

青蒿素及其衍生物抗肿瘤研究进展

陈立军, 靳秋月, 于利人, 王瑞琨, 呼文亮

(中国人民武装警察部队医学院 生化教研室, 天津 300162)

青蒿素(artemisinin)是目前最常用的抗疟特效药, 尤其是脑型疟疾和抗氯喹疟疾。近年来发现青蒿素及其衍生物具有较强的抗肿瘤作用, 关于青蒿素抗肿瘤作用机制, 以及能否将其开发为抗肿瘤新药的研究已成为青蒿素研究的热点。

1 青蒿素发展史

1971年, 中医研究院发现青蒿乙醚提取物的中性部分具有显著的抗疟作用, 1972年从青蒿中分离出了青蒿素, 1973年青蒿素首次作为抗疟药应用于临床, 1997年世界卫生组织(WHO)在马尼拉会议上制定了青蒿琥酯的标准剂量疗程, 1999年WHO将青蒿琥酯和蒿甲醚列入国际药典之后, 标志着我国独立创制的新药首次得到了国际承认。

青蒿素是从菊科植物黄花蒿的叶和花蕾中分离获得的, 分离步骤较多, 费时费力, 且不同采集时期和不同采集地对青蒿素提取物的品质有较大的影响。大量采集自然资源, 势必会造成自然资源的枯竭, 影响生态平衡, 因此各国科学家都致力于合成青蒿素。青蒿素的合成主要有化学方法合成、生物合成、衍生物的合成、植物组织培养。1976年通过化学反应、光谱数据和X射线单晶衍射方法证明青蒿素为一种含有过氧基的新型倍半萜内酯, 分子式为 $C_{15}H_{22}O_5$ 。

青蒿素的衍生物有很多种, 目前研究较多的是青蒿素、二氢青蒿素、蒿甲醚、青蒿琥酯和蒿乙醚等。将青蒿素还原为二氢青蒿素后, 对二氢青蒿素的第12位碳原子进行修饰, 可合成青蒿素芳香醚衍生物。

2 青蒿素的抗肿瘤作用

研究发现青蒿素除具有高效的抗疟活性外, 还具有抗病毒和抗肿瘤的作用。1993年Woedenbag等^[1]报道用MTT法检测与青蒿素有关的内过氧化物对艾氏腹水癌细胞有细胞毒作用。青蒿素及其衍生物对鼠艾氏腹水癌细胞、人鼻咽癌细胞(SUNE-1和CNE-1)和人宫颈癌细胞(HeLa)有细胞毒性作用^[2], 能抑制这些肿瘤细胞的生长; 有研究表明, 青蒿琥酯对人肝癌BEL-7402细胞及体内对裸鼠异体移植肝癌细胞生长均有明显抑制作用, 可诱导BEL-7402细胞凋亡, 90 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 青蒿琥酯作用于BEL-7402细胞24h调亡率为44.1%^[3]; 用青蒿素琥酯处理的HepG细胞可见梯状DNA和调亡小体^[4]。另有研究^[5]报道, 青蒿琥酯在人卵巢癌裸鼠移植瘤模型中, 证实具有血管生成抑制作用, 能明显地抑制移植瘤血管增生; 青蒿琥酯还有直接杀伤肿瘤细胞的作用, 使肿瘤细胞的生长受到明显抑制。二氢青蒿素对白血病、黑

色素瘤、结肠癌、前列腺癌和乳腺癌细胞株高度敏感^[6]; 作用于MCF-7乳腺癌细胞24h, 可观察到细胞出现明显调亡形态^[7], 表明二氢青蒿素抑制肿瘤细胞增殖可能与其促进调亡有关; Singh等^[8]研究发现二氢青蒿素对正常人乳腺细胞没有明显的细胞毒作用, 但对人乳腺癌细胞表现出了很强的杀伤能力, 添加转铁蛋白能提高这种杀伤力。据此认为, 青蒿素及其衍生物除了是抗疟疾的首选药物之外, 还有望开发为抗肿瘤新药。

3 青蒿素抗肿瘤作用机制

研究发现青蒿素抗肿瘤作用可能同青蒿素与 Fe^{2+} 反应产生大量自由基以及烷化作用有关^[9]。癌细胞分裂时, 需要大量 Fe^{2+} 才能复制染色体, 故癌细胞的 Fe^{2+} 浓度较正常细胞高出许多。外源添加50~150 $\mu\text{mol}/\text{L}$ FeCl_3 有助于提高二氢青蒿素对MCF-7细胞的生长抑制(30%~50%), 这种杀伤作用可能与铁离子参与青蒿素类药物自由基生成, 导致细胞坏死增多有关^[9]。细胞调亡在肿瘤的治疗中具有重要的意义, 调亡功能丧失或受到抑制可能导致癌症的发生和肿瘤细胞耐药性的出现。青蒿琥酯就是通过诱导肿瘤细胞调亡抑制肿瘤增殖。PCNA是DNA多聚酶 δ 辅助蛋白, 是DNA合成必不可少的因子, 其水平和表达反映了细胞的增殖活性。通过甲基绿-派诺宁染色法观察细胞形态, 免疫组化染色法检测基因表达, 表明青蒿琥酯能明显抑制PCNA表达, 从而降低DNA多聚酶 δ 的活性, 抑制肿瘤细胞DNA的合成。肝癌小鼠经青蒿琥酯治疗后, 实体瘤组织标本中Bcl-2表达下调, Bax上调, 提示青蒿素诱导肿瘤细胞调亡与p53非依赖途径有关^[5]。许多与血管关系密切的肿瘤(如卵巢癌、肾癌、黑色素瘤、胶质瘤等)可以自分泌VEGF受体(主要为flt-1和KDR/flk-1两种), 提高血管通透性, 促进内皮细胞的增殖和迁移, 最终导致肿瘤血管生长, 青蒿琥酯对血管内皮细胞的增殖、迁移、管腔形成3个环节的抑制作用显示其具有血管生成抑制作用, 能明显地抑制移植瘤血管增生, 下调肿瘤的VEGF表达及肿瘤细胞和血管内皮细胞KDR/flk-1受体的表达。据此认为, 抑制血管内皮细胞KDR/flk-1受体和肿瘤的VEGF蛋白表达, 是青蒿琥酯抗肿瘤血管生成的作用机制之一, 也是抑制血管内皮细胞迁移和血管生成的机制之一。青蒿琥酯还有直接杀伤肿瘤细胞的活性, 使肿瘤组织的生长受到明显抑制。杨小平等^[10]研究也发现青蒿琥酯诱导的调亡细胞中p21、p53表达与对照组相比无显著变化, 而Bcl蛋白表达水平随药物作用

收稿日期: 2005-02-12

作者简介: 陈立军(1967—), 女, 天津市人, 副教授, 主要从事肿瘤分子机制研究。

Tel: (022)60578076 E-mail: chenlijun67@eyou.com

时间的延长呈降低的趋势,表明青蒿醋酸钠诱导肝癌细胞凋亡的分子机制是 p53 非依赖的,即与 p21、p53 无关,而与凋亡调节基因 bcl-2 下调有关。有研究指出^[11],青蒿素使白血病细胞内钙升高,导致白血病细胞凋亡,共聚焦结果显示白血病细胞膜是青蒿素作用的靶点之一,青蒿素的抗肿瘤作用机制有凋亡和胀亡 2 种,它的即刻效应可能是通过开放某些细胞膜上的离子通道,使细胞内钙浓度增加,激活钙蛋白酶(calpain),导致 caspase 非依赖性细胞死亡形式——胀亡发生,细胞膜通透性变化是决定这种死亡方式的关键。线粒体在许多生理和病理情况下,可作为凋亡的感受器和效应器,对细胞的存活起重要的调控作用^[12],线粒体跨膜电位降低时,促凋亡物质释放,caspase 激活导致细胞凋亡,青蒿素可降低细胞线粒体跨膜电位,诱导肿瘤细胞凋亡^[13]。

目前对青蒿素及其衍生物抗肿瘤作用可能机制的研究主要有:①青蒿素与 Fe²⁺ 反应产生大量自由基以及烷基化作用有关;②诱导 p53 非依赖肿瘤细胞凋亡途径抑制肿瘤增殖;③使肿瘤细胞内钙升高,促凋亡物质释放、caspase 激活,导致细胞凋亡;④导致 caspase 非依赖性细胞死亡形式——胀亡发生;⑤导致线粒体跨膜电位降低;⑥抗肿瘤血管生成;⑦直接杀伤肿瘤细胞。

4 青蒿素及其衍生物作为抗肿瘤新药开发前景

青蒿素及其衍生物对正常细胞毒性非常低,且其来源广泛,在抗癌药物的开发方面有很大前景。但是青蒿素及其衍生物作为抗肿瘤药应用还需要解决很多方面的问题,如在青蒿素诸多衍生物中选择抗癌作用强、抗癌谱广的化合物;作为抗肿瘤药物应尽量控制胀亡的发生;深入研究青蒿素及其衍生物抗肿瘤作用机制等。

References:

- [1] Woerdenbag H J, Moskat T A, Pras N, et al. Cytotoxicity of arte misinin related endoperoxides to Ehrlich ascites tumor cells [J]. *J Nat Prod*, 1993, 56(6): 849-851.
- [2] Yang X P, Pan Q C, Liang Y J, et al. Study on antitumor effect of sodium artesunate [J]. *Cancer (癌症)*, 1997, 16(3): 186-187.
- [3] Zhang X, Yang X P, Pan Q C. Studies on the antitumor effect and apoptosis induction in human liver cancer cell line (BEL-7402) by sodium artesunate [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 1998, 29(7): 467-469.
- [4] Chen Z T, Huang Z Y, Wu L N, et al. Experimental investigation of apoptosis of hepatoma mediated by artemisinin [J]. *Chin J Integr Tradit West Med Liver Dis (中西医结合肝病杂志)*, 2000, 10(5): 23.
- [5] Chen H H, Zhou H J. Inhibitory effects of artesunate on angiogenesis [J]. *Acta Pharm Sin (药理学报)*, 2004, 39(1): 29-33.
- [6] Beckman A C, Wierenge P K, Woerdenbag H J, et al. Artemisinin-derived sesquiterpene lactones as potential anti-tumour compounds: cytotoxic action against bone marrow and tumor cell [J]. *Planta Med*, 1998, 64(7): 615.
- [7] Wang Q, Wu L M, Zhao Y, et al. The anticancer effect of artesunate and its mechanism [J]. *Acta Pharm Sin (药理学报)*, 2002, 37(6): 477-478.
- [8] Singh N P, Lai H. Selective toxicity of dihydroartemisinin and holotransferrin toward human breast cancer cell [J]. *Life Sci*, 2001, 70: 49-56.
- [9] Lin F, Qian Z Y, Ding J, et al. Effect of dihydroartemisinin on the proliferation of MCF-7 cell [J]. *Chin J New Drugs (中国新药杂志)*, 2002, 11(12): 934-936.
- [10] Yang X P, Zhang X. Induction of human tumor cell apoptosis by sodium artesunate and its molecular mechanism [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2002, 33(9): 819-821.
- [11] Zhou J, Meng R, Li L M, et al. The effect of artemisinin on leukaemia cells and primary cell [J]. *Chin J Intern Med (中华内科杂志)*, 2003, 42(10): 713-714.
- [12] Lenaz G. Role of mitochondrial in oxidative stress and ageing [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1366(1): 52-67.
- [13] Dong H Y, Wang Z F, Song W H, et al. Apoptosis induced by artemisinin in K562 cells [J]. *Bull Chin Cancer (中国肿瘤)*, 2003, 12(8): 475.

浅谈中药不良反应

张庆平

(义乌中医院,浙江义乌 322000)

回归大自然的浪潮席卷全球,中药也随之受到了越来越多人的青睐。一些人认为中药是纯天然的,不像西药是化学制剂,因而没有毒副作用,其实这是错误的。中医学从一开始就非常重视中药的毒性。从我国最早的药学专著《神农本草经》开始,就把中药按毒性的大小来分类,以便医生在用药时加以注意。古人认为,中药是“以毒攻毒,具毒药以供医事”,将中药分为大毒、常毒、小毒、无毒 4 种,认为“大毒治病,十去其六,小毒治病,十去其九”,还强调“切记过用伤正”。正是因为中医很早就注意到了中药的毒性和副作用,因而在临床应用时就特别注意尽量减少它的不良反应的出现,比如对中药材进行炮制、用药时进行配伍等,都是为了使中药降低毒

性,同时又能最大限度地发挥其疗效。中药不良反应不仅是在于药本身的毒性,也在于用药不当所造成,可以说凡是药品,就会有不良反应发生的可能性。中药在临床上为治疗目的而发挥的作用称为治疗作用,而与治疗无关且不利于病人的作用称为不良反应。中药不良反应依据中药药性、不良反应发生时间、不良反应出现程度、病理机制及症候特点,可分为副作用、毒性反应、过敏反应、致畸作用、致突变作用、致畸作用、特异质反应、依赖性、后遗反应等。近来,有关服中药发生不良反应的报道日益增多,一方面加深了人们对中药不良反应的认识,同时也暴露出目前中药应用及管理方面的一些问题,现简要介绍一下几种常见中药不良反应的发生原因。