

夏枯草肺癌化学预防物质基础研究思路与方法

贾晓斌^{1,2*}, 封亮^{1,2}, 陈彦^{2*}, 高成林¹, 邵振中¹, 宋师花¹, 刘光敏^{1*}

(1. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013; 2. 江苏省中医药研究院 中药新型给药系统重点实验室
国家中医药管理局名医方适宜剂型重点研究室, 江苏 南京 210028)

摘要: 夏枯草对肺癌具有确切疗效,但其肺癌化学预防物质基础尚未明确。结合现代先进的分离、分析以及药效筛选技术,以中药“三个层次多维结构”组分结构理论,科学地揭示夏枯草肺癌化学预防物质基础,通过总结夏枯草化学成分和与肿瘤相关的研究成果,分析肺癌化学预防研究思路方法,为中药的物质基础研究和中药新药研发提供一定的参考。

关键词: 夏枯草; 肺癌; 化学预防; 物质基础

中图分类号: R28; R284

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)02-0316-03

Ideas and methods on material basis of chemprevention of *Prunella vulgaris* on lung cancer

JIA Xiao-bin^{1,2}, FENG Liang^{1,2}, CHEN Yan², GAO Cheng-lin¹, SHAO Zhen-zhong¹,
SONG Shi-hua¹, LIU Guang-min¹

(1. Department of Pharmaceutics, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2. Key Laboratory of New Drug Delivery System of Chinese Meteria Medica, Key Laboratory of Scientific Preparation for Clinical Effective Prescription, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

Key words: *Prunella vulgaris* L.; lung cancer; chemprevention; material basis

随着环境污染的严重,肺癌发病率已经占据所有癌症的首位,成为威胁人类健康的一大杀手。化学预防是肿瘤药物研究的新方向,其目的是用药物减缓、逆转或抑制肿瘤的发生,从而降低肿瘤的发生率和降低肿瘤的复发率、转移率。其具有 3 个层次: 一级预防,对具有患癌症风险的健康人群实施化学预防; 二级预防,对已确诊发生癌前损伤的群体实施化学预防; 三级预防,对肿瘤患者继发性肿瘤的预防,及对其治疗后复发、转移的预防。

夏枯草 *Prunella vulgaris* L. 为唇形科植物,具有清火明目、软坚散结之功效,临床上主要以其干燥成熟果穗入药。夏枯草是一味对肺癌具有确切疗效的中药,临床上一直广泛使用,成分主要包括萜类、黄酮、有机酸、苯丙素、糖类成分等。夏枯草肺癌化学预防物质基础不是太明确,基于目前中药物质基础研究思路和方法的纷杂,本文以中药“三个层次多维结构”的物质基础组分结构理论^[1],探讨了夏枯草肺癌化学预防的物质基础的研究思路与方法。

1 夏枯草化学成分

1.1 萜类成分: 萜类成分是夏枯草中主要化合物。目前已知有夏枯草苷 A (pruvuloside A)、夏枯草苷 B (pruvuloside B)、ar-junglucoside、苦苣苷 F₁ (nigaichigoside F₁)、nigaichigoside F₂、

sericoside、-香树脂醇(-amyrenol)、齐墩果酸(oleanolic acid)、齐墩果烷-12-烯-28-醛-3-羟基、乌索烷-12-烯-28-醛-3-羟基、齐墩果烷-12-烯-3,28-二羟基、乌索烷-12-烯-3,28-二羟基、熊果酸、齐墩果酸甲酯、熊果酸甲酯、山楂酸甲酯、3-表山楂酸甲酯、2,3,23-三羟基-齐墩果酸-12-烯-28-酸甲酯、2,3,24-三羟基-齐墩果酸-12-烯-28-酸甲酯、2,3-二羟基-熊果酸-12-烯-28-酸甲酯、2-羟基熊果酸甲酯、2,3,24-三羟基-熊果酸-12-烯-28-酸甲酯、2,3-二羟基-熊果酸-12,20(30)-二烯-28-酸甲酯、2,3,24-三羟基-熊果酸-12,20(30)-二烯-28-酸甲酯、2,3,24-三羟基-齐墩果酸-11,13(18)-二烯-28-酸甲酯、桦木酸甲酯、(13*S*,14*R*)-2,3,24-三羟基-13,14-环-齐墩果酸-11-烯-28-酸甲酯、(12*R*,13*S*)-2,3,24-三羟基-环-蒲公英赛-14-烯-28-酸甲酯^[2-8]。

1.2 黄酮类: 黄酮类化合物是其另一类主要成分,包括木犀草素、异荭草素、木犀草苷、芦丁、槲皮素、槲皮素-3-*O*-*D*-半乳糖苷、山柰酚-3-*O*-*D*-葡萄糖苷、金丝桃苷等^[2,9]。

1.3 香豆素: 从夏枯草中分出 3 种香豆素成分,即伞型酮(umbelliferone)、莨菪亭(scopoletin)、七叶苷元(esculetin)^[10]。

1.4 有机酸: 主要包括花生油酸、亚油酸、棕榈酸、二十四烷酸、软脂酸、软脂酸乙酯、硬脂酸、6,9-十八碳二烯酸、3,6,

* 收稿日期: 2008-08-22

基金项目: 江苏省中医药领军人才项目(2006); 江苏省自然科学基金资助项目(BK2006155)

作者简介: 贾晓斌,男,博士,出站博士后,研究员,主要研究方向为中药新型给药系统、中药剂型设计前组性质基础研究及剂型科学性评价技术研究,以及特色方药专利特征挖掘与表征技术研究。

* 通讯作者 贾晓斌 Tel/Fax: (025)85637809 E-mail: jxiaobin2005@hotmail.com 陈彦 E-mail: ychen202@yahoo.com.cn

17-二十碳三烯酸、油酸、辣木子油酸、月桂酸、肉豆蔻酸、亚麻酸、十四烷酸^[5,11,12]。

1.5 挥发油:主要包括 1,8-桉油精、-蒎烯、月桂烯、乙酸芳樟酯、 α -水芹烯、芳樟醇等。

1.6 糖类:主要包括蔗糖、半乳糖、葡萄糖、果糖以及夏枯草皂苷 A、B (vulgarsaponin A、B) 等^[13]。

1.7 甙体类:甙体类成分主要包括咖啡酸乙酯、豆甾醇、胡萝卜苷、-谷甾醇、-菠甾醇、⁷-豆甾醇、豆甾-7,2-二烯-3-酮等^[3,11,12]。

1.8 苯丙素化合物:主要包括顺反式咖啡酸、迷迭香酸、甲基迷迭香宁、乙基迷迭香宁、*E*-丁基迷迭香宁、*Z*-丁基迷迭香宁、*p*-香豆酸等。

1.9 其他:还有寡肽 (autantiamide acetate)、丹参素 (tanshinol)、丹参酮 (tanshinone) 以及维生素和无机物等^[12]。

2 夏枯草及其成分预防肿瘤的研究

夏枯草含有多种成分,其中大部分具有预防肿瘤作用,其作用机制也是多种途径(表 1)。

表 1 夏枯草中与预防肿瘤相关成分及其作用机制

Table 1 Components in *P. vulgaris* with tumor prevention and their mechanism

成分	化学预防方式	研究模型	作用机制	参考文献	
提取物	水提取物	抗增殖、诱导	Raji 细胞	抑制 Raji 细胞增殖,诱导 Raji 细胞凋亡	14
		抗增殖、诱导	人胃腺癌 SGC-7901 细胞	抑制 SGC-7901 细胞的生长并诱导凋亡	15
		抗增殖、诱导	K562 细胞	抑制 K562 细胞增殖、诱导细胞凋亡	16
		抗增殖、诱导	Jurkat 细胞	夏枯草具有较好的抗淋巴瘤增殖作用	17
		抗氧化	小鼠	清除自由基、抑制超氧化物活性	18
醇提取物	诱导	免疫调节、抗炎	小鼠	促进 T 淋巴细胞生成和抑制 NO 产物的生成	19
		诱导	T 淋巴瘤细胞	促进肿瘤细胞凋亡可能是其作用途径	20
单一成分	迷迭香酸	抗增殖、诱导	人食管癌 Eca109 细胞	抑制 Eca109 细胞的生长并诱导其凋亡	21
		诱导	血管平滑肌细胞	诱导血管平滑肌细胞凋亡,可能与升高细胞中 Bcl-2/Bax 蛋白比值,减少 Fas、FasL 蛋白表达有关	22
木犀草素	启动因子 凋亡增敏	抑制血管生成	肝癌 Hep G2	影响 MAPK/ERKS 和 PI3K/Akt 两条途径抑制细胞增殖	23
			结肠直肠癌 CoL0205、HCT116 细胞和宫颈癌 HeLa 细胞	增强了 TNF- α 诱导细胞凋亡的能力	23
			血管平滑肌细胞	抑制血小板源性生长因子诱导的增殖和大鼠大动脉血管平滑肌细胞 DNA 合成	23
熊果酸	抑制、诱导	抗氧化作用	小鼠	清除自由基、抑制超氧化物活性	23
		抑制、诱导	人肝癌 A549 细胞、裸鼠	可能与降低移植瘤促血管生成因子 VEGF 的表达、抑制新生血管的形成和促进肿瘤细胞凋亡有关	24
齐墩果酸	抗侵袭	人肺癌细胞 PGCL3	抑制癌细胞趋化运动、对层黏连蛋白的黏附作用和组织蛋白酶 B 的分泌	25	
槲皮素	抑制、阻止、诱导	抑制、阻止、诱导	人膀胱癌 BIU-87 细胞	抑制人膀胱癌 BIU-87 细胞增殖,阻滞细胞于 G ₂ /M 期,并诱导细胞凋亡	26
		诱导	肝癌 SSMC-772 细胞	诱导细胞凋亡	27
		抑制、诱导	人鼻咽癌 HEN1	通过 caspase-3 途径抑制细胞增殖,诱导细胞凋亡,并具有细胞周期特异性	28
咖啡酸	抗突变	人脐静脉内皮细胞 HUVEC-12	能与调节 NF- κ B、P53 和 Bcl-2 蛋白的表达有关	29	
莨菪亭	抑制、诱导	PC ₃ 细胞	抑制 PC ₃ 细胞增殖活性,并能诱导 PC ₃ 细胞凋亡	30	

3 研究思路与方法

研究表明,夏枯草预防和抗肿瘤成分涉及脂溶性与水溶性成分,因此,传统单独追求某一单体成分或某一溶剂部位来说明其预防和抗肿瘤活性,显然是非常片面的。这些研究思路都忽视了成分之间的配伍作用,某些起到辅助作用的成分被丢弃,无法体现中药整体性的特征。这也是许多中药在追求单体的研究中,发现单体疗效较复方差的原因。

3.1 预防肺癌物质基础研究思路:中药含有几十种甚至上百种化学成分,往往具有多种药理作用,对于某一种疾病或症状,其药效物质基础是通过多靶点、多途径、协同作用的整体成分或某几类成分。其中,单一成分是整个药效物质基础的最基本构成,具有稳定的结构;同一类别的单一成分按照不同比例组合构成组分,组分中各单体成分之间存在配比关系,组分的构成不同,其药效作用的强弱不尽相同;而不同类别的组分按照一定的比例组合构成中药的整体性物质基础。这就是“三个层次多维结构”组分结构理论。

组分结构理论的提出,为中药药效物质基础的研究提供

了新的研究思路和方法。这不仅以中医药理论为指导思想,体现中药的整体性特点,又借助现代先进的方法手段,从宏观和微观的层次逐步阐明物质基础。

夏枯草预防肺癌的物质基础具有稳定的、有序的整体性结构,对其阐述应从 3 个层次逐步表征。主要有两条途径:一是从宏观到微观的解析。结合药效筛选以及分析手段,建立谱效关系,阐述夏枯草化学预防肺癌物质基础的整体性结构;在此基础上,借助系统分离富集手段,分解物质基础的各个组分,对各个组分进一步构建谱效关系;对组分内部各成分进行定性定量的表征。从宏观到微观逐步解析清楚 3 个层次多维结构的物质基础组分结构。二是从微观到宏观的整合表征。从不同预防角度看,不同成分的作用机制不尽相同,如阻断、抗突变、抗氧化、诱导、增敏、抑制血管生成、抗炎、免疫调节等,运用现代分析手段、现代化学原理和方法与药效相结合,研究夏枯草预防肺癌物质基础各单体成分,为进一步的整体性研究提供足够的基础信息;在第一层次研究的基础上,按照组分结构理论将同类成分按照一定的组成比

例有机组合,构成第二层次的组分,结合生物效应的研究,分析组内各成分的配比关系;根据前两层次研究的信息,研究各组分之间的配比关系,体现最佳的药效,从整体上阐明夏枯草预防肺癌物质基础的“三个层次多维结构”。

因此,组分结构理论为阐明夏枯草预防肺癌的物质基础研究提供了新的研究思路。

3.2 方法手段

3.2.1 系统分离手段:在中医药理论指导下,利用植化分离的手段如膜分离、超声提取、固相萃取、超临界流体提取、大孔吸附树脂、聚酰胺树脂、离子交换树脂等方法,有目的的把夏枯草整体成分分离富集成萜类、黄酮、香豆素类、苯丙素类、有机酸类、糖类以及微量元素等几大类有效组分和功能组分。

3.2.2 分析方法:可靠的分析方法对夏枯草物质基础研究非常重要。在分析的过程中,可采用 HPLC、GC、LC-MS/MS、凝胶电泳、毛细管电泳、原子吸收光谱法等手段研究物质基础或组分的配比和结构。

3.2.3 化学预防筛选平台:筛选模型是夏枯草化学预防肺癌物质基础研究中重要的一部分。主要分为生物化学筛选、体外模型筛选和整体筛选。其中,细胞模型和动物模型是筛选的常用手段。肺癌细胞模型主要有 A549 细胞、A427 细胞、SPC-A-1 细胞、PGCL3 细胞、转基因细胞等;肺癌动物模型主要有化学诱导肺癌模型、转基因肺癌模型、异种移植肺癌模型、原位肺癌模型等。通过几种模型的结合筛选以及组分之间的配伍,可以明确地得到有效组分和功能组分。

3.2.4 ADME 评价体系:中药成分复杂,一些成分并不起药效作用,如果对这些成分都加以深入研究,实现起来困难较大。药物一般通过血液起作用,因此,研究血液中成分有助于中药的药效物质基础研究。血清药理学与血清化学是研究中药物质基础的一种可行的方法。但是,这个思路有一个缺陷,即某些成分可能并未进入血液而发挥作用,而是在胃肠吸收过程中通过调节酶的活性或助溶起到促进其他成分吸收的作用,因此,药效物质基础无法通过研究血液中的成分完全加以确定。口服给药是中药的主要给药途径。ADME(吸收、分布、代谢、排泄)系统主要用于药物的吸收、分布、代谢、排泄以及药物之间的相互作用等的研究,研究方法包括亚细胞膜结构、细胞、游离组织和器官灌流,如常见的 Caco-2、MDCK 细胞、在体肠灌流模型、人工膜模型、药物与血清蛋白结合模型等。因此,加强夏枯草 ADME 系统研究,阐述其有效组分/功能组分的作用机制,为进一步开发夏枯草产品提供依据。

3.2.5 其他:基因组学、蛋白组学等方法可以从分子水平阐述夏枯草的肺癌化学预防作用机制。

4 结语

中药药效物质基础是由众多成分按照一定比例,构成的稳定有序的整体性结构。目前,许多中药的药效物质基础不明确,这严重制约了中药走向世界。因此,对中药进行物质基础研究势在必行。夏枯草在临床广泛应用于肿瘤的治疗,众多研究也已表明其对肿瘤具有很好的疗效,目前已有相关

的制剂产品应用于肺癌的治疗。

通过对夏枯草预防肺癌物质基础的研究,提出以“三个层次多维结构”的组分结构理论来揭示中药物质基础的研究思路,为促进中医药的现代化、国际化,以及中药制剂研发提供新的思路。

参考文献:

- [1] 贾晓斌,陈彦,李霞,等. 中药复方物质研究新思路和方法[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(5): 420-425.
- [2] 张颖君,杨崇仁. 法国产夏枯草中的两个新的乌索烷型三萜皂甙[J]. 云南植物研究, 1995, 17(4): 468-472.
- [3] 孟正木,何立文. 夏枯草化学成分研究[J]. 中国药科大学学报, 1995, 26(6): 329-331.
- [4] 李跃辉,张水寒,唐莉,等. 夏枯草药材质量标准研究[J]. 中华中医药杂志, 2006, 21(6): 374-375.
- [5] Kajima H, Ogura H. Triterpenoids from *Prunella vulgaris* L. [J]. *Phytochemistry*, 1986, 25(3): 729-733.
- [6] Kajima H, Tominga H, Sato S, et al. Pentacyclic triterpenoids from *Prunella vulgaris* L. [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(4): 1107-1111.
- [7] Kajima H, Tominga H, Sato S, et al. Two novel hexacyclic triterpenoids from *Prunella vulgaris* L. [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(9): 2921-2925.
- [8] Kajima H, Sato S, Hatano A, et al. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris* L. [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(7): 2351-2355.
- [9] Dmitruk S I, Dmitruk S E, Berezovskaya T P, et al. Flavonoids from *Prunella vulgaris* L. [J]. *Khim Prir Soedin*, 1987(3): 449-450.
- [10] Dmitruk S I. Coumarins of *Prunella vulgaris* L. [J]. *Khim Prir Soedin*, 1986(4): 510-511.
- [11] 田晶,肖志艳,陈雅研,等. 夏枯草皂苷 A 的结构鉴定[J]. 药学学报, 2000, 35(1): 29-31.
- [12] 顾晓洁,李友宾,李萍,等. 夏枯草花穗化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(10): 923-926.
- [13] 王祝举,赵玉英,王郜,等. 夏枯草中苯丙素和三萜的分离和鉴定[J]. 中国药理学杂志, 2000, 9(3): 128-130.
- [14] 张可杰,张明智,王庆瑞,等. 夏枯草对 Raji 细胞生长和凋亡相关基因蛋白表达的影响[J]. 中药材, 2006, 29(11): 1207-1210.
- [15] 王琨,董惠芳,章晓鹰,等. 夏枯草对 SGC-7901 细胞的影响[J]. 上海医学检验杂志, 2000, 15(5): 305-307.
- [16] 张可杰,张明智,王庆瑞. 夏枯草注射液诱导 K562 细胞凋亡的实验研究[J]. 中草药, 2005, 36(7): 1031-1035.
- [17] 张明智,张可杰,王庆瑞,等. 夏枯草对淋巴瘤细胞增殖的影响[J]. 医药论坛杂志, 2007, 28(1): 54-55.
- [18] Liu F, Ng T B. Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs [J]. *Life Sci*, 2000, 66(8): 725-735.
- [19] Harput U S, Saracoglu I, Ogihara Y. Effects of two *Prunella* species on lymphocyte proliferation and nitric oxide production [J]. *Phytother Res*, 2006, 20: 157-159.
- [20] 姚志华,张明智,王留兴,等. 夏枯草提取物对小鼠 T 淋巴瘤细胞 EL-4 原位凋亡的干预作用[J]. 中国临床康复, 2008, 10(31): 126-128.
- [21] 马丽萍,赵培荣,田爱琴,等. 夏枯草对 Eca109 细胞的影响[J]. 肿瘤基础与临床, 2006, 19(3): 199-200.
- [22] 郭峰,朱炳阳,迟秀玲,等. 迷迭香酸抗氧化诱导血管平滑肌细胞凋亡作用的研究[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(3): 365-370.
- [23] 张芳芳,沈汉明,朱心强. 木犀草素抗肿瘤作用的研究进展[J]. 浙江大学学报:医学版, 2006, 35(5): 573-578.
- [24] 李希波,孙雪飞,尹秋伟,等. 熊果酸体内抗肿瘤作用机制探讨[J]. 山东大学学报:医学版, 2007, 45(2): 188-191.
- [25] 黄炜,黄济群,张东方,等. 甘草酸、18-甘草次酸、熊果酸和齐墩果酸抗人肺癌细胞侵袭作用及其机理的研究[J]. 中国中医药科技, 2003, 10(6): 349-350.
- [26] 柯尊金,丁心喜,董文奎,等. 槲皮素对人膀胱癌 BIU-87 细胞增殖和凋亡的影响[J]. 实用癌症杂志, 2008, 23(2): 116-118.
- [27] 李安强,郭天康,李荣范,等. 反义抑制 Survivin 表达对槲皮素诱导肝癌 SSMC-7721 细胞凋亡的影响[J]. 第四军医大学学报, 2008, 29(3): 227-230.
- [28] 张峰,崔永华,曹平. 槲皮素对人鼻咽癌 HEN1 细胞系增殖抑制和诱导凋亡作用的研究[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2007, 21(24): 1136-1139.
- [29] 熊丹,严春祥,欧和生. 咖啡酸抗 H₂O₂ 诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡及机制探讨[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2007, 12(12): 1367-1371.
- [30] 刘雪莉,张亮,付新录. 苜蓿亭的抑制 PC₃ 细胞增殖与诱导凋亡作用[J]. 中国药理学学会通讯, 2002, 19(1): 71.