

甲基丁香酚的生物学活性及其作用机制的研究进展

匡柏成, 张 季, 王梦琴, 张佳思, 孙凯伦, 王志恒, 宫念樵*

华中科技大学同济医学院附属同济医院 器官移植研究所, 器官移植教育部重点实验室, 国家卫生健康委员会器官移植重点实验室, 中国医学科学院器官移植重点实验室, 湖北 武汉 430030

摘 要: 甲基丁香酚是一种广泛存在的苯丙素类天然化合物, 具有镇痛、麻醉、抗过敏、抗炎、抗氧化和抗肿瘤等多种生物学活性, 可能在促进细胞再生、抗衰老和炎症、肿瘤相关性疾病的防治中具有重要研究价值。充分了解甲基丁香酚的结构和作用特点, 避免不必要的毒副作用发生, 对其开发利用具有重要意义。综述了甲基丁香酚的生物学活性及其作用机制, 以期对甲基丁香酚的深入研究和进一步开发应用提供参考依据。

关键词: 甲基丁香酚; 抗过敏; 抗肿瘤; 生物学活性; 作用机制

中图分类号: R96 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2021)07-1533-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.07.039

Research progress on biological activity and its mechanism of methyl eugenol

KUANG Bai-cheng, ZHANG Ji, WANG Meng-qin, ZHANG Jia-si, SUN Kai-lun, WANG Zhi-heng, GONG Nian-qiao

Institute of Organ Transplantation, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology; Key Laboratory of Organ Transplantation, Ministry of Education; NHC Key Laboratory of Organ Transplantation; Key Laboratory of Organ Transplantation, Chinese Academy of Medical Sciences, Wuhan 430030, China

Abstract: Methyl eugenol is a ubiquitous natural compound of phenylpropanoids in spices and other culinary herbal products. It has various biological functions, such as analgesia, anesthesia, anti-allergic, anti-inflammatory, anti-oxidation, and anti-tumor. It may promote cell regeneration, anti-aging and may have important research value in the prevention and treatment of inflammation and tumor-related diseases. A full understanding of its structure and function characteristics to avoid unexpected side effects is of great significance to the development and utilization of methyl eugenol. This article reviews the biological activity of methyl eugenol and its mechanism of action, hoping to provide a reference for the in-depth research and further development and application of methyl eugenol.

Key words: methyl eugenol; metabolism; anti-allergic; anti-tumor; biological activity; mechanism

甲基丁香酚是一种天然化合物, 化学名称为 4-烯丙基-1,2-二甲氧基苯, 又称丁子香酚甲醚、丁香酚甲醚、丁香酚基甲基醚, 俗称诱蝇醚、丁香油, 分子式为 $C_{11}H_{14}O_2$, 相对分子质量 178.2, 常温下为无色至淡黄色液体, 有较弱而持久的丁香和康乃馨的味道, 不溶于水, 易溶于有机溶剂^[1]。甲基丁香酚存在于多种植物中, 尤其香料和药用植物如细辛、肉豆蔻、丁香、肉桂、茴香等。甲基丁香酚具有亲脂性, 胃肠道吸收快, 被用于果冻、软饮料、

糖果、口香糖、冰淇淋等食物中的芳香剂或调味剂, 在一些香水和化妆品中也含有甲基丁香酚^[2-5]。自 1915 年 Howlett 首先在禾科植物香茅草 *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf 中发现以来, 甲基丁香酚便一直受到学者们的关注。研究发现, 甲基丁香酚具有镇痛、麻醉、抗过敏、抗炎、抗氧化和抗肿瘤等多种药理作用, 在脑缺血、肠缺血再灌注损伤、肠道黏膜损伤模型中发挥保护效应^[6-8]。本文就甲基丁香酚的生物学活性及其作用机制进行综述, 并展望其

收稿日期: 2021-04-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81873623)

作者简介: 匡柏成, 男, 硕士研究生, 研究方向为器官保护药物研究与开发、移植免疫。E-mail: 892791635@qq.com

*通信作者: 宫念樵, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 从事器官保护、新型药物研究与开发、移植免疫、干细胞治疗。E-mail: nqgong@tjh.tjmu.edu.cn

未来发展及可能面临的问题。

1 中枢镇痛和麻醉作用

Yano 等^[9]ig 给予小鼠甲基丁香酚 3、10 mg/kg, 在福尔马林致小鼠痛觉过敏模型中, 其作用与非甾体抗炎药双氯芬酸作用相似, 可显著减少第二阶段小鼠舔咬行为持续时间; 在鞘内注射门冬氨酸的疼痛模型中, 甲基丁香酚同样具有镇痛作用, 其效果与 γ -氨基丁酸 A 激动剂一致, 由此推测甲基丁香酚可能通过 γ -氨基丁酸 A 受体的激活, 进而抑制门冬氨酸受体介导的痛觉过敏, 发挥镇痛作用。Wang 等^[10]进一步扩展了其机制研究, 发现甲基丁香酚表现出与利多卡因相同的功能特征, 可优先与失活或开放状态的 Nav1.7 通道结合, 造成失活的 Na^+ 通道无法完全恢复到静息水平或恢复延迟, 同时驱动更多的药物与通道的结合, 进而影响兴奋信号的传递, 发挥镇痛和麻醉作用。Rocha-González 等^[11]通过 ig 甲基丁香酚 1~30 mg/kg 观察小鼠对化学刺激的伤害性反应, 研究发现, 甲基丁香酚在 30 mg/kg 时的疗效为 $(38.7 \pm 3.9)\%$, 可显著减少福尔马林测试第二阶段小鼠舔咬行为持续时间, 且镇痛效果呈剂量相关性; 同时, 联合应用甲基丁香酚和酮洛酸具有协调的镇痛作用, 改善小鼠的疼痛表现, 两者组合治疗炎性疼痛有望降低药物副作用。

2 抗氧化、抗炎作用

正常情况下, 机体内活性氧和抗氧化酶系统保持动态平衡状态, 当平衡被打破之后, 过量的活性氧会诱导脂质过氧化、蛋白变性和 DNA 损伤。Zhou 等^[12]发现, 在小鼠巨噬细胞系中, 甲基丁香酚可通过激活 AMPK/GSK3b 和 ERK/Nrf2 信号通路对叔丁基过氧化氢 (t-BHP) 触发的细胞氧化损伤发挥保护作用。Choi 等^[13]在大鼠脑缺血 1.5 h 再灌注 24 h 的脑缺血再灌注损伤模型中发现, 再灌注 30 min 后 ip 甲基丁香酚 100 mg/kg, 能提高超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 的活性, 显著降低了缺血脑组织超氧化物生成, 同时降低体外氧糖剥夺 (OGD) /复氧引起的细胞内氧化应激和 caspase-3 激活, 抑制 NO 的产生和诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 的表达, 同时下调缺血脑组织和免疫刺激的混合胶质细胞中促炎细胞因子的表达, 大大减轻了脑缺血再灌注损伤体积。抗炎作用也是甲基丁香酚重要的生物活性, 衰老与炎症密切相关, 抑制 NF- κ B、降低炎症因子的表达, 可抵御早衰^[14]。在开腹手术阻断上肠系膜动脉 30 min、再灌注 60 min

的肠缺血再灌注损伤模型中, Saleh 等^[8]研究发现, 术前 ig 给予大鼠甲基丁香酚 100 mg/kg, 连续给药 30 d, 术后大鼠炎症因子 TNF- α 、IL-6 表达下降, LDH、MDA、NO 和活化的 caspase-3 下降, GSH、GST、SOD、CAT 水平升高, 对肠道缺血再灌注损伤具有保护作用。由此可见, 甲基丁香酚能显著清除体内自由基, 升高体内抗氧化物水平, 抑制炎症因子的释放, 可能在治疗炎症和延缓衰老中发挥重要作用。

3 抗过敏作用

过敏反应时, 肥大细胞的活化和脱颗粒是引起局部或全身过敏反应的主要机制。Shin 等^[15]通过小鼠腹腔注射预给药 1 h, 剂量为 0.01~100.0 $\mu\text{g/g}$, 研究发现, 在 48/80 复合物诱导的系统性过敏反应和 IgE 诱导的局部过敏反应模型中, 甲基丁香酚可能作为拮抗剂影响促分泌素如肽物质与肥大细胞表面受体的交互作用, 进而降低肥大细胞中组胺释放和组氨酸脱羧酶基因的过表达, 发挥抗过敏作用, 且呈剂量相关性。2015 年, 在肥大细胞系 RBL-2H3 中研究者发现, 在测试浓度 (0~100 $\mu\text{mol/L}$) 条件下, 甲基丁香酚可抑制促炎性前列腺素和白细胞介素的合成, 抑制 ERK1/2、p38、JNK、胞浆型磷脂酶 A2 (cPLA2) 和 5-脂氧合酶 (5-LO) 的激活, 发挥抗过敏效应, 机制可能是甲基丁香酚影响了活化的肥大细胞表面 Fc ϵ RI 受体的级联反应; 此外, 甲基丁香酚对环氧化酶-2 (COX-2) 表达的也具有强烈的抑制作用^[16]。

4 抗肿瘤作用

肿瘤细胞周期失控, 能持续分裂和增殖, 抑制肿瘤细胞 DNA 合成或其有丝分裂可有效抑制肿瘤进展。尽管甲基丁香酚的代谢产物可与细胞生物大分子如 DNA、RNA、蛋白质等结合, 具有一定的基因毒性^[17-18], 然而, 在肿瘤细胞研究中, 与单药治疗相比, 将顺铂与甲基丁香酚联合应用显著增加宫颈癌细胞 (HeLa) G₀/G₁ 期的细胞数量、促进 caspase-3 的活化、线粒体膜电位 ($\lambda\psi\text{m}$) 下降, 二者联合用药能显著减低 HeLa 的增殖活性, 并诱导肿瘤细胞凋亡, 发挥抗肿瘤作用^[19]。在人结肠腺癌细胞系 (HT29) 中, Groh 等^[20]发现, 甲基丁香酚 100 $\mu\text{mol/L}$ 给药 2 h 后, 甲基丁香酚及其氧化代谢物可活化 ATM/ATR 激酶、细胞周期检查点激酶 1 (CHK1), 给药 24 h 后 P53 活化, 细胞周期阻滞在 G₂/M 期, 造成显著 DNA 损伤和 DNA 损伤反应。

此外,研究表明,在RB355人视网膜母细胞瘤细胞中,甲基丁香酚可降低肿瘤细胞活性、诱导自噬、触发G₂/M细胞周期阻滞,在半数抑制浓度(IC₅₀) 50 μmol/L时,可抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路,具有强大的抗癌作用^[21]。

5 其他作用

Lahlou等^[22]在麻醉或意识清醒的大鼠中静脉注射甲基丁香酚,发现会导致低血压,其作用机制尚不清楚,可能与甲基丁香酚导致的血管舒张有关。在无水乙醇导致的Wistar大鼠胃肠道损伤模型中,损伤前30 min ig 100 mg/kg甲基丁香酚能显著减轻胃肠道损伤,发挥保护效应^[23]。根据甲基丁香酚的已有报道,甲基丁香酚可激活ERK, ERK信号能控制细胞周期的G₁/S期转变,进而促进增殖细胞增殖^[24]。提示甲基丁香酚可能在促进损伤的肠道黏膜细胞再生中发挥保护作用。

甲基丁香酚通过多种机制发挥其生物活性。甲基丁香酚通过作用于门冬氨酸受体、影响细胞兴奋传导,发挥镇痛、麻醉作用;甲基丁香酚的抗炎、抗氧化活性是其多种生物活性的基础,通过调节多种信号通路发挥神经系统、胃肠道系统保护作用,抑制细胞凋亡,改善和减少脑梗死体积,促进损伤黏膜修复;此外,甲基丁香酚还具有抗过敏、抗肿瘤、降低血压作用。甲基丁香酚的生物活性作用机制的汇总见图1。

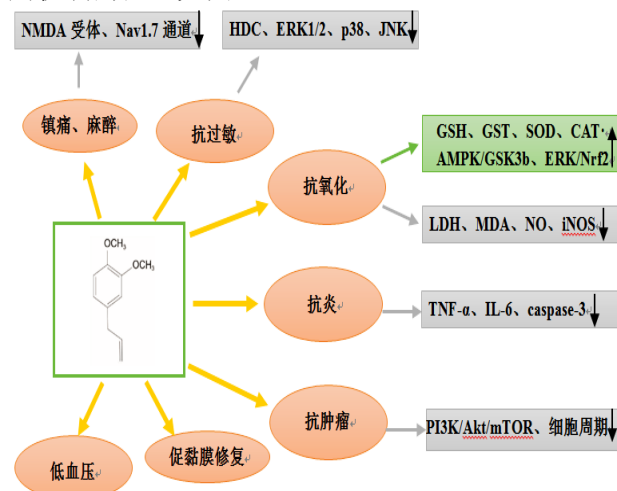


图1 甲基丁香酚的药理活性及其机制

Fig. 1 Pharmacological activity and potential mechanism of methyl eugenol

6 结语

药用植物来源的天然产物或其衍生物已成为大量药物的可靠来源,如吗啡、阿司匹林、青蒿素

和紫杉醇等。甲基丁香酚作为一种天然化合物,同时也能被人工合成,具有多种生物活性,特别对于过敏性炎症、氧化应激、缺血再灌注损伤、衰老具有明显抑制作用,也能够改善疼痛过敏症状、舒张血管、抵抗癌细胞增殖、促进再生。甲基丁香酚可能在治疗缺血/炎症相关疾病、抗击癌细胞中具有重要潜在应用价值。正如雷公藤甲素的研究与开发一样,天然产物在成为药物、应用于临床的道路上需要通过结构性的修饰来解决他们的系统性毒副作用、溶解性问题。

甲基丁香酚进一步研究可能面临以下问题:(1)甲基丁香酚起效基团、发挥效应的细胞作用靶点不明;(2)甲基丁香酚水溶性差,能否通过脱甲基或将甲基替换成水溶性好且具有良好生物兼容性的结构,以增强其水溶性;(3)甲基丁香酚的端基烯烃结构在肝脏代谢中产生具有细胞毒性、基因毒性的中间产物,能否将端基烯烃钝化或转化为其他惰性结构,避免其被氧化,或利用纳米载药微球技术增加药物水溶性的同时避免肝脏细胞的吞噬、降解,充分发挥药物活性;(4)甲基丁香酚有效给药剂量存在分歧,可能与实验模型或甲基丁香酚的溶剂、给药途径不同有关。

随着对甲基丁香酚作用机制和合成路线的改进、发展,通过对甲基丁香酚苯环侧链结构进行优化改良、不同给药策略的进一步开发,进而放大其保护效果、避免毒副作用产生。未来,甲基丁香酚及其衍生物作为药物治疗各种人类疾病的前景将是光明、可期的。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Formaldehyde N. Report on carcinogens: carcinogen profiles/U.S Dept. of Health and Human Services, Public Health Service [Z]. 2011, 12: 267-268.
- [2] Smith R L, Adams T B, Doull J, et al. Safety assessment of allylalkoxybenzene derivatives used as flavouring substances - methyl eugenol and estragole [J]. *Food Chem Toxicol*, 2002, 40(7): 851-870.
- [3] Smith B, Cadby P, Leblanc J C, et al. Application of the margin of exposure (MoE) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic: example: methyleugenol, CASRN: 93-15-2 [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48 Suppl 1: S89-S97.
- [4] Tan K H, Nishida R. Methyl eugenol: its occurrence, distribution, and role in nature, especially in relation to

- insect behavior and pollination [J]. *J Insect Sci*, 2012, 12: 56.
- [5] Kobets T, Cartus A T, Fuhlbrueck J A, *et al.* Assessment and characterization of DNA adducts produced by alkenylbenzenes in fetal turkey and chicken livers [J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 129: 424-433.
- [6] Gogoi R, Loying R, Sarma N, *et al.* Comparative analysis of in-vitro biological activities of methyl eugenol rich *Cymbopogon khasianus* Hack., leaf essential oil with pure methyl eugenol compound [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2020, 21(10): 927-938.
- [7] Cruz-Anton L, S&aa's M E, Lóp Y, *et al.* Pharmacokinetics effect of diclofenac or ketorolac-methyl eugenol and their implication in the gastroprotection [J]. *Int J Pharmacol*, 2020, 16(4): 375-381.
- [8] Saleh H, El-Shorbagy H M. Mechanism underlying methyl eugenol attenuation of intestinal ischemia/reperfusion injury [J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2017, 42(10): 1097-1105.
- [9] Yano S, Suzuki Y, Yuzurihara M, *et al.* Antinociceptive effect of methyleugenol on formalin-induced hyperalgesia in mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 553(1-3): 99-103.
- [10] Wang Z J, Tabakoff B, Levinson S R, *et al.* Inhibition of Nav1.7 channels by methyl eugenol as a mechanism underlying its antinociceptive and anesthetic actions [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2015, 36(7): 791-799.
- [11] Rocha-González H I, Sanchez-Mendoza M E, Cruz-Antonio L, *et al.* Antinociceptive interaction and pharmacokinetics of the combination treatments of methyleugenol plus diclofenac or ketorolac [J]. *Molecules*, 2020, 25(21): 5106.
- [12] Zhou J, Ma X, Cui Y, *et al.* Methyleugenol protects against t-BHP-triggered oxidative injury by induction of Nrf2 dependent on AMPK/GSK3 β and ERK activation [J]. *J Pharmacol Sci*, 2017, 135(2): 55-63.
- [13] Choi Y K, Cho G S, Hwang S, *et al.* Methyleugenol reduces cerebral ischemic injury by suppression of oxidative injury and inflammation [J]. *Free Radic Res*, 2010, 44(8): 925-935.
- [14] Tilstra J S, Robinson A R, Wang J, *et al.* NF-kappaB inhibition delays DNA damage-induced senescence and aging in mice [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(7): 2601-2612.
- [15] Shin B K, Lee E H, Kim H M. Suppression of *L*-histidine decarboxylase mRNA expression by methyleugenol [J]. *Biochem Biophys Res Comm*, 1997, 232(1): 188-191.
- [16] Tang F, Chen F, Ling X, *et al.* Inhibitory effect of methyleugenol on IgE-mediated allergic inflammation in RBL-2H₃ cells [J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 463530.
- [17] Feng Y, Wang H, Wang Q, *et al.* Chemical Interaction of protein cysteine residues with reactive metabolites of methyleugenol [J]. *Chem Res Toxicol*, 2017, 30(2): 564-573.
- [18] Yao H, Peng Y, Zheng J. Identification of glutathione and related cysteine conjugates derived from reactive metabolites of methyleugenol in rats [J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 253: 143-152.
- [19] Yi J L, Shi S, Shen Y L, *et al.* Myricetin and methyl eugenol combination enhances the anticancer activity, cell cycle arrest and apoptosis induction of cis-platin against HeLa cervical cancer cell lines [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(2): 1116-1127.
- [20] Groh I A, Rudakovski O, Gründken M, *et al.* Methyleugenol and oxidative metabolites induce DNA damage and interact with human topoisomerases [J]. *Arch Toxicol*, 2016, 90(11): 2809-2823.
- [21] Yin L, Sun Z H, Ren Q, *et al.* Methyl eugenol induces potent anticancer effects in RB355 human retinoblastoma cells by inducing autophagy, cell cycle arrest and inhibition of PI3K/mTOR/Akt signalling pathway [J]. *J BUON*, 2018, 23(4): 1174-1178.
- [22] Lahlou S, Figueiredo A F, Magalhães P J C, *et al.* Cardiovascular effects of methyleugenol, a natural constituent of many plant essential oils, in normotensive rats [J]. *Life Sci*, 2004, 74(19): 2401-2412.
- [23] Sanchez-Mendoza M E, Cruz-Antonio L, Arrieta-Baez D, *et al.* Gastroprotective activity of methyleugenol from *Peperomia hispidula* on ethanol-induced gastric lesions in rats [J]. *Int J Pharmacol*, 2015, 11(7): 697-704.
- [24] Lavoie H, Gagnon J, Therrien M. ERK signalling: a master regulator of cell behaviour, life and fate [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(10): 607-632.

[责任编辑 解学星]