

· 专题 ·

不同企业雷公藤多苷片及其主要单体成分
药效作用评价[△]汪祺¹, 王曼虹¹, 王亚丹¹, 张乐帅², 马双成^{1*}, 文海若^{1*}

1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050;

2. 苏州大学, 江苏 苏州 215123

[摘要] 目的: 依托国家药品评价抽验项目, 考察不同生产企业雷公藤多苷片及其中主要单体成分的抗炎及免疫抑制活性, 为阐释该制剂的药效物质基础提供实验依据。方法: 以脂多糖(LPS)诱导小鼠巨噬细胞 RAW264.7 为体外炎症模型, 并以一氧化氮(NO)分泌水平和分化抗原簇 86(CD86)表达水平为指标, 明确雷公藤多苷片及其主要成分的药效作用。结果: 实验发现, 不同企业雷公藤多苷片均可拮抗 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中 NO 和 CD86 水平升高, 具有不同程度的抗炎及免疫抑制活性, 但其药理活性与制剂中所含雷公藤甲素、雷公藤内酯甲不完全呈正相关, 提示存在其他药效成分; 单体实验发现, 标准中含量测定项雷公藤内酯甲并无明显药理活性, 而雷公藤甲素、雷公藤红素和雷公藤对醌 B 对 RAW264.7 细胞活力有显著影响, 且均可抑制 LPS 诱导的 NO 和 CD86 水平增加, 提示三者可能为雷公藤多苷片中主要药效成分。结论: 雷公藤多苷片中的雷公藤甲素、雷公藤红素和雷公藤对醌 B 等成分具有一定药理活性, 而质量控制成分雷公藤内酯甲活性较弱, 建议进一步研究明确主要单体成分的量效关系, 科学合理地规范该制剂的产品质量, 保证临床用药的有效性、安全性。

[关键词] 雷公藤多苷片; 抗炎; 一氧化氮; 分化抗原簇 86; 雷公藤甲素; 雷公藤红素; 雷公藤内酯甲

[文献标识码] A **[文章编号]** 1673-4890(2021)08-1335-09

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20200826003

Pharmacodynamic Effects of Different Manufacturers' Tripterygium Glycoside Tablets and the Main Monomer Components

WANG Qi¹, WANG Man-hong¹, WANG Ya-dan¹, ZHANG Le-shuai², MA Shuang-cheng^{1*}, WEN Hai-ruo^{1*}

1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China;

2. Soochow University, Suzhou 215123, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the anti-inflammatory and immunosuppressive activities of Tripterygium Glycoside Tablets (TPT) from different manufacturers and the main monomer components, so as to provide experimental basis for the interpretation of the therapeutic material basis of the preparation based on the national drug sampling and testing project. **Methods:** With the lipopolysaccharide (LPS)-induced *in vitro* inflammatory mouse RAW264.7 macrophage model and the indexes of nitric oxide (NO) and cluster differentiation 86 (CD86), the pharmacological effects of TPT and the main components were elucidated. **Results:** TPT from different manufacturers could antagonize LPS-induced rise of NO and CD86 and had anti-inflammatory and immunosuppressive activities to varying degrees. However, their pharmacological activities were not completely positively correlated with triptolide and wilforlide A in the preparation, suggesting the existence of other active ingredients. The monomer experiment found that wilforlide A had no obvious activity, while triptolide, tripterine, and triptoquinone B had significant effects on RAW264.7 viability and all of them inhibited the LPS-induced increase of NO and CD86, suggesting that the three were the main active components of TPT. **Conclusion:** This study preliminarily proves that triptolide, wilforlide A, and triptoquinone B in TPT have certain pharmacological activities,

[△] [基金项目] 国家自然科学基金项目 (81503347, 81503068); 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2018ZX09201017-001)

* [通信作者] 文海若, 副研究员, 研究方向: 药理毒理; E-mail: wenhairuo@nifdc.org.cn

马双成, 研究员, 研究方向: 中药毒理; E-mail: msc@nifdc.org.cn

while the quality control component wilforlide A has weak activity. The dose-effect relationship of the main monomer components should be further clarified in an attempt to scientifically and reasonably regulate the quality of this preparation and ensure the efficacy and safety of it in clinical application.

[Keywords] *Tripterygium* Glycoside Tablets; anti-inflammation; NO; CD86; triptolide; tripterine; wilforlide A

雷公藤多苷片(TPT)由卫矛科植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 根提取加工制成,具有抗炎和免疫抑制作用,临床主要用于治疗类风湿性关节炎^[1]、肾病综合征^[2]、红斑狼疮、过敏性紫癜^[3]等。其主要成分包括二萜类[雷公藤甲素(TP)],三萜类[雷公藤红素、雷公藤内酯甲(WA)]和生物碱类(雷公藤晋碱、雷公藤次碱、雷公藤春碱、雷公藤对醌B)等。

现行国家药品监督管理局局颁标准(WS₃-B-3350-98-2011)将雷公藤多苷片中的WA列为含量测定项,规定含量值不得少于10 μg/片,将TP列为检查项,含量不得高于10 μg/片,而对其他成分未做明确规定^[4]。研究表明,雷公藤多苷片中TP是毒、效并存的成分,除具有一定肝、肾毒性外,可通过调控炎症介质、活化T淋巴细胞功能、调节细胞因子和类风湿因子表达、影响基质金属类蛋白酶类和核转录因子-κB(NF-κB)表达水平等机制发挥抗炎作用。此外,雷公藤红素也可通过调节NF-κB和热休克蛋白70抑制非特异性免疫应答^[5]。而雷公藤中其他成分,如多种生物碱的药效作用目前研究较少。已有研究人员将不同生产企业生产的雷公藤多苷片进行了化学成分指纹图谱与小鼠体内药效学关联,结果发现,成分的差异直接影响该制剂在小鼠体内的抗炎药效^[6]。因此,本研究以脂多糖(LPS)诱导小鼠巨噬细胞RAW264.7为体外炎症模型,并以一氧化氮(NO)分泌水平和分化抗原簇86(CD86)表达水平为指标,进一步明确雷公藤多苷片主要成分的药效作用,为阐释雷公藤多苷片的药效物质基础提供实验依据,同时也将为科学合理地规范标准中有效成分的测定限度提供重要的数据支撑。

1 材料

1.1 细胞

RAW264.7细胞购自中国科学院上海细胞库,本研究所用细胞为第八代。

1.2 仪器与试剂

LPS(Sigma公司)、TP(批号:111567-201404,纯度:99.8%)、WA(批号:111597-

200505,纯度:100%)均购自中国食品药品检定研究院;雷公藤红素(批号:B20707,纯度≥98%)、雷公藤春碱(批号:B20704,纯度≥98%);雷公藤次碱(批号:B20705)均购自上海源叶生物科技有限公司;雷公藤晋碱(批号:E-0715,纯度≥98%)购自上海同田生物技术股份有限公司;雷公藤对醌B(纯度>98%,中国医学科学院北京协和医学院药物研究所)。雷公藤多苷片(涉及生产企业:A、B、C、D、E、F、G,此处以字母代表;H为在G企业产品中人为在每66.67 mg·mL⁻¹ TPT中添加TP 100 μg·mL⁻¹,作为药效学评价对照);DMEM培养基、胎牛血清(BI公司);1%青链霉素混合液、NO试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);胰蛋白酶-EDTA消化液(Gibco公司);磷酸缓冲液(PBS, Sigma公司);二甲基亚砜(DMSO, Sigma公司);cell counting kit-8(cck-8,上海迈基生物科技有限公司);PE-CD86抗体(BD pharmingen公司);利多卡因(Ark Pharm公司);96孔深孔板(上海泰坦科技股份有限公司);96孔未处理板(NEST公司);24孔细胞培养板(Corning公司)。

NEO ALPHA 131120d型酶标仪(美国伯腾仪器有限公司);ckx31SF型倒置显微镜[奥林巴斯(中国)有限公司];2013-82090型超净工作台(新加坡艺思高科技有限公司);3111型细胞培养箱、900型超低温冰箱[赛默飞世尔科技(中国)有限公司];5427R型高速冷冻离心机、5810R型孔板离心机、Research plus型移液器(德国艾本德有限公司);ME204E/02型电子分析天平(梅特勒-托利多国际有限公司);Milli-Q Biocel型超纯水系统(默克密理博生命科学有限公司);DK-S22型恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司);2016C型全温金属浴(海狸生物医学工程有限公司);FACS Verse型流式细胞仪(美国BD公司);BCD-216TAM型冰箱(海尔集团)。

2 方法

2.1 细胞活力

处于对数生长期的RAW264.7细胞以3×10⁵个/孔接

种于24孔板,于37℃、5%CO₂的条件下培养24h后,给予不同质量浓度的单体(TP: 2.5~160.0 ng·mL⁻¹;雷公藤红素: 31.25~1 000.00 ng·mL⁻¹;雷公藤对醌B: 312.5~20 000.0 ng·mL⁻¹;WA: 62.5~4 000.0 ng·mL⁻¹;雷公藤春碱、雷公藤次碱和雷公藤晋碱均为312.5~20 000.0 ng·mL⁻¹),来自不同企业的TPT(A~G)质量浓度为0~133.0 μg·mL⁻¹,其中TP及WA含量见表1^[7]。加样后细胞于37℃、5%CO₂的条件下继续培养24h,之后每孔加入CCK-8检测试剂10 μL,37℃避光孵育2h,并用酶标仪检测各孔450 nm处的吸光度值(A),根据公式(1)计算细胞存活率。

细胞存活率 =

$$(A_{\text{给药组}} - A_{\text{空白对照组}}) / (A_{\text{溶媒对照组}} - A_{\text{空白对照组}}) \times 100\% \quad (1)$$

参考半数抑制浓度(IC₅₀)和细胞活性抑制结果,选择IC₅₀以上的浓度或最大无细胞毒性浓度为最高给药浓度开展后续研究。

表1 不同企业TPT中TP质量浓度及作用于RAW 264.7细胞的IC₅₀

生产厂家	μg·mL ⁻¹		IC ₅₀
	每66.67 mg·mL ⁻¹ TPT中TP质量浓度	每66.67 mg·mL ⁻¹ TPT中WA质量浓度	
A	43.83	496.96	29.36
B	77.78	522.15	23.22
C	17.21	406.41	15.51
D	72.08	307.60	33.55
E	66.30	306.84	37.23
F	53.45	298.45	23.26
G	0	233.24	2604
H	100.00	233.24	33.09

2.2 NO水平检测

处于对数生长期的RAW264.7细胞以3×10⁵个/孔接种于24孔板,每孔500 μL。细胞于37℃、5%CO₂的条件下培养24h后,分为空白组(无细胞)、阴性对照组(有细胞但未加样)、模型组LPS(0.1 μg·mL⁻¹)组和LPS(0.1 μg·mL⁻¹)组与不同质量浓度受试物共处理给药组,每组6个复孔,分别添加含受试物的培养液500 μL。TP的质量浓度为2.5~40.0 ng·mL⁻¹;雷公藤红素质量浓度为62.5~1000.0 ng·mL⁻¹;雷公藤对醌B质量浓度为62.5~10 000.0 ng·mL⁻¹;WA质量浓度为250~4000 ng·mL⁻¹;雷公藤春碱、雷公藤次碱和雷公藤晋碱质量浓度均为

1250~20 000 ng·mL⁻¹,A~H组TPT的质量浓度均为4.16~66.50 μg·mL⁻¹。加样后细胞于37℃、5%CO₂的条件下继续培养24h,之后每样取50 μL上清液添加于96孔板,使用NO检测试剂盒检测。每孔各添加试剂150 μL和试剂250 μL后混合均匀,使用酶标仪检测各孔540 nm处的吸光度值。试验平行使用不同浓度的标准品(试剂盒提供)绘制标准曲线,用于计算NO水平。

2.3 CD86检测

细胞接种和分组同2.2项下。TP的质量浓度为2.5~40.0 ng·mL⁻¹;雷公藤红素为62.5~1000.0 ng·mL⁻¹;雷公藤对醌B 62.5~10 000.0 ng·mL⁻¹;WA 250~4000 ng·mL⁻¹;雷公藤春碱、雷公藤次碱和雷公藤晋碱均为1250~20 000 ng·mL⁻¹,C和D组的TPT的质量浓度为4.16~16.63 μg·mL⁻¹,其余各组H组TPT质量浓度均为4.16~33.25 μg·mL⁻¹。加样后细胞于37℃、5%CO₂的条件下继续培养24h,之后除去上清液,加入PBS 200 μL重悬并转移至4℃水浴中的96孔板,在4℃条件下1000 r·min⁻¹离心5 min(离心半径为13.5 cm)。移除上清,每样添加稀释后的PE-CD86抗体(1:100,PBS)50 μL后重悬,并于4℃孵育20 min(10 min左右振荡1次)。之后添加PBS200 μL并于4℃条件下1000 r·min⁻¹离心5 min(离心半径为13.5 cm)。移除上清液,再次添加PBS200 μL后重悬细胞备用。使用流式细胞仪检测藻红蛋白(PE)荧光强度,从而反映细胞CD86表达水平。

2.4 统计学方法

数据以($\bar{x} \pm s$)表示,并采用单因素方差分析对组间数据进行检验,当P<0.05时认为差异有统计学意义。数据图与统计结果经GraphPad Prism 7软件处理生成。

3 结果

3.1 不同企业TPT和雷公藤主要单体成分对RAW264.7细胞活性的影响

质量浓度为0.52~133.00 μg·mL⁻¹的TPT与RAW264.7细胞作用24h后,以CCK-8法检测细胞活力,其所含TP及WA质量浓度(以66.67 mg·mL⁻¹TPT为计)及IC₅₀见图1、表1。各企业TPT对

RAW264.7细胞的 IC_{50} 排序分别为C<B<F<A<H<D<E<G。值得注意的是，G企业的TPT不含TP，H是人为在G企业每 $66.67\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ TPT中添加TP $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照组，前者 IC_{50} 约为后者的77倍；而 IC_{50} 最低的C企业TPT中TP的含量为各家最低。上述结果表明，TP含量是影响细胞活力的主要成分之一。但TP含量高低并不完全反映TPT对细胞活力抑制的强弱，TPT中其他成分可能也对细胞活力有抑制作用。

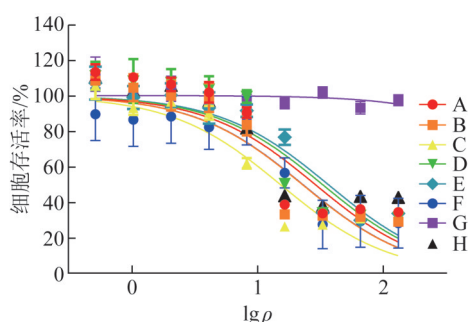


图1 不同企业TPT对RAW264.7细胞活性的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

给药24 h后，不同质量浓度的单体成分对RAW264.7细胞活力的影响见图2，TP对细胞活力的抑制作用最强 (IC_{50} 为 $26.11\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)，其次为雷公藤红素 (IC_{50} 为 $618.6\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)、雷公藤对醌B (IC_{50} 为 $8649\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)，其余单体成分在质量浓度高达 $20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时对RAW 264.7细胞活力无影响。

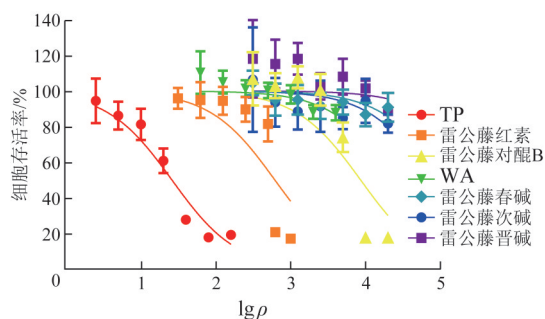


图2 不同雷公藤单体成分对RAW264.7细胞活性的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3.2 TPT中主要单体成分及不同企业TPT对RAW264.7细胞NO水平的影响

空白和阴性对照组细胞上清液中只检出极低含量的NO，而LPS ($0.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)与RAW264.7细胞作用24 h后，可生成大量NO ($>10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; $P<$

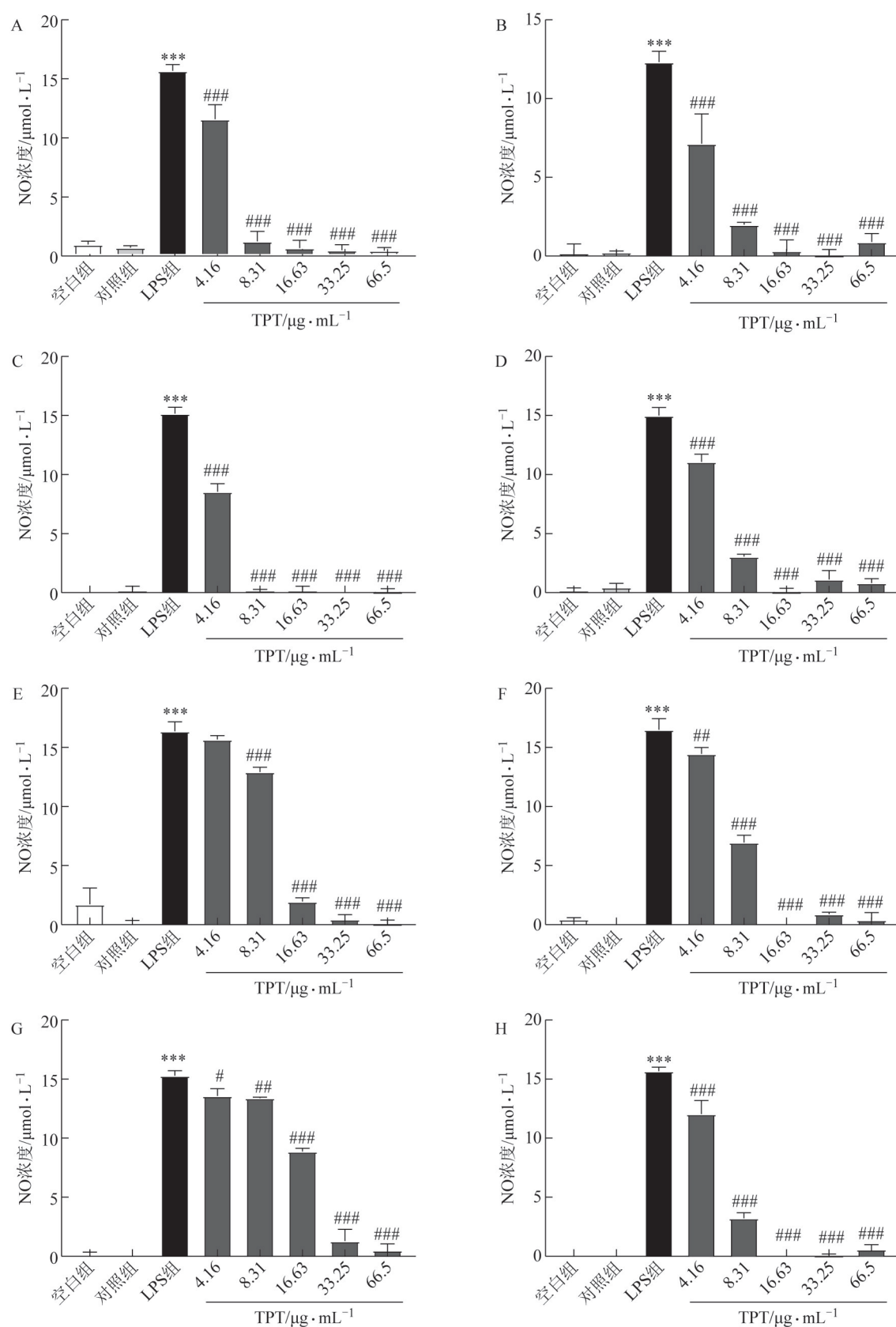
0.001)。

实验发现，所有企业TPT均可抑制LPS诱导的NO水平升高 (E企业起效质量浓度为 $8.31\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，其他企业均为 $4.16\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。其中，企业A、C中TPT在质量浓度为 $8.31\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时，企业B、D、E、F及H在TPT质量浓度为 $16.63\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时可将NO水平抑制至接近空白对照组水平。G企业TPT不含TP，对LPS诱导的NO水平的抑制作用最弱 (图3)。

TPT中主要单体成分雷公藤红素、雷公藤对醌B分别自 62.5 、 $625.0\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 起，对LPS诱导的NO生成水平产生抑制作用，该变化差异有统计学意义 ($P<0.001$)，且随单体质量浓度增加抑制效应更加明显；此外，TP质量浓度为 $40\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时也可抑制LPS诱导的NO水平升高 ($P<0.001$ ，图4)。其余单体成分在当前给药浓度范围内对LPS诱导的NO水平升高无影响。表明现行质量标准中含量测定项WA单体并无明显抗炎活性，活性较强的成分为雷公藤红素及雷公藤对醌B。

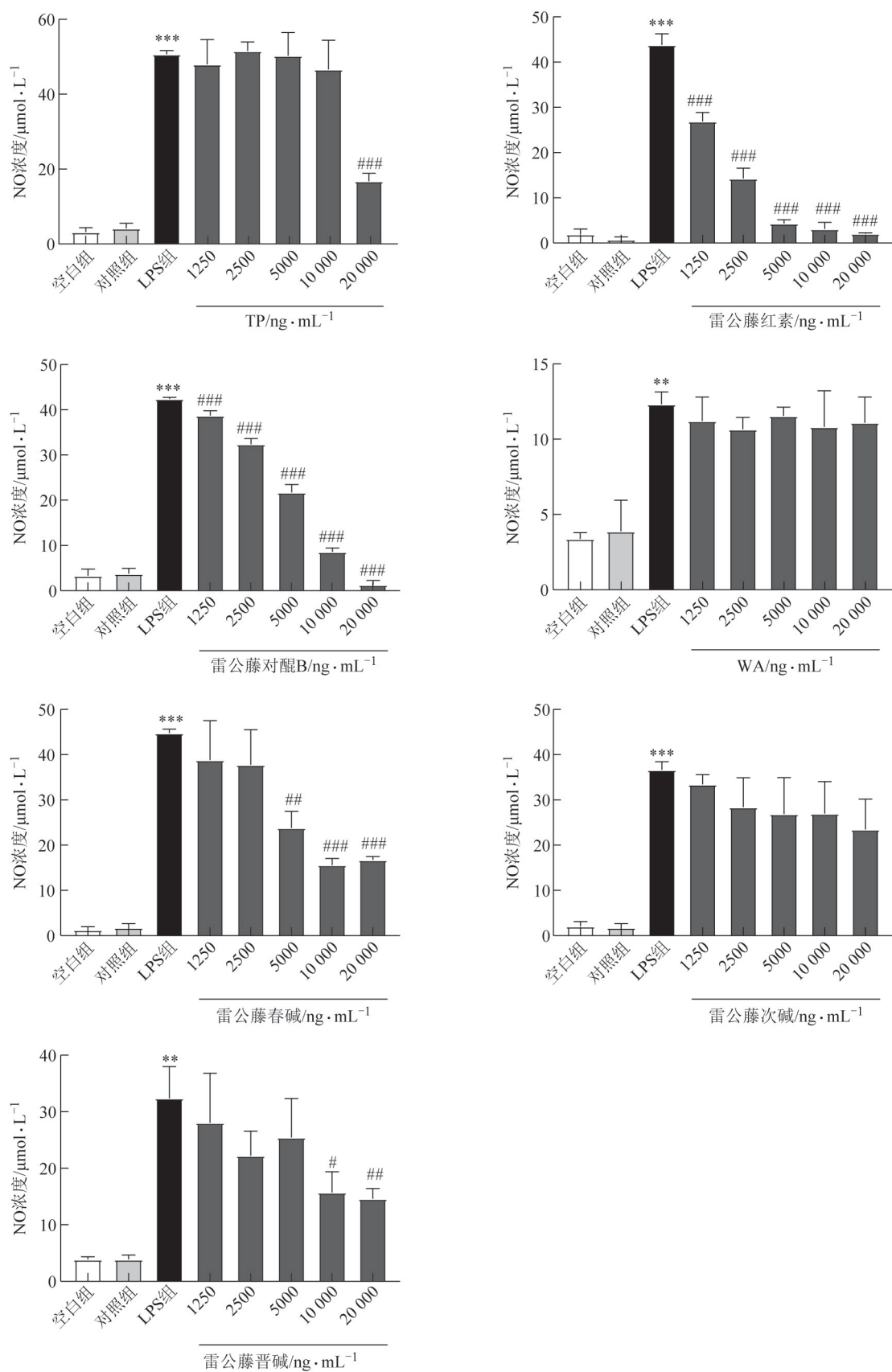
3.3 TPT中主要单体成分及不同企业TPT对CD86表达水平的影响

使用流式细胞术检测不同受试物对RAW264.7细胞表面标志物CD86的影响，并以平均荧光强度(MFI)作为评价指标。空白和阴性对照组的背景荧光强度较低，RAW264.7细胞经LPS ($0.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)刺激后，细胞表面CD86的表达量显著增加 ($\text{MFI}>500$, $P<0.001$)。不同企业制剂中 (图5)，除G企业外，其他企业和H组的TPT均可抑制LPS诱导的CD86表达水平升高 (F企业TPT起效质量浓度为 $8.31\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，A~E企业和H组的TPT起效质量浓度均为 $4.16\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。受试物对CD86的影响与其对NO水平的影响趋势基本相符。TP、雷公藤红素和雷公藤对醌B分别在质量浓度分别为5000、10 000、20 000 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时可抑制LPS诱导的CD86增加，且变化差异有统计学意义 ($P<0.01$, $P<0.001$ ，图6)。其他单体成分在当前给药浓度范围内未能抑制对LPS诱导的CD86表达量升高。表明现行质量标准中含量测定项WA单体并无明显免疫抑制活性作用，活性较强的成分为TP、雷公藤红素及雷公藤对醌B。



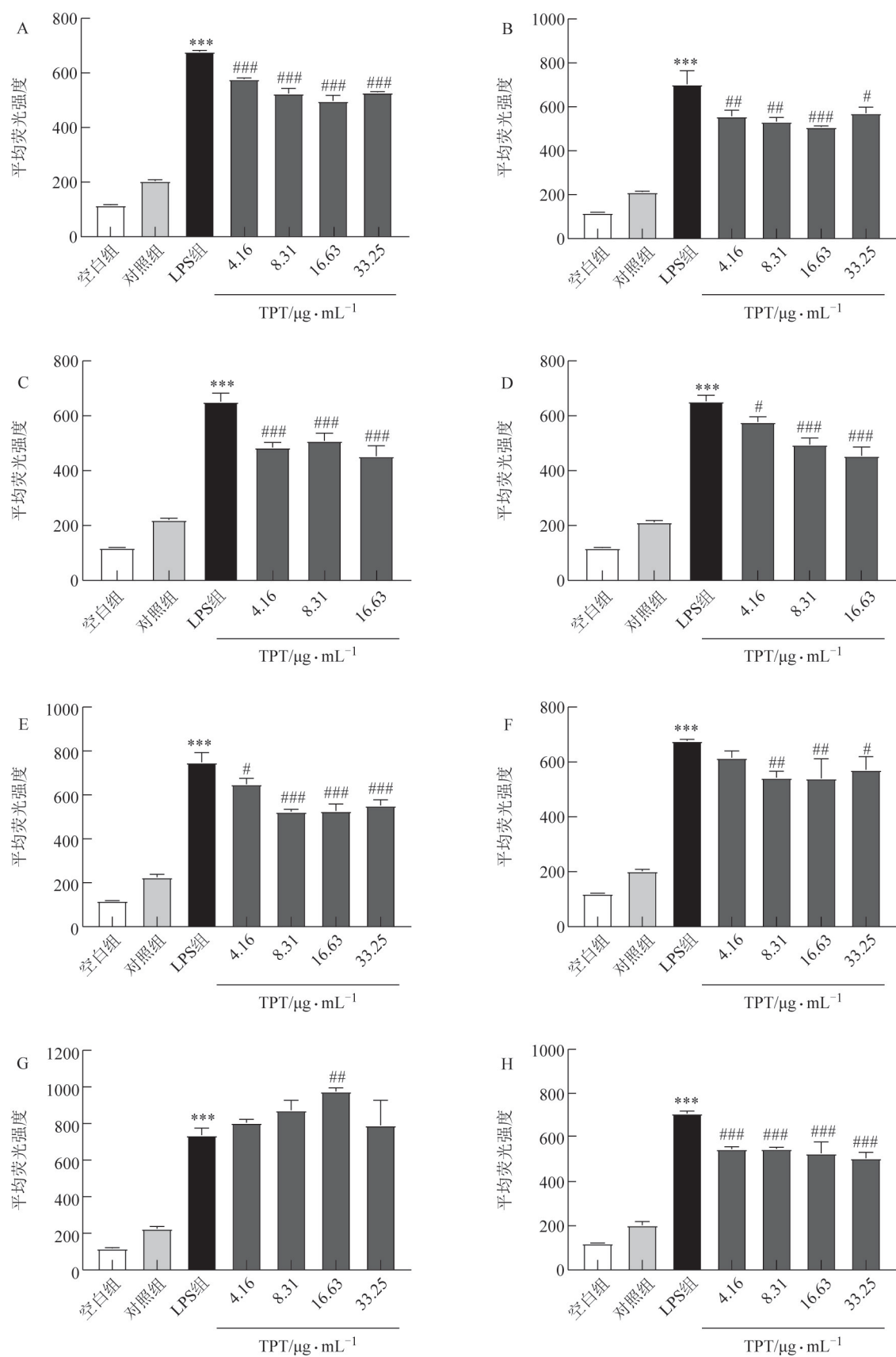
注：与对照组比较，*** $P < 0.001$ ；与LPS组比较，# $P < 0.05$ ，### $P < 0.01$ ，#### $P < 0.001$ 。

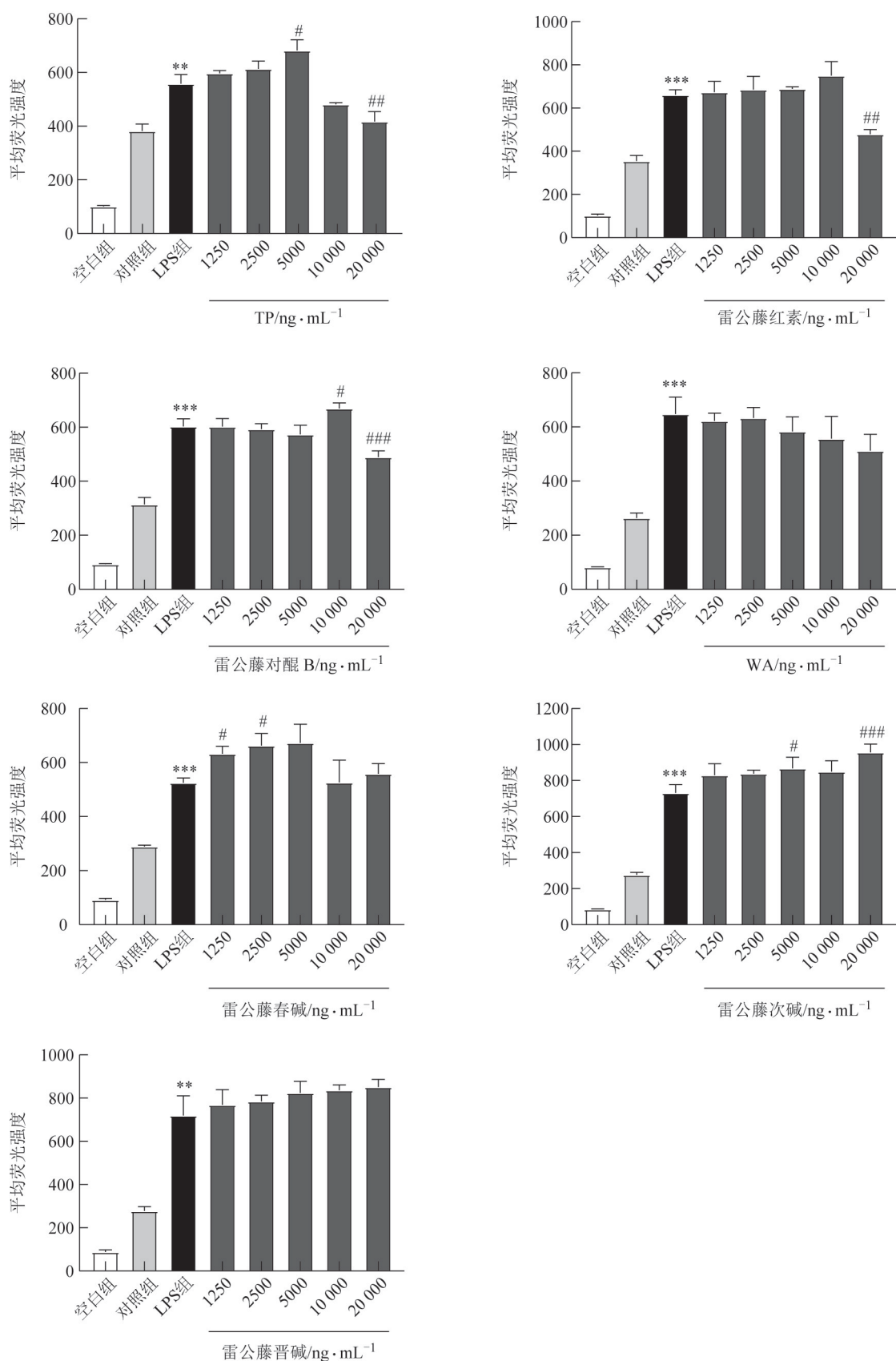
图3 不同企业TPT对NO水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)



注：与对照组比较，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$ ；与LPS组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ ，### $P < 0.001$ ；图5~6同。

图4 TPT主要单体成分对NO水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

图5 不同企业TPT对CD86表达水平的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

图6 TPT主要单体成分对CD86表达水平影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

4 讨论

炎症反应是机体对外源性或内源性刺激的一种防御性反应,参与关节炎、肾损伤、自身免疫疾病等多种病理过程。其中NO是炎症级联反应中的关键关节,抑制其过度表达,可有效缓解炎症症状^[8]。本研究所用的RAW264.7细胞经LPS、 γ -干扰素(IFN- γ)和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)激活后转化为M1型巨噬细胞,后者可产生一系列炎症反应,包括分泌大量白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子(TNF)、IL-12、IL-18, CD80、CD86共刺激因子呈高表达,以及激活诱导型一氧化氮合酶(NOS2或iNOS)产生NO。

研究结果发现,TP、雷公藤红素和雷公藤对醌B均对RAW264.7细胞的活力有一定影响,抑制LPS诱导的NO和CD86水平增加,提示三者为雷公藤多苷片中主要抗炎成分。TP可抑制TNF- α 刺激引起的环氧化酶-2(COX-2)和iNOS的表达,并诱导前列腺素E₂(PGE₂)和NO大量合成^[9]。TP在低浓度作用下可通过调控半胱天冬酶活性来抑制类风湿化膜细胞活性^[10],从而减少滑膜成纤维的过度增生,发挥治疗类风湿性关节炎的作用。雷公藤红素也参与多种炎症信号通路的调控,如阻断细胞核因子 κ B抑制物激活酶(I κ B)的活性,抑制NF- κ B的活化及其核转位,调节丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路等^[11]。关于雷公藤对醌B的药效作用的报道较少,Takaishi等^[12]研究发现雷公藤对醌B是IL-1抑制剂,有抗炎和调节免疫的作用,但具体的作用通路尚不明确,本结果与文献报道基本一致,进一步验证了雷公藤对醌B的体外抗炎作用。值得注意的是,当前TPT的质量控制成分WA未表现出抗炎作用。

通过比较不同企业TPT发现,所有TPT均可拮抗LPS诱导的炎症效应。TPT中TP含量为影响RAW264.7细胞活力,并拮抗LPS诱导的NO和CD86水平升高的主要因素之一。但TP含量最低的C企业TPT也可在较低浓度对上述炎症指标产生抑制作用,各企业TPT的抗炎作用与TP含量并不完全呈正相关,因此,提示雷公藤红素、雷公藤对醌

B等其他单体成分均与TPT的药效相关。因此提示,仍需进一步加强对TPT中雷公藤对醌B、雷公藤红素等主要单体成分的药效学研究,明确TPT中各成分的含量与其药效的内在联系,才能更加合理科学地规范该制剂的产品质量,保证临床用药的有效性、安全性。

参考文献

- [1] 朱琳,陈鹏,邹荣,等. 甲氨蝶呤联合雷公藤多苷片治疗老年类风湿性关节炎的临床疗效及随访分析[J]. 世界中西医结合杂志,2020,15(2):339-343.
- [2] 袁薪蕊,王保和,杜犀. 雷公藤多苷片治疗肾病综合征作用机制的网络药理学研究[J]. 现代药物与临床,2019,34(11):3209-3214.
- [3] 刘倩,柴慧姪,马永德. 雷公藤多苷联合氢化可的松治疗过敏性紫癜儿童的疗效研究[J]. 海军医学杂志,2020,41(3):330-333.
- [4] 国家药品监督管理局. 国家药品监督管理局标准:WS₃-B-3350-98-2011[S]. 北京:国家药品监督管理局,2011.
- [5] 任献青,鲁静,孟祥乐,等. 雷公藤红素药理作用最新研究进展[J]. 中华中医药杂志,2013,28(9):2679-2682.
- [6] YANG J H, LUO S D, WANG Y S, et al. Triterpenes from *Tripterygium wilfordii* Hook [J]. J Asian Nat Prod Res, 2006,8(5):425-429.
- [7] 汪祺,王亚丹,郑笑为,等. 不同企业雷公藤多苷片的制剂质量比较与评价[J]. 中国现代中药,2020,22(9):1534-1538.
- [8] 范精华,刘康,刘保林. NO在炎症及免疫应答中的调节作用[J]. 中外医疗,2009,28(25):163.
- [9] 邵雪婷,冯磊,姚航平,等. 雷公藤内酯醇抑制滑膜成纤维细胞COX-2和iNOS表达[J]. 浙江大学学报(医学版),2004,33(2):160-165.
- [10] KUSUNOKI N, YAMAZAKI R, KITASATO H, et al. Triptolide, an active compound identified in a traditional Chinese herb, induces apoptosis of rheumatoid synovial fibroblasts[J]. BMC Pharmacol, 2004,4:2.
- [11] 钟点,陈渊,赵伟. 雷公藤红素抗炎及免疫抑制的研究进展[J]. 药物生物技术,2018,25(1):64-69.
- [12] TAKAISHI Y, SHISHIDO K, WARIISHI N, et al. Triptolide A and B novel interleukin-1 inhibitors from *Tripterygium wilfordii* var. *regeli* [J]. Tetrahedron Lett, 1992,33(47):7179.

(收稿日期:2020-08-26 编辑:王笑辉)