

· 综 述 ·

DOI: 10.13194/j.issn.1673-842x.2017.03.065

华蟾素抗肿瘤成分及作用机制研究进展

贾小晴¹, 孙萍²

(1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355; 2. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250011)

摘要: 华蟾素主要有蟾毒内酯类、吲哚生物碱类、多肽、胆固醇等成分, 具有抗肿瘤、强心升压、镇痛等作用, 抗肿瘤作用机制主要包括抑制肿瘤细胞的生长繁殖、诱导凋亡、逆转多药耐药性、抑制肿瘤血管生成、增强机体免疫力、抗炎等。该文对华蟾素相关文献进行整理归纳, 以期对华蟾素的临床应用及新剂型的开发提供更为合理可靠的依据。

关键词: 华蟾素; 成分; 药理作用; 抗肿瘤

中图分类号: R282.76

文献标志码: A

文章编号: 1673-842X(2017) 03-0215-03

Research on Active Ingredients from Cinobufagin and Their Advances in Anti-tumor Mechanisms

JIA Xiaoqing¹, SUN Ping²

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, Shandong, China; 2. Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250011, Shandong, China)

Abstract: Cinobufagin mainly contains bufogenin, indole alkaloids, polypeptide, cholesterol, the composition has many pharmacological activities, such as: anti-tumor, strong heart booster, analgesia effect. Anti-tumor mechanism mainly includes the inhibition of the growth of tumor cells, induce cell apoptosis and reversing multi-drug resistance, inhibiting tumor angiogenesis, enhance immunity, anti-inflammation and so on. This paper will review the latest progress on its active ingredients and anti-tumor mechanisms, in order to provide the reasonable and reliable basis for clinical application and preparation of new dosage forms.

Keywords: cinobufagin; ingredients; pharmacological; mechanisms

华蟾素(Cinobufagin)为蟾蜍科动物中华大蟾蜍(*Bufo bufo gargarizans cantor*)或黑眶蟾蜍(*Bufo melanostictus Schneider*)的全皮经提取加工制成的水溶性成分, 具有清热解毒、化痰溃坚、利水消肿等作用^[1]。临床用于治疗肝癌、胰腺癌、食管鳞癌、肺癌、骨肉瘤等多种恶性肿瘤。华蟾素主要有蟾毒内酯类、吲哚生物碱类、多肽、胆固醇等成分, 具有抗肿瘤、强心升压、镇痛等作用, 抗肿瘤作用机制主要包括抑制肿瘤细胞的生长繁殖、诱导凋亡、逆转多药耐药性、抑制肿瘤血管生成、增强机体免疫力、抗炎等。本文对华蟾素抗肿瘤成分及作用机制等文献整理归纳, 以期对华蟾素的合理应用及新剂型的研发提供理论支撑。

1 化学成分

华蟾素的化学成分比较繁多, 主要含有蟾毒内酯类、吲哚生物碱类、多肽、胆固醇等成分。研究显示发挥抗肿瘤的主要成分为蟾毒内酯类、吲哚生物碱类、氨基酸等。

1.1 蟾毒内酯类

此类物质为强心甙体类化合物, 含有蟾毒配基和蟾毒毒素两大类。吴喜燕等^[2]归纳总结了脂蟾毒配基、华蟾毒精、蟾毒灵、日蟾毒他灵、去乙酰华蟾毒他灵、华蟾毒他灵、蟾毒他灵、沙蟾毒精等124种化

合物, 本文不再赘述。韩玲玉等^[4-7]从蟾蜍中首次分离得到3-表-假蟾毒精(3-epi-ψ-bufarenogin)、3-表-沙蟾毒精(3-epi-arenobufagin)、12α-羟基蟾毒灵、华蟾毒精-3-辛二酰甲酯、12β-羟基-蟾毒灵(12β-hydroxyl-bufalin)、5,7β-二羟基-脂蟾毒配基(5,7β-dihydroxyl-resib-ufagenin)、3-表-日蟾毒它灵(3-epi-gamabufotalin)、3-氧代-沙蟾毒精(3-oxo-arenobufagin)。对于此类成分研究报道较多, 目前认为发挥抗肿瘤有效成分是脂蟾毒配基、蟾毒灵、华蟾毒精等。其中, 蟾毒灵和华蟾毒精作用最强^[8]。

1.2 生物碱类

生物碱在华蟾素中的含量为7.0%~10.0%, 以吲哚类生物碱为主。从华蟾素中分离得到5-羟色胺、蟾毒噻啉、脱氢蟾毒噻啉、蟾毒色胺、去氢蟾毒色胺、去氢蟾毒色氨氢溴酸盐、蟾毒色胺内盐、蟾毒色胺N-氧化物、N-甲基5-羟色胺、N,N,N-三甲基5-羟色胺、4-氨基-3-羟甲基-环辛酰胺骈四氢-α-咪喃酮(蟾毒环酰胺B)、蟾毒环酰胺C、蟾毒环酰胺D、光色素、蟾毒绿啉等^[1-3]。目前对于此类成分的研究报道较少, 且其抗肿瘤作用仍需进一步探讨。

1.3 多肽类

此类是分子量分布范围为3~5 KD的混合多

收稿日期: 2016-06-06

作者简介: 贾小晴(1991-), 女, 山东枣庄人, 硕士研究生, 研究方向: 靶向制剂、药物新剂型、新技术研究。

通讯作者: 孙萍(1966-), 女, 山东济南人, 教授、主任药师, 硕士, 研究方向: 靶向制剂、药物新剂型、新技术研究。



微信公众号: lnzydxxb (或扫左侧二维码关注)

投稿平台: <http://lzxb.cbpt.cnki.net>

肽。有文献报道称华蟾素注射液中多肽含量高达50%以上^[9]。曹徐涛等^[10-11]从蟾皮的水提物中分离得到环(脯氨酸-甘氨酸)二肽、环(丙氨酸-丙氨酸)二肽。目前对于此类成分的药理作用及作用机制未见相关报道。

1.4 胆固醇类

目前对于华蟾素中此类成分的研究报道较少,主要含有胆甾醇、胆甾烯醇、 $3\beta, 5\alpha, 6\beta$ -三羟基胆甾烷、胆甾烯酮、棕榈酸胆甾烯酯、 β -谷甾醇、 7α -羟基胆甾醇、 7β -羟基胆醇、麦角甾醇、菜油甾醇等^[12-14]。

1.5 其他成分

有研究发现华蟾素中还含有尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺苷、鸟苷、丁酸、丁二酸、辛二酸、棕榈酸、软脂酸-3'-甘油单酯^[14-16]。

2 抗肿瘤作用机制

华蟾素抗肿瘤的主要成分为脂蟾毒配基、蟾毒灵、华蟾酥毒基、吡啶生物碱类、氨基酸类。纵观华蟾素相关文献,结果发现不同成分对于抑制不同肿瘤细胞的作用机制有较大差异。

2.1 抑制肿瘤细胞的生长繁殖,诱导细胞凋亡

郑培实等^[17]采用MTT法和流式细胞术对离体肝癌细胞株 SMMC-7721 的增殖、凋亡分别进行检测,结果显示华蟾素对 SMMC-7721 具有抑制增殖及诱导其凋亡的作用。其作用机制为下调 Topo I、Topo II 表达,上调 Smac、Caspase-9 基因,影响 DNA 拓扑异构酶 mRNA 活性^[18-19]。

夏燕研究认为华蟾素通过促进细胞内活性氧的生成和抑制细胞分裂从而达到诱导 Caski 细胞增殖的目的^[19]。MIAO 等^[20]发现蟾毒灵诱导肝癌细胞凋亡是通过产生大量的氧自由基并诱导癌细胞自噬作用产生。王晓东等^[21]发现华蟾毒精导致细胞凋亡的作用与诱导线粒体信号通路、降低 c-Src 的表达有关。田昕等^[22]发现蟾毒灵能抑制人食管鳞癌 EC9706 细胞的增殖与凋亡,其机制为阻滞细胞周期的 S 和 G2/M 期,抑制 Raf/MEK/ERK 信号通路。郁云龙等^[23]采用 MTT 法发现蟾毒灵通过抑制蛋白 Livin 的活性、下调 Bcl-2 蛋白的表达、活化 Caspase-3 等途径抑制人肺腺癌细胞 A549、EAhy926 细胞增殖与凋亡。华蟾素毒基通过激活 Caspase 依赖的凋亡途径促进肿瘤细胞的凋亡,而蟾毒灵通过促进热休克蛋白 27 蛋白水平下调、增加活性氧诱导线粒体功能障碍途径诱导骨肉瘤细胞凋亡^[24-25]。邵淑丽等^[26]采用 MTT 法、荧光显微镜、流式细胞术等方法,发现华蟾素促进人胃癌 SGC-7901 细胞凋亡通过上调 Bax、下调 Bcl-2 来实现。李宏良等^[27]认为降低 IL-6 及 VEGF 的水平是华蟾素抑制多发性骨髓瘤 RPMI 8226 细胞株增殖、凋亡的作用机制。

2.2 逆转肿瘤细胞的多药耐药性

多数化疗药物对肿瘤细胞具有耐药性,相关文献报道华蟾素能逆转耐药细胞的耐药性^[28-31]。蟾毒灵逆转肝癌细胞的耐药性与抑制 MRP1 介导的 MDR、改变 Bcl/Bax 比值、激活线粒体受抑制的细胞凋亡通路有关^[32]。方凡夫等^[32]认为蟾毒灵逆转白血病 5K62/VCR、人肝癌 BEL-7402/5-FU 耐药细胞株主要与下调 ST 蛋白、诱导细胞周期阻滞和凋亡

有关。熊新等^[33]研究认为华蟾素通过降低 MRP、GST- π 的表达,增加 NF- κ B、iNOS 凋亡逆转 HL60/ADM 的多药耐药性。韦艳等^[34]首次在蛋白质表达水平上发现华蟾素逆转肝癌细胞的耐药性通过下调肝癌细胞中 FAK、CRT 和 TMOD3 的表达实现。

2.3 抑制肿瘤血管生成

华蟾素与 AS_2O_3 联合用药后抑制裸鼠人肝癌移植瘤血管新生的作用增强,其作用机制为抑制血管内皮生长因子(VEGF)、生长因子受体(EGFR)的表达,降低肝癌组织微血管密度(MVD)^[35]。刘俊珊等^[36]利用鸡胚尿囊膜模型研究沙蟾毒精对于抑制肿瘤血管生成机制,结果发现沙蟾毒精的抑制作用通过阻滞血管内皮细胞周期及诱导凋亡实现。翟笑枫等^[37]研究认为蟾毒灵对人脐静脉内皮细胞 ECV304 有显著的抑制作用,并成剂量依赖性。田志辉等^[38-39]认为蟾毒灵对食管鳞状细胞癌 TE13 细胞株的迁移与抑制 Raf/MEK/ERK 信号通路有关。

2.4 增强机体免疫力

增强机体的免疫能力也是华蟾素抗肿瘤的作用机制之一。华蟾素能增强 LAK 细胞的杀伤活性,提高小鼠腹腔巨噬细胞吞噬指数,增强机体免疫力。华蟾素促进免疫细胞的增殖和趋化^[40-41],合成释放 β -END,分泌 IFN- γ 、IL-1 和 IL-2,活化 CD_4^+ 、 CD_8^+ 淋巴细胞,协同 ConA 促进 DNA 合成^[42]。张延京等^[43]研究认为华蟾素促进 B 淋巴细胞增殖的机制为促进 TNF- α 、IL-6 分泌,抑制 IFN- γ 、GM-CSF 分泌。张瑾等^[44-45]研究发现华蟾毒基能增强肿瘤自身免疫原性,增加 Th1/Th2 细胞因子的比例,其发挥免疫调节作用机制主要是提高 LMP 和 TAP 分子的表达。吴帅成^[46]研究发现华蟾素增强 Th1 免疫应答的作用机制与 T-bet mRNA 有关。远华蟾素毒基(TBG)能提高 IgG 及其亚类 IgG2a 水平,促进 T-bet mRNA 的表达。华蟾素毒基(CBG)能降低 IgG1 水平,抑制 IL-4 的分泌和 GATA-3 mRNA 的表达。

2.5 抗炎

近几年研究发现,非可控性炎症可通过激活炎症介质参与的信号通路促进肿瘤的发生。龚艳等^[47-48]研究发现华蟾素能使模型大鼠的炎症和疼痛有明显缓解作用且呈剂量依赖性,下调 NF- κ B 信号通路并抑制下游炎症介质是其抗炎镇痛作用机制之一。巩仔鹏等^[49-54]研究发现华蟾素可增加肿瘤周围组织中 β -内啡肽的含量,介导外周阿片受体从而发挥抗炎镇痛作用。

3 总结与展望

本文对华蟾素的化学成分、抗肿瘤机制进行综述。纵观华蟾素有关文献,目前公认华蟾素抗肝癌的主要成分为脂溶性成分,其作用机制得到充分研究,但其含量仅占华蟾素的 0.001%~0.005%,因此,应优化华蟾素提取工艺以提高脂溶性成分提取效率,完善蟾毒内酯类成分的质量控制标准。华蟾素主要化学成分为吡啶类生物碱,目前多以其中成分含量作为华蟾素质量控制指标,但其抗肿瘤作用机制等研究相对薄弱,应加强对吡啶类生物碱药理活性系统研究,明确其抗肿瘤作用机制,以便提高临床应用水平和构建系统全面的质量评价标准。华蟾素作用于全身导致过敏反应、细胞减少、血小板减少、

药物热等多种不良反应^[55-56],很大程度上限制了华蟾素的临床应用。未来应把华蟾素靶向制剂的开发作为研究重点,以增强华蟾素对癌细胞的选择性,降低全身毒副作用,从而使华蟾素更好的应用于临床,成为一种安全有效的抗肝癌广谱药。◆

参考文献

- 王昱. 华蟾素的药理作用[J]. 内蒙古中医药, 2012, 1(1): 76.
- 吴喜燕, 高慧敏, 王智民. 蟾蜍类药材化学成分研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14): 207-214, 220.
- 周钊, 杨屈. 蟾蜍的药用价值研究进展[J]. 湖南中医杂志, 2015, 31(11): 203-204.
- 韩玲玉, 司南, 刘俊秋, 等. 华蟾素注射液中蟾毒配基类化学成分研究[J]. 药学报, 2014, 49(11): 1574-1577.
- 张鹏伟, 江仁望, 叶文才, 等. 中华大蟾蜍蟾酥中蟾毒内酯类化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(5): 841-845.
- 殷佩浩. 中药蟾酥的研究进展[J]. 上海医药, 2015, 36(10): 3-6.
- 马骁弛, 张宝璟, 邓卅, 等. 中药蟾酥中蟾蜍甾烯类成分研究[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(18): 3519-3522.
- 王晓东, 严子平, 张莉, 等. 蟾皮提取分离方法及有效成分的研究进展[J]. 武警医学院学报, 2011, 20(12): 1009-1011, 1016.
- 陈建. 纳米制剂在抗肝癌药物中的应用[J]. 中国医药指南, 2012, 10(3): 73-74.
- 曹徐涛, 王东, 王娜, 等. 蟾皮中蟾毒配基类成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(10): 778-781.
- 吴旭, 高波, 杨健, 等. 华蟾素注射液多肽成分体外抗肿瘤活性研究[J]. 药学报, 2012, 47(6): 822-826.
- 张英, 邱鹰昆, 陈继勇, 等. 中华大蟾蜍皮的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(8): 484-487.
- 李维熙, 孙辉, 李茜, 等. 中华大蟾蜍皮化学成分的研究[J]. 中草药, 2007, 38(2): 183-185.
- 赵大洲, 陈继永, 秦勇, 等. 中华大蟾蜍蟾酥与蟾皮化学成分的比较分析[J]. 天津药学, 2006, 18(4): 21-24.
- 曹徐涛, 王东, 王娜, 等. 蟾皮的水溶性成分研究(英文)[J]. 中国天然药物, 2009, 7(3): 181-183.
- 代丽萍, 高慧敏, 王智民, 等. 蟾皮化学成分分离与结构鉴定[J]. 药学报, 2007, 42(8): 858-861.
- 郑培实, 张阳, 蒋葵, 等. 华蟾素对肝癌细胞株SMMC-7721增殖、凋亡的影响[J]. 山东医药, 2011, 51(27): 93-94.
- 邓德厚, 史华, 张永军, 等. 华蟾素注射液对小鼠肝癌组织Smac及Caspase-9表达的影响[J]. 中国中医药科技, 2015, 22(2): 153-155, 158.
- 高山, 田莉莉, 陈华, 等. 华蟾素注射液对人肝癌HepG-2细胞增殖及拓扑异构酶表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 250-255.
- MIAO Q, BI LL, LI X, et al. Anticancer Effects of Bufalin on Human Hepatocellular Carcinoma HepG2 Cells: Roles of Apoptosis and Autophagy[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(1): 1370-1382.
- 王晓东, 严子平, 张莉, 等. 蟾皮提取分离方法及有效成分的研究进展[J]. 武警医学院学报, 2011, 20(12): 1009-1011, 1016.
- 田昕, 罗颖, 闫永波, 等. 蟾蜍灵对人食管鳞癌EC9706细胞增殖及凋亡的影响[J]. 中国医学科学院学报, 2012, 34(6): 556-562.
- 郁云龙, 刘云鹏, 王锴, 等. 蟾蜍灵诱导人肺腺癌细胞凋亡作用及其机制[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(9): 1000-1003.
- 谢显彪, 温丽丽, 尹军强, 等. 蟾毒灵诱导骨肉瘤细胞株凋亡的蛋白质组学研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(14): 2739-2743.
- 马秀才, 熊鑫茗, 傅德皓, 等. 华蟾素诱导骨肉瘤细胞凋亡及其机制[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2015, 23(8): 6-10, 13.
- 邵淑丽, 刘盛楠, 张蕾, 等. 华蟾素诱导人胃癌SGC-7901细胞凋亡[J]. 基因组学与应用生物学, 2015, 34(9): 1826-1832.
- 李宏良, 田华琴, 曾荣香, 等. 华蟾素对多发性骨髓瘤RPMI 8226细胞株增殖、凋亡的影响及机制研究[J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42(3): 456-458.
- 刘海晔. 中药逆转肿瘤多药耐药性的研究进展[J]. 中草药, 2015, 46(7): 1096-1102.
- 李森, 雷宇, 林霖, 等. 中药逆转肿瘤多药耐药的研究进展[J]. 药物评价研究, 2010, 33(6): 228-232.
- 田莉莉, 高山, 崔晓楠. 华蟾素注射液对人肝癌HepG-2细胞增殖与凋亡及拓扑异构酶II的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2013, 29(7): 530-533.
- 王珏莲, 古学奎, 刘安平, 等. 蟾酥逆转人白血病K562/D0X细胞多药耐药的实验研究[J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(3): 280-283.
- 方凡夫, 张亚妮, 顾伟. 蟾毒灵抑制人白血病多药耐药K562/VCR细胞株增殖的实验研究[J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(3): 213-215.
- 熊新, 周远大. 蟾酥注射液对HL60/ADM细胞多药耐药的逆转作用研究[J]. 中国药房, 2012, 23(7): 587-590.
- 韦艳, 卢珩, 王荣荣, 等. 华蟾素注射液抗肝癌细胞多药耐药性的蛋白质组学分析[J]. 基础医学与临床, 2014, 34(6): 814-818.
- 刘琳, 陈宝安, 秦叔逵, 等. 三氧化二砷联合华蟾素抗裸鼠人肝癌移植瘤血管新生的作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(1): 67-72.
- 刘俊珊, 张冬梅, 陈敏锋, 等. 沙蟾毒精抑制血管生成的作用[J]. 药学报, 2011, 46(5): 527-533.
- 翟笑枫, 吕祥, 顾伟, 等. 蟾毒灵抑制血管生成作用的初步观察[J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(8): 29-31.
- 田志辉, 张培, 曹彦坤, 等. 蟾蜍灵抑制食管癌细胞增殖、迁移和趋化运动的机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(20): 45-49.
- 杨银盛, 何明. 华蟾素注射液的不良反应研究进展[J]. 内蒙古中医药, 2011(23): 111-112, 189.
- 李敬双, 孟显华, 刘天明, 等. 华蟾毒精对小鼠免疫细胞活性的影响[J]. 现代畜牧兽医, 2014(6): 12-15.
- 于洋, 唐雨顺, 张玉科, 等. 中药蟾酥免疫增强剂对肉仔鸡免疫器官生长发育及免疫活性细胞影响的研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(1): 403-406.
- 郭维霄, 仲伟婷, 李文华, 等. 蟾酥注射液对免疫抑制小鼠免疫功能调节作用[J]. 中国农学通报, 2011, 27(14): 45-49.
- 张延京, 魏晓露, 贺晶, 等. 华蟾素注射液体外对小鼠脾淋巴细胞功能影响的研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2014, 13(23): 1921-1925.
- 张瑾. 华蟾毒精抗原佐剂效应与增强肿瘤特异性免疫的作用机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2014: 45.
- 宋宇, 王小亮, 赵广厚, 等. 华蟾毒精对小鼠免疫功能影响的体外研究[C]//中国畜牧兽医学会兽医药理毒理学分会. 中国畜牧兽医学会兽医药理毒理学分会第十次研讨会论文集摘要集. 武汉: 中国畜牧兽医学会兽医药理毒理学分会, 2009: 1.
- 吴帅成. 蟾酥缓释注射液增强疫苗免疫应答的作用机理研究[D]. 长春: 吉林大学, 2015: 43-44.
- 龚艳, 周婧, 马宏跃, 等. 蟾酥对大鼠足部的刺激性研究[J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(10): 853-856.
- 温丽丽, 谢显彪, 黄婉, 等. 蟾毒灵抗炎镇痛作用及其对NF- κ B信号通路的影响[J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2014, 35(5): 667, 680-684.
- 巩仔鹏, 陈涛, 邓李蓉, 等. 华蟾素注射液对H22荷瘤小鼠体内 β -内啡肽的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 180-181.
- 巩仔鹏, 陈涛. 华蟾素注射液基于阿片受体的镇痛机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 120-122.
- 邓李蓉, 陈涛, 巩仔鹏, 等. 中药华蟾素的镇痛实验研究[J]. 安徽医药, 2010, 14(4): 397-399.
- 邓璐璐, 张佳佳, 谢海琴, 等. 几种强心苷类成分的镇痛活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(17): 116-120.
- 胡卫, 万信念, 王晶, 等. 华蟾素瘤周注射对癌瘤模型小鼠癌痛行为的影响及外周机制研究[C]//中国中西医结合学会基础理论研究专业委员会. 第九次全国中西医结合基础理论研究学术研讨会论文集汇编. 北京: 中国中西医结合学会基础理论研究专业委员会, 2013: 9.
- 毕琳琳, 缪珊, 王四旺. 蟾酥抗肿瘤有效成分的作用研究[J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(16): 3185-3187.
- 柳青, 雷宝宝. 华蟾素注射液的不良反应与合理用药[J]. 中成药, 2012, 34(7): 1409-1411.
- 姜玉凤. 华蟾素注射液的药理作用及临床不良反应[J]. 中医学报, 2011, 26(9): 1082-1083.