

蓝萼乙素药理作用及其分子机制研究进展

王明鑫智, 王镜超, 权 泉, 金成浩*

黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院 黑龙江大庆

【摘要】蓝萼乙素是从中草药香茶菜中分离出来的对映-贝壳杉烷型二萜。研究表明, 蓝萼乙素不仅具有抗帕金森、防止神经元损伤、抗神经炎、抗类风湿关节炎等多种药理作用, 还具有良好的抗肿瘤活性, 尤其对宫颈癌、胃癌及乳腺癌具有明显的治疗效果。本文对近年来蓝萼乙素的药理作用及其分子机制的相关研究进展进行综述, 为蓝萼乙素的开发和临床应用提供理论依据。

【关键词】蓝萼乙素; 抗帕金森; 防止神经元损伤; 抗类风湿关节炎; 抗肿瘤

【基金项目】中央支持地方高校改革发展基金人才培养项目(2020GSP16)

【收稿日期】2023 年 2 月 10 日 **【出刊日期】**2023 年 3 月 10 日 **【DOI】**10.12208/j.jlsr.20230001

Progress in pharmacological activity and molecular mechanism of Glaucocalyxin B

Mingxinzhi Wang, Jingchao Wang, Quan Quan, Chenghao Jin*

College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang

【Abstract】Glaucocalyxin B is an enantio-kaurane diterpene isolated from the Chinese herbal medicine *Camellia fragrans*. Studies have shown that glaucocalyxin B not only has a variety of pharmacological effects such as anti-Parkinson's disease, prevention of neuronal damage, anti-neuritis, anti-rheumatoid arthritis, but also has good anti-tumor activity, especially for cervical cancer, gastric cancer and breast cancer. In this review, the pharmacological effects and molecular mechanisms of glaucocalyxin B were summarized in order to provide theoretical basis for the development and clinical application of glaucocalyxin B.

【Keywords】Glaucocalyxin B; Anti-parkinsonian; Prevent neuronal damage; Anti-rheumatoid arthritis; Anti-tumor

前言

蓝萼乙素(Glaucocalyxin B, GLB)是从唇形科植物蓝萼香茶菜全草中分离纯化得到的一种二萜化合物, 分子式为 $C_{22}H_{30}O_5$, 呈白色粉末状, 可溶于甲醇、乙醇、DMSO 等有机溶剂。蓝萼乙素对帕金森、神经元损伤、神经炎、类风湿关节炎以及多种恶性肿瘤具有良好的药物活性。近年来, 随着我国传统中药学的不断发展, 中草药提取物治疗癌症已成为热点之一, 其中蓝萼乙素以安全性强、疗效高、毒副作用少等优点逐渐成为研究学者的关注方向。本文对近年来蓝萼乙素的药理作用及其分子机制进行整理和综述, 为蓝萼乙素的进一步基础研究及临

床应用提供理论依据。

1 蓝萼乙素的抗帕金森作用

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是老年人群中常见的神经退行性疾病。PD 主要的临床特征为严重的运动障碍及认知障碍等非运动相关症状。研究表明, 氧化应激、神经炎症损伤及脑多巴胺(dopaminergic, DA)神经元的丢失是导致 PD 诱发的主要因素。

许薇^[1]等人采用侧脑室注射脂多糖的方式构建帕金森大鼠模型后, 通过行为学检测评估大鼠的运动功能, 包括踏步实验(Stepping Test)、胡须检测(Whisker Test)、圆筒实验(Cylinder Test)。结

作者简介: 王明鑫智(2002-)女, 黑龙江人, 主要从事抗癌症药物药理学研究。

*通讯作者: 金成浩(1977-)男, 吉林人, 教授, 博导, 主要从事癌症发病机理研究及药物研发工作。

果发现, GLB 处理组大鼠与 PD 对照组大鼠相比步数、前爪活动次数、阳性反应次数分别提高了 2.5、2.06 与 1.43 倍, 说明 GLB 可有效缓解 PD 大鼠模型的运动障碍。进一步通过免疫组织化学法检测每组大鼠脑组织中 α -突触核蛋白 (α -synuclein, α -Syn)、酪氨酸羟化酶 (Tyrosine Hydroxylase, TH)、星形胶质细胞的标志物胶质纤维酸性蛋白 (Glial Fibrillary Acidic Protein, GFAP) 和小胶质细胞标志物 CD11b 的表达水平。结果发现, PD 组 α -Syn 的表达水平明显升高, TH 阳性细胞数目降低, 与假手术 (Sham) 组相比, PD 组的阳性细胞数约减少 70%, 说明 GLB 可抑制 PD 大鼠体内 LPS 诱导的脑多巴胺神经元减少, 同时抑制星形胶质细胞和小胶质细胞的增殖。

此外, 许薇^[1]等人还通过 Real-time PCR 实验检测发现, PD 组大鼠脑组织中 IL-1 β 及 IL-6 mRNA 的表达水平升高, 与 Sham 组相比增加了约 4.68、3.3 倍。与 PD 组相比, GLB 处理组可剂量依赖性地显著降低 IL-1 β 、IL-6 的表达水平。其中, 高浓度的 GLB 可使 IL-1 β 、IL-6 的表达水平分别降低 61% 和 52%。以上结果说明, GLB 通过降低 PD 大鼠模型脑内炎症因子表达水平, 可有效缓解帕金森病, 有望开发成为治疗帕金森病的新型药物。

2 蓝萼乙素的保护神经元损伤作用

神经元损伤是神经内科的一类慢性疾病, 对人体的伤害主要是上下两极运动神经元损伤。神经元损伤类型较多, 包括肌萎缩侧索硬化症、进行性延髓麻痹、原发性侧索硬化等。

Liu Y^[2]等人用不同浓度的 GLB (0、2.5、5 及 10 μ M) 处理神经 PC-12 细胞后, 通过 MTT 实验检测细胞活力。结果发现, GLB 可有效抑制 OGD/R 刺激的氧化应激, 并保护 PC-12 细胞免受 OGD/R 诱导的细胞损伤与凋亡。通过蛋白质免疫印迹法检测发现, GLB 可调控 Bcl-2、Bax、p-Akt 及 p-mTOR 蛋白的表达水平, 其机制可能与 Akt/mTOR 信号通路的激活有关。以上结果说明, GLB 可通过调控 PC-12 细胞中的 Akt/mTOR 信号通路的激活, 有效防止神经元损伤, 有望开发成为治疗神经元损伤的新型药物。

3 蓝萼乙素的抗神经炎作用

神经胶质介导的神经炎症是许多神经退行性疾

病的常见特征, 过度激活的小胶质细胞同样会导致神经退行性疾病的发生, 其中包括帕金森病、阿尔茨海默氏病及 HIV 病毒性痴呆症等。研究表明, 抑制小胶质细胞的过度激活是治疗由神经炎症导致的神经退行性病变的重要治疗方法之一。

Gan P^[3]等人研究发现, GLB 可剂量依赖性的方式显著抑制小胶质 BV-2 细胞中 LPS 诱导的 NO 生成, 并降低 TNF- α 的表达水平。通过 MTT 实验与流式细胞术实验检测发现, GLB 可抑制促炎介质 TNF- α 、IL- β 的表达, 并抑制小胶质细胞的活化, 从而达到保护神经的目的。进一步通过蛋白质免疫印迹法与 qRT-PCR 实验发现, GLB 可显著抑制 p38 磷酸化水平与 NF- κ B 的活化, 并抑制 BV-2 细胞内活性氧的生成。以上结果说明, GLB 具有良好的抗神经炎活性, 有望开发成为神经炎症性疾病治疗的新型药物。

4 蓝萼乙素的抗类风湿关节炎作用

类风湿性关节炎 (RA) 是一种自身免疫性疾病, 其发病部位主要集中在骨骼与关节, 并伴有多系统炎症^[4]。RA 的致病过程涉及各种不同的作用途径, 包括先天免疫系统与适应性免疫系统等。

Han C^[5]等人通过流式细胞术实验与 ELISA 实验发现, GLB 可抑制 LPS 与 IFN- γ 诱导的滑膜巨噬细胞 (SMG) 的 M1 极化, 并抑制 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、iNOS 及 IL-12 表达水平。通过免疫荧光法与蛋白质免疫印迹法检测发现, GLB 处理组与对照组相比 P65 蛋白的表达水平显著降低, 但不影响 IL-10 与 TGF- β 1 的表达水平。以上结果说明, GLB 通过调控 NF- κ B 信号途径, 调节 SMG 的 M1 极化, 进而抑制炎症因子的分泌和过表达, 最终缓解 RA 发病过程中软骨的损伤。

5 蓝萼乙素的抗癌作用

癌症 (cancer) 是体内正常细胞发生变异或部分细胞大量增殖而形成的肿瘤。癌细胞能克服细胞间的黏滞作用, 进一步进行迁移、侵袭, 最终转移到其它部位, 因此临床治疗相对困难。活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 是含氧高活性物质, 在癌症发病和进展中起着极其重要的作用。ROS 可通过诱导抗凋亡因子蛋白降解、过度积累等途径引起癌细胞的凋亡和自噬, 最终达到抗肿瘤的目的^[6]。研究发现, GLB 具有良好的抗癌活性, 可对多种癌细胞

的增殖、迁移及侵袭能力发挥抑制作用。

5.1 蓝萼乙素的抗宫颈癌作用

宫颈癌又称子宫颈癌, 是女性人群中最常见的恶性肿瘤之一, 与高危型 HPV 的持续感染有关, 其发病率和死亡率正逐年上升。

梁露露^[6]用不同浓度的 GLB 对宫颈癌 C33A 细胞进行处理后发现, GLB 可浓度和时间依赖性的方式显著抑制 C33A 细胞的增殖。进一步通过蛋白质免疫印迹法检测发现, GLB 处理后的癌细胞凋亡标志物 cl-PARP 与自噬标志物 LC3 含量升高, 说明 GLB 可有效抑制宫颈癌细胞增殖, 并诱导细胞凋亡与自噬。此外, 通过 ROS 检测试剂盒测定细胞内 ROS 的水平后发现, 宫颈癌细胞系 (C33A、HeLa 及 SiHa) 中的 ROS 含量与 GLB 浓度呈正相关趋势。以上结果说明, GLB 可通过调控 ROS 的生成和沉积, 诱导宫颈癌细胞的凋亡和自噬, 最终实现对宫颈癌细胞的抑制作用。

白洁宇^[7]等人通过 MTT 法检测发现, GLB 可有效抑制 HeLa 与 SiHa 细胞的增殖能力, 其 IC₅₀ 值分别为 5.348 μM 与 8.568 μM。刘莹莹^[8,9]等人通过细胞划痕实验检测发现, GLB 可显著降低 HeLa 与 SiHa 细胞迁移率。通过 MTT 法检测发现, GLB 处理组与对照组相比 HeLa 与 SiHa 细胞的活力明显降低。通过流式细胞术实验发现, GLB 可将细胞周期阻滞在 G2/M 期, 处理后的细胞凋亡率 (24.03%±4.29%) 明显增加, 是空白对照组的 5 倍。但加入 JNK 与 p38 MAPK 抑制剂后细胞凋亡率明显降低, 说明 GLB 可通过活化 JNK 与 p38 MAPK 信号通路来抑制宫颈癌 HeLa 与 SiHa 细胞的增殖与分化, 进而促进癌细胞凋亡。进一步通过蛋白质免疫印迹法与 qRT-PCR 实验发现, GLB 可上调细胞内 P-JNK、P-p38、Bax、FasL 及 Fas 的表达水平, 同时下调 Bcl-2、cyclinD1 mRNA、MMP-9 与 VEGF 蛋白的表达水平。当加入 JNK 与 p38 MAPK 抑制剂后此蛋白表达水平恰与 GLB 处理结果相反。以上结果说明, GLB 通过活化 JNK 与 p38 MAPK 信号通路上调相关分子 mRNA 的表达水平, 使细胞周期阻滞在 G2/M 期, 抑制宫颈癌细胞增殖并促进其凋亡, 从而有效降低 HeLa 与 SiHa 细胞的活力。

千文君^[10]等人利用宫颈癌 HeLa 与 SiHa 细胞分别构建移植瘤裸鼠模型后发现, GLB 处理组与对照

组 (生理盐水) 相比肿瘤的体积与重量明显减小。进一步通过眼球取血法与 HE 染色实验发现, GLB 在血清和肿瘤组织中显著降低肿瘤标志物 CA125 与 CEA 蛋白的表达水平, 并诱导肿瘤细胞大量凋亡。此外, 通过蛋白质免疫印迹法实验检测 HeLa 组与 SiHa 组的肿瘤相关蛋白表达水平发现, GLB 可提高各处理组中相关蛋白 PTEN、Beclin 1 及 LC3 的表达水平。以上结果说明, GLB 通过调控肿瘤相关蛋白表达水平, 诱导肿瘤细胞凋亡、进而有效抑制肿瘤生长, 减小肿瘤体积。

5.2 蓝萼乙素的抗胃癌作用

胃癌 (GC) 是起源于胃黏膜上皮的恶性肿瘤, 是全球常见的恶性肿瘤之一, 其在我国西北部与东部的发病率较高。

Ur Rahman MS^[11]等人对 GC 细胞联合处理 GLB 与 DNA 交联剂丝裂霉素 C (MMC)、顺铂 (DDP) 及环磷酰胺 (CTX) 后通过 MTT 实验发现, GLB 联合物可有效抑制 GC 细胞的活力, 其 IC₅₀ 值分别为 1.02 μM、3.3 μM 与 0.96 mM, 与 GLB 单独处理 (IC₅₀ 值为 13.40 μM) 相比具有更好的抑制活性。通过流式细胞术实验检测发现, GLB 联合物 (MMC 与 CTX) 可将 GC 细胞周期阻滞在 G2/M 期, 其抑制率分别为 50% 与 60%。通过蛋白质免疫印迹法实验发现, GLB 联合物可上调 GC 细胞中 p21 与 p27 蛋白的表达水平, 进而诱导 GC 细胞周期阻滞和凋亡。以上结果表明, GLB 不管是单独处理还是联合处理, 都可抑制胃癌细胞活力、阻滞胃癌细胞周期、促进胃癌细胞死亡, 最终有效改善胃癌的发展。

5.3 蓝萼乙素的抗乳腺癌作用

乳腺癌作为国内外常见的女性恶性肿瘤, 在中老年女性人群中具有较高的发病率。研究发现, GLB 可有效抑制乳腺癌的病变进程。

吴元肇^[12]等人通过 MTT 法、细胞划痕实验及 Transwell 方法检测发现, GLB 可浓度依赖性的方式显著抑制乳腺癌细胞增殖、迁移及侵袭能力。进一步通过蛋白质免疫印迹法检测发现, 对乳腺癌细胞处理 GLB 后, p-p38 MAPK 及 FOXO3a 表达水平明显升高, 间质细胞标志物 N-cadherin 及 Vimentin 的表达水平降低, 同时上皮细胞标志物 E-cadherin 的表达水平升高, 说明 GLB 通过抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移及侵袭能力, 有效缓解乳腺癌的发展, 有

望开发成为治疗乳腺癌的新型药物。

6 展望

蓝萼乙素具有抗帕金森、抗类风湿性关节炎、保护神经炎损伤、抗肿瘤等多种药理作用, 尤其对肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭等能力发挥良好的抑制作用, 具有广泛的药物研发和临床应用前景。但蓝萼乙素作为中药化合物, 对其药物功能机制的研究和临床应用仍处于初级阶段, 需要不断结合相关分子生物学、细胞生物学、实验动物学、药理学、基础医学等知识理论和实验技术, 从分子、细胞及动物水平上对 GLB 进行更全面、更深层次的研究, 为进一步开展蓝萼乙素中药制剂的研发提供理论依据和数据支撑。

参考文献

- [1] 许薇. 蓝萼乙素对脂多糖诱导的帕金森病模型的神经保护作用及机制研究[D]. 中国医科大学, 2018.
- [2] Liu Y, Wu X, An J, Lv W, Geng Y, Lou T, Zhang Y. Glucocalyxin B protects against oxygen-glucose-deprivation/reperfusion-induced neuronal injury in PC-12 cells[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 120(4): 6137- 6144.
- [3] Gan P, Zhang L, Chen Y, Zhang Y, Zhang F, Zhou X, Zhang X, Gao B, Zhen X, Zhang J, Zheng LT. Anti-inflammatory effects of glucocalyxin B in microglia cells[J]. *J Pharmacol Sci*, 2015, 128(1): 35- 46.
- [4] Abeles AM, Pillinger MH. The role of the synovial fibroblast in rheumatoid arthritis: cartilage destruction and the regulation of matrix metalloproteinases[J]. *Bull NYU Hosp Jt Dis*, 2006, 64: 20- 24.
- [5] Han C, Yang Y, Sheng Y, Wang J, Zhou X, Li W, Guo L, Zhang C, Ye Q. Glucocalyxin B inhibits cartilage inflammatory injury in rheumatoid arthritis by regulating M1 polarization of synovial macrophages through NF- κ B pathway[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(18): 22544- 22555.
- [6] 梁露露. 蓝萼乙素通过增加 ROS 诱导宫颈癌细胞生长抑制、凋亡和自噬的机制研究[D]. 新乡医学院, 2022. DOI: 10. 27434/ d. cnki. gxyc. 2022. 000179.
- [7] 白洁宇. 蓝萼乙素对宫颈癌细胞 HeLa、SiHa 增殖抑制作用及其机制研究[D]. 新乡医学院, 2016.
- [8] 刘莹莹, 潘莹, 申芳芳, 白洁宇, 何全中. 蓝萼乙素对宫颈癌细胞迁移与侵袭影响作用机制[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2019, 26(04): 212- 220.
- [9] 刘莹莹. 蓝萼乙素通过 JNK 和 p38 MAPK 通路诱导人宫颈癌细胞凋亡和细胞周期阻滞[D]. 新乡医学院, 2019. DOI: 10. 27434/ d. cnki. gxyc. 2019. 000215.
- [10] 千文君. 蓝萼乙素对人宫颈癌裸鼠移植瘤抑制作用的研究[D]. 新乡医学院, 2017.
- [11] Ur Rahman MS, Zhang L, Wu L, Xie Y, Li C, Cao J. Sensitization of gastric cancer cells to alkylating agents by glucocalyxin B via cell cycle arrest and enhanced cell death[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2017, 11: 2431- 2441.
- [12] 吴元肇, 金早. 蓝萼乙素对三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖、迁移及侵袭的影响[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2020, 26(04): 589- 594.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS