

穿心莲内酯的提纯工艺及药理作用研究进展

王安琪, 侯文爽, 权泉, 黄曦醇, 李君豪, 金成浩*

黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院 黑龙江大庆

【摘要】中草药穿心莲是爵床科穿心莲属的一年生草本植物, 常用于治疗菌痢、消化不良、毒蛇咬伤以及神经性皮炎等病症。穿心莲内酯是一种从穿心莲中提取分离出的二萜内酯类化合物。近年来随着化学和网络药理学研究不断深入, 发现穿心莲内酯具有良好的抗菌、抗炎、以及抗氧化等药理作用。因其良好的药理活性, 穿心莲内酯的提纯工艺与含量测定方法也受到广大学者的高度关注。本文对穿心莲内酯的提纯工艺, 含量测定方法及其药理作用进行综述, 旨在为穿心莲内酯的后续研究及其相关药物的开发应用提供新思路。

【关键词】穿心莲内酯; 提纯工艺; 含量测定; 药理作用

【基金项目】黑龙江省重点研发计划指导类项目 (GZ20220039); 中央支持地方高校改革发展基金人才培养项目 (2020GSP16)

【收稿日期】2024年9月2日

【出刊日期】2024年10月26日

【DOI】10.12208/j.ijmd.20240024

Research progress on extraction technology and pharmacological effect of Andrographolide

Anqi Wang, Wenshuang Hou, Quan Quan, Xichun Huang, Junhao Li, Chenghao Jin*

College of Life Science & Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang

【Abstract】 The Chinese herbal medicine *Andrographis paniculata* is an annual herb of the genus *Andrographis* in the family *Acanthaceae*. It is often used to treat bacillary dysentery, dyspepsia, snake bites, and neurodermatitis. Andrographolide is a kind of diterpenoid lactone compound extracted and isolated from *Andrographis*. In recent years, with the deepening of chemical and network pharmacology research, it has been found that Andrographolide has good anti-bacterial, anti-inflammatory, anti-oxidant and other pharmacological effects. Because of its good pharmacological activity, the purification process and content determination method of Andrographolide have been highly concerned by many scholars. This article reviews the purification process, content determination method and pharmacological action of Andrographolide in order to provide new ideas for further research on Andrographolide and the development and application of related drugs.

【Keywords】 Andrographolide; Purification technology; Content determination; Pharmacological activity

穿心莲 (*Andrographis paniculata*) 又名春莲秋柳、一见喜、榄核莲以及苦胆草等。穿心莲分布广泛, 多生长于我国福建、广东、海南、广西、云南等地区。

穿心莲是爵床科穿心莲属的一年生草本植物, 喜高温湿润气候, 具有较强的祛热解毒、消炎止痛及保肝利胆等功效, 常用于治疗菌痢、消化不良、毒蛇咬伤以及神经性皮炎等病症^[1]。穿心莲内酯

(Andrographolide) 又名穿心莲乙素, 雄茸内脂等, 是一种从中草药穿心莲中提取的二萜内酯类化合物, 分子式为 $C_{20}H_{30}O_5$, 易溶于甲醇、乙醇等有机溶剂, 熔点为 $230\sim 231^{\circ}C$ ^[2]。穿心莲内酯具有抗肿瘤、抗炎、抑菌以及抗病毒等多种药理活性。现对穿心莲内酯的提纯工艺、含量测定方法及其药理作用相关研究进展进行综述, 为其进一步研究及应用提供理论依据。

作者简介: 王安琪 (2001-) 女, 硕士研究生, 主要从事抗癌中草药活性物质药理研究;

*通讯作者: 金成浩 (1977-) 男, 教授, 博导, 主要从事癌症发病机理研究及药物研发工作。

1 穿心莲内酯的提纯工艺

天然中药中的生物碱、萜烯类等多种化学成分对肿瘤患者具有良好的治疗效果。从中药中提取、分离及纯化出具有抗肿瘤活性的有效物质,对天然中药在肿瘤学中的应用具有重要意义。现代化提取技术与水蒸气蒸馏法、溶剂萃取法、水提法、超声提取法以及微波提取法等传统的提取方法等相比,具有提取率高、纯度高以及生产成本低等优点。随着生物技术的快速发展,优化筛选一种新型、高效、绿色的中药有效成分提取工艺已成为制药工程领域的热点。

在穿心莲内酯的提取研究中,周汝顺^[3]、赵咏梅^[4]等通过超声提取法,将穿心莲内酯分别与甲醇和乙醇混合后进行提取(温度为 50°C、超声 1 h),并以甲醇与乙醇做空白对照,最终得到产物,利用高效液相色谱测定样品含量,采用单因素与正交试验对提取条件进行优化,确定穿心莲内酯的最佳提取工艺:乙醇浓度分别为 60%、90%,超声时间 1 h,料液比为 1:15、1:8,该方法通过切换波长测定穿心莲内酯的最大吸收光值,大幅提高了提取速率,具有简便易行、提取效率高以及稳定可行等特点。杨涛^[5]等通过同样方法,将穿心莲提取物与 75%乙醇混合后加入到量瓶中(超声时间为 60min,提取温度为 60°C),在 224 nm 处测定其吸光值并绘制标准计算曲线,计算提取物的质量浓度,利用高效液相色谱测定样品含量(色谱分析时间 55 min),采用星点设计-效应面法确定超声提取工艺条件为乙醇浓度:70%-80%,提取时间:50-70 min,溶媒比:10-12 倍。该方法优化了穿心莲内酯的超声提取工艺,具有工艺方法简便、实验次数少、实验精度高等优点。葛发欢^[6]等通过超临界 CO₂ 萃取法,将穿心莲有效成分加入到超临界萃取釜中,经过温度、CO₂ 流量的调节并加入乙醇后逐级萃取最终得到产物(萃取釜压力为 25 MPa,温度为 60°C),利用高效液相色谱测定样品含量(检测波长:250 nm;流速:1.0 ml/min),采用正交试验对提取条件进行优化,确定穿心莲内酯的最佳萃取压力、温度以及 CO₂ 流量分别为 25 MPa、46 °C、40 kg/h。在最佳实验条件下穿心莲内酯的含量为 6.87%。该方法具有预测性良好、节约省时以及操作简便等优点。黄琼^[7]、丁睁^[8]等通过微波辅助提取法,将穿心莲黄酮类化合物分别与

80%的乙醇溶液以及 60%酒精混合后进行提取(微波作用时间分别为 6 min、4 min),在 510 nm 处测定其吸光值并绘制标准计算曲线,利用紫外分光光度法测定穿心莲内酯含量,经过乙醇溶解过滤、微波加热以及旋转蒸发器浓缩提取得到产物,采用单因素、正交实验及其方差分析确定超声提取工艺条件为微波功率处于高火以及低火、微波作用时间分别为 6 min、4min,固液比 1:50。该方法通过响应面试验对实验结果优化,具有安全环保、提取效率高以及步骤简单等优点。以上提取方法以天然植物资源为基础,大幅提高了穿心莲内酯的提取速率,具有质量稳定、产品纯度高以及损耗少等优点,为穿心莲内酯的提纯工艺优化提供了理论参考。但每种提纯工艺都有其适用范围和局限性,在实际应用中,通常需要根据具体情况选择合适的提纯方法,或者结合多种方法来达到最佳的提纯效果。

2 穿心莲内酯的含量测定

天然中药中有效成分的含量测定在药物分析及中药质量控制等方面起到关键性作用。中药中的有效物质通常不能通过肉眼直接观察,为保证含量测定结果的准确性,只能通过特殊的分析仪器才能进行分析。测定样品中的某种含量时,要根据天然中药的化学成分特征,选择合适的仪器和相应的测定条件进行含量测定。由于中药标准的特殊性及其复杂性,含量测定方法的选择至关重要。对于一些成分含量低或者组分较为复杂的药品或样品,可以采用薄层分析法进行测定。

在穿心莲内酯的含量测定中,袁建华^[9]等通过高效液相色谱法测定穿心莲中穿心莲内酯含量,将穿心莲粉末与甲醇混合后放入超声仪中提取并过滤,在 225 nm 处测定其吸光值,利用高效液相色谱对产物进行提纯与含量测定,通过对检测波长、检测器温度和样品流速等参数的研究,确定最佳含量测定条件的柱温、流动相、流速以及检测波长分别为 40°C、甲醇:水(6:4)、1.0 mL/min、225 nm。该方法具有简洁方便、精密度高以及测量准确等优点。刘红^[10]等通过高效液相色谱法测定穿心莲中穿心莲内酯含量,将穿心莲粉末与甲醇混合后超声提取并过滤,在 225 nm 处测定其吸光值并绘制标准计算曲线,利用加样回收法测定穿心莲内酯的含量。该方法具有准确率高、重现性好以及灵敏度高等优点。林明瑞

等^[11]通过分光光度法测定穿心莲中穿心莲内酯含量, 将穿心莲粉末与丙酮混合后加入锥形瓶, 利用旋转蒸发法测定穿心莲内酯的含量, 采用紫外扫描仪经甲醇定容后在 200-400 nm 处进行吸收波长测定。该方法具有分离效率高、准确性高、重复性好等优点。张英丰^[12]等通过高效液相色谱法测定穿心莲中穿心莲内酯含量, 将穿心莲粉末与甲醇混合后超声提取并冷却, 在 228 nm 处测定其吸光值并进行线性回归处理, 利用外标法对产物进行含量分析测定, 采用加样回收试验确定最佳含量测定条件的流动相、流速以及检测波长分别为甲醇: 水 (45:55)、1.0 mL/min、228 nm。该方法具有专属性强、准确度高以及稳定性强等优点。以上含量测定方法科学、规范地测定穿心莲内酯含量及质量控制, 为穿心莲内酯的含量测定技术提供更高效、准确以及简便的测定方法。但在实际应用中, 有些含量测定方法仍具有应用范围较窄、选择性差等缺点, 需要采用多种方法相互验证以提高实验的准确性。

3 穿心莲内酯的药理活性研究

3.1 穿心莲内酯的抗癌作用

癌症 (cancer) 的发生是一个复杂、多步骤的过程, 主要由遗传、免疫因素、感染以及化学致癌物质等多种致癌因素引起。当人体内各种因素失调时, 正常细胞发生变异或分化演变成癌细胞。在我国, 由于环境污染、食品安全问题以及人们生活方式的改变等原因, 癌症发病率逐年上升。世界卫生组织 (WHO) 曾指出中国是世界上人口最多的国家, 同时也是癌症发病率和死亡率最高的国家之一。

黄桔^[13]等通过 MTT 法检测穿心莲内酯对人胶质瘤 (Glioma) U87-MG 细胞的抑制增殖作用研究发现, 用不同浓度 (3.125、6.25、12.5、25 及 50 μM) 的穿心莲内酯处理 48 小时后, 穿心莲内酯对人胶质瘤 U87-MG 细胞具有良好的抑制增殖作用。进一步通过蛋白质免疫印迹法检测穿心莲内酯对人胶质瘤 U87-MG 细胞的促凋亡作用研究发现, 穿心莲内酯可上调促凋亡相关蛋白 Bax 的表达水平, 下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达水平。徐辉^[14]等通过 CCK-8 法检测穿心莲内酯对人肝癌 Hep-G2 细胞的抑制增殖作用研究发现, 肝癌 Hep-G2 细胞随着穿心莲内酯浓度 (0、5、10、20、30、40、50 及 60 mg/L) 的增加和给药时间的延长, 穿心莲内酯对人肝癌 Hep-G2

细胞的抑制增殖能力不断增强。进一步通过 Annexin-V FITC/PI 双染实验检测穿心莲内酯对人肝癌 Hep-G2 细胞的促凋亡作用研究发现, 随着穿心莲内酯处理浓度 (0、5、10 及 20 mg/L) 的不断升高和作用时间的延长, 肝癌 Hep-G2 细胞的凋亡数量明显升高。秦慧真^[2]等通过 MTT 法检测穿心莲内酯对人骨肉瘤 HOS 以及 H₂OS 细胞的抑制增殖作用研究发现, 用不同浓度 (5、10、20、50 及 100 μM) 的穿心莲内酯处理 24 小时后, 穿心莲内酯对人骨肉瘤 HOS 以及 H₂OS 细胞具有良好的抑制增殖作用。进一步通过流式细胞术及蛋白质免疫印迹法检测穿心莲内酯对人骨肉瘤 HOS 以及 H₂OS 的周期阻滞作用研究发现, 随着穿心莲内酯给药浓度的升高和作用时间的延长, 促凋亡蛋白 p53 和 Bax 的表达水平升高, G1 期细胞数量逐渐增加, S 期和 G2 期细胞数量逐渐减少。以上结果表明, 穿心莲内酯可通过阻滞癌细胞周期中的 S 期至 G2 期, 进而诱导癌细胞的凋亡。尽管当下的研究显示穿心莲内酯具有良好的抗癌功效, 但其具体的抗癌分子机制仍需展开更深入地探讨。

3.2 穿心莲内酯的抗炎作用

炎症 (Inflammation) 是指机体的局部或全身组织在各种外来刺激因素的作用下引起的一种非特异性免疫反应。炎症反应包括急性炎症期、亚急性期以及慢性炎症期。临床上主要表现为发热、畏寒、皮肤红疹及水肿等症状。炎症介质是由炎症性细胞因子、趋化因子、基质金属蛋白酶以及其他细胞因子组成的复合体, 在炎症反应的发生和进程中发挥重要作用。

Gupta S^[15]等通过蛋白免疫印迹法检测穿心莲内酯对关节炎的抑制炎症作用研究发现, 穿心莲内酯可有效抑制炎症细胞因子 COX-2、p-p38、CD40、TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6 的表达水平。李玉^[16]等通过酶联免疫吸附剂测定法 (ELISA) 以及荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测穿心莲内酯对脂多糖 (LSP) 诱导的小鼠乳腺组织中 TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6 炎症细胞因子表达水平的影响进行研究发现, 随着穿心莲内酯注射用量 (2.5、5 及 10 mg/kg) 的增加和给药时间的延长, 对 TNF- α 、IL-1 β 以及 IL-6 蛋白表达水平的抑制率明显升高。进一步通过蛋白免疫印迹法检测乳腺组织中 NF- κB 的蛋白表达水平研究发现,

穿心莲内酯可明显抑制 NF- κ B 的蛋白表达水平以及促炎细胞因子的产生。王美怡^[17]等通过 ELISA 以及 RT-qPCR 检测穿心莲内酯对哮喘小鼠模型中促炎细胞因子 IL-12、IL-13 的表达水平的影响进行研究发现, 穿心莲内酯可有效抑制促炎细胞因子 IL-12、IL-13 的表达水平。以上结果表明, 在炎症细胞因子的抑制作用中, 穿心莲内酯可通过调控 COX-2、p-p38、CD40、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-12 以及 IL-13 等促炎因子的表达水平, 进一步发挥良好的抗炎作用。在检测方法方面, 采用了蛋白免疫印迹法、ELISA 以及 RT-qPCR 等多种检测方法, 从不同角度和层面验证了穿心莲内酯的抗炎效果。这些方法相互补充, 提高了研究结果的可靠性和说服力。虽然现有研究表明穿心莲内酯具有良好的抗炎作用, 但其具体机制尚未完全阐明, 未来研究应进一步探讨其作用机制。

4 展望

穿心莲内酯是一种从中草药穿心莲中提取的二萜内酯类化合物, 具有来源广泛、效果良好以及毒性小等优点。随着新型技术研究的不断深入, 穿心莲内酯的提纯工艺以及含量测定技术取得了阶段性的研究成果。但因其现有的提纯方法尚存不足, 内在质量不够稳定, 在一定程度上影响其产品的开发和应用, 需对现有的提纯工艺以及含量测定方法进行不断优化与改良。此外, 穿心莲内酯具有抗肿瘤、抗炎、抑菌以及抗病毒等多种药理活性, 但其所涉及的多个信号通路及作用靶点尚不明确, 需要结合相关网络药理学、大数据分析以及基因组学等现代生物技术从整体角度开展对穿心莲内酯相关作用机制和作用靶点的研究, 为穿心莲内酯的进一步药用开发提供参考。

参考文献

- [1] 龚旭昊, 范强, 赵富华, 段文龙. 穿心莲化学成分与提取工艺研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2022, 56(06): 82-90.
- [2] 秦慧真, 林思, 邓玲玉, 谢凤凤, 张淼, 朱华, 陈龙. 穿心莲内酯药理作用及机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(06): 272-282.
- [3] 周汝顺, 江燕, 陈启友, 李裕. 穿心莲超声提取工艺研究[J]. 中国兽药杂志, 2019, 53(08): 66-70.
- [4] 赵咏梅, 齐建红, 黄童. 穿心莲内酯超声提取工艺研究[J]. 陕西农业科学, 2019, 65(07): 44-46.
- [5] 杨涛, 盛欢欢, 李岩, 董贤伟, 王长虹, 王峥涛. 星点设计-效应面法优化穿心莲提取工艺[J]. 中国药理学杂志, 2011, 46(03): 208-213.
- [6] 葛发欢, 林秀仙, 黄晓芬, 史庆龙, 梁宝钻, 李菁, 钟广华. 超临界 CO₂ 流体萃取穿心莲有效成分的正交试验研究[J]. 中药材, 2002(02): 101-102.
- [7] 黄琼, 田玉红, 刘玉梅. 穿心莲总黄酮微波辅助提取工艺的研究[J]. 现代食品科技, 2011, 27(11): 1372-1374+1348.
- [8] 丁琤, 张勇, 林国卫, 江少华, 邱佳俊, 李小春. 微波辅助提取穿心莲内酯的研究[J]. 广东农业科学, 2011, 38(01): 120-122.
- [9] 袁建华. 穿心莲片中的穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯检测方法研究[J]. 江西化工, 2022, 38(03): 18-22.
- [10] 刘红, 禹玉洪. HPLC 法测定穿王消炎胶囊中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯含量研究[J]. 内蒙古中医药, 2016, 35(12): 94-95.
- [11] 林明瑞, 林宇星. 穿心莲内酯 MPEG-PDLLA 胶束的制备及含量测定的研究[J]. 海峡药学, 2021, 33(05): 8-10.
- [12] 张英丰. 高效液相色谱法测定穿心莲提取物中穿心莲内酯含量[J]. 现代医药卫生, 2010, 26(15): 2247-2248.
- [13] 黄桔, 李晓文, 蒋艳平, 龙文清, 周越菡. 穿心莲内酯对人胶质瘤细胞 U87-MG 的生长抑制及凋亡诱导作用的研究[J]. 右江民族医学院学报, 2020, 42(06): 685-689+697.
- [14] 徐辉, 焦响乐, 郑玉宽, 杨静, 郭慧, 李晓天. 穿心莲内酯对人肝癌 HepG2 细胞增殖、凋亡和迁移的影响[J]. 中医研究, 2022, 35(08): 65-69.
- [15] Gupta S, Mishra KP, Kumar B, Singh SB, Ganju L. Andrographolide attenuates complete Freund's adjuvant induced arthritis via suppression of inflammatory mediators and pro-inflammatory cytokines. J Ethnopharmacol. 2020 Oct 28;261:113022.
- [16] 李玉, 贺胜男, 丁娜娜, 程连平, 李成, 何嫣婷, 徐怡钟, 梁婷, 冯士彬, 王希春, 吴金节. 穿心莲内酯对 LPS 诱导的小鼠乳腺炎的抗炎作用[J]. 中国兽医科学, 2017, 47(09): 1200-1206.
- [17] 王美怡, 李艳华, 金蓉, 吴良霞, 张建华. 穿心莲内酯对支气管哮喘小鼠 BALF 炎性细胞、IL-12、IL-13 表达的影响 [C]. 2012 年江浙沪儿科学术年会暨浙江省医学会儿科学分会学术年会、儿内科疾病诊治新进展国家级学习班论文集汇编, 2012:92.

版权声明: ©2024 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS