

黄芩中黄酮类化合物抗肿瘤作用的研究进展[△]

赵梅^{1,2*}, 周淑琴^{1,2#} (1. 上海医药高等专科学校, 上海 210318; 2. 上海交通大学医学院附属卫生学校, 上海 210318)

中图分类号 R285.5; R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)11-1050-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.11.33

摘要 目的: 为深入研究黄芩中黄酮类化合物抗肿瘤作用及其机制提供参考。方法: 查阅国内、外文献, 对黄芩中黄酮类化合物体内、外抗肿瘤作用的研究进展进行综述。结果与结论: 黄芩中黄酮类化合物主要包括黄芩素、黄芩苷、汉黄芩素、千层纸素 A 等, 其可通过影响细胞周期、诱导细胞凋亡、影响花生四烯酸的代谢、抑制端粒酶等多种机制发挥抗肿瘤作用; 黄芩中黄酮类化合物具有广泛的抗肿瘤作用, 其有望发展成新的抗肿瘤候选药物。

关键词 黄芩; 黄酮类化合物; 抗肿瘤; 作用机制

黄芩是唇形科植物黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 的干燥根, 是一种应用广泛的中草药, 临床上具有清热燥湿、凉血安胎、解毒等功效。黄酮类化合物是黄芩中的主要有效成分, 目前黄芩中已经发现了 40 余种黄酮类化合物。近年来的研究发现, 黄芩中含有的黄酮类化合物主要包括黄芩素、汉黄芩素、黄芩苷、千层纸素 A (Oroxylin A) 等 (结构见图 1), 其对肿瘤细胞的增殖具有抑制作用, 并具有化学防癌剂的作用, 故其有望发展成为新的抗肿瘤候选药物。本文综述了近年来国内、外关于黄芩中黄酮类化合物抗肿瘤作用及其相关机制的研究进展。

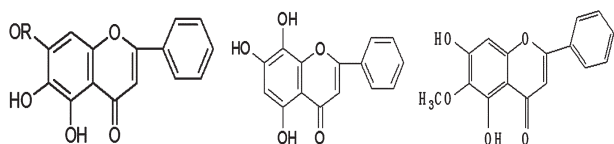


图 1 黄酮类化合物结构

A. 黄芩素 (R=H), 黄芩苷 (R=葡萄糖醛基); B. 汉黄芩素; C. 千层纸素 A

1 体外抗肿瘤活性

1.1 诱导细胞凋亡

细胞凋亡的异常常引起包括恶性肿瘤在内的多种疾病的发生、发展, 诱导肿瘤细胞凋亡是抗肿瘤药物治疗肿瘤的主要机制之一。已有研究表明, 黄芩中黄酮类化合物可通过诱导肿瘤细胞凋亡发挥抗肿瘤作用。

1.1.1 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 (Caspase)-3 活化介导的凋亡诱导作用 死亡受体途径和线粒体途径是哺乳动物细胞凋亡的 2 条主要途径, 它们可通过诱导“中央处理器”分子即 Caspases 的活化导致细胞凋亡。黄芩苷可通过 Caspase-3 途径诱导白血病细胞 HL-60 凋亡, 其半数抑制浓度 (IC₅₀) 为 100 μmol/L^[1]。Li YC 等^[2]研究发现, 黄芩素可抑制 HL-60 的增殖 (IC₅₀=20 μmol/L) 并诱导其凋亡, 而 Caspase-3 抑制剂

2-VAD-fmk 可明显降低黄芩素的凋亡诱导作用, 提示其可通过 Caspase-3 途径启动 HL-60 细胞的凋亡。汉黄芩素对肝肿瘤细胞 SK-HEP-1 具有增殖抑制作用 (IC₅₀=80 μmol/L), 其可诱导 SK-HEP-1 发生肿胀、产生凋亡小体并增强细胞中 Caspase-3/cpp32 基因的活性, 而 Caspase-3 抑制剂 AC-DEVD-CHO 可逆转汉黄芩素的这一细胞毒性作用^[3]。汉黄芩素亦被发现可增强 HL-60 细胞中 Caspase-3 的活性, 其对 HL-60 的凋亡诱导作用具有时间和剂量依赖性, 暴露于 80 μmol/L 汉黄芩素中 12 h 的 HL-60 细胞的增殖抑制率为 90%^[4]。董庆华等^[5]研究表明, 黄芩素在选择性地诱导白血病细胞 K562 凋亡的同时 Caspase-3 表达量增加。

1.1.2 活性氧物质 (ROS) 介导的线粒体功能失效途径 ROS 可通过线粒体激活并释放凋亡蛋白 (如细胞色素 C) 或活化钙依赖酶而诱导细胞凋亡。Wang J 等^[6]研究发现, 黄芩素可通过诱导 HL-60 细胞线粒体释放细胞色素 C 导致细胞内 H₂O₂ 水平增高, 从而诱发细胞凋亡并发生 DNA 断裂现象, 而过氧化氢酶可有效抑制黄芩素诱导细胞凋亡导致的 DNA 断裂, 提示黄芩素可能通过 ROS 介导的线粒体功能失效诱导细胞凋亡。

1.2 影响细胞周期

不可调节的细胞增殖将会导致肿瘤的发生、发展, 几乎所有的肿瘤都有一个根本的共同特征: 细胞周期调控机制破坏导致的细胞失控性生长。因此, 肿瘤的防治总是与抑制、逆转、延迟细胞的无限增殖联系在一起的。

研究表明, 黄芩素、黄芩苷、汉黄芩素均可抑制肝肿瘤细胞 HepG2、Hep3B、SK-HEP1 的增殖^[7]。对细胞周期的分析表明, 3 种黄酮类化合物均可将 HepG2 细胞抑制于 G2/M 期, 将 Hep3B 细胞抑制于 G1 亚期; 对 SK-HEP1 细胞的研究表明, 黄芩素和汉黄芩素可将其细胞周期分别抑制于 G1 亚期和 G1 期^[9]。Murashima T 等^[8]研究表明, 黄芩提取物能将小鼠睾丸间质肿瘤细胞 B-1F 抑制于 G1 期。黄芩的水提取物能够将非小细胞肺癌细胞 A549 的细胞周期抑制于 G1/S 期, 这可能与细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1) 的表达及基质金属蛋白酶 (MMP)-2 的活性抑制有关^[9]。经 100 μg/ml 黄芩苷处理 72 h 的人黏表皮癌 Mc3 细胞增殖抑制率为 75%, 进一步研究发现黄芩苷能将 Mc3 细胞抑制于 G0/G1 期^[10]。虽然已有报道表明, 黄芩中黄酮类化合物抑制肿瘤细胞增殖作用和细胞周期抑制有关, 但是, 这些化合物具体通过何种机制来影响细胞周期, 仍

△ 基金项目: 上海市教委科研创新项目资助 (No.12ZZ200, 10YZ240); 上海市 2010 年“晨光计划”项目 B 类 (No.3); 上海交通大学医学院自然科学研究基金资助项目 (No.YZ1030)

* 讲师, 博士。研究方向: 抗肿瘤药物及新药筛选。电话: 021-33755125。E-mail: mezhao_2@yahoo.cn

通信作者: 副教授。研究方向: 药物化学。电话: 021-33755573。E-mail: zhousq999@hotmail.com

需要进一步研究。

1.3 花生四烯酸代谢的抑制作用

膜磷脂在磷脂酶作用下可释放出花生四烯酸,花生四烯酸可通过环氧合酶(COX)和脂氧酶(LOX)两个途径进一步代谢。研究表明,花生四烯酸的代谢和某些肿瘤细胞的增殖密切相关^[11]。

1.3.1 COX-2抑制作用 COX-2催化花生四烯酸合成的前列腺素(PG)_{E₂}在炎症和与之相关的肿瘤、心血管等疾病的发生发展中有重要作用,PGE₂能促进肿瘤生长、抑制免疫系统并诱导致癌物质的产生。鼻咽鳞状上皮细胞癌(HNSCC)细胞高表达COX-2。黄芩中黄酮提取物在显著抑制HNSCC细胞株SCC-25和KB增殖的同时(IC₅₀均为150 μg/ml),能抑制细胞内COX-2的表达及PGE₂的合成^[12]。100 μmol/L的汉黄芩素能抑制COX-2在非小细胞肺肿瘤A549细胞中的表达^[13]。黄芩中黄酮提取物可抑制人前列腺癌细胞LNCaP和PC-3的增殖,IC₅₀分别为0.15 mg/ml和0.10 mg/ml,进一步研究发现,其可通过抑制COX-2活性,减少PGE₂在LNCaP及PC-3中的合成^[14]。

1.3.2 12-LOX抑制作用 花生四烯酸可被12-LOX代谢为12-羟二十碳四烯酸(12-HETE)。12-HETE在包括前列腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌以及肺癌等多种肿瘤组织中过度表达,并可促进肿瘤细胞的浸润和转移以及增殖^[11]。黄芩素已被证明是一种12-LOX抑制剂。Wong BC等^[11]研究发现,20 μmol/L黄芩素能完全抑制人胃癌细胞AGS和MNK-28的增殖,该增殖抑制作用可被花生四烯酸的12-LOX代谢产物12-HETE逆转,提示黄芩素可通过抑制12-LOX发挥其抗肿瘤作用。Leung HW等^[15]研究表明,黄芩素在抑制人非小细胞肺肿瘤H460细胞增殖(IC₅₀为43 μmol/L)的同时,可抑制12-LOX的活性。

1.4 端粒酶活性抑制作用

端粒酶能使端粒延长,从而延长细胞寿命甚至使细胞永生。在正常人体组织中,端粒酶的活性被抑制,因此端粒酶的活化可能导致肿瘤的发生、发展。

Huang ST等^[16]研究发现,汉黄芩素对HL-60细胞的生长抑制作用(IC₅₀为50 μmol/L)与端粒酶活性的降低有关。Murashima T等^[18]研究表明,黄芩可抑制小鼠睾丸间质肿瘤细胞B-1F的体外增殖并降低其端粒酶的表达活性。

1.5 拓扑异构酶抑制作用

在细胞复制、转录、重组、染色体有丝分裂、DNA损伤修复过程中,DNA拓扑异构酶可催化单链(拓扑异构酶I起作用)或双链(拓扑异构酶II起作用)DNA分子的断裂与重联,拓扑异构酶是重要的抗肿瘤相关活性靶点。Matsuzaki Y等^[17]发现,黄芩素在抑制人肝癌细胞HCC增殖的同时,拓扑异构酶II的活性也被强烈抑制。

1.6 化学防癌剂作用

苯醌还原酶(QR)具有过滤和抑制致癌物质的功能,其对肝细胞有特殊的保护功能。黄芩苷是黄芩的甲醇提取物中的主要成分,研究表明该提取物处理的小鼠肝细胞1c1c7中QR活性及其表达水平与黄芩苷给药水平呈剂量依赖关系,提示黄芩苷可开发成为一种新型的化学防癌剂^[18]。

2 体内抗肿瘤活性

目前,黄芩中黄酮类化合物的体内抗肿瘤实验报道相对体外试验较少,但已有研究结果表明,黄芩中黄酮类化合物在体内可发挥抗肿瘤作用。Zhang DY等^[12]研究发现,HNSCC模型小鼠经黄芩中黄酮提取物(75 mg/kg,每周5次)连续灌胃7周,肿瘤体积可显著减小,肿瘤生长抑制率为66%。给予黄芩提取物千层纸素A(40 mg/kg),可使黑色素瘤B16-F10小鼠的肿瘤体积减小73%^[19]。Li HN等^[20]研究发现,宫颈癌HeLa小鼠经连续静脉注射千层纸素A(80 mg/kg)14 d,其肿瘤体积可减小56%。上皮细胞癌Mc3模型小鼠经连续静脉注射黄芩苷(200 mg/kg,每周5次)2周,肿瘤体积可显著减小55%^[21]。给予前列腺癌PC-3模型小鼠黄芩中黄酮提取物(200 mg/kg,每周5次),连续灌胃7周,能使肿瘤体积减小50%^[22]。Wang W等发现,汉黄芩素对体内移植肉瘤S180瘤株的增殖有抑制作用,抑制率为53%^[23]。黄芩中黄酮提取物可显著抑制膀胱癌细胞MBT-2模型小鼠皮下肿瘤的生长,肿瘤体积可减小30%^[24]。

3 结语

黄酮类化合物是黄芩中的主要有效成分,其具有良好而广泛的抗肿瘤活性:对17种黄酮类化合物的研究表明,汉黄芩素和毛地黄黄芩素能显著抑制HL-60细胞的增殖^[25];黄芩苷对包括Du145、PC-3、LNCaP以及CA-Hpv-10在内的一系列前列腺肿瘤细胞具有增殖抑制作用^[26];黄芩素能抑制人乳腺癌细胞MCF-7的增殖^[27];黄芩素、黄芩苷、汉黄芩素等黄酮提取物对人膀胱癌细胞KU-1、EJ-1及大鼠膀胱癌细胞MBT-2具有剂量依赖型增殖抑制作用^[24];汉黄芩素对骨肉瘤U2OS细胞有增殖抑制及凋亡促进作用^[28]。

通过深入研究,进一步阐明黄芩中黄酮类化合物的抗肿瘤作用及其机制,具有重要的科学价值:(1)黄芩中黄酮类化合物数目众多,目前已发现的具抗肿瘤活性的化合物仅为其中一部分,还有许多其他同类化合物可作为研究对象,这为开发新的抗肿瘤药物提供了可能;(2)黄芩中黄酮类化合物抗肿瘤药理学作用广泛,有利于发现新的抗肿瘤机制和作用靶点;(3)黄芩中某些黄酮类化合物可增加QR活性,具有化学防癌剂作用,可用于肿瘤的预防。黄芩是我国长期广泛使用的中草药,其中所含黄酮类化合物的抗肿瘤作用及其机制研究,对开发新的高效、低毒抗肿瘤候选药物具有重要意义。

参考文献

- [1] Lu HF, Hsueh SC, Ho YT, *et al.* ROS mediates baicalin-induced apoptosis in human promyelocytic leukemia HL-60 cells through the expression of the Gadd153 and mitochondrial-dependent pathway[J]. *Anticancer Res*, 2007,27(1A):117.
- [2] Li YC, Tyan YS, Kuo HM, *et al.* Baicalein induced in vitro apoptosis undergo caspases activity in human promyelocytic leukemia HL-60 cells[J]. *Food Chem Toxicol*, 2004,42(1):37.
- [3] Chen YC, Shen SC, Lee WR, *et al.* Wogonin and fisetin

- induction of apoptosis through activation of caspase 3 cascade and alternative expression of p21 protein in hepatocellular carcinoma cells SK-HEP-1[J]. *Arch Toxicol*, 2002, 76(5/6):351.
- [4] Lee WR, Shen SC, Lin HY, *et al*. Wogonin and fisetin induce apoptosis in human promyeloleukemic cells, accompanied by a decrease of reactive oxygen species, and activation of caspase 3 and Ca²⁺-dependent endonuclease [J]. *Biochem Pharmacol*, 2002, 63(2):225.
- [5] 董庆华, 郑树, 徐荣臻, 等. 黄芩苷元选择性诱导人白血病 K562 细胞凋亡 [J]. *药学报*, 2003, 38(11):817.
- [6] Wang J, Yu Y, Hashimoto F, *et al*. Baicalein induces apoptosis through ROS-mediated mitochondrial dysfunction pathway in HL-60 cells [J]. *Int J Mol Med*, 2004, 14(4): 627.
- [7] Chang WH, Chen CH, Lu FJ. Different effects of baicalin, baicalin and wogonin on mitochondrial function, glutathione content and cell cycle progression in human hepatoma cell lines [J]. *Planta Med*, 2002, 68(2):128.
- [8] Murashima T, Katayama H, Shojiro K, *et al*. Possible mechanism of growth inhibition by *Scutellaria baicalensis* in an estrogen-responsive mouse tumor cell line [J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(5):1 431.
- [9] Park KI, Park HS, Kang SR, *et al*. Korean *Scutellaria baicalensis* water extract inhibits cell cycle G1/S transition by suppressing cyclin D1 expression and matrix-metalloproteinase-2 activity in human lung cancer cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 133(2):634.
- [10] Xu XF, Cai BL, Guan SM, *et al*. Baicalin induces human mucoepidermoid carcinoma Mc3 cells apoptosis in vitro and in vivo [J]. *Invest New Drugs*, 2011, 29(4):637.
- [11] Wong BC, Wang WP, Cho CH, *et al*. 12-Lipoxygenase inhibition induced apoptosis in human gastric cancer cells [J]. *Carcinogenesis*, 2001, 22(9):1 349.
- [12] Zhang DY, Wu J, Ye F, *et al*. Inhibition of cancer cell proliferation and prostaglandin E2 synthesis by *Scutellaria baicalensis* [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(14):4 037.
- [13] Chen LG, Hung LY, Tsai KW, *et al*. Wogonin, a bioactive flavonoid in herbal tea, inhibits inflammatory cyclooxygenase-2 gene expression in human lung epithelial cancer cells [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2008, 52(11):1 349.
- [14] Ye F, Jiang S, Volshonok H, *et al*. Molecular mechanism of anti-prostate cancer activity of *Scutellaria baicalensis* extract [J]. *Nutr Cancer*, 2007, 57(1):100.
- [15] Leung HW, Yang WH, Lai MY, *et al*. Inhibition of 12-lipoxygenase during baicalein-induced human lung nonsmall carcinoma H460 cell apoptosis[J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45(3):403.
- [16] Huang ST, Wang CY, Yang RC, *et al*. Wogonin, an active compound in *Scutellaria baicalensis*, induces apoptosis and reduces telomerase activity in the HL-60 leukemia cells [J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(1):47.
- [17] Matsuzaki Y, Kurokawa N, Terai S, *et al*. Cell death induced by baicalein in human hepatocellular carcinoma cell lines [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1996, 87(2):170.
- [18] Park HJ, Lee YW, Park HH, *et al*. Induction of quinone reductase by a methanol extract of *Scutellaria baicalensis* and its flavonoids in murine Hepa 1c1c7 cells [J]. *Eur J Cancer Prev*, 1998, 7(6):465.
- [19] Lu Z, Lu N, Li C, *et al*. Oroxylin A inhibits matrix metalloproteinase-2/9 expression and activation by up-regulating tissue inhibitor of metalloproteinase-2 and suppressing the ERK1/2 signaling pathway[J]. *Toxicol Lett*, 2012, 209(3):211.
- [20] Li HN, Nie FF, Liu W, *et al*. Apoptosis induction of oroxylin A in human cervical cancer HeLa cell line in vitro and in vivo [J]. *Toxicology*, 2009, 257(1/2):80.
- [21] Xu XF, Cai BL, Guan SM, *et al*. Baicalin induces human mucoepidermoid carcinoma Mc3 cells apoptosis in vitro and in vivo [J]. *Invest New Drugs*, 2011, 29(4):637.
- [22] Ye F, Jiang S, Volshonok H, *et al*. Molecular mechanism of anti-prostate cancer activity of *Scutellaria baicalensis* extract [J]. *Nutr Cancer*, 2007, 57(1):100.
- [23] Wang W, Guo QL, You QD, *et al*. The anticancer activities of wogonin in murine sarcoma S180 both in vitro and in vivo [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(6):1 132
- [24] Ikemoto S, Sugimura K, Yoshida N, *et al*. Antitumor effects of *Scutellariae radix* and its components baicalein, baicalin, and wogonin on bladder cancer lines [J]. *Urolog*, 2000, 55(6):951.
- [25] Sonoda M, Nishiyama T, Matsukawa Y, *et al*. Cytotoxic activities of flavonoids from two *Scutellaria* plants in Chinese medicine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2001, 91(1):65.
- [26] Chan FL, Choi HL, Chen ZY, *et al*. Induction of apoptosis in prostate cancer cell lines by a flavonoid, baicalin [J]. *Cancer Lett*, 2000, 160(2):219.
- [27] So FV, Guthrie N, Chambers AF, *et al*. So Inhibition of proliferation of estrogen receptor-positive MCF-7 human breast cancer cells by flavonoids in the presence and absence of excess estrogen[J]. *Cancer Lett*, 1997(112):127.
- [28] 陈新美, 贾强. 汉黄芩素体外抗骨肉瘤作用的研究[J]. *中国药房*, 2009, 20(36):2 813.

(收稿日期:2012-03-01 修回日期:2012-07-04)