

雷公藤内酯的抗炎作用

郑幼兰, 林建峰¹, 林承才, 徐 娅 (福建省医学科学研究所, 福州350001, 中国)

Anti-inflammatory effect of triptolide

ZHENG You-Lan, LIN Jian-Feng,
LIN Cheng-Cai, XU Ya
(Department of Pharmacology, Fujian Institute of Medical Sciences, Fuzhou 350001, China)

ABSTRACT Triptolide (Tri) was isolated from *Tripterygium wilfordii* Hook f. Tri 0.1–0.2 mg·kg⁻¹ sc or 0.15–0.3 mg·kg⁻¹ ig inhibited markedly the increased vascular permeability induced by ip 0.7 % HAc in mice. Tri 0.05–0.1 mg·kg⁻¹ ip or 0.15–0.3 mg·kg⁻¹ ig inhibited hind paws swelling induced by sc 0.15 ml carrageenan and also inhibited the same swelling induced by sc 2.5 % formaldehyde 0.1 ml in rats. Tri 0.05–0.1 mg·kg⁻¹ ip inhibited markedly proliferation of granuloma induced by sc implantation of cotton-pellets in rats, but 0.2 mg·kg⁻¹ ip can not inhibit the same swelling induced by sc 0.15 ml carrageenan in adrenalectomized rats. Tri 0.2 mg·kg⁻¹ ip decreased markedly weight of thymus. Tri 0.2 mg·kg⁻¹ ip, but 0.1 mg·kg⁻¹ ip did not reduced the content of ascorbic acid of adrenal gland in rats. Tri 0.2 mg·kg⁻¹ ip did not decrease the pro-staglandin E content in inflammatory tissues. These results indicate that high dose of Tri can stimulate the pituitary-adrenal axis.

KEY WORDS triptolide; carrageenan; ascorbic acid; dexamethasone; prostaglandins E

摘要 雷公藤内酯(triptolide, Tri) sc. ip 及 ig 0.05–0.3 mg·kg⁻¹ 对渗出性和增殖性炎症

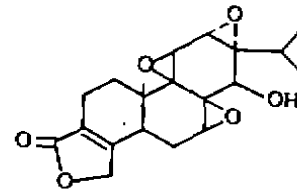
Received 1993-12-16

Accepted 1994-05-31

均有明显抑制作用。Tri 0.2 mg·kg⁻¹ ip 引起胸腺萎缩, 对摘除双侧肾上腺大鼠 Tri 可使角叉菜足跖肿胀的作用消失, 并能使大鼠肾上腺内抗坏血酸含量明显降低, 且会被地塞米松所阻断。但对炎症组织释放的 prostaglandins E 含量没有影响。

关键词 雷公藤内酯; 角叉菜; 抗坏血酸; 地塞米松; 前列腺素 E

雷公藤内酯(triptolide, Tri)是卫矛科(Celestraceae)雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook f)根提取的有效成份之一。Tri 治疗类风湿性关节炎15例近期疗效达100%⁽¹⁾。Tri 减轻巴豆油诱发的耳部水肿, 对红细胞膜有稳定作用, 但不影响大鼠肾上腺内抗坏血酸的含量, 其抗炎作用不是通过兴奋垂体-肾上腺皮质系统⁽²⁾。本文研究 Tri 的抗炎作用。



Triptolide

MATERIALS

雷公藤内酯(triptolide, Tri)无色柱状结晶, C₂₀H₂₄O₆, mp 227–228 °C由本所植化室研制。溶于2%丙二醇。吲哚美辛(Indomethacin, 北京制药三厂), 以CMC配成2%混悬液, 氢化可的松(5 mg·kg⁻¹, 江苏扬州制药厂)。地塞米松针剂(5 mg·kg⁻¹福州制药厂), 角叉菜(carrageenan 辽宁省药物研究所), Evans

blue (BDH), 抗坏血酸粉剂 (广东西陇化工厂), prostaglandins E (PGE) (Sigma 公司).

Sprague-Dawley 大鼠及昆明种大鼠, ♂, 由上海细胞生物研究所和福建中医学院动物室提供.

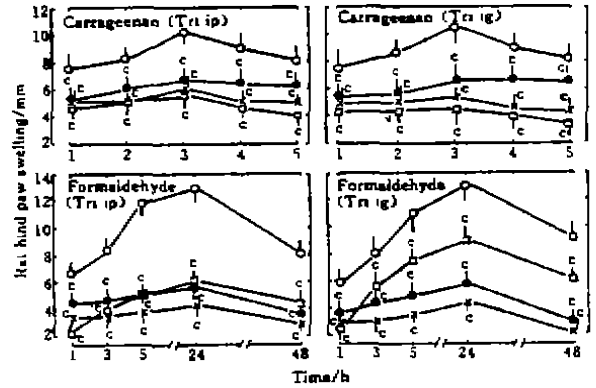
METHODS AND RESULTS

对毛细血管通透性的影响⁽³⁾ ♂ 小鼠 94 只, 体重 21 ± 3 g, 分别在 Tri sc 30 min 和 ig 1 h 后, 各 iv 0.5% Evans blue $5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$, 5 min 后 ip 0.7% HAc $10 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$, 30 min 后脱颈椎处死, 剖腹, 用蒸馏水多次冲洗腹腔, 冲洗液 10 ml, 加 NaOH $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 0.1 ml 放置 30 min, 用 722 型光栅分光光度计 (590 nm) 比色. 结果: Tri sc 或 ig 均能使小鼠腹腔冲洗液 Evans blue 浓度明显降低, 表明 Tri 抑制腹腔毛细血管通透性的增加, 并有剂量依赖性 (Tab 1).

**Tab 1. Effect of triptolide and indomethacin on increased vascular permeability induced by ip 0.7% acetic acid in mice. $n=10$, $\bar{x} \pm s$.
* $P < 0.05$, * $P < 0.01$ vs control.**

	Dose/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Route	Evans Blue/ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$
Control		sc	6.7 ± 1.3
Triptolide	0.1	sc	3.4 ± 0.8^c
	0.2	sc	2.6 ± 0.8^e
Indomethacin	40	sc	2.7 ± 0.7^e
Control		ig	4.3 ± 1.0
Triptolide	0.15	ig	3.5 ± 0.9
	0.3	ig	1.5 ± 0.6^c
Indomethacin	100	ig	2.6 ± 1.4^b

对大鼠足跖注射致炎剂致肿的影响⁽⁴⁾ ♂ 大鼠 96 只, 体重 167 ± 20 g, 每组 6 只. 于右后足跖 sc 1% 角叉菜 0.15 ml 或 2.5% 甲醛 0.1 ml, 致炎后角叉菜组每小时用窄带尺测量左右踝关节的圆周长, 并以其差值作为肿胀度. 甲醛组 1, 3, 5, 24, 48 h 各测 1 次. 结果: Tri ip 或 ig 对角叉菜和甲醛足肿胀均有抑制作用 (Fig 1). 另取大鼠 18 只, 分为 3 组. 一组为



**Fig 1. Effect of Triptolide (Tri) on swelling of rat hind paw induced by phlogistic agents. Carrageenan: control (○); Tri $0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip or $0.15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ig (●); Tri $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip or $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ig (×). Indomethacin $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip or $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ig (□). Formaldehyde: control (○); Tri $0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip or $0.15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ig (●); Tri $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip or $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ig (×); Dexamethasone $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip or dexamethasone $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ig (□). $n=6$, $\bar{x} \pm s$.
* $P < 0.01$ vs control.**

不切除肾上腺的正常大鼠, 另二组摘除双侧肾上腺后, 饲以 1% NaCl 溶液, 术后 d 3 分别 ip 2% 丙二醇 $10 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 Tri $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 30 min 后按上法注射角叉菜致肿. 结果: Tri 对角叉菜足肿胀抑制作用消失 (Tab 2).

Tab 2. Effect of ip triptolide on swelling of normal and adrenalectomized rat hind paws induced by carrageenan. $n=6$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.01$ vs control.

	Normal rat		Adrenalectomized rat/ Triptolide/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
	0.2	—	0.2
Rats hind paws swelling/mm			
1 h	5.0 ± 1.2^e	6.0 ± 0.6	6.0 ± 0.6
2 h	5.2 ± 1.1^c	7.3 ± 0.8	7.6 ± 0.6
3 h	5.8 ± 1.2^c	8.3 ± 0.8	8.6 ± 0.6
4 h	5.3 ± 1.3^c	7.8 ± 1.0	8.2 ± 0.9
5 h	5.1 ± 1.2^e	7.3 ± 0.8	7.6 ± 0.6

对棉球肉芽肿增生的影响⁽⁵⁾ ♂ 大鼠 24

只, 体重 200 ± 40 g, 乙醚麻醉, 在无菌操作下切开两侧腋下皮肤各植入20 mg的消毒棉球1个, 术后当日给药, qd $\times 6$ d于d 7处死大鼠, 剥离肉芽组织, 在90 °C烘1 h后称干重, 并计算其抑制率, 结果: Tri ip及ig对棉球肉芽肿增生均具有抑制作用(Tab 3).

Tab 3. Effect of triptolide and hydrocortisone on weight of granuloma induced by cotton-pellets in rat. $n=6$, $\bar{x} \pm s$. $^b P < 0.05$, $^c P < 0.01$ vs control.

	Dose/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Route	Granuloma wt. g/kg body wt.	Inhibition/ %
Control		ip	1.19 ± 0.36	
Triptolide	0.05	ip	0.71 ± 0.29^b	39.8
	0.1	ip	0.47 ± 0.10^b	60.5
Hydrocortisone	10	ip	0.46 ± 0.06^c	61.2
		ig	0.72 ± 0.14	
Triptolide	0.15	ig	0.48 ± 0.15^b	51
	0.3	ig	0.44 ± 0.04^c	66
Hydrocortisone	30	ig	0.47 ± 0.08^c	52

对幼鼠胸腺重量的影响⁽⁶⁾ 取鼠龄15 d, 体重 11 ± 1 g的♂小鼠60只, 均分4组. 分别ip Tri 0.1—0.2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 对照组(2%丙二醇) $10 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ 与氢化可的松 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ qd $\times 5$ d于d 6将小鼠脱颈椎处死, 剖腹, 以JNA型精密扭力天平称胸腺重量, 结果: Tri及氢化可的松都能减轻胸腺重量, 且有一定的剂量依赖性(Tab 4).

Tab 4. Effect of triptolide and hydrocortisone on weight of thymus in 15-day-old mice. $n=15$, $\bar{x} \pm s$. $^c P < 0.01$ vs control.

	Dose/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	Thymus wt. g/kg Body wt.
Control		3.7 ± 1.4
Triptolide	0.1×5	2.0 ± 0.6^c
	0.2×5	1.4 ± 0.6^c
Hydrocortisone	30×5	1.2 ± 0.3^c

对大鼠肾上腺抗坏血酸含量的影响 ♂大

鼠18只, 均分3组. 分别ip对照组(2%丙二醇) $10 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$, Tri 0.1—0.2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 给药后2 h, 脱颈椎处死, 剖腹, 取右侧肾上腺称重, 然后用3.5 ml的三氯醋酸制成匀浆, 离心 $390 \times g$, 测上清液中抗坏血酸的含量⁽⁷⁾. 并换算成每100 mg肾上腺组织中抗坏血酸的 μg 数进行组间比较(Tab 5). 结果: Tri ip 0.2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可使大鼠肾上腺内抗坏血酸含量降低($P < 0.05$), 表明Tri大剂量有兴奋肾上腺皮质功能的作用, 而ip Tri 0.1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 似也有少许降低肾上腺内抗坏血酸含量($P < 0.05$).

Tab 5. Effect of triptolide on ascorbic acid of adrenal in rat. $n=6$, $\bar{x} \pm s$. $^b P > 0.05$, $^c P < 0.05$ vs control.

Triptolide/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Weight/ g	Ascorbic acid mg/kg adrenal
	422 ± 29	4.6 ± 0.9
0.1	388 ± 24	3.8 ± 0.5^a
0.2	403 ± 17	3.5 ± 0.4^b

对地塞米松处理大鼠肾上腺抗坏血酸含量的影响⁽⁸⁾ ♂大鼠12只, 均分2组. sc 1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 地塞米松后10 min, 分别ip对照组(2%丙二醇) $10 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和Tri 0.2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 2 h后将大鼠脱颈椎处死, 按上法取肾上腺, 测抗坏血酸的含量. 结果: 地塞米松+2%丙二醇组肾上腺内抗坏血酸含量为 $427 \pm 68 \mu\text{g}$, 地塞米松+Tri为 $391 \pm 55 \mu\text{g}$ 二者差异不显著($P > 0.05$). 表明sc地塞米松后Tri降低肾上腺抗坏血酸含量的作用可被阻断. 提示Tri兴奋肾上腺皮质功能的作用并非直接作用于肾上腺, 可能跟垂体有关.

对大鼠足跖炎症组织释放PGE含量的影响 ♂大鼠15只, 均分3组. 分别ip对照组(2%丙二醇) $10 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$, Tri 0.2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 吲哚美辛 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给药后30 min于足跖sc 1%角叉菜 0.15 ml 致炎, 4 h后将大鼠处死, 并在致炎足自踝关节上1 cm处剪下, 称重, 剥皮后

放入7 ml 生理盐水中浸泡1 h, 离心 $390 \times g$ 取上清液0.3 ml, 加 KOH 甲醇溶液 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 2 ml, 在 50°C 水浴异构化20 min, 加甲醇液5 ml, 用751型分光光度计(278 nm)测定 PGE 含量^[9], 最后换算成每克炎症组织释放 PGE 的 μg 数. 结果: 对照组大鼠每克炎症组织释放 PGE 总量为 $237 \pm 39 \mu\text{g}$, Tri 组 $235 \pm 30 \mu\text{g}$ ($P > 0.05$), 吲哚美辛组为 $107 \pm 78 \mu\text{g}$ ($P < 0.01$), 表明 Tri 的抗炎作用可能与抑制 PGE 的合成或释放无关.

DISCUSSION

本实验研究从多种实验性炎症模型证实 Tri 对急、慢性炎症均有明显的抑制作用, 而且所使用的剂量很小, 并且有剂量依赖性. 但对切除双侧肾上腺的大鼠, Tri 抗角叉菜足跖肿胀的作用消失, 幼鼠胸腺萎缩以及大剂量 Tri $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip 能使肾上腺中抗坏血酸含量降低, 表明 Tri 对肾上腺皮质功能有一定的影响. 我们曾在家兔和狗进行 Tri 长期毒性试验中, 还发现两侧肾上腺重量增加, 病理切片束状带、网状带增生, 提示 Tri 可能直接作用于肾上腺. 一般认为抗炎作用跟垂体—肾上腺皮质系统有密切关系. 而肾上腺内抗坏血酸含量降低则可间接反应肾上腺皮质活动的增强. 本研究结果表明 Tri 可使正常大鼠肾上腺内抗坏血酸含量降低. 如预先给予地塞米松, 使垂体发生化学性阻断, 则 Tri 所引起肾上腺抗坏血酸的含量降低被阻断. 说明 Tri 可能是垂体引起 ACTH 释放的增加, 从而激动肾上腺皮质分泌功能^[8].

本研究还发现 Tri $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip 不能明显降低肾上腺抗坏血酸的含量. 但是, 此剂量动物关节炎模型已具有明显抗炎作用, 表明

Tri 还有其他的作用机制. 炎症组织的中性白细胞和吞噬细胞在生成 PGE 方面起重要作用. 本研究结果 Tri $0.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip 对炎症组织释放 PGE 含量没有影响. 而吲哚美辛却能明显地抑制炎症组织释放的 PGE. 表明 Tri 的抗炎作用跟抑制 PGE 的合成或释放无关. Tri 是目前市售雷公藤片的主要成份, 本研究可为 Tri 治疗类风湿性关节炎提供实验理论基础.

REFERENCES

- 1 Su DF, Song YJ, Li RL. Comparative clinical observation on rheumatoid arthritis treated by triptolide and ethylacetate extract of *Tripterygium wilfordii*. *Chin J Integ Trad West Med* 1990; **10**: 144-6.
- 2 Li LZ, Chen SF, Wang FJ, Yang J, Tan GP, Xu JY, et al. Effects of triptolide on inflammation and immune function. *Chin Pharmacol Bull* 1986; **2**: 25-9.
- 3 Tang XC, Lin ZG, Cai W, Chen N, Shen L. Anti-inflammatory effect of 3-acetylacetonine. *Acta Pharmacol Sin* 1984; **5**: 85-9.
- 4 Zhu LQ, Liao XL, Peng ZK, Fan CK. Anti-inflammatory effect of diethylcarbamazine citrate. *Acta Pharmacol Sin* 1989; **10**: 81-4.
- 5 Robert H, Silber PD, Paul SA. Animal techniques for evaluating adrenocortical drugs. In: Neelke JH, Siegler PE, editors. *Animal and clinical pharmacologic techniques in drug evaluation*. Chicago: Year Book Medical Publishers, 1964; 542-50.
- 6 卫生部药品生物制品检定部编: 药品的生物检定法. 第一版, 北京: 人民卫生出版社 1978; 29-31.
- 7 Roe JH, Kuether CA. The determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitrophenyl-hydrazine derivative of dehydroascorbic acid. *J Biol Chem* 1943; **147**: 399-407.
- 8 Mei YR, Cheng DY, Li YF, Yuan ZQ, Ye YH. Anti-inflammatory action of LeiFeng Shiling and its effect on pituitary-adrenocortical system. *Chin Trad Herb Drugs* 1988; **19**: 28-30.
- 9 Zhou CC, Sun XB, Liu JY, Luo SQ, Lu CY. Anti-inflammatory effect of α -spinasterol. *Acta Pharm Sin* 1985; **20**: 257-61.