

雷公藤有效部位提取纯化工艺研究进展

田 振^{1,2}, 刘志宏², 宋洪涛^{2*}

1. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350108

2. 南京军区福州总医院药学科, 福建 福州 350025

摘 要: 从药效物质基础、提取纯化工艺等方面, 对雷公藤有效部位提取纯化工艺研究进行综述。雷公藤提取物具有显著的抗炎及免疫抑制作用, 其有效部位主要包括二萜类、生物碱类和三萜类, 其中很多成分既是抗炎免疫抑制的有效成分, 又是毒性成分。文献报道及市售制剂存在提取纯化工艺不一致、工艺指标选择不够全面、使用毒性大的限制级有机溶剂等问题, 造成不同制剂质量和疗效差别很大。有必要引入谱效结合的研究方法, 对雷公藤进行更深入研究, 建立一种安全、有效的提取纯化工艺。

关键词: 雷公藤; 有效部位; 提取; 纯化工艺; 药效物质基础

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2012)02-0408-05

Advance in studies on extraction and purification technology for active fractions of *Tripterygium wilfordii*

TIAN Zhen^{1,2}, LIU Zhi-hong², SONG Hong-tao²

1. College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, China

2. Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou 350025, China

Key words: *Tripterygium wilfordii* Hook. f.; active fractions; extraction; purification technology; pharmacodynamic material basis

雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 为卫矛科雷公藤属植物, 是我国传统的祛风湿中药, 临床用于治疗类风湿性关节炎、肾病综合征、系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病, 疗效确切, 但其对消化、血液和生殖等系统具有严重毒性, 其毒性在传统中药中排第3位^[1-2]。雷公藤制剂生产厂家众多, 上市制剂有雷公藤多苷片、雷公藤片和雷公藤双层片, 临床应用中发现雷公藤不同制剂疗效和不良反应存在较大差异^[3-6], 提取物制备方法不同为其主要原因。因此对雷公藤高效低毒提取物的制备是目前研究的热点之一。本文查阅相关文献, 结合雷公藤的物质基础研究现状, 对雷公藤提取纯化研究进展进行综述。

1 雷公藤药效物质基础研究

雷公藤化学成分复杂, 迄今已从中分离出 200 多种活性成分, 目前认为雷公藤的有效部位主要包括二萜类、生物碱类和三萜类, 其中很多成分既是抗炎及免疫抑制的有效成分, 又是毒性成分, 毒性

大小依次为二萜类、生物碱和三萜类^[2,7]。此外, 雷公藤药材中还包括一些酚类、黄酮类、糖类、甾体类等成分, 但关于这些成分与雷公藤抗炎及免疫抑制活性的相关性研究目前鲜有报道。

1.1 二萜类成分

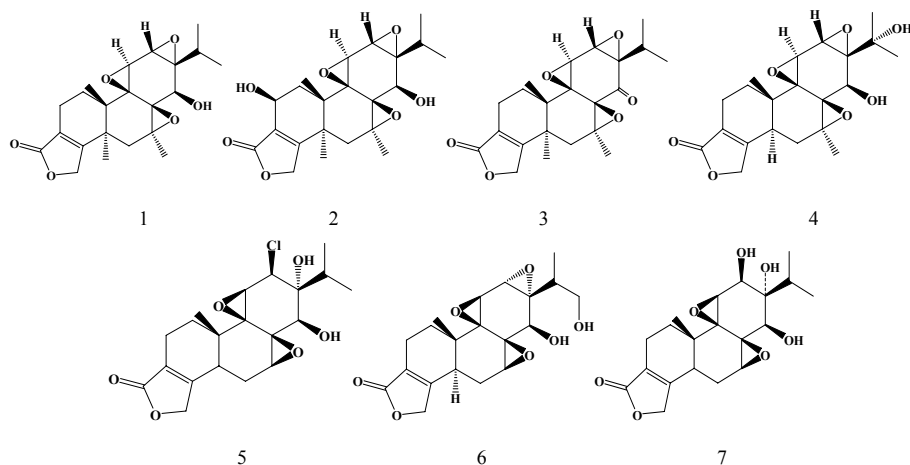
雷公藤二萜类成分按结构分为环氧二萜、雷酚萜型二萜、雷酚内酯二萜、烷型二萜及松香型二萜等。环氧二萜类成分具有相同的母核——环氧二萜内酯, 是雷公藤研究最广泛的化学成分, 其代表成分是雷公藤内酯醇 (triptolide), 又称雷公藤甲素。雷公藤内酯醇具有显著的抗炎及免疫抑制活性, 但易产生肝、肾、生殖系统等毒性^[8], 对其单体及结构修饰物的研究较多, 是新药创制的热点化合物^[9]。雷公藤氯内酯醇、雷公藤内酯二醇、雷公藤内酯三醇、16-羟基雷公藤内酯醇等成分母核与雷公藤内酯醇相似 (图1), 亦表现出相似的药理作用, 但作用强弱不同。郑家润等^[10]测定了7种环氧二萜内酯化合物和雷公藤多苷的体内抗炎、免疫抑制治疗指数

收稿日期: 2011-07-22

基金项目: 福建省卫生厅中医药科研重点课题 (wzzd0906)

作者简介: 田 振, 男, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂学。Tel: 13459184087 E-mail: tztasd@163.com

*通讯作者 宋洪涛 Tel: (0591)22859459 E-mail: sohoto@vip.sohu.com



1-雷公藤内酯醇 2-雷公藤内酯二醇 3-雷公藤内酯酮 4-雷醇内酯 5-雷公藤氯内酯醇 6-16-羟基雷公藤内酯醇 7-雷公藤内酯三醇
1-triptolide 2-tripdiolide 3-triptonide 4-triptolidenol 5-tripchlorolide 6-16-hydroxytriptolide 7-triptriolide

图1 雷公藤重要的环氧二萜内酯化合物结构^[2]

Fig. 1 Structures of important diterpene lactone epoxide compounds from *T. wilfordii*

及半数致死量,测定结果显示:抗炎指数为雷公藤内酯三醇>雷公藤内酯醇>雷醇内酯>雷公藤氯内酯醇>雷公藤多苷>雷公藤内酯二醇>16-羟基雷公藤内酯醇>雷公藤内酯酮;免疫抑制指数为雷醇内酯>雷公藤多苷>雷公藤氯内酯醇>16-羟基雷公藤内酯醇>雷公藤内酯醇>雷公藤内酯二醇>雷公藤内酯酮,其中雷公藤内酯三醇无免疫抑制活性;半数致死量为雷公藤内酯二醇<16-羟基雷公藤内酯醇<雷公藤内酯醇<雷公藤氯内酯醇<雷醇内酯<雷公藤内酯酮<雷公藤多苷<雷公藤内酯三醇。

1.2 生物碱成分

雷公藤生物碱成分按结构分为倍半萜类生物碱和精胺类生物碱(图2)^[11]。倍半萜类生物碱是雷公藤生物碱中重要的抗炎、免疫抑制有效成分。雷公藤康碱、雷公藤明碱、雷公藤特碱、雷公藤次碱、雷公藤春碱、雷公藤新碱、异雷公藤春碱均具

有明显的体液免疫抑制作用^[11]。研究发现^[12],雷公藤总生物碱可抑制二甲苯所致小鼠耳肿胀和大鼠棉球肉芽肿,降低小鼠腹腔毛细血管通透性,并对冰醋酸、超声波、热刺激所诱发的小鼠疼痛均有抑制作用,经测定其 po 半数致死量为5.165 g/kg, iv 为0.723 8 g/kg。生物碱成分易产生肝、肾及中枢神经系统毒性,其毒性略小于二萜类。因此,在雷公藤制剂中,对生物碱的量进行质量控制,有助于提高制剂的有效性和安全性。

1.3 三萜类成分

雷公藤三萜类成分中,研究较多的是雷公藤红素和雷公藤内酯甲等五环三萜羧酸化合物(图3)。现行雷公藤多苷片质量标准将雷公藤内酯甲作为质控指标^[13]。雷公藤红素抗肿瘤活性尤为突出,多作为先导化合物进行结构修饰,是当前抗肿瘤药物研究的热点。由于雷公藤红素具有抑制血管生成、抗生育和诱导细胞凋亡等活性,在发挥药效作用的同时,会产生生殖毒性^[2]。

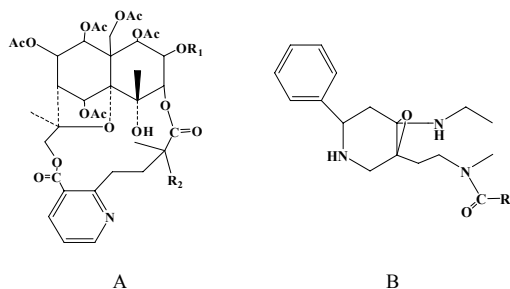


图2 倍半萜类(A)和精胺类(B)生物碱母核的结构式

Fig. 2 Skeleton structure of sesquiterpene (A) and spermidine (B) alkaloids

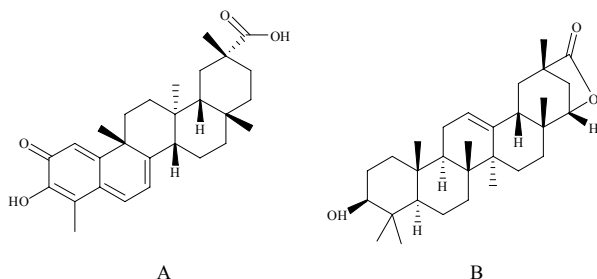


图3 雷公藤红素(A)和雷公藤内酯甲(B)的结构式^[2]

Fig. 3 Structures of tripterine (A) and wilforlide A (B)

2 雷公藤有效部位提取纯化研究

雷公藤提取物的药理作用不是由某一种或某几种成分产生的,而是由雷公藤二萜、三萜及生物碱中多种有效成分共同作用的结果。迄今已报道很多关于雷公藤有效部位的提取纯化工艺研究,查阅1979—2011年的相关文献及专利,雷公藤的提取纯

化工艺研究状况见表1。

由表1可知,目前所使用雷公藤的药用部位包括根皮、根心、根、叶等,不同药用部位所含主要成分差别很大,因雷公藤根皮和叶毒性较大,临床更多是以根和根心作为药用部位,带皮用量小,见效快,但不良反应大;去皮用量大,见效缓,不良

表1 雷公藤提取纯化工艺研究状况

Table 1 Study status on extraction and purification technology of *T. wilfordii*

年份	提取工艺	纯化工艺	考察指标	测定方法	结 果	文献
1981	根, 95%乙醇提取 4 次, 每次 4 h	醋酸乙酯萃取	总生物碱、总二萜内酯	重量法测总生物碱; 比色法测总二萜内酯	固形物中含生物碱 1.94%, 总二萜内酯 3.5%	14
1989	根, 4% HCl, 渗漉法	浓 NaOH 调 pH 10, 沉淀物用醋酸乙酯回流提取 2 次	总生物碱	比色法	生物碱得率 0.070%	15
1990	根, 乙醇浸泡 6 h, 提取 3 次, 每次 4 h	浸膏用醋酸乙酯提取 3~5 次	雷公藤内酯醇	薄层扫描法测定	前 3 次萃取占 10 次萃取总量的 86%, 前 5 次占 93%	16
1991	根皮或叶等, 水浸渍或渗漉	氯仿或二氯甲烷逆流萃取	雷公藤内酯醇	未说明	根皮提取得率 0.004%, 叶提取得率 0.005%	17
1998	根, 95%乙醇提取 3 次, 提取时间 4、4、3 h	未纯化	雷公藤内酯醇	HPLC 法	固形物中量为 0.111 1%	18
2004	40%~80%乙醇动态逆流提取	氯仿或二氯甲烷萃取	浸膏得率	未说明	浸膏得率 0.9%~1.3%	19
2005	叶, 6 倍量 70%甲醇, 浸提 3 次, 每次 6 h	未纯化	雷公藤内酯醇	HPLC 法	得率为 0.014%	20
2007	根心, 5 倍水提 1 次, 1 h; 6 倍乙醇浸提 8 h, 提 2 次	浓缩后氯仿萃取, 15 倍硅胶吸附, 硅胶柱色谱纯化	雷公藤内酯醇、雷公藤内酯甲	HPLC 法	固形物中含雷公藤内酯醇 0.15%, 雷公藤内酯甲 0.32%	21
2007	根, 10 倍量水, 煎煮 2 次, 每次 1.5 h	未纯化	雷公藤内酯醇	HPLC 法	雷公藤内酯醇得率 0.008 5%	22
2007	根, 超临界 CO ₂ 提取, 夹带剂 75%乙醇, (43±2)℃, 25 MPa, 静态时间 3 h, 动态时间 < 100 min	未纯化	雷公藤内酯醇、雷公藤红素和总生物碱	HPLC 法测定雷公藤内酯醇、雷公藤红素; UV 法测定总生物碱	固形物中含雷公藤内酯醇 0.097%, 雷公藤红素 0.36%, 生物碱 29.3%	23
2010	叶, 水煎煮 3 次, 每次 1 h, 料液比 1:3	石硫醇结合大孔树脂吸附法	雷公藤内酯醇、总二萜内酯	比色法测定雷公藤总内酯; HPLC 法测定雷公藤内酯醇	总二萜内酯得率 0.008 5%, 雷公藤内酯醇得率 0.003 1%	24

反应小, 安全性大^[25]。

雷公藤的提取溶剂有水、酸水、不同浓度的醇等。酸水主要用于提取雷公藤总生物碱; 以水为溶剂时, 极性大的成分提取率高, 但其中杂质质量较多, 且极性小的成分损失严重; 高浓度的乙醇则可提取出雷公藤中极性较小的有效成分。

提取工艺方面, 文献报道中虽然有较为先进的动态逆流提取及超临界流体提取法, 但热回流提取法仍占多数; 在纯化工艺方面, 有机溶剂萃取为最常用方法, 但氯仿、二氯甲烷、醋酸乙酯等有机溶剂毒性较大。与其相比, 大孔吸附树脂技术有明显优势: 树脂型号选择范围广, 洗脱溶剂为乙醇较为安全, 且对有效成分的选择性高; 超临界 CO₂ 流体萃取技术以超临界 CO₂ 流体为溶剂, 无溶剂残留, 提取物中有效成分纯度较高, 二者都是较好的纯化方法。

目前雷公藤指标成分主要包括雷公藤内酯醇、雷公藤红素、雷公藤内酯甲、雷公藤总二萜内酯、生物碱等。雷公藤提取工艺中指标的选择因提取目标物的不同而异, 提取单一成分时选择单一成分为指标, 而提取有效部位时则应尽量选择多指标成分, 以便全面控制其质量。

3 雷公藤提取纯化工艺存在的问题

3.1 提取纯化工艺不一致

雷公藤提取纯化工艺多样, 仅市售“雷公藤多苷片”的生产厂家就多于 10 个, 不同厂家的提取纯化工艺各不相同, 囊括了煎煮法、浸渍法、渗漉法、有机溶剂萃取法、硅胶柱色谱法、超临界流体萃取技术等方法, 再加上各种提取纯化工艺使用的药材部位不同, 各工艺得到的中间体质量差异很大。由于相互之间缺乏比较, 无法判断工艺的优劣。

3.2 考察指标选择片面

目前认为雷公藤的有效部位包括二萜、三萜和生物碱。二萜类包括雷公藤内酯醇、雷公藤乙素、雷公藤内酯酮、雷公藤内酯三醇等成分; 三萜类包括雷公藤红素、雷公藤内酯甲等成分; 生物碱包括雷公藤次碱、雷公藤吉碱、雷公藤碱戊、雷公藤春碱、雷公藤新碱等成分。现有的雷公藤提取工艺研究中, 通常只选用单个指标成分, 不能反映雷公藤提取物的整体情况, 且较少采用提取率作为考察指标, 从而无法判定提取工艺是否科学、合理、可行或是否为最优。

3.3 限制级有机溶剂的使用

目前, 市售雷公藤制剂多以水或醇等溶剂提取, 再使用氯仿等有机溶剂萃取, 并结合硅胶柱、中性氧化铝柱等柱色谱技术以氯仿-甲醇洗脱系统进行分离。但氯仿、甲醇皆属于第 2 类化学溶剂, 规定应限制使用, 限度分别为 0.006% 和 0.3%^[26]。氯仿毒性较大, 对肝等器官有损害, 还有微突变性, 增加了生产及使用的不安全因素。

4 展望

雷公藤抗炎及免疫抑制作用显著, 在器官移植、抗炎方面具有广阔的应用前景。同时, 雷公藤又是毒性药物, 临床应用不良反应发生率 58.1%。现有雷公藤提取纯化工艺存在诸多问题, 有必要对其进行更深入研究, 建立一种安全、有效的雷公藤提取纯化工艺。

雷公藤成分复杂, 应加强各成分的基础研究, 明确药效、毒性成分及其作用机制, 为后续提取纯化及制剂研究提供理论基础。

针对雷公藤成分多、疗效显著、毒性大的特点, 可采用谱效结合的方法优化提取纯化工艺。谱效结合^[27]就是以指纹图谱客观的反应所含化学成分的种类及数量, 同时进行药效、毒理实验, 并通过数学模型建立指纹图谱与药效、毒效的关系, 通过控制各类成分配比, 并分别进行药效、毒理评价, 将雷公藤的药效、毒效和指纹图谱三者结合起来, 对各成分的药效及毒效进行归属, 并研究各成分对药效及毒效的贡献, 获得其谱效关系, 从而指导提取纯化工艺, 进而得到高效、低毒的雷公藤制剂。

同时在工艺上采用先进的提取纯化技术以摒弃限制级有机溶剂, 如超临界 CO₂ 流体萃取技术或醇提结合大孔吸附树脂技术, 以提高雷公藤临床应用中的安全性, 为达到更好的纯化效果还可以采用几种不同纯化技术相结合的工艺。

参考文献

- [1] 孙 新, 张素敏, 田春华, 等. 雷公藤及其安全性 [J]. 中国新药杂志, 2001, 11(7): 539-543.
- [2] 薛 璟, 贾晓斌, 谭晓斌, 等. 雷公藤化学成分及其毒性研究 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(5): 730-731.
- [3] 邓文龙. 关于我国雷公藤类中药研究与应用的若干问题与建议 [J]. 中国中西医结合杂志, 2009, 29(2): 102-104.
- [4] 赵 美, 王 钰. 雷公藤片与雷公藤多甙片的异同 [J]. 中国医药导刊, 2009, 11(12): 2127.

- [5] 潘华新, 王培训, 周 联, 等. 两种雷公藤多苷片抗炎及免疫抑制作用的对比研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2007, 24(4): 306-309.
- [6] 夏 焱, 段宏泉, 张铁军, 等. 雷公藤属药用植物的研究进展 [J]. 中草药, 2005, 36(7): 1093-1096.
- [7] 张秋萍, 宋洪涛. 雷公藤制剂研究进展 [J]. 中国药师, 2009, 12(7): 881-883.
- [8] 杨 帆, 任 亮, 卓 萃, 等. 细胞凋亡在雷公藤所致大鼠急性肾损伤中的作用及其发生机制 [J]. 中草药, 2011, 42(5): 923-928.
- [9] 李 征, 李援朝. 结构多样性与构效关系—雷公藤新药研究与开发 [J]. 化学进展, 2009, 21(12): 2483-2491.
- [10] 郑家润, 顾克显, 徐兰芳, 等. 雷公藤抗炎免疫及抗生育活性成分的筛选 III. 7 个环氧二萜内酯化合物体内抗炎免疫活性的比较 [J]. 中国医学科学院学报, 1991, 13(6): 391-395.
- [11] 舒孝顺, 高中洪, 杨祥良. 雷公藤生物碱的化学和药理活性研究进展 [J]. 广东药学院学报, 2003, 19(2): 150-152.
- [12] 褚克丹, 陈立典, 倪 峰, 等. 雷公藤总生物碱的药效实验研究 [J]. 中药药理与临床, 2011, 27(1): 33-36.
- [13] 刘法千, 鲍立曾, 熊仕强. HPLC 法测定雷公藤多苷中雷公藤内酯甲的含量 [J]. 中国药品标准, 2007, 8(4): 38-40.
- [14] 程自珍, 张汉贞, 袁泽姣, 等. 雷公藤片的研制 [J]. 医院药学杂志, 1981, 1(1): 15-18.
- [15] 陈俊元, 夏志林, 邓福孝. 雷公藤生物碱提取工艺改进 [J]. 中国医药工业杂志, 1989, 20(11): 484-485.
- [16] 程自珍, 肖银生, 方义杰, 等. 雷公藤提取工艺的探讨 [J]. 中国医药工业杂志, 1990, 21(10): 435-436.
- [17] 李汉保, 王玉玺, 李庶藩. 雷公藤提取物及其 β -环糊精包合物的制备工艺 [P]. 中国专利: CN1051859A, 1991-06-05.
- [18] 彭 松, 赵文芬. 正交试验优选雷公藤提取物制备工艺 [J]. 时珍国医国药, 1998, 9(4): 350-351.
- [19] 金春晖, 章国林, 张永昌, 等. 雷公藤粗提取物的制备方法 [P]. 中国专利: CN1506365A, 2004-06-23.
- [20] 朱 烈, 程敬丽, 朱国念. 雷公藤内酯醇提取方法研究 [J]. 浙江农业科学, 2005(6): 485-487.
- [21] 林 健. 一种雷公藤多苷提取物及其提取方法 [P]. 中国专利: CN101088519A, 2007-12-19.
- [22] 张 喆, 王 瑜, 张志勇. 正交设计优选雷公藤提取工艺 [J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(10): 1409-1411.
- [23] 周 雯. 雷公藤超临界萃取有效部位质量控制研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2007.
- [24] 王曙东, 方 李, 潘 璟, 等. 大孔吸附树脂结合石硫法提取雷公藤总内酯 [J]. 中国药房, 2010, 21(35): 3296-3298.
- [25] 陈其程. 雷公藤临床剂量毒副作用的探讨 [J]. 广州医药, 1991, 22(1): 39-40.
- [26] 中国药典 [S]. 二部. 2010.
- [27] 孙国祥, 毕开顺. 中药指纹图谱学体系在中药创制中的作用 [J]. 色谱, 2008, 26(2): 172-179.