆中藤黄酸 HPLC 测定及其药代动力学 [J]. 中国天然药物, 2005, 3(5): 312-315.
- [30] 戴建国. 一种注射用藤黄酸制剂及其制备方法 [P]. 中国专利: CN1452960A, 2003-11-05.
- [31] 尤启东, 郭青龙, 肖 伟, 等. 藤黄酸及藤黄酸复合物的药物组合物制剂 [P]. 中国专利: CN1513448A, 2004-07-21.
- [32] 王效山, 黄 鹏, 冯传平. 一种注射用新藤黄酸制剂及其制备方法、应用 [P]. 中国专利: CN1718183A, 2006-01-11.
- [33] 周闻舞, 顾海铮. 壳聚糖微/纳米粒在定向给药系统中的应用研究 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(4): 290-295.
- [34] 李树珍, 欧阳五庆. 藤黄酸聚乳酸纳米粒的研制 [J]. 中国生物工程杂志, 2008, 28(2): 101-105.