

doi:10.16055/j.issn.1672-058X.2020.0003.001

蓝萼香茶菜二萜研究进展*

项昭保¹, 金永生²

(1. 重庆工商大学 环境与资源学院, 重庆 400067; 2. 海军军医大学 药学院, 上海 200433)

摘要:综述了蓝萼香茶菜中发现的二萜化学结构及其药理活性, 以及为提高蓝萼香茶菜二萜抗肿瘤活性进行的结构修饰和剂型改造研究, 分析了当前蓝萼香茶菜二萜研究中的不足, 展望了开发蓝萼香茶菜二萜临床用药今后的研究方向, 为我国广泛分布、服用安全的植物药蓝萼香茶菜的物质基础研究、资源深度开发和其中富含的二萜抗肿瘤药物研发提供了参考。

关键词:蓝萼香茶菜; 二萜; 药理活性; 结构修饰; 剂型改造

中图分类号:TS201.4

文献标志码:A

文章编号:1672-058X(2020)03-0001-16

0 引言

天然产物具有结构新颖多变、药理活性广泛和易于与生物大分子结合等特点, 决定了其在参与生命生理过程中所具有的无可比拟的优势, 是新药创制和药物先导物筛选的重要来源, 临床药物有约 50% 直接或间接来源于天然产物, 因此天然产物在新药研发事业中具有不可忽视的作用和无法替代的地位^[1]。萜类化合物作为结构上最具多样化的天然产物家族, 在大多数生物体的生命活动中, 发挥着举足轻重的作用, 抗疟药物青蒿素就是萜类化合物的一个典范。根据异戊二烯(C₅)基本单元数目的不同, 萜类化合物可分为单萜(2×C₅)、倍半萜(3×C₅)、二萜(4×C₅)、二倍半萜(5×C₅)、三萜(6×C₅)和四萜(8×C₅)等, 二萜类成分是其结构中结构类型最丰富和最重要的活性成分之一, 许多著名的二萜类化合物, 如紫杉醇、关附甲素、丹参酮、雷公藤甲素、银杏内酯类和穿心莲内酯类等均表现出较好

的生物活性, 这些活性化合物的发现使得二萜类化合物成为当今天然药物研究领域的热点^[2]。

香茶菜属(*Isodon*)植物是我国民间广泛使用的草药, 具有清热解毒、抗菌消炎、舒筋活血、抗肿瘤等功效, 并因富含二萜类化合物而被广泛研究。蓝萼香茶菜(*Isodon japonica* (Burm. f.) Hara var. *glaucocalyx* (Maxim.) Hara])是香茶菜属植物的一种, 又名回菜花、倒根野苏、山苏子等, 主要分布于我国东北、华北、西北地区, 其资源极为丰富。味苦、性良, 具有健胃消食、清热解毒之功效, 主治脘腹胀痛、食滞纳呆、胁痛黄疸、感冒发热、乳痈、蛇虫咬伤。现代药理研究发现蓝萼香茶菜具有抗肿瘤、抗氧化、抗凝血、抗菌、抗补体和解热等多种活性^[3], 且毒理学研究显示蓝萼香茶菜在实验剂量范围内口服安全^[4], 在“健康中国”建设进入“大健康”理念引领的新阶段, 蓝萼香茶菜因为广泛的药理活性和服用安全成为研究热点, 而其中富含的二萜则被公认为蓝萼香茶菜的药理活性物质基础。

收稿日期:2018-12-26; 修回日期:2019-01-20.

* 基金项目:重庆市基础科学与前沿技术研究重点项目(CSTC2015JCYJBX0125).

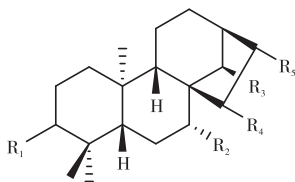
作者简介:项昭保(1977—), 男, 江西乐平人, 教授, 博士, 从事天然产物活性成分研究.

1 二萜成分

自 1981 年从蓝萼香茶菜中分离得到第一个二萜蓝萼甲素^[5]至今,已从该植物中发现 34 个二萜,其化学结构如下。

1.1 C-20 未氧化的对映贝壳杉烷型二萜

C-20 未氧化的对映贝壳杉烷型二萜是蓝萼香茶菜中数量最多的一类二萜,目前已发现 18 个,其化学结构如图 1 所示。这 18 个二萜,C3 位除化合物 17 外均有羰基,羟基或羟基糖苷化,这些 C3 位羟基或羟基糖苷化取代的二萜仅化合物 16 的取代基为 β 构型。糖苷有 3 个(化合物 15-17),均为单糖苷,且都是葡萄糖苷。抗肿瘤活性中心 α -亚甲基环戊酮单元未被破坏的仅有 7 个,即化合物 1,2,4,7,8,13 和 14。



No.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Ref.
1	=O	OH	OH	=O	=CH ₂	[5]
2	=O	OH	OAc	=O	=CH ₂	[5]
3	=O	OH	OH	α -OH	=CH ₂	[6]
4	=O	OAc	OH	=O	=CH ₂	[7]
5	=O	OH	OH	=O	β -CH ₃	[7]
6	α -OH	OH	OH	=O	β -CH ₃	[8]
7	=O		=O	=O	=CH ₂	[8]
8	=O		=O	=O	=CH ₂	[9]
9	=O	OH	OH	β -OH	=CH ₂	[9]
10	=O	OH	OH	=O	β -CH ₂ OCH ₃	[9]
11	α -OH	H	H	H	α -OH, β -CH ₃	[9]
12	α -OH	H	H	H	α -OH	[10]
13	α -OH	OAc	H	=O	=CH ₂	[11]
14	α -OH	H	OAc	=O	=CH ₂	[11]
15	α -OGlc	OH	OH	=O	β -CH ₃	[11]
16	β -OGlc	OH	OH	=O	β -CH ₃	[12]

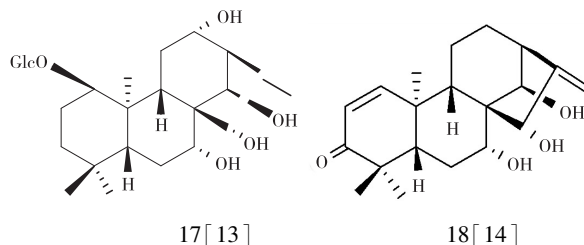
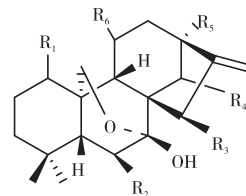


图 1 C-20 未氧化的对映贝壳杉烷型二萜化学结构

Fig. 1 Structures of C-20 non-oxygenated ent-kauranes

1.2 C-20 氧化的对映贝壳杉烷型二萜

C-20 氧化的对映贝壳杉烷型二萜有 6 个,结构式如图 2 所示,除化合物 24 外其他 5 个二萜 C-20 连接的氧原子均与 C-7 形成氧桥。抗肿瘤活性中心 α -亚甲基环戊酮单元除化合物 22 外均未被破坏,但这类二萜在蓝萼香茶菜中含量低。



No.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Ref.
19	α -OH	β -OH	=O	β -OH	H	H	[15]
20	H	β -OH	=O	β -OH	H	α -OH	[15]
21	α -OAc	β -OH	=O	β -OH	H	H	[16]
22	β -OH	β -OAc	β -OAc	H	α -OH	H	[17]
23	α -OH	β -OH	=O	H	H	β -OH	[18]

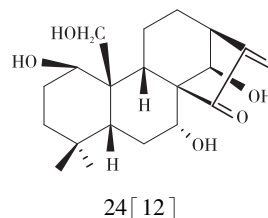
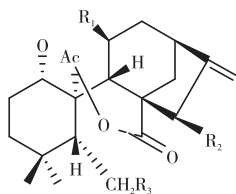


图 2 C-20 氧化的对映贝壳杉烷型二萜化学结构

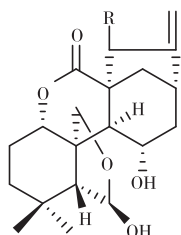
Fig. 2 Structures of C-20 oxygenated ent-kauranes

1.3 6,7-断裂的对映贝壳杉烷型二萜

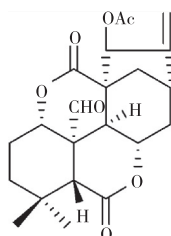
6,7-断裂的对映贝壳杉烷型二萜有 7 个,结构式如图 3 所示,均形成了内酯环,化合物 31 还有 2 个内酯环。抗肿瘤活性中心 α -亚甲基环戊酮单元化合物 25、27、28 和 30 未被破坏,这类二萜在蓝萼香茶菜中含量低。



No.	R ₁	R ₂	R ₃	Ref.
25	β-OH	=O	OAc	[16]
26	β-OAc	β-OAc	OAc	[16]
27	β-OAc	=O	OAc	[18]
28	β-OH	=O	OH	[18]



No.	R	Ref.
29	=O	[16]
30	α-OH	[16]



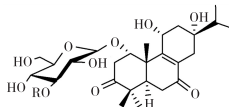
31[15]

图3 6,7-断裂的对映贝壳杉烷型二萜化学结构

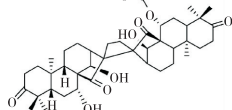
Fig. 3 Structures of 6,7-seco-ent-kauranes

1.4 其他类型二萜

蓝萼香茶菜二萜以中对映贝壳杉烷型二萜为主,但从蓝萼香茶菜根发现了2个松香烷二萜苷^[19]。二萜的二聚体在植物中不常见,在蓝萼香茶菜发现了1个二萜的二聚体^[11]。这3个二萜的化学结构如图4所示。



No.	R	Ref.
32	Ac	[19]
33	H	[19]



34[11]

图4 其他类型二萜化学结构

Fig. 4 Structures of other type kauranes

2 药理活性分析

2.1 抗肿瘤活性

恶性肿瘤是严重威胁人类健康的常见病和多发病,征服癌症一直是人类梦寐以求的期盼。天然

抗肿瘤药物以其作用机制独特、效果显著、毒副作用小在临床广泛使用。从天然产物中寻找抗肿瘤药物或先导化合物的研究一直是国内外抗肿瘤新药创制的重要研究方向和非常活跃的研究领域,二萜类化合物紫杉醇及其半合成衍生物紫杉醚就是一个典范。蓝萼香茶菜富含二萜类化合物,抗肿瘤活性的研究最为活跃和深入。

杨丽霞等^[20]研究发现蓝萼香茶菜总二萜对乳腺癌前病变肝郁肾虚病证模型大鼠的干预效果明显,其作用机制可能是通过抑制 VEGF, CXCR4 蛋白及 mRNA 的表达,抑制血管生成和趋化因子受体的表达,调节大鼠激素水平,抑制大鼠乳腺癌的癌前病变发生。

2.1.1 蓝萼香茶菜二萜的体外抗肿瘤活性

蓝萼香茶菜二萜的抗肿瘤活性研究主要集中在蓝萼甲素、蓝萼乙素和蓝萼丁素3种,这3种二萜的体外抗肿瘤活性如表1所示,对所测试肿瘤细胞大都具有良好的抑制作用。其他二萜因为含量较低或对映-贝壳杉烷型二萜抗肿瘤活性中心 α-亚甲基环戊酮单元被破坏导致抗肿瘤活性大大降低,所以研究很少。

2.1.2 蓝萼香茶菜二萜的抗肿瘤作用机制

为进一步深入研究蓝萼香茶菜二萜的抗肿瘤作用,必须了解其抗肿瘤作用机制,当前主要对蓝萼甲素和蓝萼乙素的作用机制有较多研究,发现其作用机制主要集中在细胞凋亡、细胞自噬和细胞周期阻滞等,具体如表2所示。

2.2 抗纤维化活性

2.2.1 抗肺纤维化活性

特发性肺纤维化(IPF)疾病死亡率高于大多数肿瘤,被称为一种“类肿瘤疾病”,国内外尽管已对IPF进行了大量研究,但仍未找到临床上有效的治疗方法,寻找有效的防治药物已成为IPF研究的热点^[46]。Yang等^[47]采用气管滴注博来霉素诱导小鼠肺纤维化,腹腔注射蓝萼甲素,实时观察小鼠体重变化、肺纤维化和生存率,并对小鼠肺组织胶原沉积、巨噬细胞含量和炎症信号通路,以及肺泡灌洗液中炎症因子和过氧化物酶的水平进行了分析。结果发现经蓝萼甲素治疗第14d小鼠肺部的胶原沉积明显减少,小鼠病情得到减缓,生存率明显提

高。分子机制研究结果显示,经蓝萼甲素治疗后小鼠肺组织中 GRAN 和 $M\phi$ 的浸润减少,促炎因子在小鼠肺泡灌洗液中释放降低,NF- κ B 活化程度降

低。因此蓝萼甲素可以改善博来霉素诱导的小鼠肺纤维化,降低肺纤维化小鼠的致死率,具有抗肺纤维化活性。

表 1 蓝萼香茶菜二萜的体外抗肿瘤活性

Table 1 Cytotoxic activity of the diterpenoids from *Isodon japonica* var. *glaucocalyx*

二萜	肿 瘤	细胞株	IC ₅₀	方 法	文 献		
蓝 萼 甲 素	白 血 病	HL-60	0.33 μ g/mL(48 h)	MTT	[21]		
		U937	0.73 μ g/mL(48 h)				
		K562	2.21 μ g/mL(48 h)				
			6.168 mg/L(12 h)				
			2.968 mg/L(24 h)				
			1.086 mg/L(48 h)				
		Jurkat	7.80 μ g/mL(24 h)			[23]	
			SK-BR-3			2.76 μ g/mL(24 h)	[23]
		乳 腺 癌	MDA-MB-231			8.014 μ mol/L(24 h)	[24]
						5.418 μ mol/L(48 h)	
	4.603 μ mol/L(72 h)						
	MCF-7		1 μ mol/L(72 h)	[25]			
	Hs578T		4 μ mol/L(72 h)				
	T98G		44.32 \pm 1.92 μ M(24 h)				
	U251		12.42 \pm 0.68 μ M(24 h)				
	U87MG		18.49 \pm 1.36 μ M(24 h)	[26]			
	胶 质 瘤	C6	15.03 \pm 1.44 μ M(24 h)				
		GL261	14.14 \pm 1.35 μ M(24 h)				
		SHG-44	4.28 μ g/mL(48 h)				
		大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤	PC12	1.27 μ g/mL(48 h)	[21]		
			小鼠成纤维瘤	L929		5.41 μ g/mL(48 h)	
		胃 癌	SGC-7901	4.11 μ g/mL(48 h)	[23]		
				0.32 μ g/mL(24 h)			
			结肠癌	SW480		2.03 μ g/mL(24 h)	
			淋巴瘤	HUT-78		4.17 μ g/mL(24 h)	
		肺 癌	喉癌	hep-2	5.17 μ g/mL(24 h)		
	27.41 \pm 1.83 μ mol/L(24 h)						
	A549		10.26 \pm 1.69 μ mol/L(36 h)	[27]			
4.29 \pm 0.71 μ mol/L(48 h)							
H1299	2.07 μ g/mL(48 h)		[21]				
	21.78 \pm 1.31 μ mol/L(12 h)						
宫 颈 癌	HeLa		9.90 \pm 0.44 μ mol/L(24 h)	[28]			
			3.84 \pm 0.91 μ mol/L(48 h)				
	2.44 \pm 0.26 μ mol/L(72 h)						
	3.75 μ g/mL(24 h)	[23]					
7.18 \pm 0.43 μ mol/L(48 h)	[29]						
SiHa	17.33 \pm 1.90 μ mol/L(12 h)	[30]					
	6.84 \pm 0.41 μ mol/L(24 h)						
	4.27 \pm 0.55 μ mol/L(36 h)						
	2.96 \pm 0.62 μ mol/L(48 h)						
1.98 \pm 0.91 μ mol/L(72 h)							

续表 1

二萜	肿瘤	细胞株	IC ₅₀	方法	文献
蓝萼 甲素	肝癌	BEL-7402	4.87 μg/mL(24 h)	MTT	[23]
		SMMC-7721	3.75 μg/mL(48 h)		[21]
			HepG-2	5.58±0.20 μmol/L(48 h)	CCK-8
		6.34 μg/mL(48 h)		MTT	[21]
		Focus	3.94±0.07 μmol/L(48 h)	CCK-8	[29]
			8.22±0.56 μmol/L(48 h)		[31]
	骨肉瘤	SK-HEP1	2.87±0.36 μmol/L(48 h)	CCK-8	[32]
		HOS	10.65 μmol/L(24 h)		
			7.015 μmol/L(48 h)		
		Saos-2	14.14 μmol/L(24 h)		
			7.316 μmol/L(48 h)		
		U-2OS	15.69 μmol/L(24 h)		
			8.364 μmol/L(48 h)		
		MG-63	9.519 μmol/L(24 h)		
5.296 μmol/L(48 h)					
膀胱癌	UMUC3	18.87 μM(24 h)	[33,34]		
		9.77 μM(48 h)			
		6.75 μM(72 h)			
		5.40 μM(96 h)			
蓝萼 乙素	人视网膜母瘤	Rb	79.15 μmol/L(24 h)	[35]	
			10.88 μmol/L(48 h)		
蓝萼 丁素	肺癌	AGZY	0.11 mmol/L(24 h)	[36]	
	肝癌	HepG2	7.43±0.15 μmol/L(48 h)	MTT	[29]
		Hela	6.37±0.05 μmol/L(48 h)		
	宫颈癌	SiHa	4.61 μmol/L(72 h)	[37]	
			3.11 μmol/L(72 h)		
蓝萼 丁素	肝癌	HepG2	6.45±0.74 μmol/L(48 h)	[29]	
	宫颈癌	Hela	7.37±0.35 μmol/L(48 h)		

2.2.2 抗心肌纤维化活性

高发死亡率和高死亡率的急性心肌梗死,是世界上最严重的心血管疾病,抑制心肌成纤维细胞的增殖和迁移,降低了胞外基质成分的含量,是治疗急性心肌梗死的有效策略^[48]。Su等^[49]发现蓝萼甲素能够抑制血管紧张素Ⅱ诱导心肌成纤维细胞的增殖和迁移,减少血管紧张素Ⅱ诱导心肌成纤维细胞的α-平滑肌动蛋白的表达,阻止心肌成纤维细胞向肌成纤维细胞分化。蓝萼甲素降低胞外基质成分(包括I型胶原蛋白和纤维连接蛋白)和基质金属蛋白酶(包括基质金属蛋白酶2和基质金属蛋白酶9)的含量,阻止了转化生长因子β(TGF-β1)/Smad3信号通路的激活。因此蓝萼甲素可以作为心肌纤

维化的抗纤维化试剂,通过控制心肌纤维化成为一个提升急性心肌梗死预后的候选药物分子。

2.2.3 抗肝纤维化活性

肝纤维化是慢性肝病的常见病理过程,通常发展为肝硬化并最终诱发肝癌。TGF-β₁/Smad信号通路参与细胞分化、增殖、迁移和凋亡等多种生理过程的调节,促进肝星形细胞的转分化和迁移,在肝纤维化的过程中发挥着关键作用,因此阻断TGF-β₁/Smad信号传导可减缓肝纤维化^[50]。Dong等^[51]加入了TGF-β₁并用不同浓度的蓝萼甲素培养肝星形细胞(HSC)24 h,用MTT法和Transwell迁移法分别评价细胞增殖和迁移,用2,7-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)测定细胞内生成的活性氧,用

Western blot 检测 α -平滑肌肌动蛋白、I 型胶原、 p -Smad2、Smad2、 p -Smad3 和 Smad3 的表达水平。研究表明,蓝萼甲素明显抑制肝星形细胞的增殖和迁移,抑制 TGF- β_1 刺激下的 HSC-T6 细胞中细胞

外基质的表达,活性氧水平和 Smad2 和 Smad3 的磷酸化水平。因此蓝萼甲素通过 TGF- β_1 /Smad 信号通路抑制 HSC-T6 细胞的增殖和激活,是一种有希望的肝纤维化治疗剂。

表 2 蓝萼香茶菜二萜的抗肿瘤作用机制

Table 2 Mechanism of antitumor of the diterpenoids from *isodon japonica* var. *glaucocalyx*

二萜	肿瘤	细胞株	作用机制	参考文献
蓝萼甲素		SMMC7721	肿瘤细胞停滞在 G2/M 期,诱导细胞凋亡	[31,38]
	人肝癌细胞	Focus	肿瘤细胞停滞在 G2/M 期,诱导细胞凋亡	[31]
		HepG2	诱导细胞凋亡	[10]
		MDA-MB-231	阻滞细胞于 G2/M 期	[24]
	乳腺癌	MCF-7	诱导细胞凋亡	[25]
		Hs578T	诱导细胞凋亡	[25]
	人肺腺癌	A549	激活细胞的凋亡途径和自噬途径	[39]
	人脑瘤	U87MG	诱导细胞凋亡	[39,40]
	白血病	HL-60	肿瘤细胞停滞在 G2/M 期,诱导细胞凋亡	[41]
		K562	造成周期停滞,诱导细胞凋亡。	[22]
HeLa		诱导细胞凋亡	[42]	
SiHa		导致细胞周期阻滞和细胞凋亡	[30]	
膀胱癌	UMUC3	肿瘤细胞停滞在 G2/M 期,诱导细胞凋亡	[33]	
人骨肉瘤	HOS	诱导细胞凋亡	[43]	
人肺腺癌	AGZY	阻滞细胞周期,诱导肿瘤细胞的凋亡	[36]	
蓝萼乙素	人视网膜母细胞瘤	Rb	抑制细胞分裂增殖,阻滞细胞于 G2/M 期,诱导细胞凋亡	[35]
		HeLa	细胞自噬	[37,44]
胃 癌	SiHa	SiHa	细胞自噬	[37,44]
		SGC-7901	细胞自噬	[45]

2.3 神经保护活性

2.3.1 抑制脂多糖刺激的神经炎症

小胶质细胞是中枢神经系统固有免疫防御的巨噬细胞和固有臂。小胶质细胞在受到损伤、感染、环境毒素和其他刺激时会被激活,这些刺激会威胁神经细胞的存活。因此,调节小胶质细胞活化可能具有治疗作用,从而减轻炎症介导的神经退行性变进程。Kim 等^[52]研究了蓝萼甲素对脂多糖刺激的原代小胶质细胞和 BV-2 细胞中促炎介质产生的影响,发现蓝萼甲素显著抑制脂多糖诱导的一氧化氮生成,逆转了原代小胶质细胞的形态变化,抑制了脂多糖诱导的一氧化氮合酶和环氧合酶-2 的表达。肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1 β (IL-1 β)和

白细胞介素-6 等促炎细胞因子通过抑制其转录活性也被蓝萼甲素抑制。蓝萼甲素通过阻断 I κ B- α 的降解抑制 NF- κ B 的激活,抑制脂质运载蛋白 2 在脂多糖刺激的 BV-2 细胞中的诱导表达,蓝萼甲素的抑制作用与抑制 p38 丝裂原活化蛋白激酶信号通路有关。因此蓝萼甲素通过 NF- κ B 和 p38 MAPK 信号通路抑制脂多糖刺激的神经炎症,可作为治疗小胶质细胞介导的神经炎症疾病的潜在治疗剂。

2.3.2 减缓神经退行性疾病

(1) 减轻帕金森病。帕金森病是老年人常见的一种严重神经退行性疾病,该病机制为激活后的神经系统小胶质细胞释放出大量很多氧自由基,多种细胞炎性因子,这些氧自由基和细胞炎性因子对脑

内神经产生大量炎症反应和过氧化损害,从而导致帕金森病的发生。因此能够对抗神经炎症和过氧化应激损害的药物都可能缓解甚至治疗帕金森病。许薇等^[53]研究了对小神经胶质细胞具有抗炎、抗氧化应激和神经保护作用的蓝萼乙素在体内和体外对帕金森病的治疗作用并探讨相关分子机制,发现蓝萼乙素通抑制核转录因子 Kappa B 的活化和激活核因子相关因子 2/血红素加氧酶-1 缓解建立的帕金森病模型大鼠其运动障碍、相应的炎性、氧化应激反应以及诱导细胞凋亡。因此蓝萼乙素可以抑制脂多糖诱导的帕金森病症状,可望成为帕金森病潜在的治疗药物。

(2) 减缓阿尔茨海默病。阿尔茨海默病是一种与年龄相关的进行性神经退行性疾病,以 β -淀粉样蛋白斑块和神经纤维缠结的积累为特征,因为异常过度磷酸化 tau 蛋白显著增加,而正常 tau 蛋白减少,导致阿尔茨海默病患者脑中 tau 蛋白总量多,哺乳动物 $m\text{TOR}$ 是调节 β -淀粉样蛋白清除率和 tau 磷酸化的重要蛋白,是治疗阿尔茨海默病的关键靶点^[54]。Zhou 等^[55]通过高通量筛选平台发现了蓝萼甲素可作为新的 $m\text{TOR}$ 抑制剂,作用机制为蓝萼甲素增加 $\text{AKT}/m\text{TOR}$ /自噬信号通路的 β -淀粉样蛋白清除率,抑制了 $m\text{TOR}/\text{P70S6K}$ 通路的 tau 磷酸化,在细胞水平上具有促进 β -淀粉样蛋白清除和减少 tau 磷酸化方面具有双重作用,为 $m\text{TOR}$ 作为抗阿尔茨海默病靶点的信号传导提供了重要信息,因此,蓝萼甲素具有治疗阿尔茨海默病的潜力。

2.3.3 对神经元损伤的保护

缺血性中风是世界上死亡的主要原因之一。脑血流的早期恢复对于维持神经元的生存能力至关重要,但是再灌注引发一系列病理事件,最终导致受损脑组织的不可逆神经元损伤,即脑缺血/再灌注损伤^[56]。Liu 等^[57]通过在常用的神经细胞株 PC-12 细胞中建立氧糖剥离再灌注 (OGD/R) 模型模拟体外脑缺血/再灌注损伤,研究了蓝萼乙素在 OGD/R 诱导 PC-12 细胞损伤中的作用,结果发现,蓝萼乙素对 OGD/R 诱导的 PC-12 细胞损伤有明显的保护作用。而且,蓝萼乙素能有效抑制 OGD/R 诱导的 PC 12 细胞的氧化应激和细胞凋亡。作用机

制研究表明蓝萼乙素可降低 $\text{akt}/m\text{TOR}$ 信号通路的激活,从而保护 OGD 处理的 pc12 细胞。因此,蓝萼乙素通过激活 AKT/MTOR 信号通路来保护 PC-12 细胞免受 OGD/R 诱导的神经元损伤。

2.4 抗凝血活性

蓝萼香茶菜在民间认为有良好的活血功效,用乙醇提取蓝萼香茶菜的提取物能减轻心肌缺血/再灌注损伤,对心肌有保护作用,二萜是蓝萼香茶菜代表性成分,代表性二萜蓝萼甲素也可能有类似活性,马占强等^[58]研究了蓝萼甲素对小鼠尾尖出血时间、凝血酶时间 (TT)、凝血酶原时间 (PT)、活化部分凝血激酶时间 (APTT)、血浆复钙时间 (PRT)、毛细血管凝血时间的影响,发现蓝萼甲素能显著延长小鼠毛细血管凝血时间、尾尖出血时间、TT、PT、APTT 和 PRT。蓝萼甲素在体外也显著延长了家兔的 TT、APTT 和 PRT,因此蓝萼甲素具有良好的抗凝血活性。

姚士等^[59]通过研究蓝萼甲素对小鼠体内血栓形成实验、SD 大鼠的血小板聚集性、大鼠动-静脉旁路血栓形成实验、诱导产生的急性血瘀模型大鼠的血液流变学实验、离体动脉条的舒张实验,探讨了蓝萼甲素的抗血栓作用及其机制,发现蓝萼甲素通过抑制血小板聚集,抑制血栓形成,降低全血及血浆黏度,舒张血管,发挥抗血栓作用。

为进一步发现蓝萼甲素具有抗血小板作用,Li 等^[60]用新鲜分离于健康献血者外周血的血小板测定蓝萼甲素对血小板活化的影响,发现蓝萼甲素对胶原诱导的血小板聚集具有一定的选择性、专一性,进一步从细胞以及分子水平探讨蓝萼甲素对血小板活性影响的机制发现蓝萼甲素主要通过抑制 Syk、Lat 和磷脂酶 $\text{c}\gamma 2$ 的胶原刺激酪氨酸磷酸化抑制胶原蛋白诱导的 GPVI 通路抑制血小板聚集。

为探讨蓝萼甲素在心肌缺血再灌注损伤中的心肌保护作用,并探讨其作用机制。Liu 等^[61]采用结扎野生型 C57BL/6J 小鼠左冠状动脉前降支制作心肌缺血再灌注损伤模型,再灌注开始前腹腔注射蓝萼甲素或溶剂。心肌再灌注 24 h 后,用 Evans 蓝/TTC 染色显示缺血范围,超声心动图评价心功能,免疫荧光染色评价微血管血栓形成。结果发现

蓝萼甲素治疗组梗死面积明显缩小,左室射血分数明显提高,左室短轴缩短率明显缩短。蓝萼甲素还可减轻再灌注损伤心肌微血管血栓形成,增加心肌中前存活激酶 AKT 和 GSK-3 β 的磷酸化。因此再灌注前给予蓝萼甲素可减轻小鼠心肌缺血再灌注损伤。推测蓝萼甲素通过减少微血管血栓形成来保护心肌。

2.5 抗炎

Xu 等^[62]研究发现蓝萼香茶菜乙醇提取物对脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤具有明显的抗炎作用,能明显减轻脂多糖引起的肺水肿、肺泡出血和炎性细胞浸润等肺形态学改变,还降低肺 W/D 比值,降低支气管肺泡灌洗液中蛋白质和 NO 的浓度,降低肺组织 MPO 活性,提高肺组织 SOD 活性,降低脂多糖处理小鼠支气管肺泡灌洗液中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的浓度。因此蓝萼香茶菜乙醇提取物可通过减少炎症介质的产生,减少补体的沉积和自由基的生成,减轻脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤。并通过 UPLC-Q-TOF-MS 在蓝萼香茶菜乙醇提取物中鉴定出了蓝萼甲素,蓝萼乙素,蓝萼丙素和蓝萼丁素等二萜类化合物。

Gan 等^[63]发现蓝萼乙素能够抑制内毒素激活的小胶质细胞中一氧化氮、肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1 β 、环氧合酶-2 和诱导型一氧化氮合酶等显著降低,也能抑制 LPS 激活的小胶质细胞中 NF- κ B、有丝分裂原激活蛋白激酶 p38 的活化和活性氧的生成。而且,蓝萼乙素还能显著诱导小胶质细胞血红素加氧酶的表达。此外,蓝萼乙素通过在小胶质细胞/神经元共培养模型中防止过度激活的小胶质细胞引起的神经毒性表现出神经保护作用。这些结果表明蓝萼乙素具有抗炎活性,可能成为治疗神经炎症性疾病的潜在药物。

朱琳琳等^[64]研究了蓝萼甲素对 JAR 细胞 HMGB1 炎症信号通路的调节作用,并探讨蓝萼甲素与 HMGB1 相互作用的机制。结果发现 0.1 μ g/mL 蓝萼甲素刺激培养 JAR 细胞, HMGB1 表达与 NF- κ B 活性升高最显著,随着蓝萼甲素浓度的增加,这两者表达水平反而下降;而且蓝萼甲素刺激培养 JAR 细胞可引起 HMGB1 从胞核转移入胞浆,,进而

分泌到胞外。因此推断蓝萼甲素通过 HMGB1 信号通路调节 JAR 细胞炎症反应,且量效关系明确。

2.6 化感作用

Yang 等^[65]发现蓝萼甲素和蓝萼乙素浓度较低时(20 ~ 40 μ M)促进根系生长,高浓度(80 ~ 200 μ M)时抑制莴苣幼苗的根毛发育,且具有明显的量效关系,因此蓝萼甲素和蓝萼乙素对根生长具有双重刺激和抑制作用,且对根毛发育具有植物毒性作用。活性氧自由基清除剂二羟基苯二磺酸和二甲基硫脲能有效地减轻蓝萼甲素和蓝萼乙素在高浓度时的植物毒性,表明高浓度蓝萼甲素和蓝萼乙素对根系的有害作用可能是通过对细胞生长和细胞分裂施加氧化应激而产生。此外由于在 α -亚甲基环戊酮部分缺少 α,β -不饱和酮,蓝萼丙素不能诱导活性氧的生成,即使在最高浓度(200 μ M)下对根系也没有影响。因此,二萜类化合物结构中的 α -亚甲基环戊酮部分是植物毒性的重要活性中心,一些异养植物可以通过对映-贝壳杉烷二萜类植物毒素诱导的 ROS 产生对周围植物物种产生化感作用。

杨鹏军等^[66]进一步研究了蓝萼甲素对拟南芥 4 种磷脂酶的影响,发现外施不同浓度的蓝萼甲素后,拟南芥 5 个株系(正常组和 4 种磷脂酶缺失组)中丙二醛含量和相对电导率显著升高,脯氨酸和可溶性蛋白含量出现先升后降的趋势,并在 24 h 达到最大值,而且不同的磷脂酶在调控拟南芥生长生理过程表现出不同的作用,推测蓝萼甲素的化感作用可能是通过调控 4 种磷脂酶起作用。

3 改善二萜药理活性的研究

3.1 结构修饰

3.1.1 C16-C17 位曼尼希加成衍生物

Yang 等^[67]通过曼尼希加成反应,利用蓝萼甲素的 C16-C17 位双键制备了 16 个衍生物,其结构如图 5 所示,并测试了这些衍生物对 6 种肿瘤细胞(SMMC-7721, B16, SGC-7901, A549, KB 和 HL-60)的抑制作用,结果发现,所得 16 个衍生物对这 6 种肿瘤细胞都显示出一定的抑制作用,但效果都不如蓝萼甲素。

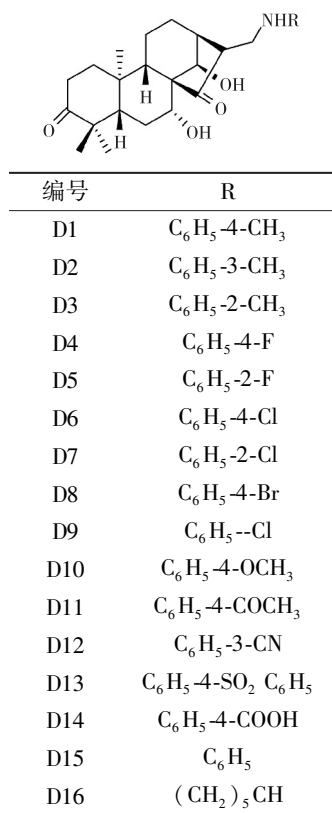


图 5 基于 C16-C17 位双键制备的蓝萼甲素衍生物

Fig. 5 Glaucocaluxin A derivatives based on C16-C17 double bond

3.1.2 C7 和 C14 位羟基衍生物

(1) C7 和 C14 位羟基衍生物。蓝萼甲素的两个羟基是活性基团, 较容易进行相关反应制备相应衍生物, 目前已制备出 36 个衍生物, 其结构如图 6 所示。衍生物 D17-D31^[68] 测试了对 7 种肿瘤细胞 (HepG2, NCL-H460, MCF-7, KB, JEG-3, K562 和 HL-60) 的抑制作用, D18-D28 活性明显降低, 但是 D29-D31 对有些肿瘤细胞的抑制作用明显强于蓝萼甲素, 同时这 3 种衍生物对不同肿瘤细胞的敏感度不同。衍生物 D32-D44^[68] 测试了对 3 种肿瘤细胞 (Hela, HepG2 和 HL-60) 的抑制作用, 衍生物 D39 和 D41 抑制活性有一些提高, 而 D36, D37, D42 和 D44 则比蓝萼甲素有明显提高, D44 活性最好。衍生物 D45-D52^[69] 测试了对 3 种肿瘤细胞 (Hela, MCF-7 和 HL-60) 的抑制作用, 但是几乎没有活性。

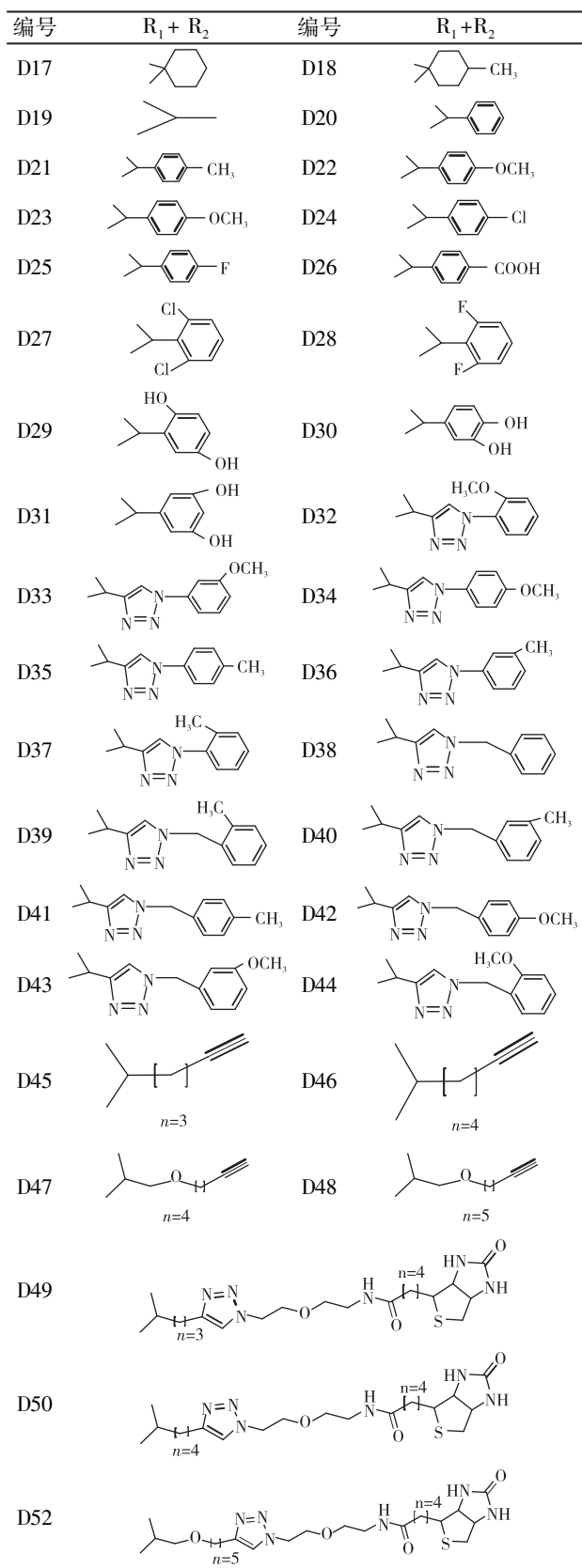
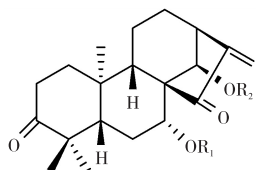


图 6 C7 和 C14 位羟基制备的蓝萼甲素衍生物

Fig. 6 Glaucocaluxin A derivatives based on C7 and C14 hydroxy

(2) C7 或 C14 位羟基衍生物。蓝萆甲素的两个羟基,只反映一个目前已制备出 12 个衍生物,其结构如图 7 所示。衍生物 D53-D62^[70] 测试了对 5 种肿瘤细胞 (A549, KB, MCF-7, KB-VIN 和 MDA-MB-231) 的抑制作用, D53 和 D54 活性下降,而 D55- D64 则活性完全丧失。

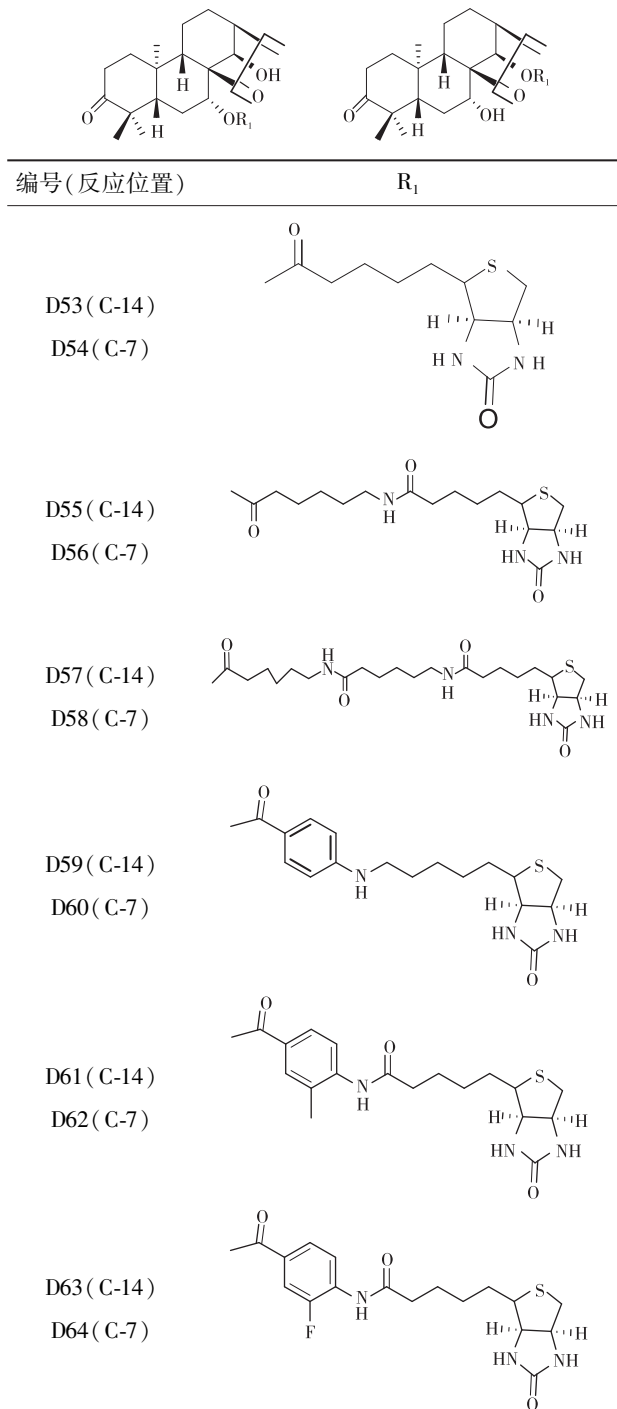


图 7 C7 或 C14 位羟基制备的蓝萆甲素衍生物

Fig. 7 Glaucocaluxin A derivatives based on C7 or C14 hydroxy

3.2 改变剂型

3.2.1 包合物的制备

Zhang 等^[71]以 γ -环糊精为原料,制备了 γ -环糊精蓝萆甲素包合物,结果发现蓝萆甲素- γ -环糊精的溶解度比蓝萆甲素高 21 倍多。蓝萆甲素- γ -环糊精的体外溶出率明显高于蓝萆甲素,20 min 内溶出率达 90% 以上;且蓝萆甲素- γ 环糊精比相同浓度的蓝萆甲素对 S180 肿瘤细胞抑制率高 54.11%,而且比蓝萆甲素更有效地诱导肿瘤细胞凋亡。因此 γ -环糊精包埋可显著提高蓝萆甲素的稳定性、溶解度、溶出度和抗肿瘤活性。张崇等^[72]还制备了羟丙基- β -环糊精蓝萆甲素包合物,发现蓝萆甲素采用环糊精包合后,相溶解度、溶解度、体外溶出速率和抗肿瘤活性均提高,但是羟丙基 β -环糊精蓝萆甲素包合物对小鼠 S180 移植瘤的抑瘤率 (30.66%) 低于 γ -环糊精蓝萆甲素包合物的抑制率 (43.87%)。

李敏等^[73]制备了磺丁基- β -环糊精蓝萆甲素包合物,并考察了其对于 S180 实体瘤荷瘤小鼠实体瘤的抑瘤率,发现磺丁基- β -环糊精蓝萆甲素包合物的抑瘤率为 47.95%,明显高于蓝萆甲素的抑瘤率 (32.19%);体外抗肿瘤活性测试中,相同浓度下磺丁基- β -环糊精蓝萆甲素对人宫颈癌 Hela 细胞株、人肺腺癌 A549 细胞株、人肝癌 Hep G2 细胞株和人宫颈鳞癌 SiHa 细胞株的抑制率也明显高于蓝萆甲素。因此蓝萆甲素制备成磺丁基- β -环糊精蓝萆甲素包合物后抗肿瘤作用明显提高。

3.2.2 纳米粒制备

Han 等^[74]采用蛋黄卵磷脂和胎牛血清作为载体,将蓝萆甲素原料药制备成蓝萆甲素纳米粒,并研究了成蓝萆甲素纳米粒的体外释药过程,也对比研究了蓝萆甲素原料药和蓝萆甲素纳米粒的体内抗肿瘤活性,结果发现蓝萆甲素纳米粒对肝癌细胞 HepG 2 的 IC_{50} 值为 1.793 $\mu\text{g}/\text{mL}$,明显低于游离的蓝萆甲素溶液对肝癌细胞 HepG 2 的 IC_{50} 值 2.884 $\mu\text{g}/\text{mL}$,因此蓝萆甲素纳米粒较游离的蓝萆甲素显示出更强的体外抗肿瘤活性。体内药效学实验中,蓝萆甲素纳米粒对 H22 荷瘤 ICR 小鼠的瘤重抑瘤率为 54.11%,大大高于游离蓝萆甲素 36.02% 瘤重抑瘤率。因此蓝萆甲素纳米粒的体内抗肿瘤活

性较蓝萼甲素有明显改善。

3.2.3 自纳米乳化给药系统的建立

Miao 等^[75]利用自纳米乳化给药系统的生物利用度增强能力,采用渗透释放法实现蓝萼甲素的控释,建立了蓝萼甲素-自纳米乳化给药系统的配方,并将蓝萼甲素-自纳米乳化给药系统渗透泵片应用于 beagle 犬,体外释药研究表明,蓝萼甲素-自纳米乳化给药系统渗透泵片在 12 h 内释放 90%,药物动力学研究表明,蓝萼甲素-自纳米乳化给药系统渗透泵片具有稳定的血药浓度, T_{max} 和平均停留时间延长,生物利用度提高。因此蓝萼甲素-自纳米乳化给药系统渗透泵片达到了控制蓝萼甲素释放的目的,提高了生物利用度。

3.2.4 纳米混悬剂的制备

李艳红等^[76]使用聚乳酸-羟基乙酸共聚物,聚乳酸-羟基乙酸共聚物和聚乙二醇的三嵌段聚合物作为稳定剂,用溶剂沉淀联合高压匀质的方法制备蓝萼甲素纳米混悬剂,并考察了其体外释放和对 BGC 和 HepG2 细胞抑制作用。发现蓝萼甲素纳米混悬剂载药量达(40.67 ± 2.45)%,纳米粒能加速蓝萼甲素的溶出。蓝萼甲素溶液及纳米混悬剂对 BGC 细胞的 IC_{50} 值分别为 1.658 和 0.783 6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,对 HepG2 细胞的 IC_{50} 值分别为 12.4 和 6.44 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,纳米混悬剂的抑瘤作用较原药提高 1 倍。因此,纳米混悬剂能有效提高蓝萼甲素的抗肿瘤活性。

3.2.5 纳米脂质体的制备

迟晴晴等^[77]制备了包封率及载药量较高,粒径均一稳定,重现性好的萼甲素纳米脂质体,该脂质体具有长循环、靶向性、低毒性、细胞膜相容性等优点,改善了蓝萼甲素原料药溶解性差、半衰期短、透膜性低等不足。在体外抗肿瘤活性实验中,该脂质体对乳腺癌 sum149PT 细胞和 sum149PT 干细胞的抑制作用也明显强于原料药蓝萼甲素。

3.2.6 共聚物胶束的制备

胡尔伟等^[78]采用自乳化-溶剂挥发法以聚乙二醇单甲醚-聚乳酸嵌段共聚物为载体制备蓝萼甲素胶束,体外释放实验表明其具有一定的缓释作用。

4 展望

综上所述,蓝萼香茶菜中富含二萜,在这 34 个二萜中,主要以蓝萼甲素、蓝萼乙素和蓝萼丁素的含量最为丰富,相应的药理活性研究也主要集中在蓝萼甲素和蓝萼乙素,尤以蓝萼甲素研究最为活跃。在众多药理活性中,抗肿瘤活性研究最为广泛和深入,但是蓝萼甲素的抗肿瘤活性与现代临床使用的抗肿瘤药物还有一些差距,此外蓝萼甲素的水溶性差,也限制了其在抗肿瘤药物中的应用。为克服这两个问题,对蓝萼甲素进行结构修饰以寻找活性更好的药物分子是今后研究的热点,制备更多的蓝萼甲素衍生物,发现构效关系规律,并以此为基础制备活性更好的衍生物是蓝萼甲素研发药物的关键步骤。此外含量同样丰富且结构与蓝萼甲素极为相似的蓝萼乙素和蓝萼丁素也应进行深入的结构修饰或转化为蓝萼甲素用于进一步的结构修饰,一旦发现药理活性达到临床用药要求,作用机制明确的药物分子,结合相应的剂型设计和优化,在不久的将来,来源于蓝萼香茶菜二萜的抗肿瘤药物必将出现在临床药物名单中而造福于人类健康。

参考文献(References):

- [1] BEUTLER J A. Natural Products as a Foundation for Drug Discovery[J]. Current Protocols in Pharmacology, 2019,86(1):67—94
- [2] TRAN Q T, WONG F W, CHAI C L. Labdane Diterpenoids as Potential Anti-inflammatory Agents[J]. Pharmacological Research, 2017, 124:43—63
- [3] XIANG Z B, LIU X Y, LI X H. Chemical Constituents of *Rabdosia Japonica* Var. *glaucocalyx*[J]. Pharmaceutical Chemistry Journal, 2015,48(12):806—816
- [4] 崔婷婷, 赵丽娟, 刘岩, 等. 蓝萼香茶菜的毒理学研究[J]. 中国医药指南, 2010,8(19):246—249
CUI T T, ZHAO L J, LIU Y, et al. Toxicological Study on *Rabdosia Japonica*[J]. Guide of China Medicine, 2010,8(19):246—249 (in Chinese)
- [5] XU Y L, SUN X C, SUN H D, et al. Chemical Structure of Glaucocalyxin A and B[J]. Acta Botanica Yunnanica, 1981, 3(3):283—286
- [6] LIU C J, ZHAO Z H, WANG Q L, et al. Chemical Structure of Glaucocalyxin C [J]. Acta Botanica

- Yunnanica, 1988, 10(4): 471—474
- [7] KIM D S, CHANG R G, SHEN X Y, et al. Diterpenoids from *Rabdosia Japonica* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(2): 697—699
- [8] XIANG Z B, XU Y X, SHEN Y, et al. Two New Diterpenoids from *Rabdosia Japonica* Var. *Glaucocalyx* [J]. *Chinese Chemical Letters*, 2008, 19: 852—854
- [9] LIANG H J, ZHANG Y X, HAI G F, et al. Isolation, Structural Elucidation and Cytotoxicity of Three New Ent-Kaurane Diterpenoids from *Isodon Japonica* Var. *Glaucocalyx* [J]. *Planta Medica*, 2012, 78: 589—596
- [10] 任茜茜, 周慧超, 贺爽, 等. 蓝萼香茶菜化学成分及抗肿瘤活性研究[J]. *新乡医学院学报*, 2016, 33(4): 261—266
- REN X X, ZHOU H C, HE S, et al. Chemical Constituents and Antitumor Activity of *Isodon Japonica* Var. *Glaucocalyx* [J]. *Journal of Xinxiang Medical University*, 2016, 33(4): 261—266 (in Chinese)
- [11] LIU H C, XIANG Z B, WANG Q, et al. Monomeric and Dimeric Ent-kauranoid-type Diterpenoids from *Rabdosia Japonica* and Their Cytotoxicity and Anti-HBV Activities [J]. *Fioterapia*, 2017, 118: 94—100
- [12] 姚士, 徐乃玉, 褚纯隽, 等. 蓝萼香茶菜的抗补体活性成分研究[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(2): 199—203
- YAO S, XU N Y, ZHU C J, et al. Anticomplement Active Components of *Isodon Japonica* Var. *Glaucocalyx* [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2013, 38(2): 199—203 (in Chinese)
- [13] XIANG Z B, WANG G L, HUANG L Z, et al. A New Ent-kaurane Diterpenoid Glycoside from *Isodon Japonica* Var. *Glaucocalyx* [J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2013, 15(5): 574—578
- [14] XU N Y, CHU C J, XIA L, et al. Protective Effects of *Rabdosia Japonica* Var. *Glaucocalyx* Extract on Lipopolysaccharide-induced Acute Lung Injury in Mice [J]. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2015, 13(10): 767—775
- [15] MENG X J, WANG Q G, CHEN Y Z, et al. Diterpenoids from *Rabdosia Japonica* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28: 1163—1165
- [16] DING L, WANG W, WANG T, et al. Chemical Components of Diterpenoids from *Rabdosia Japonica* Var. *Glaucocalyx* from Gansu Province, China [J]. *Guihaia*, 2008, 28(2): 265—268
- [17] DI X M, YAN F L, FENG C, et al. A New Diterpenoid from *Isodon Japonica* [J]. *Chinese Chemical Letters*, 2010, 21: 200—202
- [18] CHEN Y Z, LI Y Z, YUE J M. Diterpenoids from *Rabdosia Japonica* Var. *Glaucocalyx* [J]. *Journal of Natural Products*, 1989, 52: 886—87
- [19] 董婧婧, 闫志慧, 赵敏, 等. 蓝萼香茶菜根中的 1 个新松香烷二萜苷类化合物[J]. *中草药*, 2013, 44(19): 2647—2649
- DONG J J, QI Z H, ZHAO M, et al. A New Abietane Diterpene Glycoside from Roots of *Rabdosia Japonica* Var. *Glaucocalyx* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2013, 44(19): 2647—2649 (in Chinese)
- [20] 杨丽霞, 邓卫芳, 陈鸿, 等. 蓝萼香茶菜二萜类物质对乳腺癌癌前病变肝郁肾虚证模型大鼠的干预作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(2): 140—145
- YANG L X, DENG W F, CHEN H, et al. Intervention Effect of *Rabdosia Japonica* Var. *Glaucocalyx* Diterpenoids on Liver Qi Stagnation and Kidney Deficiency Model of Precancerous Breast Lesions [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2018, 24(2): 140—145 (in Chinese)
- [21] 高立文. 活性氧在蓝萼甲素诱导的 HL-60 细胞凋亡中的作用研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2010
- GAO L W. The Effect of Reactive Oxygen Species on Glaucocalyxin A-induced Apoptosis in Human Leukemia HL-60 Cells [D]. Suzhou: Soochow University, 2010 (in Chinese)
- [22] 杨文华, 张健, 高立文, 等. 蓝萼甲素诱导 K562 细胞毒作用机制的初步研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(19): 181—184
- YANG W H, ZHANG J, GAO L W, et al. Preliminary Investigation on Glaucocalyxin A-induced Cytotoxicity in K562 Cells [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2011, 17(19): 181—184 (in Chinese)
- [23] 沈晓丹, 曹莉, 董霞, 等. 蓝萼甲素体外细胞毒活性研究[J]. *中华中医药学刊*, 2011, 29(6): 1334—1335
- SHEN X D, CAO L, DONG X, et al. Study on the Cytotoxic Effect of Glaucocalyxin A in Vitro [J]. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 2011, 29(6): 1334—1335 (in Chinese)
- [24] 鲍刚, 吴沁航, 高芙蓉, 等. 蓝萼甲素对三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖及细胞周期的影响[J]. *中草药*, 2019, 50(6): 1419—1423
- BAO G, WU Q H, GAO F R, et al. Effect of Glaucocalyxin

- A on Proliferation and Cell Cycle of Triple-negative Breast Cancer MDA-MB-231 Cells[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs,2019,50(6):1419—1423(in Chinese)
- [25] LI M, JIANG X G, GU Z L, et al. Glaucoalyxin A Activates FasL and Induces Apoptosis Through Activation of the JNK Pathway in Human Breast Cancer Cells[J]. Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention. 2013, 14(10):5805—5810
- [26] 甘平. 蓝萼甲素对神经胶质瘤细胞抑制作用及其机制研究[D]. 苏州:苏州大学,2014
- GAN P. Inhibitory Effect and Mechanism of Glaucoalyxin A on Glioma Cells [D]. Suzhou: Soochow University, 2014(in Chinese)
- [27] 李梦姣,顾振纶,董丽霞,等. 蓝萼甲素对人肺癌 A549 细胞的作用及其机制[J]. 中国药理学通报,2013,29(6):882
- LI M J, GU Z L, DONG L X, et al. Effects of Glaucoalyxin A on Human Lung Cancer A549 Cells and Its Mechanism [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2013,29(6):882(in Chinese)
- [28] 黄敬敬,王修珍,蒋小岗,等. 蓝萼甲素对宫颈癌 HeLa 细胞的作用及其相关机制研究[J]. 中国药理学通报,2012,28(3):421—424
- HUANG J J, WANG X Z, JIANG X G, et al. Effects of Glaucoalyxin A on HeLa Cell and Its Molecular Mechanism [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2012, 28(03):421—424(in Chinese)
- [29] PAN Y, BAI J Y, SHEN F F, et al. Glaucoalyxin B Induces Apoptosis and Autophagy in Human Cervical Cancer Cells[J]. Molecular Medicine Reports. 2016, 14(2):1751—1755
- [30] 夏维,王修珍,蒋小岗,等. 蓝萼甲素对人宫颈鳞癌 SiHa 细胞株生长抑制作用[J]. 中国药理学通报,2011,27(7):1035—1036
- XIA W, WANG X Z, JIANG X G, et al. The Inhibitory Effect of Glaucoalyxin A on Human Cervical Carcinoma SiHa Cells[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2011, 27(7):1035—1036(in Chinese)
- [31] TANG L S, JIN X F, HU X H, et al. Glaucoalyxin A Inhibits the Growth of Liver Cancer Focus and SMMC-7721 Cells [J]. Oncology Letters. 2016, 11(2):1173—1178
- [32] ZHU J W, SUN Y, LU Y, et al. Glaucoalyxin A Exerts Anticancer Effect on Osteosarcoma by Inhibiting Gli1 Nuclear Translocation via Regulating PI3K/Akt Pathway [J]. Cell Death & Disease. 2018, 9(6):708—723
- [33] LIN W, XIE J, XU N, et al. Glaucoalyxin A Induces G2/M Cell Cycle Arrest and Apoptosis through the PI3K/Akt Pathway in Human Bladder Cancer Cells [J]. International Journal of Biological Sciences,2018,14(4):418—426
- [34] 林文锋. 蓝萼甲素对人膀胱癌细胞的抗肿瘤作用及机制研究[D]. 广州:南方医科大学,2018
- LIN W F. Anti-tumor Effect and Mechanism of Glaucoalyxin A on Human Bladder Cancer Cells [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2018 (in Chinese)
- [35] 崔泰震,张贺鸣,海广范,等. 蓝萼香茶菜乙素对 Rb 细胞增殖和细胞周期的影响[J]. 眼科新进展,2011,31(8):711—714
- CUI T Z, ZHANG H M, HAI G F, et al. Effects of Glaucoalyxin B on Proliferation and Cell Cycle of Human Retinoblastoma in Vitro [J]. Recent Advance in Ophthalmology,2011,31(8):711—714(in Chinese)
- [36] 海广范,李生莹,崔泰震,等. 蓝萼香茶菜乙素对 AGZY 细胞周期及凋亡的影响[J]. 中国病理生理杂志,2010,26(7):1420—1422
- HAI G F, LI S Y, CUI T Z, et al. Effect of Glaucoalyxin B on Cell Cycle and Apoptotic Rates of AGZY Cells[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2010, 26(7):1420—1422(in Chinese)
- [37] PAN Y, BAI J Y, SHEN F F, et al. Glaucoalyxin B Induces Apoptosis and Autophagy in Human Cervical Cancer Cells[J]. Molecular Medicine Reports. 2016, 14(2):1751—1755
- [38] YUE L, SHAN L, LIANG Z, et al. Effects of Glaucoalyxin A on Human Liver Cancer Cells as Revealed by GC/MS- and LC/MS-based Metabolic Profiling[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2018,410(14):3325—3335
- [39] 徐素雅. 应用 SILAC 技术研究蓝萼甲素诱导 A549 细胞凋亡的分子机制[D]. 苏州:苏州大学,2016
- XU S Y. Mechanisms of Glaucoalyxin A-induced Apoptosis in A54 Cells Based on SILAC Analysis [D]. Suzhou:Soochow University,2016(in Chinese)
- [40] XIAO X, CAO W D, JIANG X F, et al. A Negative Akt Regulator Specifically Induces Apoptosis in Human Brain Glioblastoma U87MG Cells [J]. Acta Biochimica Etbiophysica Sinica,2013,45(11):946—952
- [41] GAO L W, ZHANG J A, YANG W H, et al. Glaucoalyxin

- A Induces Apoptosis in Human Leukemia HL-60 Cells through Mitochondria-mediated Death Pathway [J]. *Toxicology in Vitro*, 2011, 25(1):51—63
- [42] 李晓敏, 潘莹, 尹宝靓, 等. 蓝萼甲素对人宫颈癌裸鼠移植瘤的作用机制研究[J]. *中国妇幼保健*, 2015, 30(35):6353—6356
- LI X M, PAN Y, YIN B L, et al. Research on the Role and Mechanism of Glaucoalyxin A in Human Cervical Cancer Nudetrans Plantation Tumormice [J]. *Maternal and Child Health Care of China*, 2015, 30(35):6353—6356 (in Chinese)
- [43] JIANG X B, ZHANG Z H, SONG C Q, et al. Glaucoalyxin A Reverses EMT and TGF- β 1-Induced EMT by Inhibiting TGF- β 1/Smad2/3 Signaling Pathway in Osteosarcoma [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2019:158—166
- [44] 千文君, 潘莹, 白洁宇, 等. 蓝萼乙素对两种宫颈癌细胞裸鼠移植瘤的抑制作用及其机制[J]. *海南医学*, 2017, 28(14):2237—2242
- QIAN W J, PAN Y, BAI J Y, et al. Inhibitory Effect of GLB on Two Kinds of Cervical Cancer Cell Lines Transplanted Tumor in Nude Mice and Its Mechanism [J]. *Hainan Medicine*, 2017, 28(14):2237—2242 (in Chinese)
- [45] RAHMAN M, ZHANG L, WU L Y. Sensitization of Gastric Cancer Cells to Alkylating Agents by Glaucoalyxin B Via Cell Cycle Arrest and Enhanced Cell Death [J]. *Drug Design Development and Therapy*, 2017(9):2431—2441
- [46] TANAKA S, MIYOSHI K, HIGO H, et al. Lung Transplant Candidates with Idiopathic Pulmonary Fibrosis and Long-term Pirfenidone Therapy: Treatment Feasibility Influences Waitlist Survival [J]. *Respiratory Investigation*, 2019, 57(2):165—171
- [47] YANG F, CAO Y R, ZHANG J, et al. Glaucoalyxin A Improves Survival in Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis in Mice [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 482:147—153
- [48] GUO Y, LUO F, LIU Q, et al. Regulatory non-Coding RNAs in Acute Myocardial Infarction [J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2017, 21(5):1013—1023
- [49] SU Q Q, ZHANG Y. Glaucoalyxin A Attenuates Angiotensin II-Induced Cardiac Fibrosis in Cardiac Fibroblasts [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 50(3):1949—1954
- [50] WANG X, LIU C, WANG J, et al. Oxymatrine Inhibits the Migration of Human Colorectal Carcinoma RKO Cells Via Inhibition of PAI-1 and the TGF- β 1/Smad Signaling Pathway [J]. *Oncology Reports*, 2017, 37(2):747—753
- [51] DONG Z C, GAO Q, GUO H. Glaucoalyxin A Attenuates the Activation of Hepatic Stellate Cells Through the TGF- β 1/Smad Signaling Pathway [J]. *DNA and Cell Biology*, 2018, 37(3):227—232
- [52] KIM B W, KOPPULA S, HONG S S, et al. Regulation of Microglia Activity by Glaucoalyxin A: Attenuation of Lipopolysaccharide-Stimulated Neuroinflammation through NF- κ B and p38 MAPK Signaling Pathways [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(2):1—11
- [53] XU W, ZHENG D Y, LIU Y Y, et al. Glaucoalyxin B Alleviates Lipopolysaccharide-Induced Parkinson's Disease by Inhibiting TLR/NF- κ B and Activating Nrf2/HO-1 Pathway [J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2017, 44:2091—2104
- [54] MAIESE K. Targeting Molecules to Medicine with mTOR, Autophagy and Neurodegenerative Disorders [J]. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2015, 82:1245—1266
- [55] ZHOU T T, ZHUANG J J, WANG Z W, et al. Glaucoalyxin A as a Natural Product Increases Amyloid β Clearance and Decreases tau Phosphorylation Involving the Mammalian Target of Rapamycin Signaling Pathway [J]. *Neuroreport*, 2019, 30(4):310—316
- [56] HUANG L, CHEN C, ZHANG X, et al. Neuroprotective Effect of Curcumin against Cerebral Ischemia-Reperfusion Via Mediating Autophagy and Inflammation [J]. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2018, 64:129—139
- [57] LIU Y X, WU X C, AN J H, et al. Glaucoalyxin B Protects Against Oxygen-Glucose Deprivation/Reperfusion-Induced Neuronal Injury in PC-12 cells [J]. *Journal of Cell Biochemistry*, 2018, 120(4):6137—6144
- [58] 马占强, 王敏, 张健, 等. 蓝萼甲素抗凝血作用研究 [J]. *云南中医学院学报*, 2011, 34(3):26—29
- MA Z Q, WANG M, ZHANG J, et al. Study on the Anticoagulative Effect of Glaucoalyxin A [J]. *Journal of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine*, 2011, 34(3):26—29 (in Chinese)
- [59] 姚士, 褚纯隽, 韩海燕, 等. 蓝萼甲素抗血栓作用研究 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2012, 14(11):61—65
- YAO S, CHU C J, HAN H Y, et al. Study on Antithrombotic Activity of Glaucoalyxin A [J]. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*,

- 2012,14(11):61—65(in Chinese)
- [60] LI W, TANG X, YI W, et al. Glucocalyxin A Inhibits Platelet Activation and Thrombus Formation Preferentially via GPVI Signaling Pathway [J]. PLoS One. 2013, 8(12):e85120
- [61] LIU X H, XU D Z, WANG Y X, et al. Glucocalyxin A Ameliorates Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Mice by Suppression of Microvascular Thrombosis [J]. Medical Science Monitor, 2016,22:3595—3604
- [62] XU N Y, CHU C J, XIA L, et al. Protective Effects of *Rabdosia Japonica* Var. *Glucocalyx* Extract on Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury in Mice [J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2015, 13(10):767—775
- [63] GAN P, ZHANG L, CHEN Y, et al. Anti-inflammatory Effects of Glucocalyxin B in Microglia Cells [J]. Journal of Pharmacological Sciences, 2015, 128(1):35—46
- [64] 朱琳琳,贺晓丹,徐祉轩. 蓝萼甲素通过 HMGB1 信号通路调节滋养细胞炎症反应 [J]. 中国免疫学杂志, 2019,35(4):404—408
- ZHU L L, HE X D, XU Z X. GLA Regulate Trophoblast Inflammation through HMGB1 Signaling Pathway [J]. Chinese Journal of Immunology, 2019,35(4):404—408 (in Chinese)
- [65] YANG W H, ZHENG L P, YUAN H Y, et al. Glucocalyxin A and B Regulate Growth and Induce Oxidative Stress in Lettuce (*Lactuca Sativa* L.) Roots [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2014, 33(2):384—396
- [66] 杨鹏军,陈璐,仇奕之,等. 二萜类化合物蓝萼甲素 (glucocalyxin A) 对拟南芥四种磷脂酶的影响 [J]. 生态学杂志, 2018,37(4):1058—1064
- YANG P J, CHEN L, QIU Y Z, et al. Effects of Glucocalyxin A on Four Phospholipases in Arabidopsis Thaliana [J]. Chinese Journal of Ecology, 2018,37(4):1058—1064(in Chinese)
- [67] YANG J, LIU Y, XUE C, et al. Synthesis and Biological Evaluation of Glucocalyxin A Derivatives as Potential Anticancer Agents [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2014,86:235—241
- [68] 叶丹丹. 蓝萼香茶菜甲素衍生物的合成、生物活性及河南五味子化学成分研究 [D]. 新乡:新乡医学院, 2013
- YE D D. Studies on the Derivative Synthesis, Bioactivities of Glucocalyxin A and Chemical Constituents of *Schisaiulrae Chinensis* From Henan [D]. Xinxiang: Xinxiang Medical University, 2013(in Chinese)
- [69] 程懂懂,张运晓,王金明,等. 原位 Cu(I) 催化的叠氮-炔环加成反应合成长链双功能分子:蓝萼甲素与生物素的长链钼合分子的制备 [J]. 有机化学, 2019, 39(6):1794—1801
- CHENG D D, ZHANG Y X, WANG J M, et al. Copper(I) in Situ-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition in The Synthesis of Long Chain Bifunctional Molecules: Preparation of Biotin Conjugated Glucocalyxin A Analogs [J]. Chinese Journal of Organic Chemistry, 2019, 39(6):1794—1801(in Chinese)
- [70] 李显伦. 蓝萼甲素生物素标记物合成 [D]. 苏州:苏州大学, 2016
- LI X L. Synthesis of Biotinylated Glucocalyxin A Derivatives [D]. Suzhou: Soochow University, 2016 (in Chinese)
- [71] ZHANG C, QU Y, JIA Y L, et al. Preparation and Antitumor Effects of Glucocalyxin A-Gamma-Cyclodextrin Clathrate [J]. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2015, 8(8):14388—14396
- [72] 张崇,尚校军,马素英,等. 两种环糊精蓝萼甲素包合物的制备与抗肿瘤作用比较 [J]. 医药导报, 2013, 32(11):1399—1402
- ZHANG C, SHANG X J, MA S Y, et al. Comparison of Inclusion Efficiency and Anti-tumor Effect of Glucocalyxin A Included by Two Kinds of Cyclodextrin [J]. Herald of Medicine, 2013, 32(11):1399—1402 (in Chinese)
- [73] 李敏,任丽莉,陈国广. 蓝萼甲素及其包合物的抗肿瘤活性研究 [J]. 华西药学杂志, 2015, 30(6):647—649
- LI M, REN L L, CHEN G G. Anti-tumor Effect of Glucocalyxin A and its Inclusion Complex [J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2015,30(6):647—649(in Chinese)
- [74] HAN M H, LI Z T, GUO Y F, et al. A Nanoparticulate Drug-delivery System for Glucocalyxin A: Formulation, Characterization, Increased in *Vitro* and *Vivo* Antitumor Activity [J]. Drug Delivery, 2015,26:1—7
- [75] MIAO Y F, CHEN G G, REN L L, et al. Controlled Release of Glucocalyxin-a Self-Nanoemulsifying System From Osmotic Pump Tablets with Enhanced Bioavailability [J]. Pharmaceutical Development and Technology, 2017, 22

(2):148—155

[76] 李艳红, 张健, 李之韬, 等. 高载药量蓝萼甲素纳米混悬剂的制备及体内外研究[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(7): 606—612

LI Y H, ZHANG J, LI Z T, et al. High Drug Loading Glaucoalyxin A Nanosuspensions: Preparation and in Vitro Evaluation [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2015, 50(7): 606—612 (in Chinese)

[77] 迟晴晴, 耿文倩, 张翮, 等. 蓝萼甲素纳米脂质体的制备、表征及对三阴性乳腺癌细胞的抑制作用[J]. 中国新药杂志, 2016, 25(23): 2724—2731

CHI Q Q, GENG W Q, ZHANG H, et al. Preparation and

Characteristics of Glaucoalyxin A-loaded Nanoliposomes and Its Inhibition of Triple Negative Breast Cancer (TNBC) [J]. Chinese Journal of New Drugs, 2016, 25(23): 2724—2731 (in Chinese)

[78] 胡尔伟, 陈国广, 任丽莉, 等. 蓝萼甲素 mPEG-PLA 嵌段共聚物胶束的制备及表征[J]. 华西药学杂志, 2016, 31(4): 349—352

HU E W, CHEN G G, REN L L, et al. Preparation and Characterization of Glaucoalyxin A -loaded mPEG -PLA Block Copolymer Micelles [J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2016, 31(4): 349—352 (in Chinese)

Research Progress in Diterpenoids from *Isodon japonica* var. *glaucoalyx*

XIANG Zhao-bao¹, JIN Yong-sheng²

(1. School of Environment and Resources, Chongqing Technology and Business University, Chongqing 400067, China; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract: In this paper, the chemical structures and pharmacological activities of diterpenoids from *isodon japonica* var. *glaucoalyx* were reviewed, and the research on modification of chemical structure and dosage form of the diterpenoids to improve the antitumor activity was also reviewed. Meanwhile, the deficiencies in the current research on diterpenoids from *isodon japonica* var. *glaucoalyx* were analyzed, and the future research direction of the development of clinical drug use of the diterpenoids from *isodon japonica* var. *glaucoalyx* was prospected. It provides a reference for the material basis research and resource development of the plant, which is safe and widely distributed in China. Meanwhile, it has accumulated data for the research and development of the diterpenoids as anti-tumor drugs.

Key words: *isodon japonica* var. *glaucoalyx*; diterpenoids; pharmacological activities; structure modification; dosage form modification

责任编辑: 田 静

引用本文/Cite this paper:

项昭保, 金永生. 蓝萼香茶菜二萜研究进展[J]. 重庆工商大学学报(自然科学版), 2020, 37(3): 1—16

XIANG Z B, JIN Y S. Research Progress in Diterpenoids from *Isodon Japonica* Var. *Glaucoalyx* [J]. Journal of Chongqing Technology and Business University (Natural Science Edition), 2020, 37(3): 1—16