

· 综述 ·

雷公藤甲素毒性作用及减毒研究的整合探析

刘斌¹, 樊丹平¹, 舒海洋², 何小鹏¹, 吕诚¹, 吕爱平^{3*}

(1. 中国中医科学院 中医临床基础医学研究所, 北京 100700; 2. 广州中医药大学 第二临床医学院, 广州 510000; 3. 香港浸会大学 中医药学院, 香港特别行政区 999077)

[摘要] 雷公藤甲素是从卫矛科植物雷公藤的木质部提取到的环氧二萜内酯类化合物,是雷公藤的主要活性成分之一,具有抗炎、免疫调节及抗肿瘤等生物活性及药理学作用,可以用于治疗类风湿关节炎,多种肿瘤如白血病、乳腺癌、胰腺癌和肺癌等疾病。近年来,雷公藤甲素制剂虽然在临床中得到了一定的应用,但在发挥治疗作用的同时,其对机体消化系统、泌尿系统、生殖系统、循环系统、免疫系统等器官也产生了一些毒性作用,包括肝功能损伤,生育能力下降,胸闷、心悸、心动过缓、房室传导阻滞、心律失常,肾脏功能异常,淋巴器官的萎缩、淋巴组织内淋巴细胞的坏死和细胞数目的减少,免疫功能受损等。这些毒性作用极大限制了雷公藤甲素在临床中的应用,也限制了与其相关的制剂研发,引起了临床医生和科研人员的广泛关注。为了确保雷公藤甲素发挥治疗作用的同时,降低其在使用过程中对机体脏器的毒性,国内外研究者做了大量研究和尝试,如改变雷公藤甲素的化学结构提高其溶解性,开发载药系统削减其毒性,与中草药联合使用增效减毒等。该文对雷公藤甲素在基础研究中产生毒性作用的致毒剂量和机制,以及雷公藤甲素衍生物、载药系统、配伍减毒研究方面进行了整理分析,以期对雷公藤甲素毒性作用及减毒研究的深入探索提供参考。

[关键词] 雷公藤甲素; 毒性作用; 减毒研究

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5;R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)20-0181-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191429

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190401.1611.014.html>

[网络出版时间] 2019-04-03 10:53

Side Effect and Attenuation of Triptolide

LIU Bin¹, FAN Dan-ping¹, SHU Hai-yang², HE Xiao-juan¹, LYU Cheng¹, LYU Ai-ping^{3*}

(1. *Institute of Basic Research in Clinical Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China*; 2. *Second Clinical Medical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510000, China*; 3. *School of Chinese Medicine, Hong Kong Baptist University, Hong Kong 999077, China*)

[Abstract] Triptolide (TP) is a kind of epoxy diterpene lactone compound extracted from xylem of *Tripterygium wilfordii* (TWHF). It is one of the main active components of TWHF, with anti-inflammatory, immunomodulatory and anti-tumor activities and pharmacological effect. It can be used in the treatment of rheumatoid arthritis and such cancers as leukemia, breast cancer, pancreatic cancer and lung cancer. In recent years, TP has been gradually applied in clinic and basic research, with a certain curative effect. But it also has certain side effect on digestive system, urinary system, reproductive system, circulatory system and immune system, including liver dysfunction, reduced fertility, chest tightness, heart palpitations, bradycardia,

[收稿日期] 20181205(011)

[基金项目] 中国中医科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费自主选题项目(Z0552,ZZ11-056)

[第一作者] 刘斌,在读硕士,从事中西医结合痹病发病机制研究,E-mail:lynch1123@126.com

[通信作者] *吕爱平,博士,研究员,博士生导师,从事疾病证候分类与中医临床评价方法研究、中药复方作用机制研究及新药研发工作,E-mail:lap64067611@126.com

atrioventricular block, arrhythmia, kidney dysfunction, lymphoid organ atrophy, lymphoid tissue necrosis of lymphocytes, and reduction in the number of cells, impaired immune function. These toxic and side effect have greatly restricted the clinical application of TP. In the meantime, the researches and development related to preparations of TP have also been restricted, which has aroused wide attention from clinicians and researchers. To improve the therapeutic effect of TP and reduce the toxicity of TP in the process of application, domestic and foreign researchers have made a lot of studies and attempts, such as changing the chemical structure of TP to improve its solubility, developing drug delivery system to reduce its toxicity and using combination therapy with traditional Chinese herbal medicines to increase efficiency and reduce toxicity. In this paper, the toxic dose and mechanism of TP, TP's derivatives, drug loading system, compatibility and attenuation were integrated to provide ideas for further researches on toxicity and attenuation of TP.

[Key words] triptolide; side effect; attenuation study

雷公藤(TWHF),卫矛科雷公藤属植物,又名黄藤木、黄藤根、断肠草等,药用部位为木质部,具有祛风除湿、活血通络、消肿止痛、杀虫解毒的功效^[1]。雷公藤甲素(TP)是从雷公藤干燥根中提取的环氧二萜内酯类化合物,又名雷公藤内酯醇,是雷公藤的主要活性成分之一,具有抗炎、免疫调节及抗肿瘤等生物活性和药理学作用,可用于治疗自身免疫性疾病如类风湿关节炎(RA)^[2],多种癌症如乳腺癌、胰腺癌及肺癌等^[3-5]。近些年来,TP在临床中逐渐得到应用并获得一定的疗效,但其对机体消化系统、泌尿系统、生殖系统、循环系统、免疫系统等产生的毒副作用^[6],如肝、肾功能的异常、生育能力下降、免疫功能异常等极大制约了其在临床的进一步应用,也限制了与TP相关的制剂创新研发。目前TP的应用困境依然没有得到良好改善,为此,许多临床及科研工作者开展了大量TP的减毒增效研究,如YANG等^[7]主要研究了甘草酸与TP联合使用,减轻相关脏器毒性的作用,ZHANG等^[8-9]主要开展了载药系统对TP的增效减毒作用及机制研究。本文总结了近几年来TP的相关基础研究,对TP产生毒副作用的致毒剂量和机制,以及TP衍生物、载药系统、配伍减毒研究方面进行了整合探析,以期在充分发挥其临床治疗作用的同时,其安全性也能够得到保证。TP化学分子结构见图1。

1 雷公藤甲素的毒性作用

1.1 TP对消化系统的影响 肝脏是消化系统中主要的药物代谢器官,TP通过肝脏代谢所诱发的毒性^[11]是制约其应用的最主要原因。研究TP的肝脏毒性机制,并探索如何减轻其肝脏毒性显得尤为重要。

相关研究通过动物实验探索了TP导致肝损伤

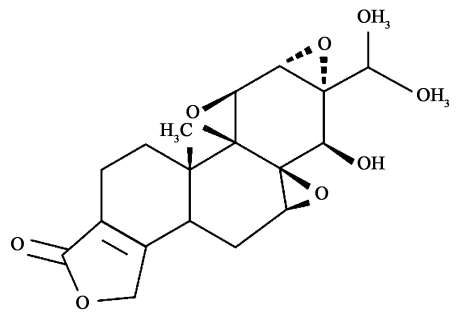


图1 TP化学分子结构^[10]

Fig.1 Chemical molecular structure of triptolide^[10]

的可能机制,WANG等^[12]通过对Wistar大鼠连续灌服TP(300,1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)14 d,发现肝脏中的糖代谢、氧化应激、细胞凋亡、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)活性等发生了改变。其中,胰岛素信号通路、葡萄糖代谢通路和细胞应激通路可能是TP引起肝损伤的重要途径。在LI等^[13]研究中,TP可引起HepG2细胞的氧化应激反应,并导致细胞损伤,核转录因子E相关因子2(Nrf2)的敲除则可加重毒性作用。同时通过对雄性BALB/C小鼠腹腔注射TP 1.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,诱导小鼠出现了肝细胞损伤、谷胱甘肽(GSH)消耗和抗氧化酶降低,而Nrf2的活化与否在TP诱导肝毒性的防治中有关键作用。在WANG等^[14]研究中,给予雌性C57BL/6小鼠口服TP(600 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)可导致小鼠急性肝损伤,具体表现为血清中白细胞介素-17(IL-17),丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)的升高,视黄酸相关孤儿受体(ROR)- γt mRNA表达增多,提示IL-17介导的免疫应答参与了TP诱导的肝脏损伤。同时,通过对雌性C57BL/6小鼠灌服TP(250,500 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$),发现其增强辅助性T细胞17(Th17)的扩增,抑制调节性T细胞(Treg)的产生,

进而诱导产生肝损伤^[15]。在此基础上,进一步研究发现 TP 可以通过细胞因子信号抑制因子蛋白(SOCS)和 Notch 信号通路来影响 Tregs,这可能在肝损伤的进展中发挥重要作用^[16]。Vliegenthart 等^[17]在研究中通过将成年斑马鱼暴露于含有 TP ($1.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的水中 10 h,发现暴露开始后的 6 h 出现肝损伤,同时抑制一氧化氮合酶(NOS)会加重肝损伤,增加斑马鱼死亡率。

其他基础研究发现 P 糖蛋白(P-gp),细胞色素 P450(CYP450)的氧化代谢^[18-20]和 GSH 的耗竭^[21]均与 TP 诱导的肝损伤相关。LU 等^[22]研究显示 TP 可以在蛋白质水平通过减少 CYP450 酶的异形体 3A,2C9,2C19,2E1 与基质的亲和力从而引起肝损伤。相关研究发现,多种代谢途径包括 GSH 代谢、三羧酸循环、嘌呤代谢、甘油磷脂代谢和氨基酸代谢的改变与 TP 诱导肝损伤相关^[11]。WANG 等^[23]研究发现,TP 可以通过改变肝巨噬细胞降低肝脏清除内毒素的能力,导致血液内毒素水平升高,这是 TP 肝脏毒性的另一可能机制。YOU 等^[24]在研究中则发现,TP 可通过凋亡相关因子(Fas)通路和线粒体途径抑制细胞增殖,诱导肝脏细胞凋亡。以上研究从基因、蛋白、代谢水平对 TP 的肝脏毒性进行了不同探索,为开展减毒研究提供了一定的思路。

1.2 TP 对生殖系统的影响 TP 的生殖毒性制约了其在既需要长期服药,又有生育需求患者中的应用,受到了越来越多研究者的关注。ZENG 等^[25]通过对雌性 NIH 小鼠灌服 TP ($25, 50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 50 d,发现小鼠的发情周期紊乱,并出现发育障碍,产生卵子数量和质量也显著降低,卵巢中凋亡抑制蛋白基因 XIAP 的表达也明显受到 TP 的抑制。LIU 等^[26]在研究中对雌性 SD 大鼠连续灌服 TP ($100, 200, 400 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 90 d,结果显示卵巢和子宫的比重显著降低,同时发育卵泡减少,闭锁卵泡增多,发情周期延长。雌二醇(E_2)和孕酮(P)的表达降低,提示 TP 通过对两者的影响介导生殖毒性。Dhar 等^[27]通过对雌性小板齿鼠喂服 TP ($17.37, 23.54 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 15 d,发现 TP 通过增加闭锁性卵泡和减少发育性卵泡,同时影响管腔和柱状细胞,降低子宫和卵巢的比重,改变了雌性小板齿鼠子宫的组织形态。同时,对雄性小板齿鼠进行了类似研究,结果发现 TP 可以导致生精小管直径和生精细胞数量均减少,从而影响精子的产生^[28]。Singla 等^[29]通过对雄性黑家鼠喂服 TP ($20.45 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 5 d,发现 TP 降低了精子活性和存活能力,从而产生生殖毒性。

RUAN 等^[30]在研究中将秀丽隐杆线虫暴露在 TP ($50, 100 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 中 4 h,结果显示,与有丝分裂生殖细胞增殖、凋亡相关的基因表达发生改变,TP 可能通过阻碍卵母细胞在不同发育阶段的发育而损害线虫的繁殖能力。MA 等^[31]应用代谢组学技术,探索了 TP 诱导生殖毒性的机制,并确定了精子发生功能障碍的早期生物标记物,此项研究对 2 组雄性小鼠连续 14 d 静脉注射 TP ($60 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$),结果提示 TP 可破坏睾丸的微观结构,降低睾丸激素水平,抑制精子的生成。此外,在脂肪酸代谢和能量代谢中起着关键作用的过氧化物酶体增殖剂激活受体(PPAR)的表达在小鼠的睾丸组织中也出现显著减少。以上研究充分说明,TP 对生殖系统影响较大,因此在使用 TP 的过程中,要密切关注 TP 对生殖系统的不良影响,并进行更深入的减毒探索。

1.3 TP 对循环系统的影响 相关研究表明,TP 制剂易引起胸闷、心悸、心动过缓、房室传导阻滞、心律失常等不良反应。ZHOU 等^[32]开展了体内外实验,旨在研究活性氧(ROS)和线粒体在 TP 诱发的心脏损伤中的作用。通过对雄性 BALB/C 小鼠静脉注射 TP ($1.2 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 24 h,可诱发氧化应激、线粒体功能紊乱、细胞凋亡和心脏组织病变。同时,体外实验结果表明,TP 的细胞毒性涉及 H9c2 细胞中由 ROS 介导的线粒体依赖途径。TP 可通过抑制 Nrf2 及其下游的抗氧化剂,增加 ROS 的积累,减少线粒体膜电位,释放细胞色素 C,最终激活 Caspase-3,从而触发细胞凋亡,诱发心脏毒性。另一项研究通过用氯喹或雷帕霉素对大鼠心肌细胞进行干预,发现自噬在 TP 诱发的心脏毒性中有重要作用^[33]。XI 等^[34]在研究中发现,进行 TP ($1.2 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 干预之后,p53 基因水平升高,而抑制 p53 则可预防心脏组织损伤,降低血清心肌肌钙蛋白 I 和凋亡蛋白。p53 拮抗剂(PFT α)可抑制 TP 诱导的 p53 过表达和凋亡相关基因 B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)转录的调控,改善线粒体膜完整性,防止细胞凋亡。而 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)拮抗剂通过抑制细胞膜去极化和 ROS 积累,也可改善 TP 诱导的细胞凋亡。这些结果表明 TP 诱发的心脏毒性依赖于 p53 核易位和 Bcl-2 家族基因的活化,从而导致线粒体外膜通透性和线粒体功能紊乱。

1.4 TP 对泌尿系统的影响 肾脏作为机体的主要排泄器官,在泌尿系统中发挥着重要作用,很容易受到药物的影响。LI 等^[35]研究中发现,TP 可诱导正常鼠肾细胞系(NRK-52E)发生氧化应激反应,使

ROS 增加, GSH 耗竭, 最终导致肾细胞的损伤。当敲除 Nrf2 基因时, NRK-52E 细胞中 ROS 和 GSH 的消耗均相应增强。而 Nrf2 的增加可抑制这一状态, 进而发挥对肾细胞的保护作用。SUN 等^[36]对 Wistar 大鼠连续灌服 TP (100, 200, 400 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 28 d, 结果发现, TP 主要通过改变闭锁小带蛋白 1 的位置和 NRK-52E 细胞渗透率来影响肾脏近端小管, 其肾毒性机制与细胞分裂和近端小管的细胞外渗透率改变有关。LI 等^[37]运用蛋白质组学技术检测分析了服用半数致死剂量 TP 的小鼠肾脏蛋白质表达差异, 结果提示参与脂肪酸代谢的 CYP450 蛋白质家族成员, 如 CYP2E1 有显著的差异。此外, 蛋白质组学数据也表明脂肪酸代谢与 TP 诱导的肾毒性相关。

1.5 TP 对免疫系统的影响 机体的免疫系统由免疫器官、免疫细胞和免疫分子组成, 维持着机体内环境稳定和生理平衡。QIU 等^[38]在大鼠急性毒性实验中观察到 TP 会引起大鼠淋巴组织的受损, 具体表现为淋巴器官的萎缩和淋巴组织内细胞坏死和

细胞数目减少。而淋巴细胞的坏死以脾小结、脾索等 B 淋巴细胞分布区域最为明显, 也可累及脾动脉周围的淋巴鞘、胸腺等 T 淋巴细胞分布的区域。TP 对脾脏的这种损伤作用与其免疫抑制作用成平行关系。CHAN 等^[39]在研究 TP 中发现, TP 的细胞毒性可能涉及到细胞凋亡和自噬之间的相互作用。在 WEHI-3 细胞诱导的白血病小鼠中, 口服 TP (0.02, 0.2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 3 周, 显著增加了 T 细胞, B 细胞, 单核细胞和巨噬细胞的数量。同时也增强了外周血单核细胞中巨噬细胞的吞噬功能, 提示 TP 对免疫功能有一定的毒副作用。

在以上的研究中, TP 对肝脏、生殖器官、肾脏、心脏以及免疫器官均有不同程度的毒性(表 1), 大多数与使用剂量相关, 这对于临床使用 TP 制剂有积极的参考意义, 也提示在应用 TP 的过程中应当严格控制使用剂量, 严密检测各项生化指标, 使患者获得最大化收益。同时, TP 在基础研究中的使用剂量也应当进行规范, 并进一步开展深层次的 TP 毒性机制探索, 这需要广大研究人员的共同努力。

表 1 雷公藤甲素在体外、体内实验中最小致毒剂量的毒性表现和机制

Table 1 Toxicity manifestation and mechanism of triptolide at minimum toxic dose *in vitro* and *in vivo*

部位	体外实验	体内实验	毒性表现	毒性机制	参考文献
消化系统	-	300 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灌胃, 14 d, 雄性、雌性 Wistar 大鼠	肝脏比重, AST, GGT 均升高, ALB 降低	胰岛素信号通路、葡萄糖代谢通路、细胞应激通路相关基因参与 TP 诱导的肝损伤	[12]
	80 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 24 h, HepG2 细胞	1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 腹腔注射, 24 h, 雄性 BALB/C 小鼠	HepG2 细胞氧化应激和细胞损伤; ALT, AST 升高, 肝细胞水肿、坏死	Nrf2 在 TP 诱导的肝毒性中有关键作用	[13]
	-	600 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灌胃, 24 h, 雌性 C57BL/6 小鼠	Th17 细胞增多, ALT, AST 升高, 肝细胞炎性浸润、坏死	IL-17 介导的免疫应答参与了 TP 诱导的肝毒性	[14]
	-	500 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灌胃, 24 h, 雌性 C57BL/6 小鼠	AST, ALT, IL17, (ROR)- γt 升高	TP 引起 Th17 的升高和 Treg 的下降导致肝毒性	[15-16]
	-	1.6 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 10 h, 成年斑马鱼	肝细胞死亡	NOS 在 TP 诱导的肝损伤中有重要作用	[17]
	0.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 24 h, 雄性 SD 大鼠肝细胞	-	Bax 升高, Bcl-2 降低, 细胞死亡	P-gp, CYP 在 TP 肝毒性中有重要作用	[18]
	-	1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 静脉注射, 24 h, 雄性 BALB/C 小鼠	ALT, AST, MDA, Bax 升高, SOD, Bcl-2 降低	TP 引起 P-gp 的下调导致严重的肝毒性	[19]
	-	1 200 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灌胃, 18 h, 雄性 KM 小鼠	ALT 升高, 小鼠死亡	CYP450, GSH 与 TP 诱导的肝损伤相关	[21]
	-	400 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灌胃, 28 d, 雌性 SD 大鼠	ALT, AST 升高, 肝脏肿胀, 肝细胞变性和炎性浸润, 大鼠死亡	TP 通过减少 CYP450 酶异形体与基质的亲和力引起肝毒性	[22]
	-	500 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灌胃, 14 d, 雄性 C57BL/6 小鼠	ALT, AST 升高	TP 改变肝巨噬细胞数量和功能, 降低清除内毒素能力, 提高了对脂多糖的敏感性, 诱导肝毒性	[23]

续表 1

部位	体外实验	体内实验	毒性表现	毒性机制	参考文献
	100 nmol · L ⁻¹ , 24 h, HepaRG 细胞	-	Bax, ROS, Fas 升高, Bcl-2 降低, 细胞凋亡	TP 通过 Fas 通路和线粒体途径抑制细胞增殖, 诱导细胞死亡	[24]
生殖系统	-	25 μg · kg ⁻¹ , 灌胃, 50 d, 雌性 NIH 小鼠	发情周期紊乱, 卵泡损伤, 排卵数量、质量下降	TP 通过内质网应激途径诱导 GCs 凋亡、损害抗凋亡功能导致卵巢毒性	[25]
	-	200 μg · kg ⁻¹ , 灌胃, 90 d, 雌性 SD 大鼠	E ₂ , P 降低, 卵泡生成激素、黄体生成激素升高, 子宫、卵巢比重降低, 卵泡发育减少, 发情周期延长	TP 通过对 E ₂ 和 P 的水平的影响介导生殖毒性	[26]
	-	17.37 mg · kg ⁻¹ , 喂食 饵料, 15 d, 雌性 小 板齿鼠	发育性卵泡减少, 闭锁性卵泡增加, 发情周期延长, 子宫和卵巢比重降低	-	[27]
	-	26.75 mg · kg ⁻¹ , 喂食 饵料, 15 d, 雄性 小 板齿鼠	生精小管直径减少, 生精细胞数量减少, 睾丸功能受损	-	[28]
	-	20.45 mg · kg ⁻¹ , 喂食 饵料, 5 d, 雄性 黑 鼠	精子活性、存活能力降低, 生育能力降低	-	[29]
	-	50 mg · L ⁻¹ , 4 h, 秀 丽隐杆线虫	精子失活, 有丝分裂细胞减少, 卵母细胞凋亡	TP 通过改变与卵母细胞发育相关基因表达导致生殖毒性	[30]
	-	60 μg · kg ⁻¹ , 腹腔注 射, 14 d, 雄性 小 鼠	睾丸激素水平降低, 精子生成减少, 睾丸微观结构破坏	TP 通过影响 PPAR 的表达介导脂肪酸代谢和能量代谢导致生殖毒性	[31]
循环系统	40 nmol · L ⁻¹ , 24 h, H9c2 细胞	1 200 μg · kg ⁻¹ , 静脉注 射, 24 h, 雄性 BALB/C 小鼠	血清心肌酶水平升高, Bax 升高, Bcl-2, Nrf2 降低, 心肌组织损伤, 心肌细胞凋亡	TP 通过抑制 Nrf2, 损伤线粒体, 激活 Caspase-3, 触发细胞凋亡, 诱发心脏毒性	[32]
	40 nmol · L ⁻¹ , 24 h, H9c2 细胞	-	线粒体功能障碍, 细胞活性降低, 细胞凋亡	自噬在 TP 诱导的心脏毒性中有重要作用	[33]
	160 nmol · L ⁻¹ , 9 h, SD 大鼠原代 心肌细胞	1 200 μg · kg ⁻¹ , 静脉注 射, 24 h, 雄性 BALB/C 小鼠	心肌酶升高, GSH, SOD 降低, 心肌严重损伤	-	
	160 nmol · L ⁻¹ , 24 h, H9c2 细胞	1 200 μg · kg ⁻¹ , 静脉注 射, 24 h, C57BL/6 p53 ^{-/-} 小鼠	p53, Bax 表达升高, Bcl-2, Bcl-xL 降低, 心肌细胞凋亡	TP 调控 p53 通过 Bax 诱导的线粒体损伤介导细胞凋亡, 产生心脏毒性	[34]
	160 nmol · L ⁻¹ , 24 h, SD 大鼠原代 心肌细胞	1 200 μg · kg ⁻¹ , 静脉注 射, 24 h, C57BL6/J 小 鼠	-	-	
泌尿系统	80 nmol · L ⁻¹ , 12 h, NRK-52E 细胞	-	ROS 增加, GSH 耗竭, 细胞死亡	TP 通过诱导氧化应激导致肾细胞毒性, 抑制 Nrf2 则加重毒性	[35]
	25 nmol · L ⁻¹ , 24 h, NRK-52E 细胞	200 μg · kg ⁻¹ , 灌胃, 28 d, 雌性 Wistar 大 鼠	肾脏近端管状上皮细胞发生不规则改变, BUN 升高, 闭锁小带蛋白-1 缺失	TP 通过影响闭锁小带蛋白-1 和肾脏近端小管细胞渗透率导致肾毒性	[36]
	-	900 μg · kg ⁻¹ , 注射, 24 h, 雄性 BALB/C 小 鼠	BUN 水平升高	CYP450 蛋白质家族成员参与的脂肪酸代谢与 TP 诱导肾毒性相关	[37]
免疫系统	60 nmol · L ⁻¹ , 24 h, WEHI-3 细胞	20 μg · kg ⁻¹ , 灌胃, 14 d, 雄性 BALB/C 小 鼠	T 细胞, B 细胞, 单核细胞, 巨噬细胞数量增加, 外周血巨噬细胞吞噬功能增加	-	[39]

2 雷公藤甲素减毒作用

2.1 药物联用 联合疗法作为一种常见的治疗复杂疾病的方法, 在医疗实践中会获得比单一疗法更好的疗效和/或更小的毒性, 是一种有效的减毒研究策略。

体外实验研究显示, TP 是一种 CYP3A 酶抑制剂, 诱导或抑制 CYP3A 酶的产生在 TP 导致的肝损伤中具有重要作用^[40]。TAI 等^[41]开展的关于甘草酸(GL)促进 TP 代谢的研究显示, GL 可以通过诱导肝脏 CYP3A 酶的活性加速 TP 在大鼠体内的代谢和

清除,是 GL 减轻 TP 毒性的机制之一。18- β GL 则可通过影响血清中 ALT,AST 和碱性磷酸酶的水平,以及肝脏中丙二醛(MDA),超氧化物歧化酶(SOD),过氧化氢酶和 GSH-Px 的活性来缓解 TP 导致的肝损伤^[7]。LI 等^[42]利用代谢组学技术,发现甘草酸可以通过影响 P-gp 和多药耐药相关蛋白,降低 HK-2 细胞中 TP 的积累,从而减缓 TP 毒性。WANG 等^[43]在研究中,通过代谢组学分析发现,甘草通过调节色氨酸、泛酸、吡啶代谢途径对 TP 毒性产生了介导作用,为甘草解 TP 毒性提供了新的见解。

ZHANG 等^[44]通过代谢组学研究发现,三七、地黄与 TP 联合使用,可以显著降低 TP 诱导的总胆红素,ALT,AST,血尿素氮(BUN)升高,逆转了 TP 诱导的肝肾病理组织学特征。梓醇和三七皂苷分别是中药熟地黄和三七的活性成分,其均能通过调控核呼吸因子 1(Nrf1)及其下游基因线粒体转录因子 A 和细胞色素 C,进一步影响线粒体功能和细胞凋亡,有效降低 TP 诱导的 L-02 细胞肝毒性。同时,梓醇、三七皂苷或两者联用均能通过减少线粒体损伤,减少细胞凋亡,增加 Nrf1 蛋白表达,也能抑制 TP 诱导的肝毒性,进而起到保护肝脏的作用^[45]。

水飞蓟素是水飞蓟的一种提取物,具有抗炎、抗氧化和抗凋亡的作用,对肝脏具有保护作用。相关研究显示,其可减轻 TP 导致的急性肝损伤,且这种作用可能与水飞蓟素上调抗氧化酶的活性、抑制肝细胞凋亡、抑制 TP 诱导的脂质过氧化反应、降低炎症因子表达等有关^[46]。HU 等^[47]研究发现,槲皮素可抑制睾丸间质细胞中 ROS 的活性和累积,上调 SOD 的表达,减少 Caspase-9 和 Caspase-3,增加 Bcl-2,最终抑制细胞的凋亡。同时,槲皮素还可逆转 TP 所导致的 Nrf2 下降,从而达到减轻 TP 毒性的作用。WEI 等^[48]研究则发现,槲皮素可以通过调节 T 细胞免疫球蛋白及黏蛋白分子 3 和 Toll 样受体 4/髓样分化因子/核转录因子- κ B 信号通路,恢复 Th17/Treg 的平衡,从而缓解 TP 诱导的肝损伤。

其他研究发现,白藜芦醇可以减轻 TP 导致的不良反应^[49];苍术根水提取物可以通过诱导 CYP3A 的肝脏表达,从而降低 TP 诱导的毒性^[50];葡萄柚汁可通过抑制 P-gp 增加 TP 的吸收,或者通过抑制 CYP3A4 活性降低 TP 在大鼠肝脏中的代谢^[51],进一步降低 TP 所致的肝毒性。

2.2 TP 衍生物和载药系统 TP 具有严重的毒副作用和低水溶性的特点,但其某些化学性质可以

通过改变化学结构而改变。化学结构的修饰可以用来增加 TP 的水溶性或降低 TP 的毒性,进而使药物更加安全的应用于临床。许多研究人员已经研发了多种 TP 衍生物,主要包括(5R)-5-羟基雷公藤内酯(LLDT-8)^[52],PG490-88^[53],LLDT-67^[54],LLDT-288^[55],MRx102^[56]等。在这些衍生物中,LLDT-8 具有类似的免疫抑制和抗炎功能,但其毒性远低于 TP^[57]。LLDT-8 对 RA 患者的临床前试验和 I 期临床试验均证实了其具有良好的治疗作用^[57-58]。就其作用机制而言,LLDT-8 被认为可以抑制巨噬细胞的激活,调节 T 细胞的增殖和功能^[59-60]。通过 Fidler 等^[56]的临床前研究,发现 MRx102 比 TP 更加安全有效,是一种可以被推进到临床试验阶段的候选药物。

为了提高药物的安全性,许多载体系统也被不断探索研发,包括 TP 负载的纳米结构脂质载体(TP-NLCs)^[8],新型聚合物胶束(TP-PM)^[61],包覆叶酸的肿瘤 pH 敏感纳米制剂 TP^[62],分别使用聚酰胺酸-苯丙氨酸乙酯共聚物和聚酰胺-谷氨酸-二叔丁基-天冬氨酸盐酸盐包裹 TP(PPT 和 PAT)^[9,63],以 2-氨基葡萄糖为糖基供体和 TP 为受体合成的雷公藤甲素氨基糖苷(TPAG)^[64],以及 TP-葡萄糖胺偶联物(TPG)^[65]。在这些载体系统中,TP-PM 具有抗肿瘤功效^[61],PPT 和 PAT 具有抗炎和减轻骨破坏的作用^[9,63],TPAG 和 TPG 则对不同原因引起的肾脏损伤具有较好的保护作用,可用于治疗肾脏疾病^[64-65]。在具有良好治疗作用的同时,这些载体系统对肝、肾、脾和睾丸等的毒性均要低于 TP 的毒性。

无论是药物联用,还是 TP 衍生物及载药系统,都是对 TP 减毒研究的积极尝试,但目前转化为临床应用的还较少。这可能是由于 TP 本身的毒副作用机制尚不完全明确,药物联用虽然可以发挥减毒作用,但多个药物同时应用可能会出现药物作用靶点多的现象,这就使得减毒机制变得更加复杂。而 TP 衍生物和载药系统虽然有明确的减毒机制,但其化学结构的改变可能会导致新的毒副作用。因此,在未来的研究中,还需要科研工作者利用不同的技术,从不同的角度对 TP 进行更加深入和明确的减毒机制研究。见图 2。

3 总结与展望

越来越多的临床前研究证实了 TP 的免疫抑制、抗炎和抗肿瘤作用。但随着近年来对 TP 的研究逐渐深入,许多学者在探索其强大的生物活性和

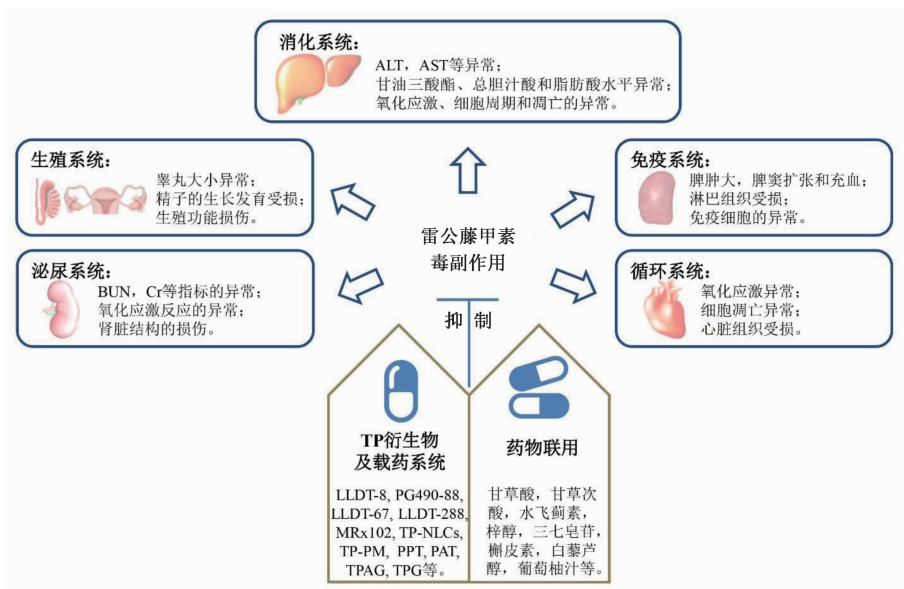


图 2 雷公藤甲素对机体的毒副作用及减毒研究概括
Fig.2 Side effect and attenuation studies of triptolide

药理作用时逐渐发现 TP 严重的毒副作用影响了其广泛应用。因此,如何在不影响其药理作用的条件下降低 TP 的毒性成为研究者关注的焦点。本文主要整合分析了近几年来 TP 的毒副作用及其减毒研究,为减轻 TP 毒副作用的基础研究以及将来临床应用提供了一定的思路。同时,近年来的大量研究也提示在之后 TP 的临床应用中,医务工作者应根据 TP 毒副作用的特点,有目的地选择合适的方法来减轻或避免这些毒副作用,最大程度地发挥 TP 的药效,使临床应用更加安全有效,也为 TP 相关制剂的开发和应用打下良好的基础。

[5] ZHU J, WANG H, CHEN F, et al. Triptolide enhances chemotherapeutic efficacy of antitumor drugs in non-small-cell lung cancer cells by inhibiting Nrf2-ARE activity [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, 358: 1-9.

[6] LI X J, JIANG Z Z, ZHANG L Y. Triptolide: progress on research in pharmacodynamics and toxicology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 155(1): 67-79.

[7] YANG G, WANG L, YU X, et al. Protective effect of 18 β -glycyrrhetic acid against triptolide-induced hepatotoxicity in rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 1-12.

[8] ZHANG C, PENG F, LIU W, et al. Nanostructured lipid carriers as a novel oral delivery system for triptolide: induced changes in pharmacokinetics profile associated with reduced toxicity in male rats [J]. *Int J Nanomedicine*, 2014, 9: 1049-1063.

[9] ZHANG L, CHANG J, ZHAO Y, et al. Fabrication of a triptolide-loaded and poly-gamma-glutamic acid-based amphiphilic nanoparticle for the treatment of rheumatoid arthritis [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 2051-2064.

[10] HAN R, Rostami-Yazdi M, Gerdes S, et al. Triptolide in the treatment of psoriasis and other immune-mediated inflammatory diseases [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2012, 74(3): 424-436.

[11] ZHAO J, XIE C, MU X, et al. Metabolic alterations in triptolide-induced acute hepatotoxicity [J]. *Biomed Chromatogr*, 2018, 32(10): 1-26.

[12] WANG J, JIANG Z, JI J, et al. Gene expression profiling and pathway analysis of hepatotoxicity induced

[参考文献]

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第五册十三卷[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999: 206-214.

[2] CHEN B J. Triptolide, a novel immunosuppressive and anti-inflammatory agent purified from a Chinese herb *Tripterygium wilfordii* Hook F [J]. *Leuk Lymphoma*, 2001, 42(3): 253-265.

[3] Varghese E, Samuel S M, Varghese S, et al. Triptolide decreases cell proliferation and induces cell death in triple negative MDA-MB-231 breast cancer cells [J]. *Biomolecules*, 2018, 8(4): 1-14.

[4] Kim S T, Kim S Y, Lee J, et al. Triptolide as a novel agent in pancreatic cancer: the validation using patient derived pancreatic tumor cell line [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 1-7.

- by triptolide in Wistar rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 58: 495-505.
- [13] LI J, SHEN F, GUAN C, et al. Activation of Nrf2 protects against triptolide-induced hepatotoxicity [J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e100685.
- [14] WANG X, JIANG Z, XING M, et al. Interleukin-17 mediates triptolide-induced liver injury in mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 71: 33-41.
- [15] WANG X, JIANG Z, CAO W, et al. Th17/Treg imbalance in triptolide-induced liver injury [J]. *Fitoterapia*, 2014, 93: 245-251.
- [16] WANG X, SUN L, ZHANG L, et al. Effect of adoptive transfer or depletion of regulatory T cells on triptolide-induced liver injury [J]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 1-11.
- [17] Vliegenthart A D B, WEI C, Buckley C, et al. Characterization of triptolide-induced hepatotoxicity by imaging and transcriptomics in a novel zebrafish model [J]. *Toxicol Sci*, 2017, 159(2): 380-391.
- [18] ZHUANG X M, SHEN G L, XIAO W B, et al. Assessment of the roles of P-glycoprotein and cytochrome P450 in triptolide-induced liver toxicity in sandwich-cultured rat hepatocyte model [J]. *Drug Metab Dispos*, 2013, 41(12): 2158-2165.
- [19] KONG L L, ZHUANG X M, YANG H Y, et al. Inhibition of P-glycoprotein gene expression and function enhances triptolide-induced hepatotoxicity in mice [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 1-13.
- [20] ZHANG Y, LI J, LEI X, et al. Influence of verapamil on pharmacokinetics of triptolide in rats [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2016, 41(4): 449-456.
- [21] DU F, LIU Z, LI X, et al. Metabolic pathways leading to detoxification of triptolide, a major active component of the herbal medicine *Tripterygium wilfordii* [J]. *J Appl Toxicol*, 2014, 34(8): 878-884.
- [22] LU Y, XIE T, ZHANG Y, et al. Triptolide induces hepatotoxicity via inhibition of CYP450s in rat liver microsomes [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2017, 17(1): 1-15.
- [23] WANG L, XU D, LI L, et al. Possible role of hepatic macrophage recruitment and activation in triptolide-induced hepatotoxicity [J]. *Toxicol Lett*, 2018, 299: 32-39.
- [24] YOU L, DONG X, NI B, et al. Triptolide induces apoptosis through Fas death and mitochondrial pathways in HepaRG cell line [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1-9.
- [25] ZENG Y, SUN H, LI Y, et al. Exposure to triptolide affects follicle development in NIH mice: role of endoplasmic reticulum stress in granulosa cell apoptosis [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2016, 36(1): 82-92.
- [26] LIU J, JIANG Z, LIU L, et al. Triptolide induces adverse effect on reproductive parameters of female Sprague-Dawley rats [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2011, 34(1): 1-7.
- [27] Dhar P, Singla N. Effect of triptolide on reproduction of female lesser bandicoot rat, *Bandicota bengalensis* [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2014, 37(4): 448-458.
- [28] Dhar P, Singla N. Histomorphological and biochemical changes induced by triptolide treatment in male lesser bandicoot rat, *Bandicota bengalensis* [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2014, 116: 49-55.
- [29] Singla N, Challana S. Reproductive toxicity of triptolide in male house rat, *Rattus rattus* [J]. *Sci World J*, 2014, 2014: 1-6.
- [30] RUAN Q, XU Y, XU R, et al. The adverse effects of triptolide on the reproductive system of *Caenorhabditis elegans*: oogenesis impairment and decreased oocyte quality [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(2): 1-18.
- [31] MA B, QI H, LI J, et al. Triptolide disrupts fatty acids and peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) levels in male mice testes followed by testicular injury: a GC-MS based metabolomics study [J]. *Toxicology*, 2015, 336: 84-95.
- [32] ZHOU J, XI C, WANG W, et al. Triptolide-induced oxidative stress involved with Nrf2 contribute to cardiomyocyte apoptosis through mitochondrial dependent pathways [J]. *Toxicol Lett*, 2014, 230(3): 454-466.
- [33] ZHOU J, XI C, WANG W, et al. Autophagy plays an important role in triptolide-induced apoptosis in cardiomyocytes [J]. *Toxicol Lett*, 2015, 236(3): 168-183.
- [34] XI Y, WANG W, WANG L, et al. Triptolide induces p53-dependent cardiotoxicity through mitochondrial membrane permeabilization in cardiomyocytes [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, 355: 269-285.
- [35] LI J, JIN J, LI M, et al. Role of Nrf2 in protection against triptolide-induced toxicity in rat kidney cells [J]. *Toxicol Lett*, 2012, 213(2): 194-202.
- [36] SUN L, LI H, HUANG X, et al. Triptolide alters barrier function in renal proximal tubular cells in rats [J]. *Toxicol Lett*, 2013, 223(1): 96-102.
- [37] LI M, HU T, TIE C, et al. Quantitative proteomics and targeted fatty acids analysis reveal the damage of triptolide in liver and kidney [J]. *Proteomics*, 2017,

- 17(22): 1-25.
- [38] QIU D, KAO P N. Immunosuppressive and anti-inflammatory mechanisms of triptolide, the principal active diterpenoid from the Chinese medicinal herb *Tripterygium wilfordii* Hook. f [J]. *Drugs R D*, 2003, 4(1): 1-18.
- [39] CHAN S F, CHEN Y Y, LIN J J, et al. Triptolide induced cell death through apoptosis and autophagy in murine leukemia WEHI-3 cells *in vitro* and promoting immune responses in WEHI-3 generated leukemia mice *in vivo* [J]. *Environ Toxicol*, 2017, 32(2): 550-568.
- [40] SHEN G, ZHUANG X, XIAO W, et al. Role of CYP3A in regulating hepatic clearance and hepatotoxicity of triptolide in rat liver microsomes and sandwich-cultured hepatocytes [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 71: 90-96.
- [41] TAI T, HUANG X, SU Y, et al. Glycyrrhizin accelerates the metabolism of triptolide through induction of CYP3A in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 152(2): 358-363.
- [42] LI Z, YAN M, CAO L, et al. Glycyrrhetic acid accelerates the clearance of triptolide through P-gp *in vitro* [J]. *Phyther Res*, 2017, 31(7): 1090-1096.
- [43] WANG Z, LIU J Q, XU J D, et al. UPLC/ESI-QTOF-MS-based metabolomics survey on the toxicity of triptolide and detoxication of licorice [J]. *Chin J Nat Med*, 2017, 15(6): 474-480.
- [44] ZHANG Q, LI Y, LIU M, et al. Compatibility with *Panax notoginseng* and *Rehmannia glutinosa* Alleviates the hepatotoxicity and nephrotoxicity of *Tripterygium wilfordii* via modulating the pharmacokinetics of triptolide [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): 1-14.
- [45] ZHOU L, ZHOU C, FENG Z, et al. Triptolide-induced hepatotoxicity can be alleviated when combined with *Panax notoginseng* saponins and Catapol [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 214: 232-239.
- [46] WANG L, HUANG Q H, LI Y X, et al. Protective effects of silymarin on triptolide-induced acute hepatotoxicity in rats [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1): 789-800.
- [47] HU J, YU Q, ZHAO F, et al. Protection of quercetin against triptolide-induced apoptosis by suppressing oxidative stress in rat Leydig cells [J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 240: 38-46.
- [48] WEI C B, TAO K, JIANG R, et al. Quercetin protects mouse liver against triptolide-induced hepatic injury by restoring Th17/Treg balance through Tim-3 and TLR4-MyD88-NF-kappaB pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 53: 73-82.
- [49] YANG Y, WANG W, XIONG Z, et al. Resveratrol protects against triptolide-induced cardiotoxicity through SIRT3 signaling pathway *in vivo* and *in vitro* [J]. *Pharmazie*, 2016, 71(9): 514-523.
- [50] WEI Y, SUI D J, XU H M, et al. Atractylodes lancea rhizome water extract reduces triptolide-induced toxicity and enhances anti-inflammatory effects [J]. *Chin J Nat Med*, 2017, 15(12): 905-911.
- [51] JIA Y, LIU J, XU J. Influence of grapefruit juice on pharmacokinetics of triptolide in rats grapefruit juice on the effects of triptolide [J]. *Xenobiotica*, 2018, 48(4): 407-411.
- [52] WANG L, XU Y, FU L, et al. (5R)-5-hydroxytriptolide (LLDT-8), a novel immunosuppressant in clinical trials, exhibits potent antitumor activity via transcription inhibition [J]. *Cancer Lett*, 2012, 324(1): 75-82.
- [53] Fidler J M, LI K, CHUNG C, et al. PG490-88, a derivative of triptolide, causes tumor regression and sensitizes tumors to chemotherapy [J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(9): 855-862.
- [54] WU D D, HUANG L, ZHANG L, et al. LLDT-67 attenuates MPTP-induced neurotoxicity in mice by up-regulating NGF expression [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33(9): 1187-1194.
- [55] XU H, FAN X, ZHANG G, et al. LLDT-288, a novel triptolide analogue exhibits potent antitumor activity *in vitro* and *in vivo* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 93: 1004-1009.
- [56] Fidler J M, An J, Carter B Z, et al. Preclinical antileukemic activity, toxicology, toxicokinetics and formulation development of triptolide derivative MRx102 [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2014, 73(5): 961-974.
- [57] TANG W, ZUO J P. Immunosuppressant discovery from *Tripterygium wilfordii* Hook f: the novel triptolide analog (5R)-5-hydroxytriptolide (LLDT-8) [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33(9): 1112-1118.
- [58] ZHOU R, TANG W, REN Y X, et al. (5R)-5-hydroxytriptolide attenuated collagen-induced arthritis in DBA/1 mice via suppressing interferon-gamma production and its related signaling [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 318(1): 35-44.
- [59] ZHOU R, ZHENG S X, TANG W, et al. Inhibition of inducible nitric-oxide synthase expression by (5R)-5-hydroxytriptolide in interferon-gamma-and bacterial lipopolysaccharide-stimulated macrophages [J]. *J*

- Pharmacol Exp Ther, 2005, 316(1): 121-128.
- [60] FU Y F, ZHU Y N, NI J, et al. (5R)-5-hydroxytriptolide (LLDT-8), a novel triptolide derivative, prevents experimental autoimmune encephalomyelitis via inhibiting T cell activation [J]. J Neuroimmunol, 2006, 175(1/2): 142-151.
- [61] XU L, QIU Y, XU H, et al. Acute and subacute toxicity studies on triptolide and triptolide-loaded polymeric micelles following intravenous administration in rodents [J]. Food Chem Toxicol, 2013, 57: 371-379.
- [62] LING D, XIA H, Park W, et al. pH-sensitive nanoformulated triptolide as a targeted therapeutic strategy for hepatocellular carcinoma [J]. ACS Nano, 2014, 8(8): 8027-8039.
- [63] ZHANG L, WANG T, LI Q, et al. Fabrication of novel vesicles of triptolide for antirheumatoid activity with reduced toxicity *in vitro* and *in vivo* [J]. Int J Nanomedicine, 2016, 11: 2663-2673.
- [64] QI B, WANG X, ZHOU Y, et al. A renal-targeted triptolide aminoglycoside (TPAG) conjugate for lowering systemic toxicities of triptolide [J]. Fitoterapia, 2015, 103: 242-251.
- [65] FU Y, LIN Q, GONG T, et al. Renal-targeting triptolide-glucosamine conjugate exhibits lower toxicity and superior efficacy in attenuation of ischemia/reperfusion renal injury in rats [J]. Acta Pharmacol Sin, 2016, 37(11): 1467-1480.

[责任编辑 张丰丰]