

红景天苷的提取工艺和抗肿瘤药理作用研究进展[△]

张丽娜*, 周畅均, 胡立玫, 任小宾, 尹丽梅, 毛敏, 赫军[#](中日友好医院药学部, 北京 100029)

中图分类号 R932

文献标志码 A

文章编号 1672-2124(2021)09-1145-04

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2021.09.029

摘要 红景天苷的提取工艺包括热回流提取、超声提取、微波提取、酶解法提取、闪式提取、超高压提取、深共熔溶剂提取及多技术耦合提取等,其具有抗肺癌、胃癌、肝癌和乳腺癌等 10 余种肿瘤的药理作用。查阅了近 10 年来红景天苷的提取工艺及其抗肿瘤的国内外最新研究进展文献,对其进行整理分析,总结红景天苷的提取工艺和抗肿瘤的药理作用,为红景天资源的合理利用及红景天苷的抗肿瘤药研发提供一定参考。

关键词 红景天苷; 提取工艺; 抗肿瘤; 研究进展

Research Progress on Extraction Technology and Anti-Tumor Pharmacological Effects of Salidroside[△]

ZHANG Lina, ZHOU Changdi, HU Limei, REN Xiaobin, YIN Limei, MAO Min, HE Jun (Dept. of Pharmacy, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

ABSTRACT The extraction technology of rhodiolide includes heat reflux extraction, ultrasonic extraction, microwave extraction, enzymatic extraction, flash extraction, ultra-high pressure extraction, deep eutectic solvent extraction and multi-technology coupled extraction, which has anti-lung cancer, anti-gastric cancer, anti-liver cancer and anti-breast cancer and other pharmacological effects against more than 10 kinds of tumors. This paper reviews the latest literature on the extraction technology of salidroside and its anti-tumor research in recent 10 years at home and abroad, analyzes and summarizes the extraction technology and anti-tumor pharmacological action of salidroside, so as to provide certain reference for the rational application of salidroside and the research and development of anti-tumor drugs of salidroside.

KEYWORDS Salidroside; Extraction technology; Anti-tumor; Research progress

红景天为景天科植物大花红景天 *Rhodiola crenulata* (Hook. f. et Thoms.) H. Ohba 的干燥根和根茎,在《神农本草经》中被列为上品,主要分布于四川、西藏和新疆等地。红景天具有健脾益气、清肺止咳和活血化瘀的功效,现代药理学研究结果显示,其具有抗肿瘤、抗缺氧、抗疲劳和抗炎等药理作用,在临床被广泛用于气虚血瘀、胸痹心痛、中风偏瘫和倦怠气喘等^[1]。红景天属于高原珍稀药用植物,主要化学成分有黄酮类、多酚酸类、苯丙素类、苯乙醇苷类及多糖类等^[2]。红景天苷是红景天中的特征性成分,也是《中华人民共和国药典·一部》(2015 年版)中红景天的质量控制指标成分^[3]。检索文献发现,近 10 年来,国内外针对红景天苷开展了广泛且深入的研究,其中红景天苷的提取工艺及其抗肿瘤药理作用是当前研究的热点。红景天苷是一种前景较好的抗肿瘤候选化合物及化疗增敏剂,目前已证明其对 10 余种肿瘤细胞均有明确的抑制作用。本文综述了近 10 年来关于红景天苷的提取工艺和抗肿瘤药理作用研究进展,以期对红景天苷的抗肿瘤药研发及红景天的资源利用提供一定的参考。

1 红景天苷的提取工艺

1.1 热回流提取

蒲忠慧等^[4]通过均匀实验设计优选红景天苷的热回流提

取工艺,发现乙醇浓度、液料比和提取时间对红景天苷得率的影响显著($P < 0.05$),而浸渍时间对得率影响较小($P > 0.05$),最佳工艺为乙醇浓度 60%,液料比 5:1 (ml:g),提取时间 3 h。刘桂艳^[5]通过单因素实验优化的红景天苷最佳提取工艺为乙醇浓度 61%,提取时间 45.11 min,提取温度 63 ℃。

1.2 超声提取

董彦莉^[6]通过单因素和正交试验优化红景天苷的超声提取工艺,发现最佳工艺参数为乙醇浓度 60%,液料比 20:1 (ml:g),提取温度 40 ℃,提取时间 75 min,各因素对提取率的影响依次为温度>液料比>提取时间>乙醇浓度。

1.3 微波提取

闵建华等^[7]采用正交试验优选红景天苷的最佳微波提取工艺,并与热回流及超声提取比较,得到的最佳工艺参数为微波功率 462 W,液料比 10:1 (ml:g),提取 3 次,每次 90 s,红景天苷的转移率达到 99.86%,优于热回流提取及超声提取。

1.4 酶解法提取

岳显文等^[8]通过正交试验优选的酶解法提取工艺,发现红景天苷最佳工艺参数为纤维素酶用量 1.75%,酶解温度 65 ℃,酶解时间 60 min,各因素对提取率的影响依次为酶用量>酶解温度>酶解时间,该法的提取量比水提法提高了 74.16%。

1.5 闪式提取

范桂强等^[9]以 95%乙醇作为提取溶剂,在单因素试验基础上设计了正交试验优化红景天苷的闪式提取工艺,发现液料比是最显著影响因素($P < 0.01$),而提取电压、时间及次数

△ 基金项目:中国轻工业化妆品重点实验室开放课题基金 (No. KLC-2020-YB9)

* 药师。研究方向:中药调剂。E-mail: zlnw1989@yeah.net

[#] 通信作者:副主任药师,博士。研究方向:中药制剂及新药开发。E-mail: 15010297582@126.com

的影响不显著,得到的最佳工艺为液料比 20:1(ml:g),提取电压 140 V,提取时间 40 s,提取次数 2 次,该工艺下红景天苷的提取率高达(3.83±0.12)%;与其他提取方式比较,提取率依次为闪式提取>超声提取>普通提取,其中闪式提取的提取率较普通提取提高 165.37%,较超声提取提高 58.26%。

1.6 超高压提取

陈健等^[10]利用星点设计结合效应面法优选红景天中红景天苷的超高压提取工艺,得到最佳工艺参数为提取溶剂 73.3%乙醇,压力 255.5 MPa,液料比 29.5:1(ml:g),提取时间 2 min,提取次数 1 次,该工艺下红景天苷的提取率为 9.29 mg/g,比回流法的提取率高 31.6%,比超声法的提取率高 20.3%,比微波法的提取率高 9.7%。

1.7 深共熔溶剂(deep eutectic solvent,DES)提取

DES 法目前已在红景天^[11]、山楂^[12]的有效成分提取中得到了应用。吴蓉等^[11,13]采用 DES 法同步提取红景天中红景天苷和酪醇,通过优化氢键供体、氢键受体、氢键供体与氢键受体摩尔比和 DES 含水量等因素,获得了同步提取的最佳 DES 为乙二醇-乙酰丙酸(摩尔比为 1:1),含水质量分数为 40%,以优化出的 DES 作为提取溶剂,对提取方法、液料比、提取温度和时间等因素进行优化,获得了 DES 法的最佳提取工艺为搅拌速度 150 r/min,液料比 12.5:1(ml:g),提取温度 60℃,提取时间 65 min,上述条件下红景天苷的提取率可达(18.126±0.1667)mg/g,高于以水和乙醇等传统溶剂进行提取。

1.8 多技术耦合提取

曾庆华等^[14]以乙醇为溶剂,在单因素实验基础上,利用中心组合设计优化出红景天苷的超声-微波耦合提取最佳工艺为乙醇体积分数 70%,液料比 20:1(ml:g),超声时间 20 min,微波功率 400 W,微波时间 10 min,提取次数 3 次,最佳工艺下红景天苷的平均得率为 2.21%。王丹等^[15]以单因素实验筛选超临界 CO₂ 流体萃取(supercritical carbon dioxide extraction,SFE-CO₂)-微波耦合提取红景天中红景天苷的最佳工艺,结果表明,最优工艺参数为夹带剂无水乙醇,萃取压力 40 MPa,温度 55℃,萃取时间 5 h,萃取后加入 30 ml 超纯水浸泡 2 h,功率 180 W 下微波处理 2 min,上述工艺下红景天苷的提取率为 95.3%。

2 红景天苷的抗肿瘤药理活性

大量国内外研究结果表明,红景天苷对消化道肿瘤、妇科肿瘤等均具有较好的抑制作用,可提高机体免疫功能,不良反应小,不易产生耐药性,并且是一种较好的多种化疗药增敏剂,与化疗药协同给药能够明显提高化疗效果。红景天苷的抗肿瘤作用机制和转导通路或作用靶点目前尚未完全阐明,研究结果表明,其作用机制包括抑制肿瘤细胞增殖、影响肿瘤细胞周期、诱导肿瘤细胞凋亡、诱导肿瘤细胞向正常分化、抗血管生成和侵袭以及联合使用作用机制不同的化疗药等多方面。

2.1 呼吸系统肿瘤

肺癌:Ren 等^[16]采用不同剂量的红景天苷对肺癌 A549 细胞株进行治疗,发现红景天苷可显著降低细胞存活率、集落形成及细胞周期蛋白 D1 表达,研究结果证实,红景天苷通过上调 A549 细胞 miR-195 的表达阻断磷酸化蛋白激酶(AKT)和分裂原活化抑制剂/蛋白激酶(MEK/ERK)信号通路,从而起到抗肺癌作用。Wang 等^[17]研究了红景天苷对 A549 肺癌细

胞增殖、凋亡、细胞周期、侵袭及上皮间质转化的作用,发现红景天苷能够显著抑制转化生长因子β诱导的肿瘤入侵和 G₀/G₁ 期细胞周期阻滞,显著降低肿瘤细胞增殖,并诱导细胞凋亡,其机制可能是通过干扰肺癌细胞内活性氧(ROS)生成,从而下调 ROS-phospho-p38 信号通路来实现的。

2.2 消化系统肿瘤

2.2.1 胃癌:Yang 等^[18]采用红景天苷处理胃癌细胞系(SNU-216 和 MGC803)和胃上皮细胞系 GES-1,发现红景天苷能够显著降低胃癌细胞 SNU-216 和 MGC803 的活力,而对 GES-1 无影响;红景天苷能够抑制胃癌细胞增殖、迁移、侵袭并促进细胞凋亡,其机制与 p21、Bcl-2、MMP2、RhoA、p-ROCK1 和 Vimentin 的表述下调,Cyclin D1、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)的表述上调有关;该研究在胃癌小鼠模型中也得到了同样结果,即红景天苷抗胃癌是通过调控 miR-99a/IGF1R 轴,抑制 MAPK/ERK 和 PI3K/AKT 通路来实现的。Qi 等^[19]的研究结果发现,红景天苷对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用及分子机制与下调 ROS 介导的血清肌酐相关信号通路激活有关。

2.2.2 肝癌:Qin 等^[20]通过抑制耐药性来研究红景天苷的抗肿瘤作用,发现红景天苷与铂类药物协同给药可逆转铂类药物的耐药性,并抑制缺氧肝肿瘤微环境引起的转移,抑制缺氧诱导的肝癌细胞 EMT,促进 HIF-1α 的降解,表明红景天苷能够通过介导 HIF-1α 信号通路提高肝肿瘤缺氧环境和逆转铂类耐药性。刘莲等^[21]的研究结果发现,红景天苷与阿霉素联合应用可有效抑制裸鼠肝癌移植瘤生长,效果优于单独使用阿霉素或红景天苷。上述研究结果为红景天苷提高肝癌患者的化疗效果开辟了新的前景。

2.2.3 结直肠癌:Fan 等^[22]研究了红景天苷对人结直肠癌细胞的抑制作用,发现红景天苷通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路来诱导人结直肠癌细胞凋亡和自噬,并显示出较强的抗增殖活性,同时确定了红景天苷对人结直肠癌细胞增殖的抑制作用呈剂量依赖性。

2.3 妇科肿瘤

2.3.1 乳腺癌:Kang 等^[23]分析了红景天苷影响乳腺癌的主要因素,并阐明其抑制血管生成和侵袭能力的信号转导和转录激活因子 3(STAT3)是乳腺癌血管生成和迁移的标志,STAT3 能够与基质金属蛋白酶(MMP)相互作用,而红景天苷可下调 STAT3 信号通路,抑制 STAT3 的 DNA 结合活性,进而抑制乳腺癌细胞的活性、迁移和侵袭。Zhao 等^[24]将人乳腺癌细胞 MCF-7 与不同浓度的红景天苷进行孵育,发现红景天苷可明显抑制乳腺癌细胞增殖、集落形成、迁移和侵袭,且可在体外诱导细胞凋亡,并将细胞周期阻滞在 G₀/G₁ 期。

2.3.2 宫颈癌:张洋等^[25]研究了不同浓度红景天苷对宫颈癌 HeLa 细胞增殖的抑制作用及其作用机制,结果表明,不同浓度红景天苷均能明显抑制 HeLa 细胞增殖,增加凋亡细胞数量,增强 Caspase-3、Caspase-9 的表达,提示红景天苷在宫颈癌的治疗中具有一定作用。章丽霞等^[26]的研究结果发现,红景天苷能够通过显著降低小鼠宫颈癌移植瘤中 Eag1 的表达,抑制移植瘤生长,降低移植瘤体积及质量,且与顺铂联合应用的效果更为显著。

2.3.3 卵巢癌:Yu 等^[27]的研究结果发现,红景天苷能激活卵

巢癌细胞 SKOV3 和 A2780 的 Caspase 通路,上调凋亡诱导因子、Bax 和 Bcl-2 相关死亡启动子(Bad)蛋白水平,红景天苷还能下调凋亡蛋白的 Bcl-2、p-Bad 和 X 连锁凋亡抑制因子水平,据此推测 p53/p21^{Cip1/Waf1}/p16^{INK4a} 通路可能在红景天苷介导卵巢癌细胞凋亡中起到关键作用。

2.4 内分泌系统肿瘤

甲状腺癌:Shang 等^[28]采用创伤愈合实验、transwell 迁移/侵袭实验和流式细胞术检测红景天苷对低分化甲状腺癌 WOR 细胞和正常甲状腺滤泡上皮 Nthy-ori3-1 细胞迁移、侵袭和凋亡的影响,发现红景天苷能明显抑制 WRO 细胞迁移和侵袭,其机制与抑制 JAK2/STAT3 信号通路有关。

2.5 泌尿系统肿瘤

膀胱癌:Li 等^[29]研究了红景天苷对膀胱癌细胞活力和凋亡的影响及其作用机制,发现红景天苷通过 PI3K/Akt 和 MMP-9 信号通路降低了膀胱癌细胞的生存能力,诱导膀胱癌细胞死亡。

2.6 运动系统肿瘤

软骨肉瘤:Zeng 等^[30]的研究结果发现,红景天苷能够诱导人类软骨肉瘤细胞系 SW1353 凋亡,并在 SW1353 细胞中诱导自

噬反应,使 LC3-II 表达上调、p62 表达下调;红景天苷还诱导了 TFEB(Ser142)去磷酸化,随后激活 TFEB 核易位并增加 TFEB 基因活性,而这有助于自噬相关基因的表达;红景天苷还可触发 SW1353 细胞中 ROS 的生成。该研究结果表明,阻断 ROS-TFEB 依赖性自噬能够增强红景天苷的活性。上述结果为软骨肉瘤的治疗提供了一种新的策略,值得进一步深入研究。

2.7 其他肿瘤

皮肤癌:Kong 等^[31]研究了红景天苷对二羟甲基丁酸/对苯二甲酸诱导的小鼠皮肤癌的作用,发现红景天苷能够使 Bax 和 caspase-3 表达增加,从而诱导 p21 及 p53 表达上调,说明红景天苷能够明显诱导皮肤癌细胞凋亡,预防皮肤癌发生。

3 小结与展望

热回流提取是传统提取方法,也是目前应用最多的提取方式,但由于实验设计及因素水平等的差异,导致不同研究者所得的最佳工艺参数差异较大,因此,应注重加强实验设计的严谨性及对最佳工艺参数的验证。随着制药设备的快速发展,采用超声提取、微波提取、闪式提取和超高压提取等方法提取红景天苷也逐渐得到普及。微波提取红景天苷的工艺具有有效

(下转第 1152 页)

(上接第 1144 页)

[33] Branick K, Taylor MJ, Trump MW, et al. Apparent interference with extracorporeal membrane oxygenation by liposomal amphotericin B in a patient with disseminated blastomycosis receiving continuous renal replacement therapy[J]. Am J Health Syst Pharm, 2019, 76(11): 810-813.

[34] 中国医药教育协会感染疾病专业委员会. 抗菌药物药代动力学/药效学理论临床应用专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2018, 41(6): 409-446.

[35] Puia-Dumitrescu M, Smith PB. Antifungal drugs in newborns and children[J]. Pediatr Clin North Am, 2017, 64(6): 1389-1402.

[36] Bellmann R, Smuszkiewicz P. Pharmacokinetics of antifungal drugs: practical implications for optimized treatment of patients[J]. Infection, 2017, 45(6): 737-779.

[37] Watt KM, Benjamin DK Jr, Cheifetz IM, et al. Pharmacokinetics and safety of fluconazole in young infants supported with extracorporeal membrane oxygenation[J]. Pediatr Infect Dis J, 2012, 31(10): 1042-1047.

[38] Watt KM, Gonzalez D, Benjamin DK Jr, et al. Fluconazole population pharmacokinetics and dosing for prevention and treatment of invasive Candidiasis in children supported with extracorporeal membrane oxygenation[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2015, 59(7): 3935-3943.

[39] Watt KM, Cohen-Wolkowicz M, Barrett JS, et al. Physiologically based pharmacokinetic approach to determine dosing on extracorporeal life support: Fluconazole in children on ECMO[J]. CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol, 2018, 7(10): 629-637.

[40] Jung N, Mrona S, Schroth S, et al. Gardening can induce pulmonary failure: Aspergillus ARDS in an immunocompetent patient, a case report[J]. BMC Infect Dis, 2014, 14: 600.

[41] Ruiz S, Papy E, Da Silva D, et al. Potential voriconazole and caspofungin sequestration during extracorporeal membrane oxygenation[J]. Intensive Care Med, 2009, 35(1): 183-184.

[42] Spriet I, Annaert P, Meersseman P, et al. Pharmacokinetics of caspofungin and voriconazole in critically ill patients during extracorporeal membrane oxygenation[J]. J Antimicrob Chemother, 2009, 63(4): 767-770.

[43] Brüggemann RJ, Donnelly JP, Aarnoutse RE, et al. Therapeutic drug monitoring of voriconazole[J]. Ther Drug Monit, 2008, 30(4): 403-411.

[44] Brüggemann RJ, Antonius T, Heijst Av, et al. Therapeutic drug monitoring of voriconazole in a child with invasive aspergillosis requiring extracorporeal membrane oxygenation[J]. Ther Drug Monit, 2008, 30(6): 643-646.

[45] Zurl C, Waller M, Schwameis F, et al. Isavuconazole treatment in a mixed patient cohort with invasive fungal infections: outcome, tolerability and clinical implications of isavuconazole plasma concentrations[J]. J Fungi (Basel), 2020, 6(2): 90.

[46] Borsuk-De Moor A, Sysiak-Sławecka J, Rypulak E, et al. Nonstationary pharmacokinetics of caspofungin in ICU patients[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2020, 64(9): e00345-20.

[47] Stone JA, Holland SD, Wickersham PJ, et al. Single- and multiple-dose pharmacokinetics of caspofungin in healthy men[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46(3): 739-745.

[48] Koch BC, Wildschut ED, Goede AL, et al. Insufficient serum caspofungin levels in a paediatric patient on ECMO[J]. Med Mycol Case Rep, 2012, 2: 23-24.

[49] Aguilar G, Ferriols R, Carbonell JA, et al. Pharmacokinetics of anidulafungin during venovenous extracorporeal membrane oxygenation[J]. Crit Care, 2016, 20(1): 325.

[50] Liu P, Ruhnke M, Meersseman W, et al. Pharmacokinetics of anidulafungin in critically ill patients with candidemia/invasive candidiasis[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2013, 57(4): 1672-1676.

[51] Ashbee HR, Barnes RA, Johnson EM, et al. Therapeutic drug monitoring (TDM) of antifungal agents: guidelines from the British Society for Medical Mycology[J]. J Antimicrob Chemother, 2014, 69(5): 1162-1176.

[52] Gómez-López A. Antifungal therapeutic drug monitoring: focus on drugs without a clear recommendation[J]. Clin Microbiol Infect, 2020, 26(11): 1481-1487.

(收稿日期: 2021-05-24)