

藏药余甘子抗肿瘤作用研究进展*

吴玲芳,张家莹,李 师,陈文静,梁文仪,崔亚萍,亓 旗,石任兵,张兰珍**

(北京中医药大学中药学院 北京 100102)

摘 要: 余甘子为一种常用藏药,具有良好的抗肿瘤活性,在多个国家的传统民族药中作为抗癌药物使用。余甘子含有多种抗癌活性成分,其水提物抗癌活性极为明显,本文对余甘子中单体成分及提取物的抗癌药理作用及作用机制进行综述,为余甘子抗肿瘤药物研究和开发提供参考。

关键词: 藏药 余甘子 抗肿瘤 作用机制

doi:10.11842/wst.2016.07.016 中图分类号:282 文献标识码:A

余甘子为大戟科叶下珠属植物余甘子 *Phyllanthus emblica* L. 的干燥成熟果实,为多个民族的传统用药,在藏药中应用最为广泛,藏医经典方剂中大多均含有余甘子^[1]。藏医认为具有清血平逆、消积健脾、生津止咳功效,在传统藏医药临床实践中主要用于治疗血病,培根病,赤巴病,高血压,消化不良,腹胀,咳嗽,骨节不利等消化系统、血液循环系统、呼吸道和关节骨骼的相关疾病。

余甘子中富含鞣质类、酚酸类、黄酮类和生物碱类等成分,其中鞣质类成分具有较强的抗肿瘤作用,例如柯里拉京、老鹳草素、诃子酸、诃黎勒酸等。余甘子能够抑制多种癌症的发生和发展,如乳腺癌、胰腺癌、肝癌、宫颈癌、胃癌以及恶性腹水等,并能够减轻化疗和放疗所带来的毒副作用。目前对余甘子的报道多集中在化学成分分离、总酚提取工艺、总成分含量以及单体成分含量测定等方面。对于余甘子化学成分及提取物抗癌药理作用的综述目前还未见报道。本文对其抗癌作用及机制进行总结,为余甘子的后续研究提供参考。

1 余甘子中主要单体成分的抗肿瘤作用

1.1 柯里拉京

体外实验结果显示柯里拉京对人鼻咽癌细胞 KB、卵巢癌细胞 A2780、骨肉瘤细胞 OS-732、结肠癌细胞 HCT-8 和人肺腺癌细胞 A549 等有显著的生长抑制作用,其 IC_{50} 分别为 1.20、0.25、7.42、9.08、8.25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,体内实验研究结果显示柯里拉京能够抑制小鼠肝癌 H22 肿瘤生长,抑瘤率为 52.70%,对小鼠淋巴细胞白血病 P388 有一定抑制作用,21.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $ip \times 13$,小鼠生命延长率为 55.3%;对小鼠路易斯肿瘤、裸鼠移植人 HCT-8、OS-732 也显示出较好的抑制作用^[2]。

1.2 老鹳草素

研究发现老鹳草素可诱导人黑色素瘤细胞 A2058 发生凋亡,其诱导肿瘤细胞凋亡与其通过上调 Fas 配体的表达从而裂解粘附斑激酶有关^[3]。Li 等^[4]研究发现老鹳草素可抑制人肺癌细胞 A549 增殖,且此抑制作用呈剂量和时间依赖关系。

1.3 诃子酸

Yi 等^[5]研究发现诃子酸具有明显的抗白血病作用,对人类白血病细胞 K562 为 40 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。Lu 等^[6]研究发现诃子酸能够明显的抑制动物的恶性肿瘤生

收稿日期 2016-06-19

修回日期 2016-06-19

* 国家自然科学基金面上项目(81274187)·基于藏药余甘子酚酸类成分体内动态变化的抗癌药效物质与质量控制,负责人:张兰珍,北京市教育委员会科技成果转化与产业化项目,北京中医药大学科研创新团队(2011-CXTD-12),负责人:石任兵。

** 通讯作者:张兰珍,本刊编委,研究员,博士生导师,主要研究方向:中药药效物质和质量控制研究。

长。Yi 等^[7]研究发现诃子酸具有明显的抗宫颈癌作用。Prakash 等^[8]研究发现诃子酸具有明显的抗结肠癌 HT-29 细胞作用。

1.4 诃黎勒酸

Kumarm 等^[9]研究发现诃黎勒酸能抑制眼癌细胞的生长。Athira 等^[10]能够通过抑制血管内皮生长因子抑制肿瘤细胞生长。Chuang 等^[11]研究发现诃黎勒酸能明显抑制肝细胞 HSC-T6 的生长。

2 余甘子提取物的抗癌作用

研究表明余甘子提取物无论体内还是体外均可抑制多种肿瘤细胞的增殖,如人肺癌细胞、肝癌细胞、宫颈癌细胞、乳腺癌细胞、卵巢癌细胞、结直肠癌腺癌细胞等,但其对正常的肺成纤维细胞没有细胞毒性^[12]。

Yahayo 等^[13]研究发现余甘子水提物体外可抑制人纤维肉瘤细胞(HT 1080)的增殖、迁移、侵袭和粘附。王飞^[14]发现余甘子总酚酸可诱导肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡。余甘子多酚提取物还可诱导 Dalton 淋巴腹水癌细胞和 CeHa 细胞系细胞发生凋亡^[15]。朱英环等^[16]研究余甘子总酚酸和总黄酮不同配伍比例对肝癌细胞 Hep G2 的抑制作用,发现总酚酸比总黄酮 1:10 时抑制率最高,为 60.35%。罗春丽^[17]研究发现余甘子新鲜果汁冷冻干燥后药粉在抑制肿瘤增殖的同时,对免疫器官有很好的保护作用。Mahata 等^[18]研究发现余甘子提取物可抑制可抑制人宫颈癌细胞增殖。余甘子果汁和粉末均可阻断体内 NPRO 的合成,阻断率分别为 100%、96.29%^[19]。余甘子提取物对于 N-亚硝基二乙胺(NDEA)诱发的癌症防治效果同样很显著,余甘子可以 100% 的预防 NDEA 诱发的肝癌,并且余甘子给药组小鼠的肝脏形态较模型组小鼠有很好的保持^[20]。此外,余甘子对于强致癌物亚硝胺的预防效果也很显著^[21]。黄清松等^[22]研究表明,余甘子水提物对 S-180 和 H-22 小鼠异种移植肿瘤的生长也有明显的抑制效果。余甘子水提物可减少道尔顿淋巴瘤腹水瘤异体移植后的小鼠的腹水的产生,并能减小固体瘤的体积,增加肿瘤小鼠的生命延长期^[23]。余甘子叶提取物对多种类型癌细胞株均有抑制作用,如对宫颈癌细胞株 HeLa、白血病细胞株 L1210 和 P388D1、胃癌细胞株 SGC7901、神经肿瘤细胞株 NG108-15、黑色素瘤细胞株 B16、肝癌细胞株 Bel-7404 等肿瘤细胞

的增殖均有不同程度的抑制作用^[24]。

3 余甘子提取物与其他药物联用

余甘子提取物与化疗药物联合使用可以表现出化疗药物单独使用时不具备的功效。余甘子提取物与顺氯氨铂组合处理卵巢癌细胞时,两种药物联合应用抑制卵巢癌细胞增值的疗效要显著强于单独使用余甘子提取物或者顺氯氨铂^[25]。

余甘子提取物与传统的化疗药物联合使用时,可降低后者在化疗时所需的剂量。余甘子提取物与阿霉素及顺铂氯氨按一定比例组合使用后,可使阿霉素及顺铂氯氨对人肝癌细胞 Hep G2 和人肺癌细胞 A549 的有效剂量大大降低,并且所用剂量范围越大下降幅度就越大^[26]。

余甘子提取物与其他化疗药物联合使用时,除能协同增效外,还可降低化疗药物的毒副作用。余甘子水提取物可以有效的减弱由环磷酰胺导致的体液免疫抑制作用,并减轻由环磷酰胺带来的肾脏氧化性损伤^[27]。Kalpaamruthaa (KA) 是一种印度草药复方,由余甘子 *Embllica officinalis*、鸡腰肉托果 *Semecarpus anacardium* Linn 及蜂蜜按不同比例组合而成。国外学者研究表明含有余甘子的 KA 具有显著的抗乳腺癌的功效^[28]。

4 余甘子抗肿瘤作用机制研究

余甘子是一种极具潜力的食用和药用资源,大量临床前研究表明余甘子具有防癌和抗癌的作用,目前已从多个方面阐明了余甘子抗肿瘤活性物质的作用机制。

4.1 诱导肿瘤细胞凋亡

目前大多数学者认为,肿瘤是一种细胞凋亡过少而增殖过于旺盛的疾病,若能抑制肿瘤细胞增殖并诱导其发生凋亡,肿瘤就有可能停止生长。研究发现丝裂原活化的蛋白激酶(MAPK)信号转导通路与肿瘤细胞凋亡密切相关^[29]。在哺乳动物细胞中主要有三组 MAPK 信号通路:细胞外信号调节激酶(ERK1/2)、c-Jun 氨基端激酶/应激活化蛋白激酶(JNK/SAPK)、p38 激酶同工酶^[29]。在 MAPK 家族中,ERK1/2 是最先被发现的经典 MAPK 信号传导途径,ERK 的持续激活可阻止细胞凋亡的发生^[30],因而抗肿瘤药物可以通过下调 ERK 的活化水平来诱导肿瘤细胞凋亡进而发挥抗肿瘤作用。JNK 有 3 种异构

体 JNK1、JNK2 和 JNK3。JNK 可受多种细胞外刺激而激活,这些刺激包括肿瘤坏死因子、白细胞介素-1、紫外线照射和缺血/再灌注损伤等。研究表明 JNK 激活后可促进转录因子 c-Jun、ATF-22、Elk21 等的磷酸化而促进凋亡,阻止 JNKs 活化可以使细胞存活^[31]。没食子酸可通过下调 ERK/p-ERK 信号通路的表达来抑制人宫颈癌细胞 HeLa 和 HTB-35 细胞的增殖和小管形成。此外没食子酸可通过下调 ERK1/2 的活化水平来抑制两种人成骨肉瘤细胞系 U-2OS 和 MNNG/HOS 的增殖^[32]。penta-1,2,3,4,6-O-galloyl- β -D-glucose 可以通过激活 MAPK8/9/10 和 JNK 信号通路来诱导 HepG2、MCF-7 和 A549 等肿瘤细胞发生自噬从而诱导肿瘤细胞发生凋亡^[33]。

4.2 肿瘤细胞周期阻滞

从余甘子中分离出来的 Progalin A 具有诱导肿瘤细胞凋亡的作用与其诱导 G1/M 和 G2/M 细胞周期阻滞从而抑制人肝癌细胞 BEL-7404 细胞增殖和诱导细胞凋亡的作用^[34]。余甘子能使肿瘤细胞 SMMC-7721 发生 S 期阻滞,影响细胞周期的正常进程,从而诱导细胞凋亡^[35]。

4.3 抑制肿瘤转移

转移是恶性肿瘤的基本生物学特征,也是临床绝大多数恶性肿瘤患者治疗失败和死亡的主要原因,防止转移是改善肿瘤预后的关键。基质金属蛋白酶(MMP)对肿瘤对于肿瘤细胞的转移来说是一种关键的酶,MMP 可以为肿瘤提供生长信号、抑制受体介导和淋巴细胞介导的细胞凋亡,促进肿瘤演进、血管再生、扩散和转移以及加速转移生态位的形成^[36]。余甘子可以抑制人纤维肉瘤 HT 1080 细胞增殖、迁移、侵袭和粘附,进一步研究其抗肿瘤的分子机制表明,余甘子的上述抗肿瘤转移的作用与抑制肿瘤细胞内关键酶 MMP-2 和 MMP-9 的表达有关^[34]。

4.4 抑制肿瘤血管生成

肿瘤转移的每一步都与微血管的形成密切相关,实体瘤只有具备了血管形成表型后才能恶性生长和成功发生转移^[37]。转移的肿瘤细胞必须建立

有自己的血管网络从而打破宿主的内在微环境的平衡,而且,在肿瘤转移这个动态连续过程中,微血管的生成贯穿了这一过程的始终。因此,微血管的形成是肿瘤侵袭和转移的关键,肿瘤血管成为肿瘤治疗的合理靶点。没食子酸对人胎盘静脉血管生成模型(HPVAM)血管发生及新生血管的生长均具有抑制作用,并且呈剂量依赖性^[38]。

4.5 调节机体免疫力

通常情况下癌症患者的免疫功能均受到不同程度的抑制,机体大都处于免疫抑制状态。免疫功能低下有利于肿瘤的生长,而肿瘤不断生长又会进一步抑制机体的免疫功能。自然杀伤细胞(NK)是一类具有细胞毒性的淋巴细胞,它无需抗原致敏就能自动杀伤靶细胞,NK 在抗肿瘤免疫中起到了重要作用,肿瘤组织中 NK 的活性要明显低于正常组织。在给接种了道尔顿淋巴瘤腹水的免疫缺陷小鼠每日喂食余甘子(20 mg·kg⁻¹ 体重)后的 3-7 天内可以显著增强 NK 的活性,7-13 天内该小鼠的生命延长率为 35%。但是先用环磷酰胺清除免疫缺陷小鼠体内的 NK,然后再植入道尔顿淋巴瘤腹水,再喂食余甘子后则无上述现象出现^[39]。

4.6 调节相关基因表达

肿瘤相关基因异常表达的长期积累是癌变过程中的重要环节,调节肿瘤相关基因的表达是治疗恶性肿瘤的一种重要手段。柯里拉京可通过定向抑制 TGF- β /AKT/ERK/Smad 信号通路的传导而发挥其抑制卵巢癌细胞生长的作用^[2]。

5 结语

余甘子多种单体成分和提取物具有明显的抗肿瘤活性,提取物与其他抗肿瘤药物联合应用还可提高化疗药物的抗肿瘤活性,具有增效减毒作用,或者产生新的活性。在传统藏药中余甘子主要以复方形式出现,余甘子抗肿瘤作用目前多集中在单体成分的体内外抗肿瘤活性和作用机制研究。将藏医药理论与现代药理研究相结合,对余甘子提取物和复方进行抗癌作用和机制研究,将为藏药的合理开发与利用提供依据。

参考文献

- 贾敏如, 李星炜. 中国民族药志要. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 456-457.
- 刘朝阳, 王德昌, 陈玉武, 等. 柯里拉京抗肿瘤作用的研究. 肿瘤防治研究, 2002, 29(5): 356-358.
- Lee J C, Tsai C Y, *et al.* Geraniin-mediated apoptosis by cleavage of focal adhesion kinase through up-regulation of Fas ligand expression in human melanoma cells. *Mol Nutr Food Res*, 2008, 52(6): 655-663.
- Li J, Wang S, Yin J M, *et al.* Geraniin induces apoptotic cell death in human lung adenocarcinoma A549 cells in vitro and in vivo. *Can J Physiol Pharmacol*, 2013, 91(12): 1016-1024.
- Yi Z C, Wang Z, Li H X, *et al.* Effects of chebulinic acid on differentiation of human leukemia K562 cells. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2004, 2: 231-238.
- Lu K, Chakroborty D, Sarkar C, *et al.* Triphala and its active constituent chebulinic acid are natural inhibitors of vascular endothelial growth factor—a mediated angiogenesis. *PLoS One*, 2012, 7(8): 906-907.
- Yi Z C, Liu Y Z, Li H X, *et al.* Tellimagrandin I enhances gap junctional communication and attenuates the tumor phenotype of human cervical carcinoma HeLa cells in vitro. *Cancer Letters*, 2006, 242(1): 77-78.
- Prakash D V S, Satyanandam S. In-vitro anti-cancer study of chebulinic acid on colon adenocarcinoma HT-29 cell lines. *Int J Clin Pharm-Net*, 2013, 5(2): 582-583.
- Kumarm N, Gangappa D, Gupta G, *et al.* Chebulagic acid from Terminalia chebula causes G1 arrest, inhibits NF κ B and induces apoptosis in retinoblastoma cells. *BMC Complem Altern*, 2014, 14(1): 319-328.
- Athira A P, Helen A, Saja K, *et al.* Inhibition of Angiogenesis In Vitro by Chebulagic Acid: A COX-LOX Dual Inhibitor. *Int J Vasc Med*. 2013/843897
- Chuang, H Y, Ng, L T, Lin L T, *et al.* Hydrolysable tannins of tropical almond show antifibrotic effects in TGF- β 1-induced hepatic stellate cells. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2011, 91(15): 2777-2784.
- Tan M L, Sulaiman S F, Najimuddin N, *et al.* Methanolic extract of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae) induces apoptosis in breast carcinoma, T47-D cell line. *J Ethnopharmacol*, 2005, 96: 287-294.
- Yahayo W, Supabphol A, Supabphol R. Suppression of human fibrosarcoma cell metastasis by phyllanthus emblica extract in vitro. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(11):6863-6867.
- 王飞. 余甘子抗癌化学物质组分及作用机制研究. 沈阳: 辽宁中医药大学博士学位论文, 2011.
- Rajeshkumar N V, Pillai M R, Kuttan R. Induction of apoptosis in mouse and human carcinoma cell lines by Emblica officinalis polyphenols and its effect on chemical carcinogenesis. *J Exp Clin Cancer Res*, 2003, 22(2): 201-212.
- 朱英环, 孟宪生, 包永睿, 等. 余甘子总酚酸和总黄酮配伍抑制肝癌细胞增殖及对免疫功能的调节作用. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3): 132-135.
- 罗春丽. 余甘子对肿瘤细胞抑制作用及免疫调节的研究. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(3): 155-157.
- Mahata S, Pandey A, Shukla S, *et al.* Anticancer Activity of *Phyllanthus emblica* Linn. (Indian Gooseberry): Inhibition of transcription factor AP-1 and HPV gene expression in cervical cancer cells. *Nutrition and Cancer*, 2013, 65 : 88-97.
- 梁学军. 余甘子果汁和粉末阻断大鼠体内 N-亚硝基脯氨酸合成. 广西热作科技, 1990(2): 8-11.
- Jeena K J, Joy K L, Kuttan R. Effect of Emblica officinalis, Phyllanthus amarus and Picrorrhiza kurroa on N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis. *Cancer lett*, 1999, 136(1): 11-16.
- Baliga M S, Dsouza J J. Amla. (Emblica officinalis Gaertn), a wonder berry in the treatment and prevention of cancer. *Eur J Cancer Prev*, 2011, 20(3): 225-239.
- 黄清松, 林元藻, 李红枝. 余甘子抗突变和抗肿瘤作用实验研究. 实用医学杂志, 2007, 14(25): 3456-3457.
- Jose J K, Kuttan G, Kuttan R. Antitumour activity of Emblica officinalis. *J Ethnopharmacol*, 2001, 75: 65-69.
- 曾春兰, 钟振国. 余甘子叶提取物体外抗肿瘤作用研究. 时珍国医国药, 2008, 19(3): 580-583.
- De A, De A, Papasian C, *et al.* Emblica officinalis extract induces autophagy and inhibits human ovarian cancer cell proliferation, angiogenesis, growth of mouse xenograft tumors. *PLoS One*, 2013, 8(8): 1-16.
- Pinmai K, Chunlaratthanabhorn S, Ngamkitidechakul C, *et al.* Synergistic growth inhibitory effects of *Phyllanthus emblica* and Terminalia bellerica extracts with conventional cytotoxic agents: doxorubicin and cisplatin against human hepatocellular carcinoma and lung cancer cells. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(10): 1491-1497.
- Haque R, Bin-Hafeez B, Ahmed I, *et al.* Protective effect of *Emblica officinalis* Gaertn. in cyclophosphamid treated mice. *Hum Exp Toxicol*, 2001, 20(12): 643-650.
- Johnson G L, Lapadat R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science*, 2002, 298(5600): 1911-1920.
- Akasaka E, Takekoshi S, Horikoshi Y, *et al.* Protein oxidative damage and heme oxygenase in sunlight-exposed human skin: Role of MAPK responses to oxidative stress. *Tokai J Exp Clin Med*, 2010, 35(4): 152-164.
- Huh J E, Kang K S, Chae C, *et al.* Roles of p38 and JNK mitogen-activated protein kinase pathways during cantharidin-induced apoptosis in U937 cells. *Biochem Pharmacol*, 2004, 67(10): 1811-1818.
- Cano E, Mahaddevan L C. Parallel signal processing among mammalian MAPKs. *Trends Biochem Sci*, 2007, 20:117.
- Zhao B, Hu M. Gallic acid reduces cell viability, proliferation, invasion

- and angiogenesis in human cervical cancer cells. *Oncol Lett*, 2013, 6(6): 1749–1755.
- 33 Liang C Z, Zhang X, Li H, *et al*. Gallic acid induces the apoptosis of human osteosarcoma cells *in vitro* and *in vivo* via the regulation of mitogen- activated protein kinase pathways.. *Cancer Biother Radiopharm*, 2012, 27(10): 701–710.
- 34 Dong Y, Yin S, Jiang C, *et al*. Involvement of autophagy induction in penta-1,2,3,4,6-O-galloyl- β -D-glucose-induced senescence-like growth arrest in human cancer cells. *Autophagy*, 2014, 10(2): 296–310.
- 35 Zhong Z G, Wu D P, Huang J L, *et al*. Progallin A isolated from the acetic ether part of the leaves of *Phyllanthus emblica* L. induces apoptosis of human hepatocellular carcinoma BEL-7404 cells by up-regulation of Bax expression and down-regulation of Bcl-2 expression. *J Ethnopharmacol*, 2011, 133(2):765–772.
- 36 Kai K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*, 2010, 141(1): 52–67.
- 37 Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*, 1996, 86(3): 353–364.
- 38 季秀梅. 中药叶下珠抗血管生成作用的筛选及机理研究. 南京: 南京中医药大学, 2010.
- 39 Suresh K, Vasudevan D M. Augmentation of murine natural killer cell and antibody dependent cellular cytotoxicity activities by *Phyllanthus emblica*, a new immunomodulator. *J Ethnopharmacol*, 1994, 44(1): 55–60.

A Research Progress on the Anti-Tumor Effects of Components in *Phyllanthus Emblica* L.

Wu Lingfang, Zhang Jiaying, Li Shi, Chen Wenjing, Liang Wenyi, Cui Yaping, Qi Qi, Shi Renbing, Zhang Lanzhen
(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract: *Phyllanthus emblica* L. is related to traditional tibetan medicine, containing diversified pharmacological and physiological functions, such as anti-tumor effects, anti-inflammatory effects, anti-oxidation funtions, slow down in glycemia and blood pressure and the prevention of cardio-cerebral vascular diseases, etc. In this study, the research progress on the anti-tumor efficacy of monomer compounds and the extraction of *Phyllanthus emblica* L. were reviewed, providing references for the anti-tumor studies of *Phyllanthus emblica* L.

Keywords: Tibetan medicine, *Phyllanthus emblica* L., anti-tumor, research progress

(责任编辑 :姜月滢 ,责任译审 :朱黎婷)