

• 天然药物 •

齐墩果酸的化学及药理研究

王立新¹, 韩广轩², 刘文庸³, 张卫东³ (1. 深圳市药检所, 深圳 518029; 2. 解放军第 534 医院, 洛阳 471003; 3. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

摘要: 本文综述了国内近年来有关齐墩果酸的资源状况、理化性质、结构鉴定、含量测定、药理作用以及生产工艺等方面的研究情况。

关键词: 齐墩果酸; 资源; 化学; 药理; 生产工艺

中图分类号: R285.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006- 0111(2001) 02- 0104- 04

齐墩果酸(oleanolic acid, OA) 是一种五环三萜类化合物, 广泛分布于自然界, 如在青叶胆全草、女贞果实等植物中以游离形式存在或与糖结合成甙存在, 具有消炎、增强免疫、抑制血小板聚集、降糖等多方面的临床药理作用, 是治疗急性黄疸型肝炎和慢性病毒性肝炎比较理想的药物, 且毒性低副作用少, 近年来国内对 OA 作了进一步研究, 现综述如下:

1 资源研究状况

OA 在自然界分布十分广泛, 据不完全统计, OA 以游离形式和与糖结合形式广泛于大约 60 个科 190 种植物^[1], 对调查了的 190 种植物中 35 种样品用薄层扫描法测定了 OA 的含量, 分析结果表明以木根皮含量最高, 达 8.3%, 35 种植物样品中的 OA 含量见下表。木属(*Aralia* L.) 隶属于五加科(*Araliaceae*), 全世界有 30 余种, 其中我国有 30 种^[2], 是提取 OA 的重要原料。

表 1 不同植物样品中齐墩果酸含量(%)

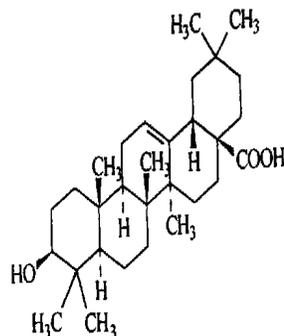
NO.	样品名称	含量
1	木根皮	8.3
2	木果实	2.3
3	木叶片	1.2
4	木茎皮	3.5
5	木叶柄	0.14
6	木茎木质部	0.49
7	木根木质部	0.94
8	夏枯草	1.2
9	商陆	0.031
10	木瓜	0.095
11	关木通	0.24
12	人参	0.44
13	西洋参	0.21
14	车前草	0.25
15	怀牛膝	0.73
16	连翘	0.73
17	地肤子	0.038
18	槲寄生	0.40
19	山楂	0.22

NO.	样品名称	含量
20	山茱萸	0.18
21	威灵仙	0.038
22	柿叶	0.22
23	柿蒂	0.25
24	败酱	0.16
25	夹竹桃	1.1
26	枇杷叶	0.68
27	枇杷叶幼芽	0.50
28	小叶女贞子	0.84
29	女贞子	0.70
30	青叶胆	0.31
31	石见穿	0.36
32	刺老鸦	0.94
33	红木根皮	1.0
34	红木茎皮	0.24
35	红根木质部	0.10

2 理化性质和结构鉴定

OA($C_{30}H_{48}O_3$) 为齐墩果酸烷型五环三萜类化合物, 化学名为(3 β)-3-Hydroxyolean-12-en-28-oic acid。为白色结晶性粉末, 无臭, 无味, 不溶于水, 可溶于乙醇、氯仿、丙酮。熔点 310℃, 比旋度 $[\alpha]_D^{25} + 79.5^\circ$ (氯仿中)。

运用紫外光谱、红外光谱、质谱、核磁共振谱等技术深入地进行了 OA 的含量测定, 确定 OA 的结构如下:



OA 的紫外光谱在 207nm 处的微弱吸收, 说明有一个孤立双键。红外光谱根据区域 A (1355~

1392cm^{-1}) 和区域 B ($1245\sim 1330\text{cm}^{-1}$) 的碳氢吸收区区别骨架类型, 齐墩果酸在 A 区有两个峰, B 区有三个峰, 而其异构体乌苏酸(ursolic acid)在 A 区和 B 区各有三个峰, 以此可区分两者。 ^1H NMR 谱在 δ 0.88~1.12 处有 7 个属于角甲基的单峰, δ 3.7 处为 $3\alpha\text{-H}$ 和 δ 5.22 处为 Cn-H 。

OA 属于不饱和三萜化合物, 因此反 Diels-Alder(RDA) 裂解体是普遍存在的。其中碎片 (a) 是齐墩果酸的特征碎片, m/z 248 为基峰, 其余强峰是 a, b 失去取代基形成的离子。

^{13}C NMR 可以解决 OA 的结构类型、取代基位置及构型等问题。齐墩果酸具有八个角甲基分别取代在 C_4 , C_{10} , C_8 , C_{14} , C_{17} 和 C_{20} 六个季碳上, 六个季碳化学位移在 30~40ppm 范围, 如果角甲基被含氧基团取代, 相连的季碳信号产生相应的位移。 ^{13}C NMR 亦可以作为区别齐墩果酸和乌苏酸的工具有。齐墩果酸: δ (C_{12}) 122.1, δ (C_{13}) 143.4; 乌苏酸 δ (C_{12}) 125.5, δ (C_{13}) 138.0。

齐墩果酸的结构确定为以后的临床应用, 生产, 药品质量控制等方面提供了科学依据。

3 药理与临床

3.1 护肝降酶作用

在实验研究中发现, 齐墩果酸可使变性坏死的肝组织恢复正常来减轻丙氨酸(ALT)活力下降, 肝组织炎症反应减弱, 血中丙种球蛋白下降, 并能促进肝细胞再生, 使坏死区迅速修复, 从而抑制发胶原纤维增生, 使肝硬变难以形成^[3]。通过给大鼠注射 CCl_4 造成实验性肝损伤, 再用齐墩果酸予以治疗的实验发现经 OA 治疗后的 CCl_4 中毒大鼠血清中 GPT 明显下降, 肝内甘油三酯蓄积明显减少, 组织学及组织化学显示肝细胞变性、坏死明显减轻, 而且糖原蓄积增加, 胞浆内 RNA 颗粒恢复, 电镜下观察线粒体肿胀, 粗面内质网囊泡化基本恢复正常, 表明 OA 能对 CCl_4 引起的急慢性肝炎损伤有明显保护作用, 能防止实验性肝硬化的发生。由 CCl_4 的作用机制推测齐墩果酸对损伤肝细胞的治疗作用可能在于保护和稳定肝细胞膜及细胞器的生物膜系统, 使其变动通透及主动运输功能恢复正常, 细胞内外离子和水的移动及分布亦随之复原, 于是胞质疏松及气球样变的肝细胞转化为正常, 再生能力相继恢复, 促进肝小叶中央区坏死肝细胞修复^[4]。

3.2 对免疫系统及变态反应的影响

动物实验表明 OA 能不同程度地除去肿瘤患者 TS 细胞在混合淋巴细胞培养中对正常人淋巴细胞

增值的抑制作用, 同时可明显增强正常小鼠巨噬细胞功能及 T 淋巴细胞活性, 但对体液免疫功能影响不显著, 对免疫小鼠抗原结合细胞也无明显影响^[5]。这些作用与肾上腺皮质激素的药理作用相似, 却没有皮质激素的毒副作用。

另据报道, OA 对前列腺素及环核苷酸亦有明显作用。前列腺素、环核苷酸和组胺参与人体大量细胞活动, 是炎症、免疫、过敏、血凝以及生殖等病理和生理过程重要的介质和调控因子, 而 OA 对前列腺素合成具有明显促进作用, 同时它能够刺激 CAMP 水平的上升, 对 CGMP 和组胺的释放有明显的抑制作用, 即证明了 OA 具有免疫抑制作用, 这与其治疗肝炎、风湿性关节炎及其它自身免疫亢进的临床作用一致^[6]。

由于病毒性肝炎的发病机理与变态反应有密切关系, 因此观察 OA 对实验性变态反应的影响对探索其治疗肝炎的机理有积极的意义。OA 对抗可的松所致的胸腺、脾脏萎缩, 升高抗体 IgG 的含量对溶血素抗体无明显影响, 减慢网状内皮系统对炭粒的廓清速率; 降低豚鼠血清补体总量; 抑制大小鼠同时被动皮肤过敏反应及大鼠颅骨骨膜肥大细胞颗粒, 降低组胺所致大鼠皮肤毛细血管通透性增高, 表明 OA 抑制 I 型变态反应^[7]。OA 50, 100mg/kg sc 显著抑制大鼠反向皮肤过敏反应和反向被动 Arthus 反应; OA 100mg/kg 明显减轻豚鼠 Forssman 皮肤血管炎及大鼠主动 Arthus 反应; OA 显著抑制 SRBC 或 DNCB 所致小鼠迟发型超敏反应; 这些结果说明 OA 对 II、III、IV 型变态反应具有明显抑制作用^[8]。

3.3 降血脂作用

OA 对正常大鼠的血脂无明显影响, 而对实验性高血脂症大鼠和实验性高血脂症兔有明显的血脂降低作用, 可以极显著的降低血清胆固醇和甘油三酯的含量, 并能减少脂质在家兔主要脏器的沉积。另据报道, OA 可降低正常小鼠的血糖, 明显对抗由肾上腺素引起的小鼠血糖升高, OA 50, 100mg/kg day, 7d, 使四氧嘧啶糖尿病小鼠血糖显著降低。另外, OA 还可对抗外源葡萄糖引起的小鼠血糖升高, 与传统降血脂药安妥明、小檗碱的对照实验中, OA 优于小檗碱, 与安妥明相似, 但 OA 毒副作用小, 且能改善肝功能。

3.4 抗血小板聚集作用

OA 增加 30 周龄小白鼠血小板电泳迁移速率, 加快了血小板细胞的流动性, 减弱血小板间的碰撞使之不易粘连和聚集, 使不易在血管内膜沉积, 从而

缓解或防止了血栓形成,又可降低脂质在内膜的沉积,尤其是老年人血液粘度高,血小板流动速度缓慢,血小板易聚集而诱发血栓形成,而 OA 能提高老龄小白鼠血小板的泳动速率,它将为改善老年人血小板的流动性,降低血液粘度,防治老年人的血栓性疾病和动脉粥样硬化提供部分实验依据。

3.5 对染色体损伤的保护

OA 对环磷酰胺所致小鼠白细胞损伤有保护作用,能明显抑制微核率升高^[8]。

3.6 毒性

动物实验证明,OA 在剂量下未发现任何毒副作用,大白鼠连续用药 50d,尿中酮类固醇水平与对照组无差异,OA 急性中毒实验,测得小白鼠一次皮下给药的 LD_{50} 为 340mg/kg,大白鼠分别 po 1g/kg 及 sc 500mg/kg,未见中毒和死亡,亚急性毒性试验中,大白鼠每日按 180mg/kg 剂量连续 po 10d 及 100mg/kg 连服 50d,停药后镜检结果与对照组相似,心、肝、脾、肾、肾上腺、胃、十二指肠、小肠、子宫、膀胱等脏器未发现明显病变。齐墩果酸片治疗急慢性肝炎共 418 例,慢性肝炎大部分服药半年以上,期间个别患者诉上腹部不适,少数患者剂量达 300mg/d 时,胃有灼热感及食欲减退,7 例女性患者出现痤疮样皮疹,减量后即消失。

3.7 临床应用

3.7.1 用于急性病毒性肝炎的治疗 急性黄疸性肝炎 280 例患者中的 196 例用齐墩果酸片治疗,60~90mg/d,辅以 Vit B, Vit C, 84 例用西药治疗作对照组进行对比观察,治疗组总有效率为 94.4%,治愈率为 64.8%,比对照组高,具有非常显著性差异 ($t = 3.2, P < 0.01$)^[9]。

3.7.2 用于慢性肝炎的治疗 对 222 例病程在 2a 左右,年龄在 20~45a 患者,用齐墩果酸片 (po 150~360mg/d, tid) 治疗,兼服 Vit B, Vit C, 3mo 为 1 疗程,有效率为 69.81%,说明对慢性肝炎有较好疗效^[9]。

3.7.3 肝硬化治疗 用青叶胆煎剂治疗 3 例,用齐墩果酸片治疗 1 例,3 例为代偿期,1 例为失代偿期,4 例中 3 例有效,表现为黄疸消退、牙龈出血停止、撤除激素、腹水者停用利尿剂,白/球比值复常、白蛋白上升、球蛋白下降、谷丙酶复常、麝浊下降,蜘蛛痣无效,似乎说明 OA 对肝硬化有一定疗效^[9]。

3.7.4 免疫治疗恶性肿瘤病人的临床 II 期研究 前瞻性双盲法临床研究,可评价有恶性肿瘤病人 28 例,po OA 40mg, tid, 1mo 后测定吞噬细胞百分比由 54.1% 提高到 67.42%。吞噬指数由 0.69 提高至

0.81。迟发超敏反应 1:1000 浓度转阳性率 52.6% (10/19)。E- 玫瑰花结实验在本组实验前后无显著变化。同期服用安慰剂的 9 例对照病人则无明显变化。治疗后 OA 对骨髓、肝、肾功能均无影响。故可作为比较理想的生物反应调节剂应用于临床,以促进病人免疫功能^[10]。

4 生产工艺

目前应用于 OA 的含量测定方法很多,早期应用的比色法、中和法由于操作复杂,显色误差较大,所以近年来已少应用,而薄层扫描法则应用广泛。随着 HPLC 和 SFC 的逐渐应用,因其更加简便快捷的操作及更高的准确度的优势,应是将来 OA 含量测定的主要方法,尤其是 SFC,具有 HPLC、GC 及 TLC 所不能取代的某些优越性^[11]。

由于 OA 结构复杂,难以用合成法获得,所以目前大多采用植物提取法进行 OA 的精品制作,生产 OA 的原料主要有辽东木、青叶胆、女贞子、雪胆等。以前国内主要有 3 种生产工艺:(1)醇提-酸水解法,(2)醇提-酸碱反复处理法,(3)发酵-酸碱处理法。笔者通过研究改进提取工艺方法的相关文献报道^[12-14],认为:原料经预发酵处理选择适当的酸度及浓度,能显著提高 OA 的收率,并能减少乙醇的消耗,经济简便。具体方法是:原料自然发酵 48h 后,加水煎煮后适当浓缩,加 10% H_2SO_4 水解 5h。

我国自 70 年代开发 OA 成为保肝药物后,有大量论文、综述对其资源调查、药理活性、临床研究等进行研究,但对于药物动力学过程研究甚少,值得注意的是 OA 的强疏水性 (25℃ 时水中溶解度为 4.61 μ g/ml, 37℃ 时为 17.59 μ g/ml) 影响了其在胃肠道的溶出和吸收,导致生物利用度低,大大影响其疗效。为了提高 OA 的亲水性和水溶性,根据 OA 的结构和性质特点,将 OA 制成其钠盐,使溶解度增大 27 倍。虽然制成钠盐后水溶液 pH 值有所增大 (pH 8.5 左右),但经制剂和消化液稀释后,不会对机体造成刺激或伤害^[15]。另外,剂型改变也可以有效提高生物利用度。沈阳药学院的孙淑英等^[16]研制了 OA 的滴丸剂,并对滴丸的处方、冷却剂制备工艺、药物的溶出速度、稳定性及药物在滴丸载体中存在的状态等进行了实验研究,体外溶出实验采用转篮法,溶出介质为 40% 乙醇液,温度 (37 \pm 0.5)℃,转篮转速为 100rpm,实验结果表明 2h 溶出量滴丸剂为片剂的 4 倍,溶出速度明显高于片剂,对湿、热稳定性实验表明滴丸剂对湿热稳定性较好。

用固体分散片也可提高齐墩果酸片溶出速

率^[17], 例如以 PEG-6000 为载体, 用熔融法将其制成固体分散物并压制成片, 比较了共熔物和齐墩果酸片的溶解度和片子的溶出速率, 结果表明共熔物体的溶出速率比原 OA 有很大提高。溶解度也提高到 162.87μg/ml, 大大提高了 OA 的生物利用度。

5 展望

OA 作为抗肝炎药物已上市多年, 并取得一致好评, 根据 OA 的促免疫作用, 在抗 HIV 方面的研究也已开展起来, OA 对 AIDS 的防治可能有一定作用。OA 的降糖作用优于传统药物小檗碱, 而且副作用小, 相信 OA 在降血脂的领域内将占据一席之地, OA 的研究开发具有非常大的潜力, 相信在不久的将来, OA 将在药学领域大放异彩。

参考文献:

[1] 张登科. 35 种植物的齐墩果酸含量比较[J]. 中药材, 1989, 12(12): 19.
 [2] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志[M]. 54 卷. 北京: 科学出版社, 1978: 150.
 [3] 韩德伟. 齐墩果酸防治实验性肝硬变发生的研究[J]. 中医杂志, 1981, 22(3): 217.
 [4] 冀春萱. 齐墩果酸对急性实验性肝损伤的防治作用[J]. 山西医药杂志, 1980, 12(6): 5.

[5] 孙燕. 齐墩果酸的促免疫作用[J]. 中国临床病理学杂志, 1988, (1): 26.
 [6] 任骏. 齐墩果酸对前列腺素及环核苷酸的影响[J]. 中国药理学通报, 1991, 7(3): 179.
 [7] 戴岳. 齐墩果酸对免疫系统及 I 型变态反应的影响[J]. 中国药理学报, 1989, 10(4): 381.
 [8] 戴岳. 齐墩果酸对变态反应的抑制作用[J]. 中国药理学报, 1988, 9(6): 562.
 [9] 区戎英. 齐墩果酸治疗病毒性肝炎[J]. 广州医药, 1981, (3): 41.
 [10] 李丽庆. 齐墩果酸治疗恶性肿瘤病人的临床 II 期研究[J]. 中国肿瘤临床, 1992(6): 412.
 [11] 段纯厚. 用正交实验法优选辽东木提取齐墩果酸工艺研究[J]. 中药材, 1994, 17(1): 30.
 [12] 李开泉. 正交法优选木齐墩果酸的提取工艺[J]. 中成药, 1992, 14(1): 9.
 [13] 张林麟. 从云南木提取齐墩果酸的工艺研究[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(1): 42.
 [14] 吴玖涵. 用超临界流体色谱法测定怀牛膝及其制剂中齐墩果酸的含量[J]. 药学学报, 1992, 27(9): 690.
 [15] 赵争胜. 齐墩果酸钠盐的制备及其溶解度[J]. 中成药, 1991, (8): 32.
 [16] 孙淑英. 齐墩果酸滴丸剂的制备[J]. 沈阳药学院学报, 1992, 9(2): 125.
 [17] 徐晓阳. 用固体分散法提高齐墩果酸片溶出速率[J]. 黑龙江医药, 1997, 10(6): 343.

收稿日期: 2000-10-12

铁刀木化学成分的研究进展

吕泰省, 易杨华, 周大铮(第二军医大学药学院海洋药物研究中心, 上海 200433)

摘要: 本文综述了铁刀木的化学成分研究近况, 并对从中分得主要成分的化学结构进行了综述。

关键词: 豆科; 铁刀木; 化学成分

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2001)02-0107-04

铁刀木(*Cassia siamea* Lam.) 为豆科决明属植物, 分布于我国的广东、海南、广西、云南、台湾等地。印度、缅甸、泰国等也有广泛分布。民间常用其治疗风湿性关节炎、痞满腹胀、肠胃病、脚扭伤等。国外学者曾对其化学成分进行了研究, 并从不同部分中分离得到了 30 多个化合物。为了合理开发铁刀木的药用资源, 本文将铁刀木的化学成分研究情况综述如下。

1 三萜类化合物

1964 年从铁刀木的根皮中分离得到了羽扇豆醇(lupeol)(1), 1966 年从铁刀木的茎皮中分离得到桦木酮(betulin)(2)、白桦酸(betulinic acid)(3) 以及羽扇烯酮^[1](lupenone)(4); 1977 年, Varshney I.P. 等从铁刀木的茎皮中分得了齐墩果酸(oleanolic acid)(5); 1986 年^[4]从铁刀木的叶

子中分离得到了 cycloart-23-ene-3β, 25-diol(6) 和 friedelin(7), 1992 年从铁刀木的茎皮中分离得到 lip-20(29)-en-1β, 3β-diol(8)。1994 年从铁刀木的茎皮中分离得到一个三萜皂苷^[8](9)。

2 蒽醌类化合物

1964 年从铁刀木的根皮中分得了大黄酚(chryso-phanol)(10) 和 cassiamin(11), 从铁刀木的茎皮中分离得到两个双蒽醌^[1], 分别为 cassianin(12) 和 siameanin(13); 从铁刀木的根皮和茎皮分得了 2 个双蒽醌, 分别为 cassiamin B(14) 和 cassiamin C(15); 1991 年从铁刀木的根中分得了芸香糖苷(16); 1992 年从铁刀木的树干心材中分得了大黄素(emodin)(17) 及一个新的双蒽醌^[5](18); 在 1993 年从铁刀木的根中分得 2 个蒽醌的吡喃半乳糖苷^[7](19)(20); 1994 年^[8]从铁刀木的茎皮中分得