

中药挥发油抗白血病机制及问题探讨

邓锦松¹, 张海燕^{1*}, 杨启悦^{2*}, 吴升星¹, 汪镇朝¹, 李艳¹

(1. 江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 固体制剂工程中心, 南昌 330004;
2. 成都中医药大学 附属医院, 成都 610075)

[摘要] 白血病(leukemia)是一种发病率逐年增高的造血系统恶性增生性疾病,包括骨髓和淋巴系统。其病情复杂,是一种高度异质性的疾病,包括多种亚型,治疗难度大,预后欠佳。当前临床上常用于治疗白血病细胞分化诱导剂的有维甲酸及其衍生物、砷剂等,但他们治疗的临床范围多局限于粒系白血病,价格昂贵,而且仍有一定的毒副作用。随着分子遗传学、分子生物学、二代测序等技术的发展,对白血病的病因学、病理学的认识已有明显的提高,但是白血病具体的发病机制仍未能明确。随着分子靶向药物和嵌合抗原受体T细胞免疫疗法(chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy, CAR-T)及造血干细胞移植的进一步推广,虽然使白血病的治疗进入了新领域,但是与传统化疗相比除了治疗成本高外,长期疗效还有待于进一步确认。经过多年的基础研究及临床研究发现,中药挥发油在治疗白血病领域取得了显著成就。中药挥发油不仅可以减轻化疗药物带来的毒副作用,而且能有效的延长或阻止白血病复发、抑制白血病细胞增殖和促进白血病细胞凋亡的优势。本文通过文献追踪法查阅了国内外相关文献,对中药挥发油抗白血病机制进行概述,分析了中药挥发油的特点及存在问题,并提出了改进的方向,为加快中药挥发油治疗白血病的研发和创新提供参考。

[关键词] 中药挥发油; 白血病; 细胞增殖; 细胞凋亡; 问题探讨

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R287; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)19-0226-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191229

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190301.1523.028.html>

[网络出版时间] 2019-03-04 13:40

Anti-leukemia Mechanism and Problems of Volatile Oil from Traditional Chinese Medicine

DENG Jin-song¹, ZHANG Hai-yan^{1*}, YANG Qi-yue^{2*}, WU Sheng-xing¹, WANG Zhen-chao¹, LI Yan¹

(1. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine (TCM) Under Ministry of Education, National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China;
2. Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China)

[Abstract] Leukemia is a hematopoietic hyperplastic disease with an increasing incidence year by year, involving bone marrow and lymphatic system. The disease is complex and a highly heterogeneous disease, including a variety of subtypes, with difficulties in treatment and a poor prognosis. Currently, retinoic acid and its derivatives, arsenic are commonly used in clinical treatment as leukemia cell differentiation inducers. However, their clinical range of treatment is mostly restricted to granulocytic leukemia, with a high price and certain toxic and side effects. With the development of molecular genetics, molecular biology, second-generation sequencing and other technologies, the etiology and pathology of leukemia has been significantly studied, but the specific pathogenesis of leukemia has still been unclear. With the further promotion of molecular targeted drugs, chimeric

[收稿日期] 20181009(017)

[基金项目] 江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ180638)

[第一作者] 邓锦松,在读硕士,从事中药新剂型研究,E-mail: djs86882591@163.com

[通信作者] * 张海燕,博士,副教授,从事新药研发工作,E-mail: haiyansl@163.com;

* 杨启悦,硕士,主治医师,从事内分泌及代谢性相关疾病临床工作及研究,E-mail: ruozi0920@163.com

antigen receptor T-cell immunotherapy (CAR-T) and hematopoietic stem cell transplantation, although the treatment of leukemia has entered a new field, compared with traditional chemotherapy, these therapies have high costs, and the long-term efficacy is yet to be further confirmed. After years of basic research and clinical research, traditional Chinese medicine (TCM) volatile oil in the treatment of leukemia has made remarkable achievements. Essential oil can alleviate the toxic and side effect of chemotherapy drugs, effectively prolong or prevent the relapse of leukemia, inhibit the proliferation of leukemia cells, and promote the apoptosis of leukemia cells. In this paper, the authors reviewed relevant domestic and foreign literatures by literature tracking method, summarized the anti-leukemia mechanism of essential oil of TCM, analyzed the characteristics and existing problems of essential oil of TCM, and proposed the improvement direction, in order to provide reference for accelerating the research and development and innovation of essential oil in the treatment of leukemia.

[Key words] volatile oil of traditional Chinese medicine; leukemia; cell proliferation; apoptosis; problem discussion

白血病是造血系统的一种恶性疾病,在我国各年龄组恶性肿瘤的死亡率中分别占第 6 位(男性)和第 8 位(女性),在儿童及 35 岁以下的死亡率中占第 1 位^[1]。近年来随着我国经济飞速发展,肿瘤已成为威胁人民健康的头号杀手。白血病的发病率及病死率高居不下,严重危害人民身体健康。化疗是目前白血病治疗的主要方式,然而,化疗药物产生毒副作用以及原发或继发耐药,严重影响了患者的临床治疗效果,导致生存质量和长期生存率大大下降。同时,患者的治疗费用也较常规治疗大大增加。因此,如何寻找安全有效、稳定可控和克服耐药已成为白血病研究领域的重点与热点。

我国传统中医中药治疗白血病有非常悠久的历史。中医角度认为白血病归于“急劳”“血证”与“痼积”范畴,中药治疗主要遵从扶正解毒,攻补兼施的策略^[2]。中药挥发油(EO)又称精油,是从中药植物的花朵、叶、枝、根、皮、树胶、全草和果实中经过蒸馏法、压榨法或溶剂萃取法提取的一类能被嗅觉嗅出气味、味品尝品出香味的天然化合物。关于应用中药挥发油治疗疾病古代均有记录,而直到 1928 年法国化学家 Maurice 首次提出芳香疗法,开启了现代精油治疗的篇章^[3]。中药挥发油在医药领域有非常多的应用,近年来多项研究表明中药挥发油具有抗肿瘤作用,CHANG 等^[4]通过对人口腔上皮癌使用肉桂精油提取物发现可通过抑制细胞分裂及促进细胞凋亡从而抑制癌细胞生长;Catalani 等^[5]对甲状腺癌细胞使用黄连精油提取物发现可促进氧化应激进而促进细胞凋亡达到抑癌效果;随着对中药挥发油研究的广泛开展,越来越多的中药挥发油的抗肿瘤功能将被发现^[6-8]。

中药挥发油在治疗白血病的应用可能是非常规

的,但其易用性、宜人的芳香性和低或不显著的毒性使他们成为长期治疗各种慢性疾病的更具吸引力的候选者。细胞的增殖、分化和凋亡是正常细胞的基本生命现象,而白血病细胞则是通过细胞内的几个遗传基因和表观遗传基因的改变,巧妙地逃避了细胞凋亡的命运并且增殖失控。因此中药挥发油治疗白血病的主要作用机制包括抑制白血病细胞增殖、促进白血病细胞凋亡和诱导白血病细胞分化以及调节肿瘤免疫微环境,进而发挥抗白血病作用。

1 中药挥发油抑制白血病细胞增殖

治疗白血病的一个重要途径是抑制白血病细胞增殖。在治疗白血病时,大部分中药挥发油及其有效成分均有抑制白血病细胞增殖的功能,其作用机制可能是通过干扰相关蛋白质的合成,阻断细胞周期等,从而发挥抑制白血病细胞增殖的作用^[9]。

1.1 中药挥发油抑制 HL-60 细胞增殖 李宁等^[10]研究发现,高良姜挥发油对人早幼粒白血病细胞 HL-60 细胞株的增殖可呈不同程度地剂量依赖性抑制,能浓度依赖性阻滞 HL-60 细胞于细胞周期的阻滞期和前期(G_0/G_1)期,且高良姜挥发油浓度越高,诱导细胞凋亡的形态越显著;李颢^[11]分别用大蒜油、全反式维甲酸和三氧化二砷作用于 HL-60 细胞时,发现三者能明显抑制 HL-60 细胞的增殖,并且白血病细胞的增殖抑制率呈时间效应关系。研究发现,大蒜油起效时间明显早于全反式维甲酸和三氧化二砷,并且在各时间点上,大蒜油对白血病细胞的抑制率显著高于其他两种药物的抑制率;田吉等^[12]发现青蒿挥发油多相脂质体对白血病细胞 HL-60 抑制率最高达 93.09%,对人肝癌细胞 BEL-7402

抑制率相对较低达 40.00%, 对人白血病细胞 HL-60, 人红白血病细胞 K562, 小鼠黑色素瘤细胞 B-16, 人肝癌细胞 BEL-7402 细胞株这 4 种肿瘤细胞的半抑制浓度 (IC_{50}) 分别为 124.00, 390.14, 391.94, 854.01 $mg \cdot L^{-1}$; 周红等^[13] 用 3 种白血病细胞株 HL-60, U937, K562 分别对莪术油作用敏感性的比较发现, 莪术油对 3 种白血病细胞株均有抑制作用, 其中对 HL-60 细胞的抑制作用最强, 同时对健康的造血细胞有一定的保护作用。

1.2 中药挥发油抑制 K562 细胞增殖 Saab 等^[14] 发现月桂叶和月桂种子挥发油能够有效的抑制人红白血病细胞 K562 细胞的体外增殖, 同时表现出良好的清除自由基和抗氧化活性。有趣的是, 这 2 种挥发油与药物胞嘧啶阿拉伯糖苷的联合用药能显著增加 K562 细胞的体外增殖作用, 其作用机制可能是一些组分协同作用或累积作用; 从黎巴嫩雪松、阿特拉斯雪松和喜马拉雅雪松获得的挥发油, 分别对 K562 细胞测试了细胞增殖作用和诱导红细胞分化作用。这 3 种雪松挥发油抑制 K562 细胞系的增殖 IC_{50} 分别为 (23.38 ± 1.7), (59.37 ± 2.6), (37.09 ± 1.4) $mg \cdot L^{-1}$ 同时 3 种雪松挥发油也表现出明显的诱导分化作用^[15]; 用杜松木材挥发油和种子挥发油对 K562 细胞做抗增殖比较, 同样显示两者对 K562 细胞表现出显著的抑制增殖作用, 其 IC_{50} 分别为 (39.8 ± 2.7), (147.7 ± 3.6) $mg \cdot L^{-1}$ ^[16]。

紫苏醇 (POH) 是黄连木的一种提取物, 其药理作用显示出肿瘤化学预防, 化学治疗和抗血管生成特性, 因此, Loutrari 等^[17] 用黄连木挥发油测试了对 K562 细胞的抗增殖能力和血管生成能力。结果发现, 黄连木挥发油能浓度和时间依赖性地对 K562 细胞产生抗增殖和促凋亡作用, 并抑制 K562 和 B16 小鼠黑色素瘤细胞中血管内皮生长因子 (VEGF) 的释放; 定心藤做为瑶族传统治癌“打药”, 具有良好的抑制肿瘤细胞增殖的作用。曾立等^[18] 用定心藤挥发油作用于 K562 细胞, 研究结果表明其对 K562 生长抑制率达到 99% 以上, 且 $IC_{50} < 10 mg \cdot L^{-1}$, 具有很好的抗增殖活性。随浓度增加其抑制人白血病细胞 K562 活性呈一定的增长趋势; 王满霞等^[19] 发现红毛五加茎皮挥发油能明显抑制 K562 细胞生长效应, 抑制率达 90%, 细胞死亡率 80%, 实验显示 K562 细胞 G_1 期被阻断, 这说明红毛五加茎皮挥发油能够有效地减少蛋白质和进入细胞周期中进行 DNA 复制的时期 S 期所需的前体物质, 阻止 DNA 遗传物质的复制, 从而其他各期遗传物质都受到控

制, 直至达到抑制 K562 细胞增殖; 马鞭草阿尔巴挥发油含有丰富的 γ -石竹烯氧化物, García 等^[20] 发现马鞭草阿尔巴挥发油能显著的抑制 K562 细胞株的增殖, 并且其抗增殖活性的差异与 γ -石竹烯氧化物浓度的变化显著相关。

1.3 中药挥发油抑制其他白血病细胞增殖 Rashid 等^[21] 报道 100 $mg \cdot L^{-1}$ 青蒿挥发油体外针对 4 种人癌细胞系 THP-1 (急性单核细胞白血病细胞), A-549 (肺), HEP-2 (肝脏) 和 Caco-2 (结肠) 显示青蒿挥发油表现出浓度依赖性生长抑制, 其生长抑制率分别为 95%, 72%, 82%, 78%, 在被测试的 4 个细胞系中, 发现 THP-1 细胞系对青蒿挥发油最敏感; 涂云华等^[22] 发现姜黄挥发油对 THP-1 细胞株具有增殖抑制及促凋亡的作用, 其作用的机制可能是使 THP-1 细胞株细胞周期阻滞在 G_1 期, 并且激活了细胞凋亡途径中关键酶半胱天冬酶-3 (Caspase-3) 的活性, 从而抑制了 THP-1 细胞株的增殖与分化; Mitropoulou 等^[23] 报道了柑橘挥发油具有显著的抗 THP-1 增殖活性。杨雨婷等^[24] 发现木香挥发油对人急性髓单核细胞白血病细胞 MV4-11 具有显著的抑制增殖作用, 其 IC_{50} 为 13.33 $mg \cdot L^{-1}$, 木香挥发油作用于 MV4-11 细胞 24 h 后可使细胞核皱缩, 染色质凝聚, 形成明显的凋亡小体, 其作用机制可能与抑制蛋白激酶 B (Akt) 活性进而诱导细胞凋亡效应有关。近年来, 临床药理研究证明苜蓿菜具有抗肿瘤活性, 乔春燕等^[25] 发现苜蓿菜挥发油对人急性 T 淋巴细胞白血病细胞 (Jurkat) 增殖的抑制率随着药物质量浓度增加和作用时间延长而增加。且苜蓿菜挥发油还可诱导 Jurkat 细胞凋亡, 其凋亡率最高为 60.9%。Tilaoui 等^[26] 报道马鞭草醇占青蒿挥发油总量的 22% 左右, 能显著的抑制急性淋巴白血病细胞 (CEM) 的增殖 IC_{50} 为 3 $mg \cdot L^{-1}$; Phutdhawong 等^[27] 报道鹊肾树挥发油对淋巴细胞白血病 P388 有明显的细胞毒性, 但无明显抗氧化活性。

2 中药挥发油诱导白血病细胞凋亡

细胞凋亡, 也被称为细胞程序性死亡, 其特征在于细胞收缩、染色质凝缩、质膜脱落、寡核 DNA 片段化等不同的形态学特征, 并最终将细胞分解成更小的单位 (凋亡小体)^[28]。中药挥发油可通过直接杀伤、细胞周期阻滞、影响凋亡基因表达、诱导分化、提高细胞因子及体内激素水平等途径来诱导白血病细胞凋亡^[29]。因此, 触发白血病细胞凋亡的药物被认为是抗白血病药物的重要组成部分^[30]。

2.1 中药挥发油诱导 HL-60 细胞凋亡 丁香酚是

从桃金娘科植物丁香中分离得到的挥发油的主要成分,已被广泛应用于疾病治疗。Yoo 等^[31]发现丁香酚能有效地诱导 HL-60 细胞凋亡,其作用机制丁香酚通过活性氧(ROS)生成转导细胞凋亡信号,从而诱导线粒体通透性转换(MPT),减少抗凋亡蛋白 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)水平,诱导细胞色素 C 释放到胞浆,并随后凋亡细胞死亡;Masuda 等^[32]报道茵陈蒿挥发油能通过线粒体凋亡途径诱导 HL-60 细胞凋亡,其作用机制可能是通过 JNK 信号传导从而诱导 HL-60 细胞的凋亡;De 等^[33]发现马鞭草挥发油能诱导的 HL-60 凋亡,其作用机制可能与 Caspase-3 的直接激活有关。Kumar 等^[34]报道了曲序香茅挥发油及其主要成分倍半萜异丁二醇(ISO)有诱导人白血病细胞 HL-60 凋亡的能力,二者都能增加 HL-60 细胞线粒体细胞色素 C 蛋白的表达,同时伴随释放到胞质醇导致 Caspase-9 活化,从而暗示了凋亡的内在和外途径的参与。此外,凋亡基因 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)易位和核转录因子(NF)- κ B 表达的减少预测了曲序香茅挥发油和 ISO 的多靶点效应,而两者似乎遵循相似的信号转导途径异丁二醇通过增加人白血病 HL-60 细胞线粒体细胞色素 C 和顶端死亡受体的表达而诱导细胞凋亡;芳樟醇是乌樟挥发油的主要成分,芳樟醇能抑制生长停滞并引起各种人类白血病细胞的凋亡^[35]。Maeda 等^[36]研究的结果表明,乌樟挥发油及其主要化学成分芳樟醇能有效地诱导人白血病 HL-60 细胞凋亡,同时也能抑制 HL-60 细胞增殖;Hirota 等^[37]发现柚子挥发油中的主要成分柠檬烯能诱导 HL-60 细胞凋亡,其可能的作用机制是通过抑制细胞因子、活性氧物质 ROS 产生从而使 HL-60 细胞凋亡;蒋贞贞等^[38]从山苍子、香叶草、丁香和广藿香 4 味中药挥发油,经其配方(7:1:1:1)构成 SC-4 复合精油。观察 SC-4 复合中药挥发油对 HL-60 细胞的作用变化,结果发现 SC-4 复合中药挥发油能破坏核膜,进入核内,能显著使 HL-60 细胞产生凋亡,且其剂量与细胞凋亡呈线性关系。El-Mahdy 等^[39]从传统药用植物黑种草挥发油中分离出主要生物活性成分百里醌,百里醌具有良好的抗肿瘤活性,研究发现百里醌表现出对 HL-60 细胞系抗增殖作用,诱导细胞凋亡,其作用机制可能是通过破坏 HL-60 细胞线粒体膜电位并激活 Caspase-8,9,3。

2.2 中药挥发油诱导 THP-1 细胞凋亡 Tariku 等^[40]报道巴豆果实挥发油能有效地诱导急性单核细胞白血病细胞 THP-1 细胞,其 IC₅₀ 为

10.00 mg·L⁻¹。研究表明,姜黄挥发油有促进 THP-1 细胞凋亡,姜黄挥发油能使 THP-1 细胞核固缩、核边集、核碎裂、核溶解及凋亡小体等典型细胞凋亡现象^[22];薰衣草精油(LEO)是芳香疗法中最受欢迎和最广泛使用的精油之一。许多研究已证明其在镇静,协助睡眠,减轻疼痛和肌肉痉挛及其防腐功能方面的作用;HUANG 等^[41]研究发现,LEO 对人单核细胞 THP-1 有促进其凋亡的作用,其作用机制可能是 LEO 增加脂多糖 LPS 刺激的 THP-1 细胞中的热休克蛋白 70 (HSP70) 表达,从而促进细胞的凋亡。Dar 等^[42]报道香茅挥发油能诱导急性单核细胞白血病细胞 THP-1 细胞凋亡,其 IC₅₀ 是 6.5 mg·L⁻¹;CHAO 等^[43]研究发现肉桂挥发油中的主要成分肉桂醛能抑制脂多糖(LPS)诱导的肿瘤坏死因子(TNF),白细胞介素(IL)-6,IL-1 等细胞因子的产生,从而诱导和促进 THP-1 细胞凋亡。

2.3 中药挥发油诱导其他白血病细胞凋亡 木香挥发油作用于人急性髓单核细胞白血病细胞 MV4-11 细胞 24 h 后可使细胞核皱缩,染色质凝聚,形成明显的凋亡小体。与空白组比较,木香挥发油 G₀/G₁ 期和 G₂/M 期细胞明显减少,S 期细胞明显增多,其作用机制可能与抑制 Akt 活性进而诱导细胞凋亡效应有关^[24];Kilani 等^[44]用噻唑蓝(MTT)比色法体外细胞毒性试验表明,香附挥发油对淋巴白血病细胞株(L1210)是非常有效的。能明显增加 L1210 白血病细胞凋亡 DNA 片段的数量。冯敏等^[45]报道灵芝孢子油对 Jurkat 细胞的诱导凋亡作用有明显的剂量效应关系,灵芝孢子油浓度越高,对 Jurkat 细胞的诱导凋亡率越高,孢子油对 Jurkat 细胞的诱导凋亡作用机制可能与线粒体有关。

3 中药挥发油诱导白血病细胞分化

白血病诱导分化治疗是指白血病细胞在特定诱导分化剂的作用下,按序定向分化并发育成熟,而不是直接杀伤细胞。诱导分化机制主要包括调控细胞周期、抑制原癌基因表达、促进抑癌基因表达、调节相关细胞信号传导系统、改变细胞膜生化特性及调节相关代谢酶活性等。

造血细胞分化异常被认为是白血病发生的重要原因,白血病细胞的诱导分化治疗是白血病治疗研究的一个重要领域,被国外学者称为“中国革命”的全反式维甲酸(ATRA)的研究及其在急性早幼粒细胞性白血病中的应用更推动了国内外诱导分化研究的进展^[2]。但是 ATRA 治疗急性早幼粒细胞性白血病仍然存在维甲酸综合征和维甲酸耐药两大缺

陷,而且 ATRA 诱导分化治疗仅仅对 M3 型急性髓系白血病有效,而且目前除 ATRA,国内外还没有新型诱导分化剂进入白血病的临床治疗^[46],因此,发现新型的诱导分化药物或者治疗策略仍然是目前有关急性白血病治疗的迫切需求。

研究靶向细胞分化机制对恶性血液肿瘤的治疗及转归具有重要意义,近年来中药有效成分诱导恶性血液肿瘤细胞分化在此方面的研究取得诸多进展。研究发现中药挥发油对白血病细胞分化有一定的作用效果。李颢^[11]发现大蒜油作用后,HL-60 向成熟粒细胞分化, Mad 基因表达增强,作用类似于 ATRA。促进细胞增殖 c-Myc 基因表达减弱, Mad 基因表达增强亦证实细胞向成熟分化。髓过氧化物酶 (MPO) 基因在原始粒细胞,早幼粒细胞内高表达,而随着粒细胞成熟分化,其表达水平也降低,大蒜油及 ATRA 作用后, MPO 基因表达明显减弱。Maeda 等^[36]报道乌樟挥发油不仅能促进 HL-60 细胞凋亡,而且能诱导 HL-60 细胞分化。通过 Giemsa 染色和氮蓝四唑还原测定评估了乌樟挥发油和芳樟醇对 HL-60 细胞分化的影响,结果显示两者都能诱导 HL-60 细胞分化成粒细胞或单核细胞。但中药挥发油诱导白血病细胞分化的治疗机制尚未明确,还有待进一步的研究。

4 中药挥发油调节肿瘤免疫微环境

现代临床医学认为,白血病患者存在免疫功能低下,包括 T 淋巴细胞亚细胞群 CD3, CD4 细胞减少, CD8 细胞增多,自然杀伤细胞活性减低、淋巴因子-激活杀伤细胞活性低下等^[2]。许多中药挥发油

如莪术、人参、大蒜和林下参花挥发油等具有调节人体免疫功能、提高自然杀伤细胞和淋巴因子-激活杀伤细胞活性、提高抗白血病能力的作用^[47-48]。

中药挥发油可调节肿瘤免疫微环境,进而抑制白血病细胞生长。大量研究表明,中药挥发油可明显改善机体免疫功能^[49-52]。研究主要分为两个方面,一为刺激免疫细胞增殖,二为刺激免疫细胞分泌相关免疫因子,进而刺激机体免疫应答从而改善免疫功能。Pathania 等^[53]对人白血病细胞系 HL-60 使用柠檬精油进行干预,发现 HL60 细胞停止释放免疫微环境的重要因子趋化因子 4 (CXCR4) 及 Bcl-2 相关 xl 因子 (Bcl-xl), 并明显减缓 HL-60 的增殖;更有文献报道植物精油可抑制肿瘤细胞释放免疫因子并诱导肿瘤细胞凋亡^[54-56]。中医对于白血病的治 疗主要遵从扶正解毒,攻补兼施的原则。将中药植物精油应用于白血病的治 疗上,恰恰符合其扶正原则,遵从中医内外兼治的理念。

5 中药挥发油介导生物学治疗

近些年来研究人员发现生物反应调节剂 (BRM) 对提高急性白血病的疗效有较好的研究前景。BRM 具有特异性地针对白血病细胞的靶点,选择性地去除白血病细胞,能有效克服多药耐药,清除微量残留白血病细胞的特点。如作用于白细胞共同抗原 CD45 的物质以及其他相关生物制品 IL-2, IL-11, VEGF 等在临床上的应用,均显示了较好的疗效。同时研究证实,补益中药也具有介导白血病生物学治疗的作用^[57]。中药挥发油抗白血病机制应用情况见表 1。

表 1 中药挥发油抗白血病机制应用情况

Table 1 Application of essential oil in anti-leukemia mechanism

作用机制	HL-60 白血病细胞	K562 白血病细胞	THP-1 白血病细胞	其他白血病细胞
抑制细胞增殖	高良姜挥发油、大蒜挥发油、青蒿挥发油、莪术挥发油	月桂叶挥发油、月桂种子挥发油、雪松挥发油、杜松挥发油、黄连木挥发油、定心藤挥发油、红毛五加茎皮挥发油、马鞭草阿尔巴挥发油	青蒿挥发油、姜黄挥发油、柑橘挥发油	木香挥发油抑制 MV4-11 细胞、苜蓿菜挥发油抑制 Jurkat 细胞、青蒿挥发油抑制 CEM 细胞、鹊肾树挥发油抑制 P388 细胞
诱导细胞凋亡	丁香挥发油、茵陈蒿挥发油、马鞭草挥发油、曲序香茅挥发油、乌樟挥发油、柚子挥发油、黑种草挥发油	木香挥发油	巴豆果实挥发油、姜黄挥发油、薰衣草精油、香茅挥发油、肉桂挥发油	香附挥发油诱导 L1210 细胞凋亡、灵芝孢子油诱导 Jurkat 细胞凋亡
诱导细胞分化	乌樟挥发油	-	-	-
调节肿瘤免疫微环境	柠檬精油莪术、人参、大蒜和林下参花挥发油	-	-	-

6 问题及对策讨论

由于挥发油具有挥发性,在贮存过程中组分不容易保存,容易失去有效成分,容易导致药效的不稳定,故运用中药挥发油治疗白血病的过程中需采用必要措施提高中药挥发油的稳定性。若为液体制剂,可加入增溶剂、乳化剂等辅料。若为固体制剂,可采用吸附或包合的制剂方法,将其制成软胶囊、微囊或微球等。 β -环糊精包合法是提高中药挥发油稳定性的常用方法,但需注意提高包合率,减少挥发油的损失。必要时,还可在制剂过程中使用充氮、避光、加合适的抗氧化剂等方法提高制剂中挥发油的稳定性。

羟丙基- β -环糊精具有增溶等作用,能够提高精油的稳定性,被越来越多的学者用于研究^[58-60]。环糊精包合技术能够有效提高中药挥发油的稳定性,利于制剂生产的同时还可以提高中药挥发油的生物利用度^[61]。Matshetshe 等^[62]报道了通过离子凝胶化方法合成 β -环糊精修饰的壳聚糖(β -CD/CS)纳米粒子二元体系以控制肉桂挥发油的释放,挥发油的总体释放率为 71%,而挥发油负载的壳聚糖(CS)纳米粒子系统的释放率为 49%。释放机制遵循 Fickian 行为,而体外挥发油释放分析显示持续和控制释放超过 120 h。合成后的 β -环糊精/壳聚糖纳米粒子为提高挥发油的治疗效果提供了一种很有前景的系统。

HU 等^[63]以壳聚糖为原料,通过离子凝胶化反应制备了肉桂-百里香-姜复合挥发油纳米胶囊(CEO-NPs)。GC MS 显示,超过 90% 的挥发油成分被封装到纳米胶囊中,UV 表明 CEO-NPs 能显著的提高挥发油的稳定性,并具有优异的持续释放性能,可以用作潜在的长期天然防腐剂;辛夷挥发油具有抗炎、抑菌、抗病毒等药理作用,临床广泛运用于变应性鼻炎的治疗。崔彩红^[64]运用壳聚糖为辛夷挥发油的载体材料,制备生物黏附性微球,改善了辛夷挥发油制剂的高效稳定性,对进一步提高其临床疗效意义重大。为了改善中药挥发油水溶性差的特点,因此对其进行衍生化,羟丙基 β -环糊精就是其中的一种衍生物;通过高压均质法制备佛手精油纳米乳(O/W 型),提高精油的水溶性、稳定性和生物利用度^[65]。

7 结语

经过多年的实验及临床研究,中药挥发油治疗白血病取得的成就令人欣慰。通过抑制白血病细胞的增殖和干预、调节与细胞凋亡相关因子的表达,

改善白血病细胞的耐药性,提高白血病患者免疫力,与其他化疗药物联合应用能够起到较好的协同用,减轻白血病患者化疗不良反应。中药挥发油治疗白血病有良好的应用前景,应当深入剖析白血病的分子机制,研究相关给药途径和新剂型开发相应的中药挥发油靶向制剂治疗白血病。

尽管中药挥发油治疗白血病取得了不少成果,但需要注意的是单用中药挥发油治疗的临床疗效欠佳,且很多中药挥发油的抗白血病研究还只停留在体外实验研究阶段,其体内作用机制尚不明确、挥发油本身性质不稳定,因此无法准确估算中药挥发油到达机体的有效浓度。所以应用现代分子生物学技术从生化领域、分子生物学、药剂学、高分子材料学等多学科中引入新技术、新方法、新剂型到抗白血病药物的筛选,研制出效果好、不良反应小、稳定可控的中药制剂,来解除患者的病痛,是摆在广大研究者面前的艰巨任务。

中药挥发油不仅可以减轻化疗药的毒副作用,起到减毒增效的作用,同时,运用中西医结合治疗可以极大的提高白血病患者存活率,降低复发率。采用中西医结合方法,将中药挥发油制成安全稳定剂型与化疗药有机结合也是亟待研究的课题。

[参考文献]

- [1] GONG D, LI W, HU L D, et al. Clinical features and prognosis of t (8; 21) AML patients in China: a multicenter retrospective study [J]. J Exp Hematol, 2017, 25(4): 980-986.
- [2] 付亚玲,陈涛. 中医药治疗白血病的研究现状[J]. 中西医结合学报, 2008, 6(8): 867-872.
- [3] 卫月. 癌症病因病机的理论研究及芳香药物的应用探讨[D]. 北京:北京中医药大学, 2010.
- [4] CHANG W L, CHENG F C, WANG S P, et al. Cinnamomum cassia essential oil and its major constituent cinnamaldehyde induced cell cycle arrest and apoptosis in human oral squamous cell carcinoma HSC-3 cells[J]. Environ Toxicol, 2017, 32(2): 456-468.
- [5] Catalani S, Palma F, Battistelli S, et al. Oxidative stress and apoptosis induction in human thyroid carcinoma cells exposed to the essential oil from *Pistacia lentiscus* aerial parts[J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0172138.
- [6] Sharma P R, Mondhe D M, Muthiah S, et al. Anticancer activity of an essential oil from *Cymbopogon flexuosus* [J]. Chem Biol Interact, 2009, 179(2/3): 160-168.
- [7] Periasamy V S, Athinarayanan J, Alshatwi A A. Anticancer activity of an ultrasonic nanoemulsion

- formulation of *Nigella sativa* L. essential oil on human breast cancer cells[J]. *Ultrason Sonochem*, 2016, doi: org/10.1016/j.ultsonch.2016.01.035.
- [8] Celia C, Trapasso E, Locatelli M, et al. Anticancer activity of liposomal bergamot essential oil (BEO) on human neuroblastoma cells [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2013, doi: org/10.1016/j.colsurfb.2013.09.017.
- [9] 王东生, 刘北忠. 中药及其有效成分抗白血病的分子机制[J]. *国际中医中药杂志*, 2007, 29(3): 160-163.
- [10] 李宁, 李文杰, 张庆余, 等. 高良姜挥发油对人 HL-60 细胞株增殖及凋亡的影响[J]. *广东医学院学报*, 2016, 34(6): 599-601, 605.
- [11] 李颢. 鼠尾草酸、大蒜油诱导白血病细胞分化和凋亡及鼠尾草酸逆转耐药研究[D]. 济南: 山东大学, 2005.
- [12] 田吉, 何兵, 冯文字. 青蒿油多相脂质体体外抗肿瘤实验研究[J]. *现代医药卫生*, 2012, 28(14): 2081-2082.
- [13] 周红, 钟毅, 王沁, 等. 莪术油对白血病细胞体外净化作用的实验研究[J]. *华西药学杂志*, 2004(4): 256-260.
- [14] Saab A M, Tundis R, Loizzo M R, et al. Antioxidant and antiproliferative activity of *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) leaves and seeds essential oils against K562 human chronic myelogenous leukaemia cells[J]. *Nat Prod Res*, 2012, 26(18): 1741-1745.
- [15] Saab A M, Lampronti I, Borgatti M, et al. *In vitro* evaluation of the anti-proliferative activities of the wood essential oils of three Cedrus species against K562 human chronic myelogenous leukaemia cells [J]. *Nat Prod Res*, 2012, 26(23): 2227-2231.
- [16] Saab A M, Gali M H, Maietti S, et al. Comparative antiproliferative activities of wood and seeds essential oils of *Juniperus oxycedrus* L. against K562 human chronic myelogenous leukemia cells [J]. *J Essent Oil Res*, 2014, 26(4): 301-307.
- [17] Loutrari H, Magkouta S, Pyriochou A, et al. Mastic oil from *Pistacia lentiscus* var. chia inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis[J]. *Nutr Cancer*, 2006, 55(1): 86-93.
- [18] 曾立, 向荣, 傅春燕, 等. 瑶药定心藤挥发油的抗肿瘤活性研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2013, 21(4): 710-712.
- [19] 王满霞, 张莅峡, 刘红, 等. 红毛五加茎皮挥发油成分对体外培养人白血病粒细胞生物学效应的研究[J]. *中国中药杂志*, 1994, 19(9): 558-560, 576.
- [20] García L T, Leal A F, Moreno é M, et al. Differential anti-proliferative effect on K562 leukemia cells of *Lippia alba* (Verbenaceae) essential oils produced under diverse growing, collection and extraction conditions [J]. *Ind Crop Prod*, 2017, doi: org/10.1016/j.indcrop.2016.11.057.
- [21] Rashid S, Rather M A, Shah W A, et al. Chemical composition, antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil of *Artemisia indica* Willd [J]. *Food Chem*, 2013, 138(1): 693-700.
- [22] 涂云华, 康颖倩, 周英, 等. 姜黄挥发油对 THP-1 细胞增殖及凋亡的影响[J]. *山东大学学报: 医学版*, 2015, 53(5): 46-51.
- [23] Mitropoulou G, Fitsiou E, Spyridopoulou K, et al. Citrus medica essential oil exhibits significant antimicrobial and antiproliferative activity[J]. *Lwt-Food Sci Technol*, 2017, doi: org/10.1016/j.lwt.2017.05.036.
- [24] 杨雨婷, 何育霖, 何贝轩, 等. 木香挥发油诱导人白血病细胞 MV4-11 凋亡及其作用机制的探讨[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(19): 95-99.
- [25] 乔春燕, 姚薇薇, 刘宁. 苜蓿菜挥发油对人白血病 Jurkat 细胞增殖与凋亡的影响[J]. *中草药*, 2009, 40(S1): 179-182.
- [26] Tilaoui M, Mouse H A, Jaafari A, et al. Chemical composition and antiproliferative activity of essential oil from aerial parts of a medicinal herb *Artemisia herba-alba* [J]. *Rev Bras Farmacogn*, 2011, 21(4): 781-785.
- [27] Phutdhawong W, Donchai A, Korth J, et al. The components and anticancer activity of the volatile oil from *Streblus asper*[J]. *Flavour Frag J*, 2004, 19(5): 445-447.
- [28] Earnshaw W C. Nuclear changes in apoptosis[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1995, 7(3): 337-343.
- [29] Nasu K, Nishida M, Kawano Y, et al. Aberrant expression of apoptosis-related molecules in endometriosis: a possible mechanism underlying the pathogenesis of endometriosis[J]. *Reprod Sci*, 2011, 18(3): 206-218.
- [30] Lee K H, Anticancer drug design based on plant-derived natural products [J]. *J Biomed Sci*, 1999, 6(4): 236-250.
- [31] Yoo C B, Han K T, Cho K S, et al. Eugenol isolated from the essential oil of *Eugenia caryophyllata* induces a reactive oxygen species-mediated apoptosis in HL-60 human promyelocytic leukemia cells [J]. *Cancer Lett*, 2005, 225(1): 41-52.
- [32] Masuda Y, Asada K, Satoh R, et al. Capillin, a major

- constituent of *Artemisia capillaris* Thunb. flower essential oil, induces apoptosis through the mitochondrial pathway in human leukemia HL-60 cells [J]. *Phytomedicine*, 2015, 22(5): 545-552.
- [33] De M L, D'Arena G, Minervini M M, et al. Verbena officinalis essential oil and its component citral as apoptotic-inducing agent in chronic lymphocytic leukemia [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2009, 22(4): 1097-1104.
- [34] Kumar A, Malik F, Bhushan S, et al. An essential oil and its major constituent isointermedeol induce apoptosis by increased expression of mitochondrial cytochrome C and apical death receptors in human leukaemia HL-60 cells [J]. *Chem Biol Interact*, 2007, 171(3): 332-347.
- [35] GU Y, TING Z, QIU X, et al. Linalool preferentially induces robust apoptosis of a variety of leukemia cells via upregulating p53 and cyclin-dependent kinase inhibitors [J]. *Toxicology*, 2010, 268(1/2): 19-24.
- [36] Maeda H, Yamazaki M, Katagata Y. Kuromoji (*Lindera umbellata*) essential oil-induced apoptosis and differentiation in human leukemia HL-60 cells [J]. *Exp Ther Med*, 2012, 3(1): 49-52.
- [37] Hirota R, Roger N N, Nakamura H, et al. Anti-inflammatory effects of limonene from yuzu (*Citrus junos* Tanaka) essential oil on eosinophils [J]. *J Food Sci*, 2010, 75(3): 87-92.
- [38] 蒋贞贞, 李海, 郜娟梅, 等. SC-4 复合精油诱导嗜幼粒白细胞凋亡的探索 [J]. *湖北中医药大学学报*, 2016, 18(1): 24-26.
- [39] El-Mahdy M A, ZHU Q Z, WANG Q E, et al. Thymoquinone induces apoptosis through activation of caspase-8 and mitochondrial events in p53-null myeloblastic leukemia HL-60 cells [J]. *Int J Cancer*, 2005, 117(3): 409-417.
- [40] Tariku Y, Hymete A, Hailu A, et al. Constituents, antileishmanial activity and toxicity profile of volatile oil from berries of *Croton macrostachyus* [J]. *Nat Prod Commun*, 2010, 5(6): 975-980.
- [41] HUANG M Y, LIAO M H, WANG Y K, et al. Effect of lavender essential oil on LPS-stimulated inflammation [J]. *Am J Chin Med*, 2012, 40(4): 845-859.
- [42] Dar M Y, Shah W A, Rather M A, et al. Chemical composition, *in vitro* cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil and major constituents of *Cymbopogon jawarancusa* (Kashmir) [J]. *Food Chem*, 2011, 129(4): 1606-1611.
- [43] CHAO L K, HUA K F, Hsu H Y, et al. Cinnamaldehyde inhibits pro-inflammatory cytokines secretion from monocytes/macrophages through suppression of intracellular signaling [J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 46(1): 220-231.
- [44] Kilani S, Ledauphin J, Bouhleb I, et al. Comparative study of *Cyperus rotundus* essential oil by a modified GC/MS analysis method. Evaluation of its antioxidant, cytotoxic, and apoptotic effects [J]. *Chem Biodivers*, 2008, 5(5): 729-742.
- [45] 冯敏, 朱锦龙, 沈建, 等. 灵芝孢子油诱导 Jurkat 细胞凋亡作用的研究 [J]. *亚太传统医药*, 2005(2): 160-163.
- [46] 申星. 天然小分子化合物 Vibsanin A 联合酪氨酸激酶抑制剂诱导急性髓系白血病细胞分化的作用与机制研究 [D]. 北京: 军事科学院, 2018.
- [47] 赵铁建, 傅品悦, 刘露露, 等. 中药莪术几种活性成分对肝脏疾病防治作用的机制 [J]. *世界华人消化杂志*, 2017, 25(27): 2433-2440.
- [48] 徐晓浩, 孙立伟, 姜锐. 林下参挥发油化学成分及其抗肿瘤细胞增殖活性研究 [J]. *北华大学学报: 自然科学版*, 2017, 18(1): 38-42.
- [49] HAN X, Parker T L. Anti-inflammatory activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) essential oil in human dermal fibroblasts [J]. *Pharm Biol*, 2017, 55(1): 1619-1622.
- [50] HAN X, Parker T L. Anti-inflammatory activity of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) bark essential oil in a human skin disease model [J]. *Phytoth Res*, 2017, 31(7): 1034-1038.
- [51] Manaharan T, Thirugnanasampandan R, Jayakumar R, et al. Antimetastatic and anti-inflammatory potentials of essential oil from edible *Ocimum sanctum* leaves [J]. *Sci World J*, 2014, 2014: 239508.
- [52] Felhi S, Chaaibia M, Bakari S, et al. Anti-microbial screening and cytotoxic activity of aerial part of *Thymelaea hirsuta* L. essential oil growing in south-west Tunisia [J]. *Pak J Pharm Sci*, 2017, 30(1): 87-91.
- [53] Pathania A S, Guru S K, Verma M K, et al. Disruption of the PI3K/Akt/mTOR signaling cascade and induction of apoptosis in HL-60 cells by an essential oil from *Monarda citriodora* [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, doi: 10.1016/j.fct.2013.08.037
- [54] Serafino A, Sinibaldi V P, Andreola F, et al. Stimulatory effect of *Eucalyptus essential* oil on innate cell-mediated immune response [J]. *BMC Immunol*, 2008, doi: 10.1186/1471-2172-9-17.
- [55] JIANG J, XU H G, WANG H T, et al. Protective effects of lemongrass essential oil against benzo(a)pyrene-induced oxidative stress and DNA damage in human embryonic lung fibroblast cells [J]. *Toxicol Mech*

- Methods, 2017, 27(2): 121-127.
- [56] Elmann A, Mordechay S, Rindner M, et al. Protective effects of the essential oil of *salvia fruticosa* and its constituents on astrocytic susceptibility to hydrogen peroxide-induced cell death [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(15): 6636-6641.
- [57] 黄海茵, 于尔辛. 中药对 NK、LAK 细胞及 IL-2 活性的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 1993(4): 253-255.
- [58] LI J, ZHANG S, ZHOU Y, et al. Inclusion complexes of fluconazole with β -cyclodextrin and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin in aqueous solution; preparation, characterization and a structural insight [J]. *J Incl Phenom Macro*, 2016, 84(3/4): 209-217.
- [59] Kfoury M, Lounès-Hadj Sahraoui A, Bourdon N, et al. Solubility, photostability and antifungal activity of phenylpropanoids encapsulated in cyclodextrins [J]. *Food Chem*, 2016, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.09.078.
- [60] YUAN C, LU Z F, JIN Z Y. Characterization of an inclusion complex of ethyl benzoate with hydroxypropyl- β -cyclodextrin [J]. *Food Chem*, 2014, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.11.139.
- [61] 杜丽, 张佳彦, 李菲, 等. 中药挥发油临床抑菌作用及其环糊精制剂研究概况 [J]. *药学实践杂志*, 2017, 35(5): 394-397.
- [62] Matshetshe K I, Parani S, Manki S M, et al. Preparation, characterization and *in vitro* release study of β -cyclodextrin/chitosan nanoparticles loaded *Cinnamomum zeylanicum* essential oil [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 118(PtA): 676-682.
- [63] HU J, ZHANG Y, XIAO Z, et al. Preparation and properties of cinnamon-thyme-ginger composite essential oil nanocapsules [J]. *Ind Crop Prod*, 2018, doi: org/10.1016/j.indcrop.2018.05.058.
- [64] 崔彩红. 辛夷挥发油壳聚糖微球鼻用制剂的研究 [D]. 广州: 广东药科大学, 2017.
- [65] 孙小涵, 寇兴然, 吕文平, 等. 金华佛手精油纳米乳制备及其对 HT-29 细胞体外增殖的抑制作用 [J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(18): 144-149.

[责任编辑 张丰丰]