

二萜生物碱生物活性和毒性的研究概况

任媛媛, 王鹏, 詹妮, 田旭, 明磊, 李平亚*
(吉林大学再生医学科学研究所, 长春 130021)

[摘要] 二萜生物碱是一类来源广泛、结构复杂、生物活性多样的植物成分, 综述了二萜生物碱的抗炎解热、镇痛麻醉、抗血小板聚集、抗肿瘤、影响循环系统、免疫调节及杀虫作用等活性; 并将其毒性归纳为神经系统、循环系统、消化系统及细胞毒性等方面, 以期有二萜生物碱的深度开发利用提供一定参考。

[关键词] 二萜生物碱; 免疫组化法; 亚甲蓝染色; 毒力测定; 比浊法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2010)11-0210-04

A Survey of Studies on Activities and Toxicities of Diterpenoid Alkaloids

REN Yuan-yuan, WANG Peng, ZHAN Ni, TIAN Xu, MING Lei, LI Ping-ya*
(Institute of Frontier Medical Science of Jilin University, Changchun 130021, China)

[Abstract] Based on the complex chemical structures and various biological activities, diterpenoid alkaloids demonstrate the importance for the development of new drugs. The main activities and toxicities of diterpenoid alkaloids are summarized in this paper.

[Key words] diterpenoid alkaloids; immunohistochemistry; methylene blue staining; toxicity determination; turbidimetric method

二萜生物碱种类多、来源广、生物活性较强, 具有多种药理作用, 但往往又表现出不同程度的毒性。这使得二萜生物碱既是当前植物分类学研究的热点, 又是药物化学开发新药的突破点。本文总结了近年来二萜生物碱的活性和毒性研究进展。

1 二萜生物碱的生物活性

1.1 抗炎、解热作用 乌头类中药作为传统中药, 其抗炎解热作用是较早被证实的药理作用之一。陈湘君等^[1-3]报道了应用乌头类中药川乌、草乌等治疗类风湿关节炎、肩关节周围炎及强直性脊柱炎。用现代药理学观点解释是利用了乌头属植物中的二萜生物碱的抗炎解热活性, José M. Barbosa-Filho 等^[4]综述了 20 世纪乌头属及少量其他种属植物中的二萜生物碱的抗炎活性。乌头总碱、乌头碱、次乌头碱、中乌头碱及 3-乙酰乌头碱等可抑制角叉菜胶、组织胺、蛋清及 5-

HT 等多种致炎剂引起的大鼠足跖肿胀, 明显抑制二甲苯引起的小鼠耳肿及组胺、5-HT 引发的毛细血管通透性增加, 降低炎性渗出液中白细胞的渗出^[5]。林凌云等^[6]综述了 C₁₉-二萜生物碱的抗炎活性, 认为其最小有效剂量因模型和给药途径不同而异, 且大多数都远低于非甾体抗炎药。

高乌甲素作为解热降温药物用于临床意义在于利用该药可以抑制手术后的发热反应, 苏帆^[7]等研究其降温作用以阐释其调控应激反应的机制。

1.2 镇痛、麻醉作用 C₁₉-二萜生物碱镇痛效果强, 并且是不同于吗啡类的非成瘾性镇痛剂, 经几种成瘾性模型测试均为阴性, 阿片受体结合试验也为阴性^[6]。C₁₉-二萜生物碱高乌甲素、3-乙酰乌头碱和草乌甲素作为镇痛药已用于临床。卫生部药政管理局将高乌甲素列为治疗癌症三阶梯止痛疗法的轻、中度疼痛的镇痛药。高乌甲素的镇痛机制, 除了一般的解热镇痛药的镇痛机制, 还有中枢机制: 主要通过阻滞电压依从性钠离子通道, 抑制神经传导、抑制突触前膜对去甲肾上腺素的重摄取, 使突触间的去甲肾上腺素增加, 从而抑制传入纤维 P 物质的释放而发挥镇痛效应^[8]; 另外还受神经细胞对钙离子获得性的增加和减少调节^[9]。

乌头碱能降低关节周围炎性组织局部 5-HT 含量, 增加脑干 5-HT、NE 和下丘脑 β-EP 的含量, 产生镇痛作用^[10]。3、

[收稿日期] 2010-04-01

[第一作者] 任媛媛, 硕士, 从事天然药物化学成分及其生物活性的研究, E-mail: renyy09@mails.jlu.edu.cn

[通讯作者] *李平亚, 教授, 从事天然药物化学成分及其生物活性的研究, Tel: 0431-85619803, E-mail: lipy@jlu.edu.cn

15-二乙酰苯甲酰乌头原碱(3,5-diacetylbenzoylconine, DABA)是乌头碱衍生物,实验证明 DABA 有很好的镇痛作用,镇痛部位主要为中枢神经脊髓以上结构^[11]。乌头碱衍生物的镇痛机制直到 1998 年才有深入探讨,U T Guter^[12]等通过对试验动物进行^[3H]-BTX 检测、荧光钙离子和荧光钠离子测定、离体心房心率检测、福尔马林试验及急性毒性试验详细探讨了 10 种天然 C₁₉-二萜生物碱的镇痛作用。

1.3 抗血小板聚集作用 研究二萜生物碱的抗血小板聚集活性,对血栓、休克、过敏和炎症反应的防治以及开发新的血小板聚集疾病的药用资源都有极其深远的意义。

葛永辉等^[13]报道了从岩乌头中首次提取的二萜生物碱 14-acetylsachaconitine 和 sachaconitine 的抗血小板聚集活性。通过建立抗血小板聚集活性物质筛选模型,以乙酰水杨酸作为阳性对照药试验,证明了这 2 个二萜生物碱具有抗血小板聚集活性。

Ling Li 等^[14]首次报道了从华北绣线菊小叶变种中提取的 6 个粉花绣线菊 atisine 型 C₂₀-二萜生物碱及其 8 个衍生物的抗血小板聚集活性。通过 Born 氏比浊法观察体外兔血小板聚集功能,发现对于血小板活化因子(PAF)诱导的血小板聚集,atisine 型 C₂₀-二萜生物碱及衍生物抑制能力显著,但对花生四烯酸(AA)和二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板聚集则无明显作用。表明 atisine 型 C₂₀-二萜生物碱有可能是一种新的 PAF 受体拮抗剂。构效分析方面,发现 spiramine C₁ 因具有 C₁₅ 位含氧取代和噁唑环使其具备了抗血小板聚集的活性。

鉴于 hetisine 型绣线菊碱和 atisine 型绣线菊碱结构的相似性,李玲等^[15]采用 Born 氏比浊法探讨了从华北绣线菊小叶变种中提取的绣线菊 hetisine 型 C₂₀-二萜生物碱及其衍生物体外对 PAF,AA 和 ADP 诱导引起的血小板聚集活性的影响,并初步分析了构效关系。得出结论:绣线菊 hetisine 型二萜生物碱具有一定的抗血小板聚集活性,但较 atisine 型绣线菊碱选择性差,作用谱宽;分子结构从 C₁₆ 双键的存在与否及双键类型、C₆ 位羰基的存在与否和立体结构方面显著影响其抗 PAF 诱导的血小板凝集的活性;分子结构与其抗 AA 和 ADP 诱导的血小板聚集作用无明显相关。

1.4 抗肿瘤活性 乌头属植物二萜生物碱的抗肿瘤研究,以对乌头碱研究为主,始于 20 世纪 80 年代。乌头碱注射液有抑制肿瘤生长和癌细胞自发转移的作用,临床用其治疗晚期未经手术、化疗、放疗的患者,有减轻患者病痛及提高免疫力的功能,无不良反应^[16]。对采用化疗治疗的病例,乌头碱能增加化疗药物敏感性,在抗耐药肿瘤方面具有潜在的研究价值^[17]。缓解疼痛是癌症综合治疗的重要环节之一,王华灵等^[18]对临床病例进行分析得出结论:乌头碱可不同程度的缓解各级癌症疼痛,对慢性痛、轻度痛、胀痛和隐痛效果佳,尤为适用于消化系统癌症疼痛。田劭丹等^[19]以免疫组化法,测定乌头碱作用后 KB_{V206} 细胞 Pgp 蛋白阳性表达率, Pgp 蛋白表达显著降低,验证乌头碱逆转肿瘤多药耐药效应。

Concepcion de Inesa 等^[20]认为 C₁₉-二萜生物碱 neoline, pubescenine, 14-deacetylajadine 等可作为制备抗宫颈癌、结肠癌和黑色素瘤的化疗药物的良好候选化合物。

1.5 对循环系统作用 王培德等^[21]试验证明次乌头碱可对抗乌头碱引发的心律失常,是抗 I 类心律失常的天然化合物。另有试验对比了次乌头碱和 DABA 的抗心律失常作用,证明了次乌头碱的抗心律失常作用是特有生理作用,并非二萜生物碱的共性。且对次乌头碱结构与其抗心律失常作用的相关性产生了疑问,指出次乌头碱的 3 位-OCOC₆H₄BHCOCH₃ 基团的存在与否可能与抗心律失常作用有关^[22]。

杨玉梅等^[23]通过试验研究了不同使用剂量的紫花高乌头总碱对大鼠试验性心律失常的影响。试验表明紫花高乌头总碱对心脏有显著的生理活性,小剂量时与刺乌头碱作用相似,引起心率减慢;大剂量可致心律失常及心搏停止的心脏毒性反应。这种毒性与刺乌头碱或乌头碱的心脏毒性有所差异,紫花高乌头总碱主要呈现缓慢型心律失常乃至停搏,而刺乌头碱或乌头碱主要表现为室性早搏、室性心动过速、心室纤颤等快速心律失常乃至停搏。

1.6 免疫调节功能 李晓玉等^[24]早在 1987 年就通过观察小鼠耳后心肌移植排斥反应,研究了滇乌碱的免疫调节作用。证明滇乌碱能够延长移植心肌的存活时间,其抗排斥作用强度与泼尼松接近。

王雅贤等^[25]通过分析乌头碱对小鼠免疫器官、PFC 和溶血素的影响,证实了乌头碱对免疫器官及体液免疫均有抑制作用,并强调乌头碱作为免疫抑制剂的最佳作用期为用药后 1 周左右,时间再长可能呈现刺激作用。Kimura I 等^[26]研究了乌头碱提取物或乌头碱对受血浆皮质酮水平控制的巨噬细胞 Ia 抗原表达的影响。通过连续 7 d 每天 3 mg·kg⁻¹ 的剂量给小鼠腹腔注射乌头碱提取物或乌头碱,小鼠巨噬细胞 IFN-γ 的表达明显增强,从而刺激巨噬细胞 Ia 抗原的表达。试验发现乌头碱提取物或乌头碱可刺激巨噬细胞 IFN-γ 的分泌,是通过增加血浆皮质酮水平进行的。

魏涛等^[27]对三类手术患者 36 例采取高乌甲素静脉注射处理,测定 NK 细胞数、T 淋巴细胞亚群(CD3, CD4, CD8, CD4/CD8),说明了在手术创伤后,高乌甲素在一定程度上可稳定血浆 CD3, CD4 及 NK 细胞水平,并指出了高乌甲素的提高免疫力作用与其镇痛作用等其他机制相关。

1.7 对昆虫的活性 在我国,自古就将乌头视为杀虫植物进行防虫杀鼠,现代药学研究已知乌头杀虫作用的主要活性成分是二萜生物碱。从乌头中提取分离的中乌头碱,已被证实有一定的杀虫功效,其机制是通过抑制乙酰胆碱酯酶的活性,干扰和阻断突触传导而发挥对昆虫的毒性^[28]。

Mat'as Reina 等^[29]对乌头属、翠雀属和飞燕草属植物中提取的 44 个 C₁₉-二萜生物碱及 23 个 C₂₀-二萜生物碱进行了结构分析和毒力测定实验研究,发现总体上 C₁₉-二萜生物碱比 C₂₀-二萜生物碱对昆虫产生更加明显的拒食作用。就二

萜生物碱抗寄生虫活性的分子选择性而言, C_{19} -二萜生物碱无选择性, 而 C_{20} -二萜生物碱则具备不同程度的选择性。

1.8 其他作用 薛永志等^[30]提出紫花高乌头总碱有降低吗啡依赖大鼠的戒断反应症状分值, 控制体重下降, 使吗啡依赖后增强的 CYP2E1 代谢活性下调的作用。

2 二萜生物碱的毒性

迄今为止, 发现的二萜生物碱数量虽多, 临床上得到应用的却有限, 原因在于二萜生物碱存在某些毒性, 需要临床指导或经化学修饰降低毒性后使用。

2.1 神经系统的毒性 乌头碱对中枢及末梢神经先兴奋后麻痹, 可导致血管中枢受抑制, 引起血压下降。重度乌头碱中毒由于延髓中枢麻痹, 发生中枢性血压下降、呼吸抑制, 可出现呼吸衰竭、心脏骤停; 又因麻痹运动中枢致使肢体活动障碍^[31]。

燕草属植物 Larkspurs 对神经系统有毒性作用, 误食后引起神经系统中毒, 出现呼吸困难, 血液循环障碍, 肌肉、神经麻痹或产生痉挛现象。K D Welch 等研究了该植物中 7,8-methylenedioxylycoctonine 型二萜生物碱对甲基牛扁亭碱中毒动物的影响, 证明了前者对后者具协同作用^[32]。

2.2 循环系统的毒性 二萜生物碱的毒性体现在循环系统毒性方面, 可诱发心律失常。临床上有使用蒙药那如-3 治疗牙龈肿痛出现心源性休克的病例, 考虑为乌头碱中毒反应^[33]。那如-3 中制草乌的乌头碱, 虽为主要有效成分, 但也是毒性成分, 中毒机制为双重机制: 第一直接作用于心肌, 使心肌细胞钠离子通道开放, 加速钠离子内流, 导致细胞膜去极化, 提高快反应细胞的自律性, 导致心律失常^[34]; 第二兴奋迷走神经, 致使心律失常和行动过缓等^[31]。

2.3 消化系统的毒性 乌头碱对消化系统的毒性, 表现在兴奋迷走神经, 引起恶心、呕吐、腹痛和腹泻等症状的出现。

2.4 细胞毒性 雷怀成等^[35]用乌头碱中毒诱导大鼠心肌细胞凋亡, 阐明细胞凋亡机制为乌头碱抑制了心肌三羧酸循环及呼吸链的氧化磷酸化作用, 引发心肌有氧代谢障碍, 致使供能不足, 发生心功能紊乱。

Concepcion de Inesa 等^[20]通过比较 34 个 C_{19} -二萜生物碱对哺乳动物细胞系 CHO, CT26, SW480, SkMe125 和 SkMe128 的最低抑菌浓度及细胞活力抑制率, 提出化合物 neoline, 8-O-methylcolumbianine, 1, 14-diacetylcardiopetaline 等 12 个二萜生物碱具有强的细胞毒性且与 ATP 水平下降有关, 首次报道了它们的抗肿瘤活性。

李志勇等^[36]探讨次乌头碱对体外培养乳鼠心肌细胞搏动频率、细胞活力及细胞膜 LDH 漏出率等的影响, 证实次乌头碱对心肌细胞有一定的毒性损伤作用, 损伤程度与次乌头碱浓度和作用时间相关。

利用亚甲蓝染色评价从半枝莲中获得的 5 个新二萜生物碱对细胞生长的作用, 以 etoposide 和 cisplatin 为对照品, 通过比较半抑制浓度, Sheng-Jun DAI 等^[37]发现这 5 个二萜生物碱具有对肿瘤细胞的毒性作用。Tricalysiamides A-C 是

从药用植物狗骨柴树干中提取的 3 个自然界非常少见的具咖啡醇类碳骨架的重排对映贝壳杉二萜生物碱, 具有对小鼠白血病细胞 P-338 的弱的细胞毒活性^[38]。

2.5 其他 临床上有使用高乌甲素出现严重过敏反应的病例^[39], 虽然有可能是过敏体质所致, 但临床应用也需有所关注, 以策安全。

3 结语

二萜生物碱的来源广泛、活性显著, 新的二萜生物碱类化合物层出不穷, 新的生物活性也随之出现, 这极大地促进了研究者筛选出高效低毒的二萜生物碱, 或对其结构修饰, 补充临床用药。有必要对二萜生物碱的代谢化学给予重视并深入探讨, 这对于研究二萜生物碱在体内的吸收与分布、阐明其药理毒理作用机制、开发新的活性化合物有积极作用。

二萜生物碱的结构多变, 对多种单体成分的构效关系研究有利于发现活性较强化合物, 这对于评价其药用价值十分有益。研究者可在开发有价值的二萜生物碱单体药物方面拓展思路, 为临床疗效提供新的理论依据。

[参考文献]

- [1] 陈湘君, 茅建春, 顾军花. 风湿骨痛胶囊治疗类风湿关节炎[J]. 浙江中医学院学报, 2003, 27(2): 23.
- [2] 王春成. 乌头汤加味治疗肩关节周围炎 37 例[J]. 国医论坛, 2005, 20(1): 7.
- [3] 杨莉, 李世年, 李媛. 中西医结合治疗强直性脊柱炎 42 例疗效观察[J]. 浙江中西医结合杂志, 2005, 15(10): 639.
- [4] José M Barbosa-Filho, Márcia R Piuvezam, Marcelo D Moura, et al. Anti-inflammatory activity of alkaloids: A twenty-century review [J]. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 2006, 16(1): 109.
- [5] 沈映君. 中药药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000, 82.
- [6] 林凌云, 陈巧鸿, 王锋鹏. 去甲二萜生物碱的药理活性[J]. 华西药学杂志, 2004, 19(3): 200.
- [7] 苏帆, 姚尚龙, 迟永良, 等. 高乌甲素对手术创伤病人应激反应的影响[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2007, 28(1): 10.
- [8] 赵秀云, 秦素, 焦哲顺. 高乌甲素用于术后硬膜外止痛 55 例临床观察[J]. 陕西医学杂志, 2002, 31(9): 825.
- [9] Guo X, Tang X C. Effects of reserpine and 5-HT on analgesia induced by lappacini-tine and N-deacetyl lappaconitine [J]. Zhongguo Yaoli Xuebao, 1990, 11(1): 14.
- [10] Muravama M, Ito T, Konno C. Mechanism of analgesic action of mesaco-nitine. I. Relationship between

- analgesic effect and central monoamines or opiate receptors[J]. *Eur J Pharmacol*, 1984, 101(1/2): 229.
- [11] 张慧灵, 杨煜荣, 王勇, 等. 3, 15-二乙酰苯甲酰乌头原碱镇痛的作用部位[J]. *中国药理学报*, 1994, 15(2): 176.
- [12] U T Gutser, J Friese, J F Heubach, et al. Mode of antinociceptive and toxic action of alkaloids of *Aconitum spec* [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 1998, 357: 39.
- [13] 葛永辉, 穆淑珍, 张建新, 等. 岩乌头根部的生物碱类成分及其抗 PAF 活性[J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(15): 1935.
- [14] Li Ling, Shen Yue-Mao, Yang Xiao-Sheng, et al. Antiplatelet aggregation activity of diterpene alkaloids from *Spiraea japonica* [J]. *Eur J Pharmacol*, 2002, 449: 23.
- [15] 李玲, 李民, 沈月毛, 等. 华北绣线菊二萜生物碱抗血小板聚集活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2002, 14(2): 7.
- [16] 汤铭新, 孙佳芝. 乌头碱抑瘤及抗转移的研究与治疗的观察[J]. *北京中医杂志*, 1986, 3: 28.
- [17] 李峨, 陈信义. 乌头碱抗耐药性人口腔鳞状上皮癌细胞作用的体外研究[J]. *中国中医药信息杂志*, 2004, 11(2): 103.
- [18] 王华灵, 韩培秀, 徐世明, 等. 乌头碱对癌症疼痛的治疗效果[J]. *中国中西医结合杂志*, 1994, 14(4): 219.
- [19] 田劲丹, 刘雪强, 王笑民, 等. 乌头碱影响 KB_{v200} 细胞 Pgp 蛋白表达的组化实验[J]. *中医药学刊*, 2006, 24(1): 55.
- [20] Concepcion de Inesa, Matias Reinab, Jose A Gavfnc. *In vitro* cytotoxicity of norditerpenoid alkaloids. *Natllforsch*. 61c, 2006: 11.
- [21] 王培德, 张慧灵, 刘和利, 等. 尼奥林与拉巴乌头碱对乌头碱诱发大鼠心律失常的影响[J]. *包头医学院学报*, 1997, 13(3): 1.
- [22] 王培德, 张慧灵, 杨玉梅, 等. 两种二萜类生物碱对乌头碱诱发大鼠心律失常的作用比较[J]. *包头医学院学报*, 1997, 13(2): 4.
- [23] 杨玉梅, 张慧灵, 刘和莉, 等. 紫花高乌头总碱对大鼠实验性心律失常的影响[J]. *包头医学院学报*, 2000, 16(2): 87.
- [24] 李晓玉, 将开明, 林子英. 滇乌碱的免疫调节作用[J]. *中国药理与毒理学杂志*, 1987, 1(2): 100.
- [25] 王雅贤, 贾宽, 张德山, 等. 乌头碱对小鼠免疫功能影响的实验研究[J]. *中医药信息*, 1989, 5: 40.
- [26] Kimura I, Makino M, Honda R, et al. Expression of major histocompatibility complex in mouse peritoneal macrophages increasingly depends on plasma corticosterone levels; stimulation by aconitine [J]. *Biol Pharm Bull*, 1995, 18(11): 1504.
- [27] 魏涛, 邱红明. 高乌甲素对手术创伤患者 T 细胞亚群和 NK 细胞的影响[J]. *山东中医药大学学报*, 2008, 32(6): 500.
- [28] 杨小生, 万里翔, 贺新生, 等. 中乌碱对乙酰胆碱酯酶活力的抑制作用[J]. *环境与健康杂志*, 2008, 25(7): 641.
- [29] Matias Reina, Azucena Gonzalez-Coloma. Structural diversity and defensive properties of diterpenoid alkaloids [J]. *Phytochem Rev*, 2007, 6: 81.
- [30] 薛永志, 杨玉梅, 刘和莉, 等. 紫花高乌头总碱对吗啡依赖大鼠 CYP2E1 代谢活力的影响[J]. *中国药物依赖性杂志*, 2007, 16(4): 262.
- [31] 陈灏珠. *实用内科学* [M]. 11 版. 上册. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 798.
- [32] K D Welch, K E Panter, D R Gardner, et al. The effect of 7, 8-methylenedioxycoctonine-type diterpenoid alkaloids on the toxicity of methyllycaconitine in mice [J]. *J Anim Sci*, 2008, 86: 2761.
- [33] 张爱武, 王毅. 那如三味丸致严重心律失常及休克[J]. *药物不良反应杂志*, 2009, 11(5): 375.
- [34] 黄明海, 胡代碧. 东莨菪碱治疗乌头碱中毒致心律失常 25 例[J]. *中国心血管病研究杂志*, 2004, 2(1): 34.
- [35] 雷怀成, 宋道江, 易建华, 等. 大鼠乌头碱中毒心肌细胞凋亡的研究[J]. *中国工业医学杂志*, 2004, 17(6): 373.
- [36] 李志勇, 孙建宁, 张硕峰. 次乌头碱对原代培养心肌细胞的毒性研究 [A]. 北京: 中国药理学会第十次全国学术会议专刊, 2009.
- [37] DAI Sheng-Jun, WANG Gong-Fu, CHEN Meng, et al. Five new neo-clerodane diterpenoid alkaloids from *scutellaria barbata* with cytotoxic activities [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55(8): 1218.
- [38] Koichi Nishimura, Yukio Hitotsuyanagi, Noriko Sugeta, et al. Tricalysiamides A-D, diterpenoid alkaloids from *Tricalysia dubia* [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70: 758.
- [39] 徐季华, 周清河, 杨文英, 等. 氢溴酸高乌甲素引起严重过敏反应一例[J]. *中华麻醉学杂志*, 2004, 24(7): 500.

[责任编辑 蔡仲德]