

和厚朴酚及厚朴酚抗肺癌药理作用及机制的研究进展

张明发, 沈雅琴

上海美优制药有限公司, 上海 201204

摘要: 和厚朴酚及厚朴酚是疏水性烯丙基联苯酚类结构的同分异构体, 均有抗肺癌药理作用。和厚朴酚能抑制肺癌 A549 细胞、H1299 细胞和 Lewis 细胞移植瘤在小鼠体内的生长和转移, 而厚朴酚能预防乌拉坦诱导小鼠发生肺癌和抑制 A549 细胞移植瘤在小鼠体内生长。和厚朴酚及厚朴酚在体外能浓度相关地抑制人小细胞肺癌 N446 细胞、H446 细胞, 非小细胞肺癌中的肺腺癌 A549、H1299、H441、H1975、Calu3、A2、PC、SPC-A-1、95D 细胞, 大细胞肺癌 H460 细胞, 人肺鳞癌 H226、H520、CH27 细胞以及小鼠肺癌 Lewis 细胞增殖, 并诱导其凋亡和坏死。和厚朴酚及厚朴酚抑制肺癌的主要机制是: (1) 抑制 I 型去乙酰化酶的表达和酶活性, 上调死亡受体-5 (DR5) 的表达, 激活肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体 (TRAIL) 信号通路; (2) 激活与半胱天冬酶无关的凋亡通路; (3) 阻滞癌细胞中的微管聚合, 破坏微管结构; (4) 阻滞蛋白激酶 B (AKT) /哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 信号通路, 诱导癌细胞自噬; (5) 阻滞磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K) /AKT 信号通路而抑制癌细胞转移。

关键词: 和厚朴酚; 厚朴酚; 肺癌; 小细胞肺癌; 肺腺癌; 大细胞肺癌; 肺鳞癌

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2022) 06-1213-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.06.028

Research advance in pharmacologic effect and mechanism of honokiol and magnolol against lung cancer

ZHANG Mingfa, SHEN Yaqin

Shanghai Meiyu Pharmaceutical Co. Ltd., Shanghai 201204, China

Abstract: Honokiol and magnolol are hydrophobic isomers of propenyl biphenol-type structure. Honokiol can treat for growth and metastasis of lung cancer A549 cells, H1299 cells and Lewis cells transplantation tumor in mice. Magnolol can prevent urethane from inducing lung cancer in mice, and can treat for growth of A549 cells transplantation tumor in mice. *In vitro* honokiol and magnolol inhibit proliferation and induce apoptosis and necrosis in association with dosage on human small cell lung cancer N446 cells, H446 cells, and human lung adenocarcinoma A549 cells, H1299 cells, H441 cells, H1975 cells, Calu3 cells, A2 cells, PC-9 cells, SPC-A-1 cells, 95D cells, and human large cell lung cancer H460 cells, and human lung squamous carcinoma H226 cells, H520 cells, CH27 cells, and mouse lung cancer Lewis cells. The mechanisms of honokiol and magnolol against lung cancer are inhibiting the expression of class I deacetylase and its enzyme activity to up-regulate the expression of DR5 and to activate TRAIL signaling pathway, and activating caspase-independent apoptosis pathway, and inhibiting microtubule polymerization to destroy microtubule structure, and inhibiting AKT/mTOR signaling pathway to induce autophagy of cancer cells, and inhibiting PI3K/AKT signaling pathway to block metastasis of cancer cells.

Key words: honokiol; magnolol; lung cancer; small cell lung cancer; lung adenocarcinoma; large cell lung cancer; lung squamous carcinoma

癌症是导致人类死亡的第2大疾病,也是阻碍人类预期寿命提高的主要原因之一。在2020年以前的全球癌症统计数据中,肺癌的发病率和死亡率一直排在各种癌症之首。2020年,统计发现全球癌

症新发病人数为1 929.3万人,其中肺癌的新发病人数220.7万人(11.4%),成为全球癌症发病率第2高的癌症;全球癌症死亡人数995.8万人,肺癌死亡人数179.6万人,死亡率为18.0%,仍然占据癌症死亡

收稿日期: 2022-03-30

第一作者: 张明发(1946—),男,研究员,研究方向为中药药理。Tel:13816371915 E-mail:13816371915@139.com

率之首^[1]。在中国,2020年肺癌的发生率和死亡率分别占所有癌症的17.9%和23.8%^[1],居于各种癌症首位,说明中国在防治肺癌方面仍然落后于世界先进国家。

目前肺癌治疗已有许多方法,但在预防肺癌复发和转移方面仍以化疗为主。为了寻找更有效且毒副作用小的治疗药物,越来越多的研究人员将视线转向中药的单体成分。和厚朴酚(honokiol)及厚朴酚(magnolol)是一对同分异构体,是从厚朴(来源于厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. 或凹叶厚朴 *M. officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba* Rehd. et Wils. 的干燥干皮、根皮及枝皮)中提取得到的属疏水性烯丙基联苯酚类化合物,是厚朴的主要活性成分,具有广泛的药理活性,如抗菌、抗炎和抗氧化等作用^[2-4]。近年来和厚朴酚及厚朴酚的抗肿瘤研究受到了很大的关注,笔者将分别进行综述。本文综述和厚朴酚及厚朴酚抗肺癌药理作用及其机制的研究进展,为其在防治肺癌中的进一步研究提供参考。

1 抗小鼠Lewis细胞肺癌

袁铸^[5]报道和厚朴酚脂质体作用24 h抑制小鼠肺癌Lewis细胞增殖的半数抑制浓度(IC₅₀)为16 mg·L⁻¹,并诱导癌细胞凋亡。给Lewis细胞转染PNAS-4基因,可显著增强10 mg·L⁻¹和厚朴酚脂质体诱导Lewis细胞凋亡和抑制增殖的作用。给皮下接种Lewis细胞后10 d的荷瘤小鼠,连续28 d每天ip和厚朴酚脂质体25 mg·kg⁻¹或ip和厚朴酚脂质体15 mg·kg⁻¹联合应用PNAS-4基因治疗,结果和厚朴酚组能显著延长荷瘤小鼠的生存期,减慢肿瘤生长,组织形态表现为肿瘤组织凋亡细胞增多,肿瘤组织内微血管密度、肿瘤细胞周围及内部新生血管形成明显减少;联合应用PNAS-4基因治疗组可使低剂量(15 mg·kg⁻¹)和厚朴酚脂质体的上述抗肿瘤作用强度超过单用25 mg·kg⁻¹和厚朴酚脂质体组。

文静^[6]报道给皮下接种转染血管内皮生长因子-D的Lewis细胞1周的淋巴结转移模型小鼠,连续22 d每天ip和厚朴酚脂质体12.5、25、50 mg·kg⁻¹,能剂量相关地延长荷瘤小鼠的生存时间,使肿瘤平均生长体积由对照组的5 450 mm³分别显著降至2 280、2 001、1 300 mm³;也能剂量相关地诱导肿瘤细胞凋亡,降低肿瘤组织内微血管密度,即抑制肿瘤新生血管形成,抑制淋巴管特异性标志物淋巴管透明质酸盐受体-1的表达,即抑制肿瘤内淋巴管的生成,使肿瘤淋巴结转移率由对照组的8/10分别降

至3/10、2/10、1/10,说明和厚朴酚脂质体能显著抑制血管内皮生长因子-D诱导的淋巴转移。

较早的文献报道,在皮下接种Lewis细胞的荷瘤小鼠的肿瘤体积达到约500 mm³时开始下列治疗:放疗组连续5 d每天进行5 Gy放疗、单用和厚朴酚脂质体组连续10 d每天ip和厚朴酚25 mg·kg⁻¹或在和厚朴酚脂质体治疗前5 d加用放疗的联合治疗组。结果治疗后12 d,肿瘤体积减少率分别为42%、42%、75%,对照组肿瘤体积长到1 000 mm³的平均时间为6.5 d,上述3个治疗组肿瘤体积达到1 000 mm³所需时间较对照组分别延长3.2、2.7、8.7 d;3个治疗组均能显著降低肿瘤组织内微血管密度、提高肿瘤细胞的凋亡率,其中联合治疗组的治疗作用更强,显示出二者联用的协同效果。

以上研究证实和厚朴酚脂质体是通过诱导荷瘤小鼠体内Lewis细胞凋亡和抑制肿瘤新生血管和淋巴管的形成,阻滞肺癌细胞在小鼠体内生长,延长荷瘤小鼠的生存期;和厚朴酚也能增强基因治疗、放疗的抗肺癌疗效。

2 抗人小细胞肺癌

黄清松等^[7]报道和厚朴酚质量浓度2.5、5、10、20、40、80 mg·L⁻¹可浓度和时间相关地抑制人小细胞肺癌N446细胞增殖并诱导凋亡,和厚朴酚5、10、20 mg·L⁻¹作用48 h使N446细胞的凋亡率由对照组的1.04%分别提高到8.76%、9.45%、11.54%。

董秀等^[8-10]报道厚朴酚浓度和时间相关地抑制人小细胞肺癌H446细胞增殖,作用6、12、24 h抑制H446细胞增殖的IC₅₀分别为126.5、98.1、80.6 μmol·L⁻¹;98 μmol·L⁻¹厚朴酚作用12 h可使H446细胞的凋亡率由对照组的3.4%提高到27.5%,形态学观察可见凋亡小体形成和亚二倍体峰出现;诱导H446细胞线粒体膜电位下降、Bcl-2表达下调以及Bax、活化的前半胱天冬酶-9的表达上调。

3 抗人非小细胞肺癌

3.1 抗人肺腺癌A549细胞

文献报道和厚朴酚及厚朴酚可抑制人非小细胞肺癌A549细胞的增殖。

3.1.1 和厚朴酚 孙亚萍^[11]报道和厚朴酚20、40、60、80 μmol·L⁻¹浓度相关地抑制A549细胞增殖,诱导细胞凋亡以及促进半胱天冬酶-3、半胱天冬酶-9蛋白活化,作用48 h时增殖抑制率分别为3.25%、11.90%、50.30%、81.70%,作用36 h时细胞凋亡率由对照组的0提高到8.57%、15.61%、38.40%、59.75%。

罗敏等^[12]报道和厚朴酚作用48 h,抑制A549细胞增殖的 IC_{50} 为 $60.05 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,并能显著增加A549细胞内发出的亮红色荧光的酸性自噬泡的比例,即能促进自噬溶酶体的生成;和厚朴酚虽然不影响哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)总蛋白水平,但显著下调磷酸化mTOR蛋白表达和上调自噬相关蛋白LC3-II蛋白表达,而且自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤能对抗和厚朴酚的这些作用,认为和厚朴酚是通过阻滞mTOR信号转导通路,诱导A549细胞自噬的。

蔺兴遥等^[13]报道和厚朴酚 $20\sim 80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度相关地抑制A549细胞增殖,低浓度($20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和厚朴酚抑制增殖作用减弱,但预处理A549细胞2 h,能显著增强A549细胞对碳离子辐射的敏感性,增强对癌细胞内DNA的双链断裂性损伤,促进癌细胞凋亡,认为和厚朴酚预处理抑制了A549细胞内DNA双链断裂的修复,诱导癌细胞凋亡发生,从而提高癌细胞对碳离子辐射的敏感性。但和厚朴酚不能提高A549细胞对X射线辐射的敏感性。

俞芳^[14]报道和厚朴酚浓度为20、30、40、50、60、 $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 并作用48 h,对A549细胞增殖的抑制率分别为9.6%、11.3%、14.5%、20.3%、48.5%、72.6%; $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 奥沙利铂对A549细胞增殖的抑制率仅为6.8%,但其与和厚朴酚联用可使和厚朴酚20、40、 $60 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对A549细胞增殖的抑制率由单用时的8.22%、21.9%、33.6%分别提高到27.9%、60.1%、74.9%,细胞凋亡率由单用时的5.37%、15.11%、43.25%分别提高到15.71%、31.12%、55.90%,并进一步上调半胱天冬酶-9、半胱天冬酶-3的表达,说明和厚朴酚能显著提高A549细胞对低浓度奥沙利铂的敏感性。

3.1.2 厚朴酚 刘裕婷^[15]报道厚朴酚作用48 h抑制A549细胞增殖的 IC_{50} 为 $58.67 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;厚朴酚15、30、 $60 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度相关地诱导A549细胞凋亡,并下调细胞周期蛋白-D1表达,使细胞周期滞留在 G_0/G_1 期;上调肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(TRAIL)的受体-2,即死亡受体-5(DR5)的基因和蛋白表达及其下游的半胱天冬酶-3、裂解半胱天冬酶-3、裂解多聚ADP-核糖聚合酶(PARP)及凋亡蛋白Bax的表达,下调抗凋亡蛋白Bcl-2表达,但不影响半胱天冬酶-8的表达。进一步研究发现厚朴酚显著下调A549细胞核内I型去乙酰化酶1、2、3、8的蛋白表达,上调乙酰化组蛋白H3和乙酰化组蛋白H4的蛋白水平,也能上调非组蛋白p53和p65的乙酰化水平,也能使DR5基因的启动子区域的

H3K27位点高度乙酰化,认为厚朴酚是I型去乙酰化酶的表达和酶活性抑制剂,可通过抑制I型去乙酰化酶激活TRAIL通路来诱导A549细胞凋亡。体内抗A549细胞移植瘤实验也证实厚朴酚的上述离体实验结果:给皮下接种A549细胞制作成功的移植瘤模型裸鼠连续4周每周5次ig厚朴酚 $20 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,可使荷瘤裸鼠的肿瘤质量的抑瘤率达到44.40%;显著诱导体内肿瘤细胞凋亡,上调DR5、Bax、半胱天冬酶-3、裂解半胱天冬酶-3、裂解PARP和半胱天冬酶-8的蛋白水平,下调Bcl-2蛋白水平;也抑制体内肿瘤细胞的I型去乙酰化酶的蛋白水平,上调乙酰化组蛋白H3、乙酰化组蛋白H4、乙酰化p53和乙酰化p65的蛋白水平,说明厚朴酚ig给药也能发挥I型去乙酰化酶抑制剂的作用。另外,长期ig厚朴酚 $10 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 也能预防长期应用乌拉坦诱导小鼠肺部产生肺癌结节。

黄杰^[16]报道厚朴酚 $6.25\sim 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度和时间相关地抑制A549细胞增殖;厚朴酚作用24 h,在 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时使A549细胞主要发生早期凋亡,在 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时使A549细胞发生晚期凋亡,认为厚朴酚是通过下调Bcl-2、X连锁凋亡抑制蛋白(XIAP)两个凋亡抑制基因的表达,上调细胞色素C、半胱天冬酶-3两个凋亡诱导基因表达的线粒体凋亡通路,诱导A549细胞凋亡。厚朴酚也可通过抑制磷脂酰肌醇-3激酶(PI3K)/蛋白激酶B(AKT)和细胞外信号调节激酶(ERK)1/2的活性,上调P38和c-Jun氨基末端激酶(JNK)活性,诱导A549细胞凋亡^[17]。

史红阳等^[18]报道厚朴酚40、 $80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 可抑制A549细胞增殖并诱导凋亡以及下调程序性死亡配体-1(PD-L1)表达,认为厚朴酚可通过抑制肿瘤细胞程序性死亡受体-1(PD-1)/PD-L1的信号通路,阻止肿瘤细胞对逃避免疫系统的监控,诱导肿瘤细胞凋亡。

任吉莲等^[19]报道厚朴酚 $6.25\sim 500 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 可浓度相关地抑制A549肺癌细胞增殖和克隆形成; $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 厚朴酚作用24 h虽然不能显著抑制增殖,但在作用7 d时能抑制克隆形成、Ki67和增殖细胞核抗原的蛋白表达,升高Bax/Bcl-2比值,并促进细胞凋亡;也能显著下调A549细胞中的干细胞标志物SOX2和OCT4的蛋白表达,使A549细胞中的 CD^+ 干细胞和 $CD133^+$ 干细胞数量显著减少,说明A549中的干细胞对厚朴酚敏感;联用低浓度($5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)吉非替尼可进一步显著增强厚朴酚

的上述所有作用。

3.2 抗人肺腺癌 H1299 细胞

刘裕婷^[15]报道厚朴酚作用 48 h 抑制 H1299 细胞增殖的 IC_{50} 为 $60.19 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 厚朴酚 15、30、60 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度相关地诱导 H1299 细胞凋亡并下调细胞周期蛋白-D1 表达, 使细胞周期滞留在 S 期; 上调 DR5 的基因和蛋白表达及其下游的半胱天冬酶-8、半胱天冬酶-3、裂解半胱天冬酶-3、裂解 PARP、Bax, 下调 Bcl-2 表达; 也能下调 I 型去乙酰化酶的表达, 上调乙酰化组蛋白 H3、乙酰化组蛋白 H4 的蛋白水平, 也能上调 p53 缺失的 H1299 细胞中的 p65 的乙酰化水平, 也可使 DR5 基因的启动子区域的 H3K27 位点高度乙酰化, 认为厚朴酚也可通过抑制 I 型去乙酰化酶激活 TRAIL 通路来诱导 H1299 细胞凋亡。

和厚朴酚也是 I 型去乙酰化酶表达和活性抑制剂, 能使组蛋白 H3 和组蛋白 H4 乙酰化程度增加, 并激活半胱天冬酶级联反应, 诱导 H1299 和 A549 细胞凋亡并调控细胞周期蛋白 D1、细胞周期蛋白依赖激酶-2、细胞周期蛋白依赖激酶-6, 使细胞周期滞留在 G_0/G_1 期; 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和厚朴酚可抑制 H1299 细胞或 A549 细胞移植瘤在小鼠体内生长, 抑瘤率分别为 40% 和 54%^[20]。

藺兴遥等^[13]报道和厚朴酚 20~80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度相关地抑制 H1299 细胞增殖, 低浓度 (20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和厚朴酚抑制增殖较弱, 但处理 H1299 细胞 2 h 能显著增强 H1299 细胞对碳离子辐射的敏感性, 增强对癌细胞内 DNA 的双链断裂性损伤, 促进癌细胞凋亡, 认为和厚朴酚预处理抑制了 H1299 细胞内 DNA 双链断裂的修复, 诱导癌细胞凋亡, 从而提高癌细胞对高线性能量转移碳离子辐射的敏感性, 但不提高 H1299 细胞对低线性能量转移 X 射线的辐射敏感性。

3.3 抗其他肺腺癌细胞

陈凌燕^[21]报道和厚朴酚 20~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用 48 h 可浓度相关地抑制人肺腺癌 PC-9 细胞生长, 并上调半胱天冬酶-3、半胱天冬酶-9 的蛋白表达和出现凋亡坏死的形态特征: 胞浆胞核浓缩、染色质边集浓染、核呈新月形、条状甚至碎片状。和厚朴酚 40、60、80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用 24 h 对 PC-9 细胞的凋亡率分别为 2.6%、10.3%、19.8%, 与不抑制 PC-9 细胞增殖的 0.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的奥沙利铂联用, 凋亡率分别提高到 17.2%、34.9%、40.1%, 两者呈协同作用。

刘畅等^[22]报道和厚朴酚作用 24、48、72 h 抑制

人肺腺癌 A2 增殖的 IC_{50} 分别为 44.0、26.51、19.54 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 上调 Bax 的基因和蛋白表达, 下调 Bcl-2 的基因和蛋白表达并诱导细胞凋亡, 使细胞周期滞留在 S 期, G_1 期和 G_2 期细胞数减少。王春玲等^[23]报道和厚朴酚作用 48 h 抑制人肺腺癌 SPC-A-1 细胞增殖的 IC_{50} 为 8.20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 并使细胞周期滞留在 G_1 期; 青蒿素能增强和厚朴酚对 SPC-A-1 细胞增殖的抑制作用。曾敏^[24]报道和厚朴酚作用 24、48、72 h 抑制人肺腺癌 H1975 细胞增殖的 IC_{50} 分别为 22.91、12.55、4.37 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

陈恩就等^[25]报道厚朴酚可延缓肺腺癌 Calu3 细胞对紫杉醇产生耐药; 获得性紫杉醇耐药的 Calu3 细胞的 P-糖蛋白外排活性与其亲本细胞比较, 增加了 5 倍, 但用厚朴酚处理或厚朴酚联合紫杉醇处理可使紫杉醇耐药的 Calu3 细胞的细胞外排活性恢复到亲本细胞水平, 表明厚朴酚可抑制 P-糖蛋白的外排活性; 紫杉醇耐药的 Calu3 细胞对紫杉醇、对以 P-糖蛋白为底物的长春新碱和多柔比星、对以非 P-糖蛋白为底物的顺铂的耐药比例 (RF) 分别为 26.0、25.7、6.8、1.0, 如与厚朴酚联合处理可使上述化疗药的 RF 分别降至 1、0.9、0.9、0.9, 说明厚朴酚能阻止癌细胞对紫杉醇耐药性的发生和发展, 也能逆转耐药癌细胞对化疗药耐药使之成为敏感。

3.4 抗人大细胞肺癌和肺鳞癌

曾敏^[24]报道和厚朴酚作用 24、48、72 h 抑制人大细胞肺癌 H460 细胞增殖的 IC_{50} 分别为 51.43、32.68、5.52 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

李海波^[26]报道厚朴酚 10~160 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对 H460 细胞生长和 DNA 的合成具有双向调节作用, 在低浓度 ($\leq 20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 时促进 H460 细胞生长, 在高浓度 ($\geq 40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 时抑制其生长; 在抑制 DNA 合成的过程中伴随着胞浆内自噬空泡出现和癌细胞坏死; 早期特异性自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤能对抗厚朴酚诱导 H460 细胞出现自噬空泡和细胞坏死; 高浓度厚朴酚主要通过自噬诱导 H460 细胞坏死, 很少发生凋亡, 使细胞周期滞留在 S 期; 低浓度 (1~20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 厚朴酚通过提高其抗氧化作用, 浓度相关地保护 H460 细胞免遭叔丁基过氧化氢诱导的氧化应激损伤、单链 DNA 破坏和脂质过氧化物生成以及细胞凋亡, 提高细胞存活率, 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 厚朴酚对细胞的保护作用明显强于 N-乙酰半胱氨酸, 并认为厚朴酚是通过下调 p53 磷酸化和 PTEN 的表达以及上调蛋白激酶 B (AKT) 的磷酸化来提高细胞存活率的。

黄杰^[16]报道厚朴酚6.25、12.5、25、50、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用24 h可浓度相关地抑制H460细胞和人高转移肺腺癌95D细胞增殖、黏附、迁移和侵袭能力,下调基质金属蛋白酶-2基因和蛋白表达,认为厚朴酚是通过抑制AKT、3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶-1的蛋白磷酸化,调控PI3K/AKT信号通路,下调基质金属蛋白酶-2的表达,抑制非小细胞肺癌转移的。

刘裕婷^[15]报道厚朴酚作用48 h抑制人肺鳞癌H226细胞增殖的 IC_{50} 为94.22 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,能浓度相关地使H226细胞周期滞留在S期。

已有报道厚朴酚在低浓度(10~40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)能抑制人肺鳞癌CH27细胞增殖,在高浓度(80~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)时能显著诱导CH27细胞凋亡;80 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 厚朴酚可显著下调Bcl-XL的表达,上调Bad和Bcl-X(S)的蛋白表达和胞浆内细胞色素C水平,并激活半胱天冬酶-9及其下游的半胱天冬酶-3、半胱天冬酶-6;半胱天冬酶抑制剂z-VAD-fmk可显著对抗厚朴酚诱导CH27细胞死亡,但不能阻止胞浆内细胞色素C水平的提高。如果使CH27细胞过表达Bcl-2也能对抗厚朴酚诱导细胞凋亡,认为厚朴酚是通过持续激活JNK和失活ERK,调控Bcl-2家族,上调胞浆内细胞色素C水平,从而激活半胱天冬酶,诱导癌细胞凋亡。

综上,和厚朴酚及厚朴酚可通过抑制I型去乙酰化酶的表达和酶活性,上调DR5的表达,激活TRAIL信号通路,诱导非小细胞肺癌细胞凋亡;也可通过阻滞AKT/mTOR信号通路诱导非小细胞肺癌细胞自噬,抑制非小细胞肺癌细胞增殖^[13,26]。Tsai等^[17]报道厚朴酚是通过与半胱天冬酶无关的通路激活凋亡诱导因子、核酸内切酶G、裂解PARP的核转录,降低线粒体膜电位,诱导线粒体释放前凋亡蛋白Bid、Bax、细胞色素C,导致人肺鳞癌H520细胞、肺腺癌H441细胞和A549细胞等人非小细胞肺癌细胞凋亡的。厚朴酚也可通过抑制非小细胞肺癌的微管聚合,破坏癌细胞微管结构,使细胞滞留在有丝分裂期,抑制癌细胞生长^[27],也可通过阻滞PI3K/AKT信号通路抑制非小细胞肺癌细胞转移。厚朴酚还可延缓非小细胞肺癌细胞对化疗药产生耐药,对已耐药的肺非小细胞肺癌细胞可重新恢复对化疗药的敏感性。

4 抑制癌细胞的肺转移

厚朴酚在不影响黑色素瘤B16-BL6细胞生长的浓度时即可显著抑制黑色素瘤细胞侵袭Matrigel基底膜胶,说明厚朴酚有抗肿瘤转移的作用;整体

实验也发现在给小鼠接种B16-BL6细胞前后多次ip厚朴酚10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,可显著抑制B16-BL6肿瘤生长和自发性肺转移。

曾敏^[24]报道和厚朴酚在体外作用乳腺癌4T1细胞24、48、72 h,增殖抑制的 IC_{50} 分别为33.48、21.95、16.66 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;给小鼠iv接种4T1细胞后次日每天ig和厚朴酚200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,可显著延长肿瘤肺转移小鼠的生存期:空白对照组小鼠在接种4T1细胞后第18天全部死亡,而和厚朴酚组小鼠直到接种后第40天开始陆续死亡,中位生存期为58 d。

黄赞等^[28]报道给裸鼠iv接种肝癌Hep3B后1周,连续5周ip和厚朴酚50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,可显著减少肺部转移瘤的结节数目;体外实验显示和厚朴酚浓度在20、30 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时能显著抑制Hep3B细胞的迁移和转移能力,并下调Hep3B细胞中的PI3K、磷酸化AKT、波形蛋白、神经-钙黏蛋白的表达,上调上皮-钙黏蛋白的表达,认为和厚朴酚是通过抑制PI3K/AKT通路逆转上皮-间充质转化,阻滞Hep3B细胞迁移和转移的。

5 结语

和厚朴酚及厚朴酚是疏水性烯丙基联苯酚类结构的同分异构体,且是厚朴的主要活性成分,具有广泛的药理活性^[29]。和厚朴酚能抑制肺癌A549细胞、H1299细胞和Lewis细胞移植瘤在小鼠体内的生长和转移,而厚朴酚能预防乌拉坦诱导小鼠发生肺癌和治疗A549细胞移植瘤在小鼠体内生长。和厚朴酚及厚朴酚在体外能浓度相关地抑制人小细胞肺癌N446细胞、H446细胞,人非小细胞肺癌中的肺腺癌A549细胞、H1299细胞、H441细胞、H1975细胞、Calu3细胞、A2细胞、PC-细胞、SPC-A-1细胞、95D细胞,人大细胞肺癌H460细胞,人肺鳞癌H226细胞、H520细胞、CH27细胞以及小鼠肺癌Lewis细胞增殖,并诱导凋亡和坏死;也能增强放疗和化疗药的抗肺癌细胞的效应。和厚朴酚及厚朴酚抑制肺癌生长的主要机制是:(1)抑制I型去乙酰化酶的表达和酶活性,上调DR5的表达激活TRAIL信号通路;(2)激活与半胱天冬酶无关的凋亡通路;(3)阻滞癌细胞中的微管聚合,破坏微管结构;(4)阻滞AKT/mTOR信号通路,诱导癌细胞自噬;(5)阻滞PI3K/AKT信号通路,抑制癌细胞转移。

孤核受体Nur77作为一种多功能转录因子具有促进细胞增殖和诱导细胞凋亡的双重功能,在肿瘤发生发展过程中起着重要作用,已成为抗肿瘤药物开发的重要新靶点之一^[30]。已知和厚朴酚有促进

Nur77降解,诱导肝癌细胞凋亡的作用^[31]。和厚朴酚及厚朴酚是广谱的抗肺癌药,应该进一步探讨孤核受体Nur77在和厚朴酚及厚朴酚抗各种肺癌中是否起重要作用。

从本文和另外2篇抗消化系肿瘤综述^[31-32]可见和厚朴酚及厚朴酚的抗肿瘤作用机制多样、作用靶点很多,具备开发成抗肿瘤新药的潜力。笔者建议研发和生产企业开发和厚朴酚或厚朴酚的易吸收、长效制剂,专门用于防治、肿瘤复发和转移的长期用药,希望能提高肿瘤患者的5年生存率。现在公认肿瘤属于慢性疾病,很有可能像高血压那样需要长期或终身用药,因此更需要开发像苦参碱、氧化苦参碱、和厚朴酚、厚朴酚这类的来源广泛、价格低廉的抗肿瘤药品,且低毒性植物抗肿瘤药适合长期甚至终身服用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘宗超,李哲轩,张阳,等. 2020年全球癌症统计报告解读[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2021, 7(2): 1-14.
Liu Z C, Li Z X, Zhang Y, et al. Interpretation on the report of global cancers statistics 2020 [J]. J Multidisc Cancer Man: Elec Ver, 2021, 7(2): 1-14.
- [2] 张明发,沈雅琴. 中药厚朴及其成分厚朴酚与和厚朴酚体外抗各种球菌的药理作用研究进展[J]. 抗感染药学, 2021, 18(9): 1241-1244.
Zhang M F, Shen Y Q. Research progress in anti-coccus effects of *Magnoliae Officinalis Cortex*, magnolol and honokiol on various coccus *in vitro* [J]. Anti Infect Pharm, 2021, 18(9): 1241-1244.
- [3] 张明发,沈雅琴. 厚朴提取物、厚朴酚及和厚朴酚的抗氧化和抗衰老药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2022, 45(3): 596-604.
Zhang M F, Shen Y Q. Research advances on antioxidation and anti-aging of *Magnoliae Officinalis Cortex*, magnolol and honokiol [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(3): 596-604.
- [4] 张明发,沈雅琴. 厚朴提取物、厚朴酚及和厚朴酚的抗炎作用及其机制研究进展[J]. 药物评价研究, 2021, 44(12): 2739-2746.
Zhang M F, Shen Y Q. Research advances on anti-inflammation and their mechanism of extract, magnolol and honokiol from *Magnoliae Officinalis Cortex* [J]. Drug Eval Res, 2021, 44(12): 2739-2746.
- [5] 袁铸. 小鼠PNAS-4基因的克隆、特征及其对顺铂与和厚朴酚抗肿瘤效果的增强作用[D]. 成都:四川大学, 2007.
Yuan Z. Cloning, characteristics of mouse PNAS-4 gene and its function about enhancing the antineoplastic effects of cisplatin and honokiol [D]. Chengdu: Sichuan University, 2007.
- [6] 文静. 脂质体和厚朴酚抗肿瘤淋巴管生成和转移的研究[D]. 成都:四川大学, 2007.
Wen J. Liposomal honokiol inhibits lymphangiogenesis and tumor metastasis [D]. Chengdu: Sichuan University, 2007.
- [7] 黄清松,李红枝,郑敏. 和厚朴酚对人肺小细胞癌N446细胞增殖与凋亡的影响[J]. 长春中医药大学学报, 2013, 29(6): 967-969.
Huang Q S, Li H Z, Zheng M. Effects of honokiol on proliferation and apoptosis of human lung adenocarcinoma N446 cells [J]. J Changchun Univ Tradit Chin Med, 2013, 29(6): 967-969.
- [8] 董秀,韩兆峰,王晓波,等. 厚朴酚对人小细胞肺癌H446细胞增殖的影响[J]. 中国民族民间医药, 2011, 18(5): 31.
Dong X, Han Z F, Wang X B, et al. Effects of magnolol on the proliferation of human small cell lung cancer cells H446 [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm, 2011, 18(5): 31.
- [9] 董秀,韩兆峰,王晓波,等. 厚朴酚对人小细胞肺癌H446细胞凋亡的影响[J]. 中国医药指南, 2011, 9(8): 200-201.
Dong X, Han Z F, Wang X B, et al. Effects of magnolol on the apoptosis of human small cell lung cancer cells H446 [J]. Guide Chin Med, 2011, 9(8): 200-201.
- [10] 董秀,于丹,王淳,等. 厚朴酚调控人小细胞肺癌H446细胞凋亡的机制研究[J]. 辽宁中医杂志, 2012, 39(8): 1443-1445.
Dong X, Yu D, Wang C, et al. Study on the mechanism of H446 cells apoptosis of magnolol-induced human small cell lung cancer [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2012, 39(8): 1443-1445.
- [11] 孙亚萍. 和厚朴酚对人肺癌A549细胞的抗增殖及诱导凋亡的作用研究[D]. 杭州:浙江大学, 2010.
Sun Y P. The proliferation and apoptosis effect of honokiol on human lung cancer A549 cells *in vitro* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2010.
- [12] 罗敏,缪萍,吴爱祥,等. 和厚朴酚通过mTOR信号通路诱导肺癌A549细胞自噬[J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(7): 1195-1198.
Lou M, Miu P, Wu A X, et al. Honokiol induces autophagy by inhibiting mTOR signaling pathway in lung cancer A549 cells [J]. Chin J Pathophysiol, 2019, 35(7): 1195-1198.
- [13] 蔺兴遥,刘炳涛,马晓辉,等. 和厚朴酚对非小细胞肺癌细胞的辐射增敏效应[J]. 原子核物理评论, 2019, 36

- (1): 104-110.
- Ming X Y, Liu B T, Ma X H, et al. Radiosensitizing effect of honokiol on non-small cell lung carcinoma cells [J]. Nuclear Physics Review, 2019, 36(1): 104-110.
- [14] 俞芳. 和厚朴酚联合低剂量奥沙利铂诱导肺腺癌A549细胞凋亡的实验研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- Yu F. Honokiol in combination with a low dose oxaliplatin can induce apoptosis of the human lung adenocarcinoma A549 cells [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2010.
- [15] 刘裕婷. 新型去乙酰化酶抑制剂厚朴酚激活TRAIL通路诱导NSCLC凋亡的机制研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2016.
- Liu Y T. Magnolol, a novel histone deacetylase inhibitor, significantly enhanced TRAIL-induced apoptosis in NSCLS [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2016.
- [16] 黄杰. 厚朴酚抑制肺癌转移以及诱导肺癌细胞凋亡的分子机制 [D]. 南充: 西华师范大学, 2016.
- Huang J. The molecular mechanisms of magnolol on inhibiting metastasis and inducing apoptosis in human lung cancer cells [D]. Nanchong: China West Normal University, 2016.
- [17] Tasi J R, Chongl W, Chen Y H, et al. Magnolol induces apoptosis via caspase-independent pathways in non-small cell cancer cells [J]. Arch Pharmacol Res, 2014, 37(4): 548-557.
- [18] 史红阳, 王煜, 张永红, 等. 厚朴酚通过PD-1/PD-L1通路介导非小细胞肺癌增殖和凋亡的机制研究 [J]. 山西医科大学学报, 2021, 52(4): 398-402.
- Shi H Y, Wang Y, Zhang Y H, et al. Study on mechanism of magnolol mediating proliferation and apoptosis of non-small cell lung cancer through PD-1/PD-L1 pathway [J]. J Shanxi Med Univ, 2021, 52(4): 398-402.
- [19] 任吉莲, 崔灵芝, 郝小夏, 等. 厚朴酚联合吉非替尼对A549非小细胞肺癌细胞的干预作用 [J]. 中国应用生理学杂志, 2021, 37(5): 506-510.
- Ren J L, Cui L Z, Hao X X, et al. Effects of magnolol combined with gefitinib on A549 non-small cell lung cancer cells [J]. Chin J Appl Physiol, 2021, 37(5): 506-510.
- [20] Singh T, Prasad R, Katiyai S K. Inhibition of class I histone deacetylase in non-small cell lung cancer by honokiol leads to suppression of cancer cell growth and induction of cell death in vitro and in vivo [J]. Epigenetics, 2013, 8(1): 54-65.
- [21] 陈凌燕. 和厚朴酚通过诱导凋亡增强奥沙利铂对人PC-9细胞的抗肿瘤作用 [D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- Chen L Y. Honokiol markedly enhances antitumour effect of low dose oxaliplatin to human PC-9 cell through inducing apoptosis [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2010.
- [22] 刘畅, 邵淑丽, 夏艳, 等. 和厚朴酚对人肺癌A2细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(5): 1797-1803.
- Liu C, Shao S L, Xia Y, et al. Effect of HNK on proliferation and apoptosis of human lung cancer A2 cells [J]. Genomics Appl Biol, 2017, 36(5): 1797-1803.
- [23] 王春玲, 赖小平, 吴安国. 和厚朴酚联合青蒿素体外抗肿瘤的实验研究 [J]. 中国药理学杂志, 2011, 46(21): 1639-1642.
- Wang C L, Lai X P, Wu A G. Experimental studies of honokiol in combination with artemisinin on anti-tumor effect of SPC-A-1 cells *in vitro* [J]. Chin Pharm J, 2011, 46(21): 1639-1642.
- [24] 曾敏. 和厚朴酚对乳腺癌4T1细胞小鼠肺转移模型的影响 [J]. 西南国防医药, 2018, 28(12): 1157-1159.
- Zeng M. Impacts of honokiol on lung metastasis of breast cancer 4T1 cells in mice [J]. Med J Nation Defend Force Southwest Chin, 2018, 28(12): 1157-1159.
- [25] 陈恩就, 周方联, 陈胜. 厚朴酚对非小细胞肺癌获得性紫杉醇耐药细胞的影响研究 [J]. 中国药师, 2021, 24(3): 437-441.
- Chen E J, Zhou F L, Chen S. Effect of magnolol on acquired paclitaxel-resistant human non-small cell lung cancer [J]. China Pharmacist, 2021, 24(3): 437-441.
- [26] 孙宏伟, 李海波. 厚朴酚通过自噬途径促进肺癌细胞死亡 [J]. 中医药信息, 2010, 27(6): 86-89.
- Sun H W, Li H B. Magnolol-induced lung cancer cells death via autophagy [J]. Inform Tradit Chin Med, 2010, 27(6): 86-89.
- [27] Shen J, Ma H L, Zhang T C, et al. Magnolol inhibits the growth of non-small cell lung cancer via inhibiting microtubule polymerization [J]. Cell Phys Biochem, 2017, 42(5): 1789-1801.
- [28] 黄赞, 李智文, 黄晖昱, 等. 和厚朴酚通过调节PI3K/AKT通路介导的EMT抑制Hep3B细胞迁移和转移 [J]. 中国卫生标准管理, 2019, 10(20): 124-128.
- Huang Y, Li Z W, Huang X Y, et al. Honokiol inhibits migration and metastasis in Hep3B cells by regulating PI3K/AKT pathway-mediated EMT [J]. Chin Heal Stand manag, 2019, 10(20): 124-128.
- [29] 杨岩, 肖佳妹, 易子漾, 等. 厚朴超临界CO₂提取工艺优化及提取物抗氧化活性研究 [J]. 中草药, 2020, 51(2): 381-386.
- Yang Y, Xiao J M, Yi Z Y, et al. Optimization of supercritical CO₂ extraction process of *Magnoliae Officinalis Cortex* and anti-oxidant activities of extracts

- [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(2): 381-386.
- [30] 张文歆, 吴子媚, 石焕英, 等. 孤核受体Nur77在肿瘤治疗中的研究进展 [J]. 上海医药, 2021, 42(23): 3-7.
- Zhang W X, Wu Z M, Shi H Y, et al. Research progress of orphan nuclear receptor Nur77 in cancer therapy [J]. Shanghai Med Pharm J, 2021, 42(23): 3-7.
- [31] 张明发, 沈雅琴. 和厚朴酚及厚朴酚抗肝癌、胆囊癌和胰腺癌的药理作用及机制研究进展[J]. 药物评价研究, 2022, 45(5): 1003-1009.
- Zhang M F, Shen Y Q. Research advances in pharmacologic effects and mechanisms of honokiol and magnolol against liver cancer, gallbladder cancer and pancreatic cancer [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(5): 1003-1009.
- [32] 张明发, 沈雅琴. 和厚朴酚及厚朴酚抗结肠癌和胃癌的药理作用及机制研究进展 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(4): 810-816.
- Zhang M F, Shen Y Q. Research advances in pharmacologic effects and mechanism of honokiol and magnolol against colorectal cancer and gastric carcinoma [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(4): 810-816.

[责任编辑 李红珠]