

综 述

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.15.018

有毒中药防治恶性肿瘤基础研究概况及展望

李玉潇, 侯炜, 张英*

中国中医科学院广安门医院, 北京市西城区北线阁 5 号, 100053

摘要 对近 40 年来国内外针对有毒中药防治恶性肿瘤的基础研究进行概括, 分别论述三个阶段的研究特点: 20 世纪八九十年代的研究初期, 以大毒类动物药的粗提物为主, 并开发了临床有效成药“华蟾素注射液”; 21 世纪初, 植物药和单体研究占据主导, 并进行了大量的机制探讨, 三氧化二砷治疗急性早幼粒细胞白血病的显著疗效使得中医药在国际上获得认可; 近十年来, 药物新剂型的开发、复合物的制备以及单体的结构化修饰成为本研究阶段显著的时代特点。同时分析有毒中药抑瘤基础研究中尚待解决的问题, 以期为新药的研制与开发提供新思路。

关键词 恶性肿瘤; 抗肿瘤; 有毒中药; 基础研究

有毒中药是中医治疗恶性肿瘤的有力支撑之一, 临证合理控制使用剂量、注重配伍减毒, 则可获良效。近 40 年来, 中医药在肿瘤基础实验的探索方面取得了令人瞩目的成就。在几代中医研究者进行的大量临床观察与实验研究结果的基础上, 中西医结合治疗恶性肿瘤已成为我国肿瘤防治的一大特色。从 20 世纪五六十年代的临床观察、八九十年代的基础研究、21 世纪初的机制探讨, 到近十年药物新剂型的开发与复合物的制备, 无一不体现出有毒中药在抑瘤方面广阔的发展前景。

纵观 40 年来有毒中药抑瘤研究, 主要分为三个阶段, 第一阶段证明某中药抑瘤有效, 即证明其含有效抑瘤成分; 第二阶段, 提取有效成分并进行相关机制研究, 主要以信号通路为表现形式; 第三阶段, 对该有效成分进行减毒增效及提高生物利用度的研究, 主要是进行新剂型的开发及新型复合物、络合物的研制。现将其概况述评如下。

1 有毒中药抑瘤基础研究进程

纵览文献, 随着时间推移, 不同时间段的研究呈现出不同的研究成果与特点。

1.1 20 世纪 80 年代研究起步

在 20 世纪五六十年代开展的大量临床研究的

基础上, 有毒中药抑瘤探索在八九十年代进入到基础研究阶段。从现阶段能查阅到的文献可以看出, 这个时期开展的单药研究集中于古代文献中提及的抗癌药物, 主要是一些具有较大毒性的动物类中药, 如斑蝥、蟾酥、全蝎等, 且大多以初步提取物为主, 如水提物、醇提物及醚类、酯类有机溶剂的提取物。孙建华等^[1]研究显示, 蟾酥三氯甲烷提取物能有效抑制多种实验瘤株; 于立坚等^[2]实验证实, 露蜂房水提物对 S180 细胞抑瘤率为 53.2%; 张甫同等^[3]发现, 全蝎提取液可明显抑制网状细胞肉瘤和乳腺癌荷瘤小鼠的肿瘤生长。对抑瘤单体的研究略有涉及, 如孙震晓等^[4]发现去甲斑蝥素能够通过抑制 Bcl-2 蛋白表达从而诱导人肝癌 BEL-7402 细胞凋亡; 苏成业等^[5]证实重楼总皂苷对小鼠腹水癌 EAC 细胞及 L759 白血病细胞均有细胞毒作用, 且对前者作用更强。

总的来说, 当时的研究多利用体外试验证明其抑瘤效果, 如对全蝎^[6]、斑蝥^[6-7]、蟾酥^[8]的研究等。涉及的细胞从肺癌、肝癌腹水瘤、乳腺癌、宫颈癌到膀胱癌, 几乎涵盖了当时研究阶段可选择的癌细胞种类。但囿于实验条件的限制, 对药物在体内代谢途径的研究多是利用放射性同位素标记法, 如王振立等^[9]用³H 标记斑蝥胺, 追踪其在肝癌腹水小鼠体内的代谢途径, 证明斑蝥胺通过抑制 DNA 合成实现对肿瘤细胞的抑制。

基金项目: 北京市自然科学基金(7192181); 中国中医科学院基本科研业务费自主选题项目(zz10-014)

* 通讯作者: 1571991589@qq.com

这个阶段研究较为系统、开发出临床有效成药并顺利在临床得到推广的有毒中药的代表是蟾蜍(蟾酥)。结合当时的成分提纯技术水平,并且考虑实际临床上的生物利用度,20 世纪八九十年代针对蟾酥的研究多集中在水溶性成分,华蟾素是其中的研究热点。由于其疗效显著,早在 1993 年安徽省淮北市肿瘤科研协作组便研制开发华蟾素注射液并推向市场,且Ⅲ期临床试验证实该注射液对肝癌、胃癌、乳腺癌、肺癌、宫颈癌等恶性肿瘤的总有效率可达 64.4%^[6]。目前华蟾素注射液依然在临床抗癌中成药领域占有一席之地。

综上所述,20 世纪 80 年代是有毒中药基础实验研究的初始阶段,主要以大毒类中药为主,尤其是动物类药物占据着有毒中药研究的大部分,因当时提纯技术不完善,研究对象多为药物的粗提物,如水提物及有机溶剂的提取物等,且当时的机制研究也较为浅显,但却为下一阶段开展深入研究提供了可能。

1.2 21 世纪初研究重点

21 世纪初开始大规模出现以单体为研究对象的基础实验。马钱子的有效成分——马钱子碱以其较宽的治疗窗、较强的药物活性而成为单体类研究热点。体外研究发现,马钱子碱可显著抑制多种细胞的增殖,而且对人类肝癌细胞的细胞毒性效应最强^[10-11];而马钱子其他有效成分如土的宁、伪土的宁、依卡金等均被证实对多种肿瘤细胞的生长有抑制作用,抑制率最高可达 60%^[12]。作用机制方面的研究有了较大进展,开始大规模进入细胞水平研究,对分子水平也略有涉及,但尚未形成系统。其中开展较多且探索较为深入的研究方向是诱导肿瘤细胞凋亡,如邓旭坤等^[13]研究表明,马钱子碱的作用机制主要通过线粒体途径诱导细胞凋亡;孙春艳等^[14]研究证实,白藜芦醇通过调控凋亡相关蛋白的表达诱导细胞凋亡。同时随着技术水平的发展,研究的方式方法也有了一定的创新,如王海丽等^[15]进行的马钱子碱抑瘤体外研究,应用了 AO/EB 荧光染色、Annexin-V/PI 细胞凋亡检测法、DNA-ladder 片段凝胶电泳等方法,结果均证明马钱子碱能有效诱导白血病细胞株 K562 细胞凋亡。

从这个阶段开始,植物药以其较动物药更为单纯的有效成分、更为广阔的可研究空间,在有毒中药抑瘤的研究中逐渐占据主导。高冬等^[16]对白花蛇舌草、重楼、半枝莲、半边莲的研究表明,四种植物均可通过升高胞内 Ca^{2+} 浓度诱导宫颈癌 Hela

细胞凋亡;龙玲等^[17]发现皂角刺抑制小鼠宫颈癌细胞机制可能与降低增殖细胞核抗原(PCNA)蛋白表达、抑制 p53 基因突变有关;其他相关研究^[17-19]结果亦显示出植物类有毒中药抑瘤作用与诱导细胞凋亡有关。由于有效成分的提取和确认较动物药更为简单,植物药成为这一阶段有毒中药研究领域的主角,且在机制探索方面,开始从细胞水平进入分子学层面,尤其是在诱导肿瘤细胞凋亡机制方面,研究者开展了大量的基础实验,取得了一定的成果并为下一阶段信号通路的研究奠定了基础。

除此之外,该时期国内针对砒霜的研究结果也不容忽视,如用砒霜制成的“癌灵一号”复方注射剂经过临床反复尝试,发现其治疗急性早幼粒细胞白血病的有效率最高可达 90%^[20]。陈竺领导的血液病研究团队和美国 MSKCC 癌症中心的 Soignet 等均进行了临床验证和机理探索^[21-23],证实了 20 世纪 90 年代开始在全世界广泛应用的三氧化二砷治疗急性早幼粒细胞白血病的卓越疗效。美国食品药品监督管理局于 2001 年批准了三氧化二砷为治疗急性早幼粒细胞白血病的新药^[24],这无疑是国际对中医药的一次巨大的认可。

1.3 近十年研究进展

随着免疫学、遗传学、分子生物学等基础学科的发展,免疫调控、基因工程等技术上的创新,肿瘤研究已从细胞水平、亚细胞结构发展到分子水平,极大地促进了肿瘤实验基础研究的进展。

随着提纯技术的日益进展,近十年单体试验占据了有毒中药抑瘤研究的绝大部分,且机制研究多集中在分子水平,以信号通路为主要表现形式。陈明等^[25]研究证实,半枝莲总黄酮可以通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路诱导肿瘤细胞自噬及凋亡;Zhu 等^[26]发现白屈菜红碱可以通过 PI3K/Akt/mTOR 信号传导途径抑制癌细胞侵袭转移;熊赅等^[27]发现白藜芦醇可能是通过干扰 Akt/p70S6K 信号通路而发挥促鼻咽癌细胞凋亡作用。

对于某些已证实有效的药物或单体,研究者开始积极开发新剂型,以达到临床上减毒增效的目的。贺佳玉等^[28]利用离子交联技术制备的马钱子碱壳聚糖纳米粒被证实,其可以明显增强马钱子碱的抑瘤能力;海洋等^[29]研究雄黄微生物浸出液,证明其可以通过线粒体途径诱导肿瘤细胞凋亡;瞿叶清等^[30-31]证实 3 种马钱子碱脂质体对 H22 荷瘤小鼠的抑瘤作用均强于单纯的马钱子碱,其中复合磷脂脂质体最具开发前景。还有研究者开辟了新的

给药途径,如容国义等^[3]发现穴位注射蜂毒能通过抑制 JNK 信号通路抑制肿瘤血管生成。

结构修饰是开发抗癌药物的捷径,很多研究者相继通过结构修饰得到大量衍生物和类似物。陶丽等^[3]研究发现,经羟基修饰的千金子二萜醇能大大增强抗肿瘤活性; Hou 等^[4]从甘遂中分离得到的 12 种巨大戟烷型二萜构效关系的研究进一步表明,3 位羟基成酯比其他位羟基化修饰更能增加其抗肿瘤活性。

基于前期的基础研究,部分药物有效单体的提取和作用机制的研究已取得一定成果,近十年的研究主要有三个方向:一是进行深度的机制探索,在分子生物学层面对有毒中药的抑瘤效用进行解释;二是针对已知有效成分进行新剂型的开发,以期能提高药物的生物利用度,增加临床疗效;三是开发新的抗癌中药,以期打破目前有毒抗癌中药在药物选择、制备、应用等方面的研究瓶颈。

3 思考与展望

纵观 40 年来中医药在防治恶性肿瘤方面的成果,大量的基础研究工作已取得较大的进展,但在研究过程当中暴露出的一些问题仍亟待解决。经大致梳理,目前主要存在三个方面的问题:第一,很多有毒中药的基础研究显示其抗癌有效率可达 60% 及以上,但却未能形成临床有效、可供推广的抗癌药物,究其原因,可能与生物利用度及临床用药安全性有关。第二,关于某一种有毒中药有效性和安全性方面的系统研究呈现断代的态势,各个研究中心自行开展研究项目,彼此之间缺少沟通合作,造成研究进程的冗余及研究成本的浪费。第三,目前单体研究成为热点,但中药包含成分较多,筛选出其中最为有效的单体并找出其针对效力最强的瘤种,成为单体研究中的重要问题。此外,实验筛选出的抗癌谱与实际临床疗效是否一致还需要后续大量的临床试验进行验证。

综上所述,有毒中药防治恶性肿瘤的研究进程仍任重而道远,除在恶性血液肿瘤方面取得了一定的突破之外,在实体肿瘤方面还没有重大进展。在今后的研究中,研究者既要充分继承传统中医思想理论,又要深入了解肿瘤机制的前沿研究,并与免疫调控、微环境、分子生物及基因工程等领域结合,进行多角度、多层次、纵深性研究,深入探讨有毒药物的抗癌作用,及其防治恶性肿瘤机制的科学内涵。

参考文献

- [1] 孙建华,宇克莉,毕平. 澳洲蟾酥脂溶性提取物对肿瘤细胞的作用 [J]. 天津师大学报(自然科学版),1997,17(4):33-39.
- [2] 于立坚,朱娟莉,马润娣. 露蜂房提取物抗肿瘤的作用 [J]. 陕西中医,1995,19(3):34.
- [3] 张甫同,许在生,杨建勤. 中药全蝎抗肿瘤作用初探 [J]. 皖南医学院学报,1989,8(2):1-3.
- [4] 孙震晓,赵天德,魏育林,等. 去甲斑蝥素诱导人肝癌 BEL-7402 细胞凋亡的研究 [J]. 解剖学报,1999,17(1):65-68.
- [5] 苏成业,魏淑香. 滇重楼总皂苷及其多糖抗肿瘤作用的研究 [J]. 大连医学院学报 1983,5(2):1-3.
- [6] 田少雷,赵树伟,朱爱堂,等. 抗肿瘤药物研究:去甲斑蝥素氨基酸衍生物的合成与抗癌活性 [J]. 药学报,1993,28(11):870-875.
- [7] 方茵,田少雷,李克庆,等. 抗肿瘤药物研究:去甲斑蝥素去氧脱氢类似物的合成与抗癌活性 [J]. 药学报,1995,25(12):931-955.
- [8] 王振立,刘淑珍,杨国林,等. ³H-羟基斑蝥胺在小鼠体内的代谢研究 [J]. 医药工业,1982,4(10):29-32.
- [9] 许道义,李慕廉. 抗癌新药“华蟾素”问世 [J]. 江苏中医杂志,1993,11(3):2.
- [10] 邓旭坤,蔡宝昌,殷武,等. 马钱子碱对小鼠肿瘤的抑制作用 [J]. 中国天然药物,2005,3(6):392.
- [11] DENG X, YIN F, LU X, et al. A postotic effect of brucine from these of strychnos nux-vomica on human heptomace lsismediated via Bcl-2 and Ca²⁺ involved mitochondrial pathway [J]. Toxicol Sci, 2006, 1(4):27-29.
- [12] 杨秀伟,冉福香,吴军,等. 马钱子生物碱成分的体外抗肿瘤活性筛选 [J]. 中国现代中药,2006,8(9):11-13.
- [13] 孙春艳,胡豫,刘新月,等. 白藜芦醇对多发性骨髓瘤细胞的体外抗癌作用 [J]. 中草药,2007,38(1):80-84.
- [14] 王海丽,魏武,纪爱芳,等. 马钱子碱对人白血病细胞株 K562 细胞的诱导凋亡作用 [J]. 中国实验血液学杂志,2011,19(3):630-633.
- [15] 高冬,高永琳,白平,等. 白花蛇舌草对宫颈癌细胞钙信号的影响 [J]. 福建中医学院学报,2002,12(4):37-39.
- [16] 龙玲,耿果霞,李青旺. 皂角刺抑制小鼠宫颈癌 U14 的生长及对增殖细胞核抗原和 p53 表达的影响 [J]. 中国中药杂志,2006,31(2):150-153.
- [17] 任靖,冯国楠,转重,等. 白英醋酸乙酯萃取物体内抗肿瘤作用研究 [J]. 中草药,2006,37(1):270-273.

- [8] 肖宝红,张春玲,张蓉,等. 中药猫眼草抑癌作用的动物实验 [J]. 中国临床康复, 2006, 10(7): 48-51.
- [9] 王爱武,袁浩,孙平玉,等. 猫爪草不同提取物对移植性肝癌残: 小鼠的抗肿瘤作用 [J]. 中国新药杂志, 2006, 15(12): 971-974.
- [10] ZHANG TD. On treatment of leukemia with ailing No. 1 [J]. CJIM, 1999, 5(2): 89-94.
- [11] SHEN ZX, CHEN GQ, NI JH, et al. Use of arsenic trioxide (As_2O_3) in the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL): II. Clinical efficacy and pharmacokinetics in relapsed patients [J]. Blood, 1997, 89(9): 3354-3360.
- [12] CHEN GQ, SHI XG, TANG W, et al. Use of arsenic trioxide (As_2O_3) in the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL): I. As_2O_3 exerts dose-dependent dual effects on APL cells [J]. Blood, 1997, 89(9): 3345-3353.
- [13] SOIGNET SL, MASLAK P, WANG ZG, et al. Complete remission after treatment of acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide [J]. N Engl J Med, 1998, 339(19): 1341-1348.
- [14] WAXMAN S, ANDERSON KC. History of the development of arsenic derivatives in cancer therapy [J]. J Oncologist, 2001, 6(2): 3-10.
- [15] 陈明,王举涛,吴珍妮,等. 半枝莲总黄酮通过 PI3K/AKT/mTOR 通路诱导肿瘤细胞自噬的体内实验研究 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(7): 1358-1364.
- [16] ZHU YZ, PAN YY. Chelerythrine inhibits human hepatocellular carcinoma metastasis in vitro [J]. Biol Pharm Bull, 2018, 41(1): 36-46.
- [17] 熊赓,易阳艳. 白藜芦醇阻断信号通路对鼻咽癌细胞生长的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(9): 40-44.
- [18] 贺佳玉,吴丽,王建春,等. 马钱子碱新型壳聚糖纳米粒的体外抗肿瘤活性研究 [J]. 药学报, 2016, 51(4): 650-656.
- [19] 海洋,李建银,王欣,等. 雄黄微生物浸出液通过线粒体途径诱导人急性髓系白血病细胞 HL60 细胞凋亡 [J]. 药物生物技术, 2018, 25(4): 283-287.
- [20] 瞿叶清,陈军,林爱华,等. 马钱子总生物碱复合磷脂脂质体的抗肿瘤作用研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3): 143-145.
- [21] 陈军,林爱华,侯婷,等. 磷脂组成对马钱子总生物碱磷脂脂质体抗肿瘤作用的影响 [J]. 中成药, 2012, 34(2): 238-241.
- [22] 容国义,王淑美. 基于 JNK 信号通路的蜂毒穴位注射抑制 Lewis 小鼠肺癌肿瘤血管生成 [J]. 中药材, 2016, 39(12): 2850-2854.
- [23] 陶丽,许敏,姜壮壮,等. 千金子二萜醇 p53 依赖性抗肿瘤活性及构效关系研究 [J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2018, 39(4): 26-29.
- [24] HOU JJ, SHEN Y, YANG Z. Anti-proliferation activity of terpenoids isolated from Euphorbia kansui in human cancer cells and their structure-activity relationship [J]. Chin J Nat Med, 2017, 15(10): 766-774.

(收稿日期: 2019-10-06; 修回日期: 2019-11-21)

编辑: 崔京艳

《中医杂志》(英文版) 欢迎投稿

Journal of Traditional Chinese Medicine [《中医杂志》(英文版)] (ISSN 0255-2922, CN 11-2167/R, 双月刊) 由中华中医药学会与中国中医科学院联合主办, 是我国中医药界具有权威的中医药英文科技期刊, 现发行和交换 90 多个国家和地区。

《中医杂志》(英文版) 自 1981 年创刊以来一直坚持正确的办刊宗旨, 国际影响力不断提升。2010 年入选 SCI-E (《科学引文索引》扩刊版), 2011 年获得中国中医科学院自主选题项目资助, 2013 年获得“中国科技期刊国际影响力提升计划”资助, 自 2012 年起连续被评为“中国最具国际影响力学术期刊”。本刊先后被国际知名文献数据库 MEDLINE、《化学文摘》(CA)、《医学文摘》(EM) 等收录, 是 MEDLINE 收录的第一份中国出版的中医药期刊, 是 SCI 收录的 30 余种全科医学和替代医学期刊中唯一的中国传统医学综合性学术期刊。

《中医杂志》(英文版) 主要栏目包括循证研究、理论研究、基础研究、临床观察、中药研究、文献研究、思路与方法、综述等。内容以报道中医药基础、临床研究成果和科研前沿进展为主, 覆盖中医药学科各个领域。欢迎广大专家学者积极投稿。作者可直接登录本刊网站 <http://www.journaltem.com> 投稿。

联系邮箱: jtcmen@126.com。电话: 010-64089190。

本社地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 邮政编码: 100700。