

- [5] Wang D Z, Ma G E, Xu R S. Studies on alkaloids of *Cephalotaxus* V. Studies and semi-synthesis of two anticancer cephalotaxine esters [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1992, 27(3): 173-177.
- [6] Qiu M H, Lu B P, Ma X, et al. Alkaloids from *Cephalotaxus fortunei* collected in Lijiang [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1997, 19(1): 97-99.
- [7] Mamadou B, Akino J, Bernard B. New alkaloids from *Cephalotaxus fortunei* [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66: 152-154.
- [8] Xue Z, Xu L Z, Chen D H, et al. Studies on the minor alkaloids of *Cephalotaxus hainanensis* Li [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1981, 16(10): 752-756.
- [9] Ren L J, Xue Z. Studies on the antitumor constituents of *Cephalotaxus sinensis* (Rehd. et Wils.) Li [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1981, 12(6): 1-4.
- [10] Ma Z W, He G F, Yin W F. Oliveriflavone, a new biflavonoid from *Cephalotaxus oliveri* Mast [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1986, 28(6): 641-645.
- [11] Kuo Y H, Lin C H, Hwang S Y, et al. A novel cytotoxic C-methylated biflavone from the stem of *Cephalotaxus wilsoniana* [J]. *Chem Pharm Bull* (Tokyo), 2000, 48(3): 440-441.
- [12] Kuo Y H, Hwang S Y, Yang Kuo L M, et al. A novel cytotoxic C-methylated biflavone, taiwanhomoflavone-B from the twigs of *Cephalotaxus wilsoniana* [J]. *Chem Pharm Bull* (Tokyo), 2002, 50(12): 1607-1608.
- [13] Wang L W, Su H J, Yang S Z, et al. New alkaloids and a tetraflavonoid from *Cephalotaxus wilsoniana* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67(7): 1182-1185.
- [14] Ma Z W, He G F, Yin W F. Studies on bisflavonoids of the leaves of *Cephalotaxus fortunei* Hook. f. var. *alpina*. native to China [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1984, 26(4): 416-418.
- [15] Du J, Qiu M H, Nie R L. Two new lactones from *Cephalotaxus fortunei* var. *alpina* [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62: 1664-1665.
- [16] Powell R G. Structures of homoerythrina alkaloids from *Cephalotaxus harringtonia* [J]. *Phytochemistry*, 1972, 11(4): 1467-1472.
- [17] Takano I, Yasuda I, Nishijima M, et al. Alkaloids from *Cephalotaxus harringtonia* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 43(1): 299-303.
- [18] Takano I, Yasuda I, Nishijima M, et al. Drupangtonine, a novel antileukemic alkaloid from *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1996, 6(14): 1689-1690.
- [19] Takano I, Yasuda I, Nishijima M, et al. New *Cephalotaxus* alkaloids from *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea* [J]. *J Nat Prod*, 1996, 59: 965-967.
- [20] Takano I, Yasuda I, Nishijima M, et al. New oxygenated *Cephalotaxus* alkaloids from *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea* [J]. *J Nat Prod*, 1996, 59: 1192-1195.
- [21] Takano I, Yasuda I, Nishijima M, et al. Cephalotaxidine, a novel dimeric alkaloid from *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea* [J]. *Tetrahedron Lett*, 1996, 37(39): 7053-7054.
- [22] Takano I, Yasuda I, Nishijima M, et al. Ester-type *Cephalotaxus* alkaloids from *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 44(4): 735-738.
- [23] Politi M, Braca A, De Tommasi N, et al. Antimicrobial diterpenes from the seeds of *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea* [J]. *Planta Med*, 2003, 69(5): 468-470.
- [24] Morita H, Arisaka M, Yoshida N, et al. Cephalozomines A-F, potent cytotoxic alkaloids from *Cephalotaxus harringtonia* var. *nana* [J]. *Tetrahedron*, 2000, 56: 2929-2934.
- [25] Morita H, Yoshinaga M, Kobayashi J. Cephalozomines G, H, J, K, L, and M, new alkaloids from *Cephalotaxus harringtonia* var. *nana* [J]. *Tetrahedron*, 2002, 58: 5489-5495.
- [26] Kobayashi J, Yoshinaga M, Yoshida N, et al. Cephalocyclidin A, a novel pentacyclic alkaloid from *Cephalotaxus harringtonia* var. *nana* [J]. *J Org Chem*, 2002, 67: 2283-2286.
- [27] Yoshinaga M, Morita H, Dota T, et al. Bis-cephalozomines A-E from *Cephalotaxus harringtonia* var. *nana* [J]. *Tetrahedron*, 2004, 60: 7861-7868.
- [28] Zhang W J, Zhou T H. Studies on urinary metabolites of HH07A, a derivative of hainanensine, in rats [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1998, 33(3): 212-216.
- [29] Luo C Y, Tang J Y, Wang Y P. Homoharringtonine, a new treatment option for myeloid leukemia [J]. *Hematology*, 2004, 9(4): 259-270.
- [30] Chen C Y, Jia J H, Pan X L, et al. The mechanism of apoptosis induced by homoharringtonine in HL-60 cells [J]. *Chin Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 2004, 20(7): 1183-1186.
- [31] Chen C Y, Jia J H, Pan X L, et al. Comparative proteomics research of apoptosis initiation induced by homoharringtonine in HL-60 cells [J]. *Chin J Hematol* (中华血液学杂志), 2003, 24(12): 624-628.
- [32] Efferth T, Sauerbrey A, Halatsch M E, et al. Molecular modes of action of cephalotaxine and homoharringtonine from the coniferous tree *Cephalotaxus hainanensis* in human tumor cell lines [J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2003, 367(1): 56-67.

积雪草酸及其衍生物的生物活性研究概况

陈 军, 华维一, 孙宏斌*

(中国药科大学 新药研究中心, 江苏 南京 210009)

摘要: 积雪草酸(asiatic acid)是传统药用植物积雪草中量较高的乌苏烷型五环三萜酸。生物活性研究表明积雪草酸及其衍生物具有治疗皮肤创伤、抗抑郁、抗阿尔茨海默病以及保肝、保护心脑血管和诱导肿瘤细胞凋亡等多种作用。综述近年来积雪草酸及其衍生物生物活性的研究概况并就开发积雪草酸及相关衍生物提出建议。

关键词: 积雪草酸; 五环三萜; 生物活性

中图分类号: R282.71

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)03-0458-03

收稿日期: 2005-07-08

基金项目: 江苏省“六大人才高峰”项目基金; 江苏省自然科学基金(BK2005101)

作者简介: 陈 军(1971-), 男, 博士研究生; 专业: 药物化学

* 通讯作者 孙宏斌 Tel: (025)85327950 E-mail: hbsun2000@yahoo.com

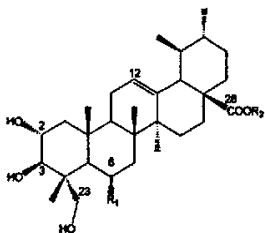
Advances in studies on biological activities of asiatic acid and its derivatives

CHEN Jun, HUA Wei-yi, SUN Hong-bin

(Center of Drug Discovery, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Key words: asiatic acid; pentacyclic triterpenes; biological activities

积雪草为伞形科植物积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urb. 的干燥全草, 又称落得打、崩大碗、半边钱, 在我国作为药用植物使用已有二千余年历史, 为《中国药典》收载的常用中药。国内积雪草资源十分丰富, 几乎遍布长江流域以南地区。积雪草具有清热利湿、解毒消肿之功效, 适用于湿热黄疸、中暑腹泻、砂淋血淋、痈肿疮毒、跌打损伤。积雪草酸(asiatic acid, 图 1-1) 是积雪草中量较高的乌苏烷型五环三萜酸。随着国内外研究的深入, 其药理活性正不断被发现, 本文就积雪草酸及其衍生物的生物活性研究进展加以综述。



- I R₁=H R₂=H
- II R₁=H R₂=Glu-Glu-Rha
- III R₁=OH R₂=H

图 1 积雪草酸(I)、积雪草皂苷(II)及羟基积雪草酸(III)的结构

Fig. 1 Structures of asiatic acid (I), asiaticoside (II), and madecassic acid (III)

1 治疗皮肤创伤

长期以来, 积雪草提取物(主要含积雪草酸和积雪草皂苷)一直用于治疗皮肤创伤与慢性溃疡, 也用于治疗因结核病和麻风病而引起的皮肤变形。毛维翰等^[1]对积雪草皂苷(图 1-I)治疗皮肤做了临床多中心开放性研究, 结果表明, 积雪草皂苷对皮肤溃疡总有效率为 91.47%; 对疤痕、疙瘩的总有效率为 67.9%; 对局限性硬皮病的总有效率为 89%; 对皮肤淀粉样变形的总有效率为 76%; 对萎缩性硬化性苔藓等其他一些皮肤病也有较好的治疗效果。其作用机制可能是活化马尔皮基层细胞并诱发角质化。

研究表明, 积雪草皂苷在刺激正常皮肤成纤维细胞 I、II 型胶原合成的同时抑制瘢痕成纤维细胞 I、II 型胶原合成。进一步研究还发现, 积雪草皂苷对成纤维细胞胶原合成的影响作用与调控胶原合成的关键酶——赖氨酸氧化酶超家族成员相关基因的表达直接相关。临床上, 患者无论是口服积雪草片剂, 还是外用霜剂, 均获得了较好的治疗效果。

一般认为, 积雪草提取物的治疗作用主要归因于积雪草皂苷, 积雪草酸本身无作用。也有研究^[2]表明, 真正起作用的是积雪草酸。以积雪草酸为先导合成了若干衍生物^[3], 用抗张强度法筛选出 2 α , 3 β , 23-三乙酰积雪草酸乙氧基甲酯和积雪

草酸甲酯, 它们的活性比积雪草提取物提高了 30%。

2 抗抑郁

为了提高药物的生物利用度, 李铁军等^[4]合成了积雪草酸钠、钾、铵等盐类衍生物, 采用经典的小鼠悬尾及强迫游泳实验模型, 发现积雪草酸、积雪草酸钠盐及羟基积雪草酸(图 1-III) 在 30 mg/kg 剂量下能显著缩短小鼠悬尾及强迫游泳的不动时间。此外, 在拮抗由利血平引起的小鼠眼睑下垂的实验中, 他们还发现积雪草酸钠盐、积雪草酸及羟基积雪草酸在 60 mg/kg 剂量下具有明显的拮抗作用, 效果优于三环类上市药物多塞平, 提示积雪草酸及其衍生物具有较强的抗抑郁活性。

3 抗阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)

研究表明, 大量的老年斑和神经纤维缠结是 AD 患者脑内两个主要的病理学特征。老年斑的核心成分是 β -淀粉样蛋白(A β), A β 由细胞分泌, 以非溶性聚合物形式存在, 在细胞基质沉积后可产生很强的神经毒性。韩国东国制药株式会社合成了若干积雪草酸衍生物, 发现它们在 B103 细胞水平可拮抗由 A β 产生的神经毒性, 初步总结结构效关系如下: 1) 积雪草酸对 B103 细胞的保护活性为 97%, 其活性比积雪草酸甲酯(58%)、积雪草酸辛氧基甲酯(22%)和积雪草皂苷(24%)强得多, 似乎表明 28 位的羧酸呈游离态非常重要, 但是, 积雪草酸 28 位成四氢吡喃酯对 B103 细胞的保护活性却又高达 92%; 2) 3 位及 23 位羟基的重要性大于 2 位羟基; 3) 羟基积雪草酸活性下降。

以莨菪胺诱导小鼠痴呆为模型^[5]筛选出 2-羟基积雪草酸比已用于抗 AD 的维那克林具有更强的效果。Kim 等^[7]认为积雪草酸衍生物能提高认知能力的作用机制和其促进乙酰胆碱合成有关。

4 保肝作用

采用四氯化碳和 D-半乳糖胺诱导的肝细胞毒性模型, 以谷丙转氨酶(GPT)活性为考查指标, 将合成的数十个积雪草酸衍生物进行了细胞水平的保肝活性筛选^[6]。结果表明一些积雪草酸衍生物对 2 个模型都具有较好的保护作用, 提示积雪草酸及其衍生物具有较好的保肝活性(表 1)。Gao 等^[8]研究了积雪草酸保肝的作用机制, 认为与保护肝脏细胞线粒体和清除超氧阴离子和羟自由基有关。

5 保护心脑血管

崔福贵^[10]采用离体大鼠心脏缺氧一再灌注模型, 发现积雪草酸及羟基积雪草酸在 5 mg/kg 剂量下, 可使冠状动脉血流量明显增加, 心跳规则, 梗死面积明显缩小; 采用结扎大鼠冠状动脉引起急性心肌梗死模型, 发现结扎前 1 h 以 20 mg/kg 剂量灌服积雪草酸、羟基积雪草酸, 可使大鼠在冠状动脉结扎后比结扎前心率有所减慢, 大鼠心电图 S-T 段、T 段下

表 1 积雪草酸衍生物对四氯化碳及 D-半乳糖胺诱导的肝损伤的保护作用

Table 1 Effects of asiatic derivatives on liver cell injury induced by CCl₄ and D-galactosamine

积雪草酸衍生物	相对肝细胞保护作用			
	四氯化碳模型		D-半乳糖胺模型	
	50 μg/mL	50 μg/mL	50 μg/mL	50 μg/mL
2-羟基积雪草酸	30	44	15	62
3β,23-二乙酰氧基乌索-12-烯-二十八酸四氢吡喃酯	42	30	58	66
2α,3β,23-三乙酰基积雪草酸-2',3',4',6'-四乙酰基葡萄糖苷	39	34	79	21

降,大鼠血清中肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)值均比对照组降低,心肌梗死面积有明显的缩小;采用结扎犬冠状动脉左前降支中断引起犬心肌梗死模型,发现积雪草酸、羟基积雪草酸能明显减少结扎冠状动脉造成的心肌梗死区质量,同时使反映心肌损害的生化代谢指标 LDH 及 CK 明显下降;提示积雪草酸及羟基积雪草酸有抗心肌梗死作用。

将吸有 50%三氯化铁溶液的小片定量滤纸敷于大鼠大脑中动脉上制备脑血栓模型,造模前以 20 mg/kg 剂量连续给药 3 d,发现积雪草酸、羟基积雪草酸能明显缩小脑梗死面积,羟基积雪草酸还能明显降低大脑中的含水量,提示积雪草酸及羟基积雪草酸有防治脑血栓活性。

6 诱导肿瘤细胞凋亡作用

Park 等^[11]发现积雪草酸可诱导人黑色素瘤细胞 SK-MEL-2 的凋亡,其作用机制可能为通过增加细胞内活性氧(ROS),提高 Bax 的表达而改变 Bax/Bcl-2 的比例,进而激活 caspase-3 等途径而诱导细胞凋亡。Lee 等^[12]发现积雪草酸可诱导人肝癌细胞 HepG2 的凋亡,其作用机制可能是通过提高细胞内 Ca²⁺水平,激活 p53 的表达等途径而起作用。Hsu 等^[13]发现积雪草酸可诱导人乳腺癌细胞 MCF-7 和 MDA-MB-231 的凋亡,其作用机制可能是通过激活有丝分裂原激活蛋白激酶(MAPKs)p38 信号传导通路而诱导细胞凋亡。黄云虹等^[14]发现积雪草酸皂苷与长春新碱合用对人口腔鳞癌细胞敏感株 KB 及耐药株 KBv200、人乳腺癌细胞敏感株 MCF-7 和耐药株 MCF-7/ADM 均有显著的协同作用,合并用药组 KB 细胞凋亡率、Bcl-2 蛋白磷酸化水平明显高于长春新碱单用组,且仅有合用组检测到活化后的 caspase-3 蛋白。

7 展望

众所周知,五环三萜类化合物具有广泛的生物活性^[15],本课题组合成了若干积雪草酸衍生物并发现其具有新的生物活性。为进一步开发积雪草酸及相关衍生物,建议今后加

强以下几方面的工作:1)加强对积雪草酸及衍生物的作用机制的研究;2)对积雪草酸及其衍生物进行广泛的生物活性筛选及构效关系研究;3)对积雪草酸及相关产品进行深入的临床前研究,从而为进一步的医药产品开发提供依据。

References:

[1] Mao W H, Fang L, Wu Y X. Multi-center experiment of treating skin disease with asiaticoside [J]. *New Drugs Clin* (新药与临床), 1997, 16(3): 133.

[2] Chasseaud L F, Fry B J, Hawkins D R, et al. Metabolism of asiatic acid, madecassic acid and asiaticoside in rat [J]. *Arzneim-Forsch*, 1971, 21(9): 179-184.

[3] Dong Kook Pharmaceutical Co. Ltd. Asiatic acid derivatives its manufacturing method and dermatological agent containing it [P]. US: 5834437, 1998-11-10.

[4] Li T J, Li B, Qin Y, et al. The application of asiatic acid and its derivatives in the preparation of antidepressants [P]. CN: 1543964, 2004-11-10.

[5] Jew S S, Yoo C H, Lim D Y, et al. Structure activity relationship study of asiatic acid derivatives against beta amyloid (Aβ)-induced neurotoxicity [J]. *Bioor Med Chem Lett*, 2000 (10): 119-121.

[6] Dong Kook Pharmaceutical Co. Ltd. The application of asiatic acid and its derivatives in treatment of Alzheimer' disease [P]. CN: 1238692, 1999-12-15.

[7] Kim S R, Koo K A, Lee M K, et al. Asiatic acid derivatives enhance cognitive performance, partly by improving acetylcholine synthesis [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2004, 56(10): 1275-1282.

[8] Dong Kook Pharmaceutical Co. Ltd. Liver protection or treatment agents comprising asiatic acid derivatives as the active component [P]. US: 6274559, 2001-8-14.

[9] Gao J, Tang X H, Dou H, et al. Hepatoprotective activity of *Terminalia catappa* L. leaves and its two triterpenoids [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2004, 56(11): 1449-1455.

[10] Cui F G. The application of asiatic acid and its derivatives in treatment of cardio-cerebrovascular disease [P]. CN: 1582946, 2005-02-23.

[11] Park B C, Bosire K O, Lee E S, et al. Asiatic acid induces apoptosis in SK-MEL-2 human melanoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2005, 218(1): 81-90.

[12] Lee Y S, Jin D Q, Kowon E J et al. Asiatic acid, a triterpene, induces apoptosis through intracellular Ca²⁺ release and enhanced expression of p53 in HepG2 human hepatoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2002, 186(1): 83-91.

[13] Hsu Y L, Kuo P L, Lin L T et al. Asiatic acid, a triterpene, induces apoptosis and cell cycle arrest through activation of extracellular signal-regulated kinase and p38 mitogen-activated protein kinase pathways in human breast cancer cells [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 313(1): 333-344.

[14] Huang Y H, Zhang S H, Zhen R X, et al. Asiaticoside inducing apoptosis of tumor cells and enhancing anti-tumor activity of vincristine [J]. *Chin J Cancer* (癌症), 2004, 23(12): 1599-1604.

[15] Sun H B. Progress in chemistry and biological activities of pentacyclic triterpenes [A]. *Progress in Medicinal Chemistry* (医药化学进展), [C]. Vol N. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.