

Advances in Studies on Antitumor Activities of Asiatic Acid and Its Derivatives

Yanqiu Meng, Ziting Ning, Lina Yang, Tingting Yu, Weichen Zhang, Hongshuang Pan

Pharmaceutical Engineering Department, Shenyang University of Chemical Technology, Shenyang Liaoning
Email: 962100976@qq.com

Received: Oct. 6th, 2016; accepted: Oct. 21st, 2016; published: Oct. 24th, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

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



Open Access

Abstract

Asiatic acid is a type of pentacyclic triterpene acid from *Centella asiatica*. It has been found that Asiatic acid has many kinds of pharmacological effects, especially its antitumor activity. In this paper, the research progress of antitumor activity of asiatic acid and its derivatives has been reviewed and forecasted.

Keywords

Asiatic acid, Derivatives, Antitumor

积雪草酸及其衍生物抗肿瘤活性的研究进展

孟艳秋, 宁梓廷, 杨丽娜, 于婷婷, 张伟晨, 潘洪双

沈阳化工大学制药工程教研室, 辽宁 沈阳

Email: 962100976@qq.com

收稿日期: 2016年10月6日; 录用日期: 2016年10月21日; 发布日期: 2016年10月24日

摘要

积雪草酸是一种乌苏烷型五环三萜酸, 主要来源于伞形科植物积雪草, 具有广泛的药理活性, 其抗肿瘤

文章引用: 孟艳秋, 宁梓廷, 杨丽娜, 于婷婷, 张伟晨, 潘洪双. 积雪草酸及其衍生物抗肿瘤活性的研究进展[J]. 药物化学, 2016, 4(2): 11-17. <http://dx.doi.org/10.12677/hjmce.2016.42002>

活性尤为显著。本文对积雪草酸及其衍生物的抗肿瘤活性的研究进展进行综述并进行展望。

关键词

积雪草酸, 衍生物, 抗肿瘤

1. 引言

积雪草酸(Asiatic acid, AA), 又名亚细亚酸, 为五环三萜类化合物, 具有乌苏烷型骨架, 其结构如图 1 所示。其化学名: $2\alpha, 3\beta, 23$ -三羟基-乌苏烷型-12-烯-28-酸。积雪草酸存在于龙脑香科植物龙脑香(*Dryobalanops aromatica* Gaertn. f.)的树脂和挥发油中, 也可由伞形科植物草[*Centella asiatica* (L.) Urb.]中的积雪草苷水解而得。积雪草原产于中国、马来西亚、印度尼西亚、斯里兰卡、越南等。南非、印度、马达加斯加、澳大利亚等国亦产。在我国主要分布于华东、华南、中南及西南等地。

许多研究表明, 积雪草酸具有广泛的药理活性, 如治疗皮肤创伤和慢性溃疡[1]、调血脂及保肝护肝[2]、抗抑郁[3]、防治心脑血管疾病[4]、抗帕金森[5] [6]和抗恶性肿瘤[7] [8] [9]等。例如, 积雪草酸已经被报道具有强烈的抑制各种肿瘤细胞生长的活性, 包括肝癌、乳腺癌、黑色素瘤、恶性胶质瘤和胃肠道肿瘤细胞[10]。因此人们对积雪草酸不断进行结构修饰和活性筛选, 以期寻找到活性更好、副作用更低、生物利用度更高的衍生物。本文基于前人对积雪草酸的各项研究成果, 综合阐述了积雪草酸及其衍生物在抗肿瘤活性方面的概况, 以期对日后更好的开发利用积雪草酸有一定借鉴意义。

2. 积雪草酸的抗肿瘤活性

积雪草酸的抗肿瘤活性主要体现在: (1) 诱导肿瘤细胞凋亡。Tang 等[11]发现积雪草酸可诱导结肠癌细胞 SW480 凋亡, 作用机制为通过增强线粒体膜的通透性和细胞色素从线粒体的释放, 诱导 Caspase 9 的活性, Caspase 9 进一步激活 Caspase 3 和 poly(ADP-ribose)聚合酶分解, 导致肿瘤细胞的不可逆凋亡。(2) 抑制肿瘤细胞增殖。周军等[12]研究表明积雪草酸能够抑制人肝癌细胞株(HepG2)的增殖, 作用机制可能是通过诱导线粒体通透性转换孔(mPTP)开放, 导致线粒体膜电位垮陷, ATP 水平下降, 胞内 ROS 产量增多或清除率降低, 最终导致 HepG2 细胞死亡。(3) 影响蛋白质表达。汤丽霞等[13] [14]研究发现积雪草酸具有抑制肝纤维化的作用, 作用机制是通过上调 Smad7 负反馈信号发挥对 TGF/Smad 信号传导的抑制作用, 抑制肝胶原蛋白合成, 进而抑制肝纤维化。(4) 影响肿瘤细胞周期。Hsu [15]在研究积雪草酸

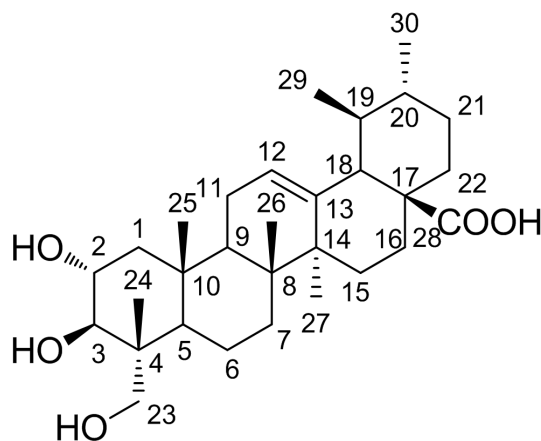


Figure 1. $2\alpha, 3\beta, 23$ -trihydroxy-urs-12-en-28-oic acid
图 1. $2\alpha, 3\beta, 23$ -三羟基-乌苏烷型-12-烯-28-酸

对乳腺癌细胞株 MCF-7 和 MDA-MB-231 的抗肿瘤活性时发现, 积雪草酸通过诱导肿瘤细胞的 S-G2/M 周期途径表现出明显的细胞生长抑制活性。细胞周期的阻滞与 p21/WAF1 水平增高和细胞周期素 B1, 细胞周期素 A, Cdc2, Cdc25C 量的减少有关。

3. 积雪草酸衍生物的抗肿瘤活性研究

从结构上看, 积雪草酸有三种功能相关结构, 分别是: C-2, C-3, C-23 位的三个羟基, C-11 位的连有不饱和双键的亚甲基和 C-28 位的一个羧基。对积雪草酸的结构修饰分别集中在这三种功能相关结构。大致可分为: 对 A 环的修饰、对 C-2, C-3, C-23 位三个羟基的修饰、对 C-11 亚甲基、对 C-28 位羧基的修饰及形成配合物。

3.1. A 环修饰后的积雪草酸衍生物抗肿瘤活性

朱尚涉等[16]将积雪草酸 A 环进行改造得到化合物 1、2、3、4、5, 并检测其对 P388D1 淋巴瘤细胞系、Malme-3M 黑色素瘤细胞系和 Detoit 551 正常细胞系的细胞毒性(ED_{50} 值达到 $4 \mu\text{g/mL}$ 被视为具细胞毒性)。化合物 1a 和 2a 对 P388D1、Malme-3M 和 Detoit 551 的 ED_{50} ($\mu\text{g/mL}$) 分别为 4.3 ± 0.7 , 9.0 ± 0.8 , 27.8 ± 9.7 和 2.4 ± 0.7 , 2.9 ± 0.7 , 4.7 ± 0.9 ; 对 P388D1 的 ED_{50} ($\mu\text{g/mL}$) 分别是 1b: 6.81; 3a: 0.54 ± 0.21 ; 3b: 4.06 ± 2.24 ; 3c: 38.59; 3d: 34.12; 4a: 4.29; 5a: 22.70。表明对 A 环进行改造后的积雪草酸衍生物对 P388D1 淋巴瘤细胞系, Malme-3M 黑色素瘤细胞系均有不同程度的细胞毒性, 但 3, 5 对 P388D1 淋巴瘤细胞系的细胞毒性最强; 1 对 Malme-3M 黑色素瘤细胞系的细胞毒性强于其他衍生物, 但对正常细胞系的细胞毒性也是最大的(图 2)。

3.2. 对 C-28 位羧基修饰后积雪草酸衍生物的抗肿瘤活性

孙宏斌等[17]合成了 12 种积雪草酸的氨基酸类衍生物, 并将其对兔肌糖原磷酸化的抑制活性进行了

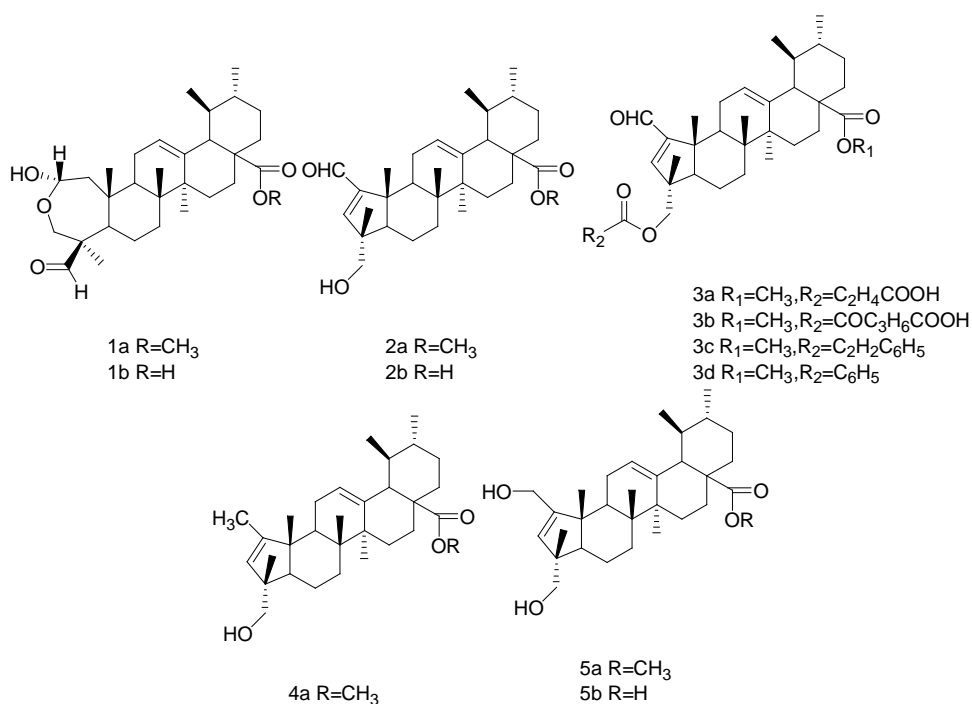


Figure 2. Asiatic acid A ring modification derivatives

图 2. A 环被修饰的积雪草酸衍生物

研究。其中, 6a、6b、6c 的 IC_{50} (μM) 分别为 101、112.3 和 104.3。将 2, 3, 23 三位乙酰氧基水解后, 衍生物在 $100 \mu M$ 浓度下均无活性。表明将积雪草酸的 2, 3, 23 三位羟基制备成前药形式, 再将 28 位与氨基酸进行酰化所得到的积雪草酸的氨基酸类衍生物具有糖原磷酸化酶的抑制作用(图 3)。

3.3. 对 C-2、C-3、C-23 位羟基和 C-28 位羰基修饰后积雪草酸衍生物的抗肿瘤活性

孟艳秋等[18]将积雪草酸的 C-2、C-3、C-23 位的羟基和 C-28 位羰基进行结构改造得到 14 个新化合物, 将 7、8、9 化合物进行体外活性实验, 体外测试细胞为人肺腺癌细胞 A549 和人乳腺癌细胞 MCF-7, 并以吉非替尼为阳性对照。其中化合物 7a、7b、8a、8b、9a、9b 对 A549 和 MCF-7 细胞的 IC_{50} ($\mu mol/L$) 分别为: 30.14、29.38、32.05、41.47、42.11、29.60 和 >30.26、29.85、48.03、>50、>50。结果显示化合物 8a 的活性明显高于积雪草酸和吉非替尼, 由此可见将积雪草酸 C-2 位羟基成脂, C-3、C-23 位羟基成醚, 同时 C-28 位羰基成脂可以提高其抗肿瘤活性(图 4)。

3.4. 对 C-2 位羟基、C-11 的亚甲基和 C-28 位羰基修饰后积雪草酸衍生物的抗肿瘤活性

赵龙铨等[19]将积雪草酸的 C-2 位羟基、C-11 位亚甲基和 C-28 位羰基进行结构改造得到 9 个新化合物, 用人宫颈癌细胞 Hela 和 MCF-7 细胞进行体外活性筛选, 初步生物活性测试结果表明, 在 $8 mg/mL$ 浓度下, 积雪草酸对 MCF-7 的抑制率小于 10%。除化合物 14 外, 其它的 8 个化合物对人乳腺癌细胞(MCF-7) 的抑制率均大于 20%, 其中, 11a、11b 和 14 对 MCF-7 的抑制率都在 80% 左右。11a、11b 及 14 不仅对 MCF-7 的抑制率较好, 对人宫颈癌细胞(Hela)的抑制率较积雪草酸也有一定程度的提高。化合物 11a、11b

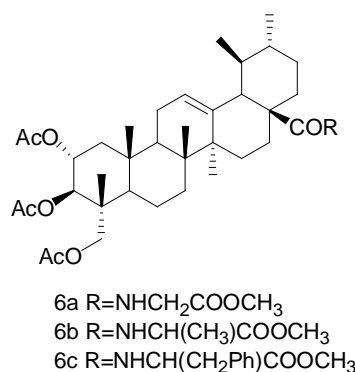


Figure 3. Amino acids derivatives of asiatic acid

图 3. 积雪草酸的氨基酸类衍生物

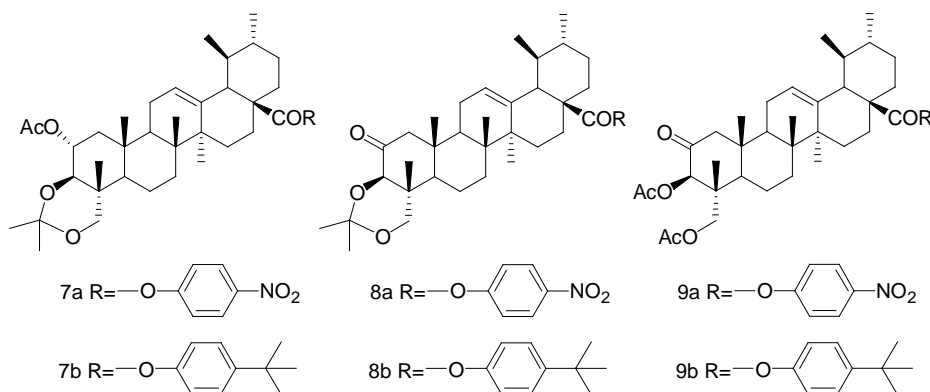


Figure 4. Amino acids derivatives of modified by hydroxyl groups

图 4. 羟基被修饰的积雪草酸衍生物

和 14 对 HeLa 和 MCF-7 的 IC_{50} ($\mu\text{m}/\text{mL}$) 分别为: 3.309、6.295、促细胞生长和 4.400、4.390、6.611。结果表明积雪草酸 C-2 位的羟基对抗癌活性贡献并不大, C-11 位氧的导入对化合物的抗癌活性的影响并不明显, C-28 位的羧基转换成羟基或酯基时, 衍生物的抗癌活性均增强(图 5)。

3.5. 形成配合物后积雪草酸衍生物的抗肿瘤活性

陈海生[20]将积雪草酸与氯化亚铂酸钾等试剂反应, 得到积雪草酸的有机铂酸盐 15 和 16。然后分别以高、中、低三个剂量组并以卡铂阳性药对 Lewis 肺癌小鼠的抑癌作用进行试验, 结果表明该类铂盐衍生物的三个剂量组都具有显著的抗肿瘤作用(图 6)。

张蓉仙等[21]将积雪草酸与有抗炎、杀菌、抗癌活性的稀土硝酸盐配合后得到三种积雪草酸配合物 $\text{LnAA}(\text{NO}_3)_3 \cdot 3\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($\text{Ln} = \text{La}, \text{Ce}, \text{Eu}$)。对食管癌细胞(Eca-109)处理 48 h 后, 观察到三者的 IC_{50} ($\mu\text{mol}/\text{L}$) 分别为: 38.0, 27.8, 46.7, 均小于积雪草酸(IC_{50} :61.7), 表明积雪草酸与稀土盐形成的 1:1 配合物对肿瘤细胞抑制率显著增加。稀土积雪草酸配合物能明显抑制钙离子诱导的线粒体肿胀, 表明积雪草酸稀土配合物能直接作用于线粒体, 可作为线粒体靶向性抗肿瘤化合物。

4. 积雪草酸与其他抗肿瘤药物联用的抗肿瘤活性

姚其正等[22]将积雪草酸与 13-正辛基小蘖碱(13-B-8-AA)17 和 13-正辛基巴马汀(B-AA)18 成盐, 再

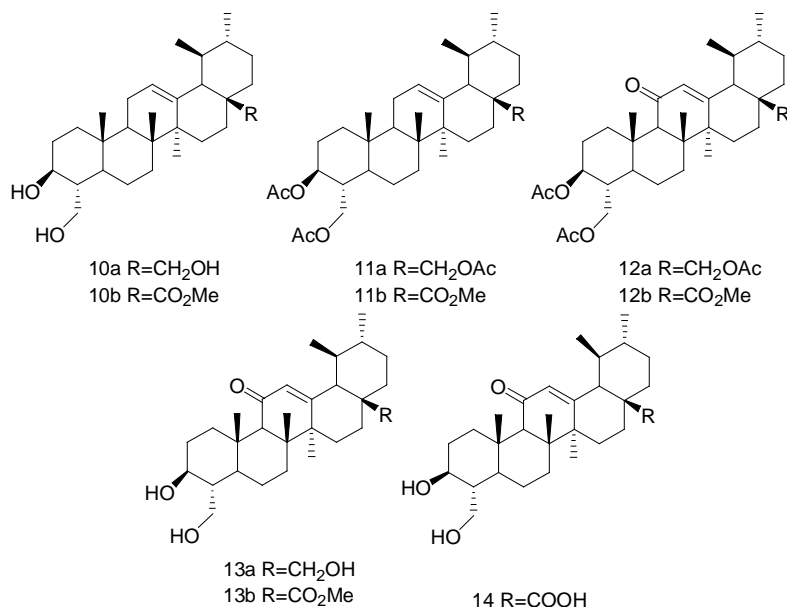


Figure 5. Amino acids derivatives of modified by removing hydroxyl groups

图 5. 去羟基类积雪草酸衍生物

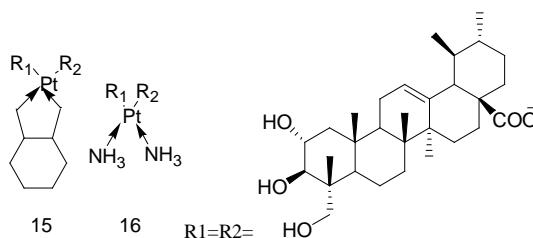


Figure 6. Asiatic acid organic molybdate salt derivatives

图 6. 积雪草酸的有机铂酸盐衍生物

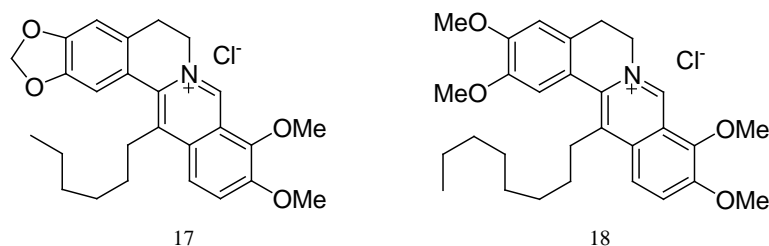


Figure 7. Amino acids derivatives of associating with other compounds
图 7. 积雪草酸与其他药物联合后结构

分别进行体外和体内活性测试。体外测试将其作用于小鼠白血病细胞 L1210、人慢性髓原细胞 K562 及人肺腺癌细胞 A549，并以顺铂为阳性对照。13-B-8-AA 和 B-AA 对 L1210、K562、A549 的 IC_{50} ($\mu\text{mol/L}$) 分别为：7.99、2.23、12.10 和 3.70、33.58、>100，均小于顺铂(IC_{50} ($\mu\text{mol/L}$): 28.60, 58.10, 58.73)，表明与顺铂相比 B-AA 和 13-B-8-AA 有较强的抑制肿瘤生长作用。体内测试 13-B-8-AA 和 B-AA 对小鼠 S180 肉瘤(实体瘤)的抑瘤率，结果表明在相同处理条件下，13-B-8-AA 的抑瘤率 41.61% 大于 B-AA 的 39.19%，13-B-8-AA 比 B-AA 毒性低(图 7)。

林娜等[23]将积雪草酸与化疗药物环磷酰胺(CTX)，5-氟尿嘧啶(5-Fu)联用作用于肝癌细胞株 HepG2 和 Heps 肝癌腹水瘤、实体瘤，考察积雪草酸和 5-Fu 联用抑制肿瘤细胞增殖，采用 10, 15, 20, 25 $\mu\text{mol/L}$ 的积雪草酸分别与 50, 7.5, 1 $\mu\text{mol/L}$ 的 5-Fu 联用。随着 5-Fu 浓度的降低，5-Fu 和积雪草酸联用的抗肿瘤效果也逐渐降低，与单用 5-Fu 的抗肿瘤趋势一致，说明积雪草酸对 3 个浓度 5-Fu 的抗肿瘤效果均没有影响。在考察积雪草酸与 CTX 联用对 Heps 腹水瘤小鼠存活率的影响时，以 20 mg/kg CTX 组，50 mg/kg 积雪草酸和 20 mg/kg CTX 联用组对腹水瘤小鼠存活率进行分析，发现 CTX 组小鼠出现死亡较早，与积雪草酸联用后死亡延缓，说明积雪草酸有降低 CTX 毒性而延长小鼠存活时间的作用。

5. 展望

积雪草酸由于其广泛的药理活性尤其是抗肿瘤作用而备受学者们的关注。综上所述，对积雪草酸 2, 3, 23 位羟基，11 位的亚甲基，28 位羧基甚至对 A 环改造后所得的衍生物较母核积雪草酸在抗肿瘤活性方面均体现出不同程度的增强。但是积雪草酸也存在溶解度小、生物利用度低、难透过血脑屏障等问题。因此，对积雪草酸进行更广泛的结构修饰和活性筛选研究是十分有必要的，它可以满足药物开发的要求。鉴于其广阔的应用前景，希望越来越多的专家学者不断地合成出新的积雪草酸的衍生物，筛选出更多抗肿瘤活性高、吸收好的药物。

基金项目

本文工作由国家自然科学基金项目(21372156)、辽宁省教育厅高等学校优秀人才支持计划项目(LR2013017)资助。

参考文献 (References)

- [1] 孟艳秋, 王楠, 张良锋. 积雪草酸生物活性的研究进展[J]. 化学通报, 2013, 76(8): 721-724.
- [2] 林丽敏, 赵云, 彭璐, 等. 积雪草酸对高脂血症金黄地鼠的血脂调节及肝脏保护作用研究[J]. 中国生化药物杂志, 2014, 34(4): 12.
- [3] 孟艳秋, 张良锋, 张译, 等. 积雪草酸衍生物的合成及抗肿瘤活性研究[J]. 化学通报, 2015, 78(4): 358-363.
- [4] 崔福贵. 积雪草酸衍生物在制备防治心、血管疾病的药物中的用途[P]. 中国专利, CN1582946A. 2005-02-23.
- [5] Maya, K.H., MinHee, K.K., David, A., *et al.* (2009) Immune-Based Therapy for Alzheimer's Disease Is Associated

- with Elevated Levels of IL-10 in the Brain. *Alzheimers and Dementia*, **5**, 328.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2009.04.545>
- [6] 熊御云, 丁银慧, 李芸子, 等. 积雪草酸抗帕金森样神经损伤的线粒体机制[C]. 全国老年性痴呆与相关疾病学术会议, 2013.
- [7] 刘华清, 许青云, 王天麟. 积雪草酸的研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2014, 33(4): 30-33.
- [8] Cho, C.W., Choi, D.S., Cardone, M.H., *et al.* (2006) Glioblastoma Cell Death Induced by Asiatic Acid. *Cell Biology and Toxicology*, **22**, 393-408. <http://dx.doi.org/10.1007/s10565-006-0104-2>
- [9] 冯旭, 郭飞飞, 赵龙, 等. 积雪草酸药理作用及其结构修饰的研究进展[J]. 中草药, 2014, 45(7): 1037-1042.
- [10] Li, Y., Yang, F., Yuan, M.X., Jiang, L.J., Yuan, L., Zhang, X.W., *et al.* (2015) Synthesis and Evaluation of Asiatic Acid Derivatives as Anti-Fibrotic Agents: Structure/Activity Studies. *Steroids*, **96**, 44-49.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.steroids.2014.11.001>
- [11] Tang, X.L., Yang, X.Y., Jung, H.J., *et al.* (2009) Asiatic Acid Induces Colon Cancer Cell Growth Inhibition and Apoptosis through Mitochondrial Death Cascade. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **32**, 1399-1405.
<http://dx.doi.org/10.1248/bpb.32.1399>
- [12] 周军, 高静, 方春钱. 积雪草酸对肝癌细胞增殖作用的影响[J]. 江苏大学学报(医学版), 2009, 19(6): 475-479.
- [13] 谭家驹, 汤丽霞, 杨光, 等. 积雪草酸在制备药物方面的用途[P]. 中国专利, CN1943579A. 2007-04-11.
- [14] 汤丽霞, 杨光, 谭家驹. 积雪草酸抑制 HSC2-T6 细胞 I 型胶原蛋白表达[J]. 第四军医大学学报, 2007, 28(13): 1178-1180.
- [15] Hsu, Y.L., Kuo, P.L. and Lin, L.T. (2005) Asiatic Acid, a Triterpene, Induces Apoptosis and Cell Cycle Arrest through Activation of Extracellular Signal-Regulated Kinase and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Pathways in Human Breast Cancer Cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic*, **313**, 333-344.
<http://dx.doi.org/10.1124/jpet.104.078808>
- [16] Jew, S.S., Park, H.G. and Kim, H.D. (1998) Preparation of Asiatic Acid Derivatives Having Modified A-Ring as Anti-cancer and Liver-Protecting Agents. WO: 98/23575.
- [17] 孙宏斌, 张丽颖, 柳军. 熊果烷型五环三萜氨基酸衍生物制备方法及其医药用途[P]. 中国专利, CN101337984A. 2009-01-07.
- [18] 孟艳秋, 赵敏杰, 张译, 刘立伟, 刘冬莹. 积雪草酸 C2、C3、C23、C28 衍生物的合成及其体外抗肿瘤活性研究[J]. 现代药物与临床, 2015, 30(4): 355-361.
- [19] 赵龙铨, 田明珠, 金礼吉, 等. 积雪草酸衍生物的合成与表征及体外抗癌活性的研究[J]. 有机化学, 2011, 31(5): 646-652.
- [20] 陈海生. 有机酸铂盐及其制备方法和在制备抗癌药物中的应用[P]. 中国专利, CN101289467A. 2008-10-22.
- [21] 张蓉仙, 朱禹, 郭文洁, 等. 线粒体靶向的积雪草酸稀土配合物的合成及抗肿瘤活性[J]. 化学试剂, 2009, 31(12): 961-963.
- [22] 姚其正, 李晶晶, 李耐三. 具有抗肿瘤作用的 13-正-辛基小蘖碱新衍生物[P]. 中国专利, CN101012227A. 2007-08-08.
- [23] 林娜, 高静, 方春钱. 积雪草酸与化疗药物联用抗肿瘤效应的初步研究[J]. 江苏大学学报(医学版), 2008, 18(6): 494-497.

期刊投稿者将享受如下服务：

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：hjmce@hanspub.org