

棉酚的药理作用研究

郭 忠, 赵 晋, 马建秀

(西北民族大学 医学院, 甘肃 兰州 730030)

摘要: 棉酚(gossypol)是一种天然黄色多酚类化合物,主要存在于棉花的根、茎和种子中。最早作为一种男性节育药为人们所熟知,后又试用于治疗女性激素依赖性疾病,包括子宫内膜异位症、子宫肌瘤、功能失调性子宫出血和痛经等。进一步研究发现,棉酚具有多种生物活性,如抗炎、抗疟、抗病毒及抗氧化等,尤其是具有明显的诱导肿瘤细胞凋亡的能力。

关键词: 棉酚; 药理作用; 抗肿瘤

中图分类号: R 730 文献标志码: A

Progress in pharmacological action of gossypol

GUO Zhong, ZHAO Jin, MA Jian-xiu

(Medical College of Northwest University for Minorities, Lanzhou 730030, China)

Abstract: Gossypol is a kind of yellow polyphenolic compounds extracted from root, stem and seed of the cotton plant. It had received significant attention for its potential application as a male antifertility agent. Then it was used to treat female hormone-dependent diseases, for instance, endometriosis, hysteromyoma, uterine bleeding and dysmenorrheal. Current recent researches showed that gossypol has multiple biological activities, such as anti-inflammatory, antimalarial, antiviral, antioxidant activities and so on, especially the activity to induce tumor cell apoptosis.

Key words: gossypol; pharmacological action; anti-cancer

棉酚(gossypol)是一种天然黄色多酚羟基双萜醛类化合物,主要存在于锦葵科植物棉花的根、茎和种子中。1886 年首先发现,1889 年第一次从棉籽中提取棉酚,1938 年阐明其化学结构,分子质量为 518($C_{30}H_{30}O_8$)。棉酚是我国科学家首先于 20 世纪 60 年代发现的一种男性节育药,为人们所熟知。后又试用于治疗女性激素依赖性疾病,包括子宫内膜异位症、子宫肌瘤、功能失调性子宫出血和痛经等。近年来研究发现,棉酚具有多种生物活性,如抗炎、抗疟、抗病毒及抗氧化等,尤其是棉酚具有明显的诱导肿瘤细胞凋亡的能力^[1],在世界范围掀起了研究的热潮。现对棉酚的药理作用进展做一综述。

1 棉酚的抗肿瘤作用

1.1 抑制肿瘤细胞生长

线粒体是细胞的能量工厂,是真核细胞生存的基础。越来越多的实验证据表明,线粒体是细胞凋亡调控的活动中心。诱变剂、化疗药物和电离辐射均可造成细胞内不可修复的基因组损伤,激活凋亡的内源通路,即线粒体通路^[2]。超微结构研究表明,棉酚可引起线粒体肿胀,嵴断裂、固缩、消失等形态学的改变。棉酚可通过乳酸脱氢酶(LDH)同工酶 5 型抑制线粒体的氧化磷酸化和电子传递作用,高浓度的棉酚还可抑制线粒体 ATP 酶活性,减少糖

酵解。棉酚能够与呼吸链中的丙酮酸、苹果酸、琥珀酸相作用,诱导 NAD 和细胞色素 b 的氧化状态,引起磷酸单脂、双脂水平下降及辅酶 I、II 上升,从而抑制细胞的能量代谢和磷脂代谢作用,导致细胞死亡^[3]。棉酚通过作用于核酶如抑制 DNA 聚合酶、拓扑异构酶 II 的活性来抑制肿瘤细胞 DNA 合成,引起 DNA 断裂形成 DNA 片段^[1]。使用棉酚处理子宫内瘤细胞系的结果显示,子宫内瘤细胞被 25 和 50 nmol/L 棉酚抑制;10 μ mol/L 的棉酚可以抑制细胞的呼吸作用;用 10 和 0.3 μ mol/L 棉酚处理子宫内瘤细胞后,在细胞中检测到累积的棉酚。证明棉酚对培养的子宫内瘤细胞有一定的毒性^[4]。

1.2 抗增殖作用

棉酚存在右旋棉酚和左旋棉酚 2 种光学异构体,其中左旋棉酚是其主要活性成分。由于左旋棉酚比醋酸棉酚毒性低、活性高,目前已成为抗肿瘤药物研究的热点。将不同浓度的左旋棉酚与醋酸棉酚作用于人前列腺癌 PC-3 和 DU-145 细胞,结果显示,左旋棉酚抑制 2 种癌细胞的效果大约是醋酸棉酚的 3 倍;左旋棉酚诱导 PC-3 和 DU-145 细胞凋亡的效果明显,且随药物作用时间的延长凋亡率增加。认为左旋棉酚具有很好的抗前列腺癌效果,可作为潜在的小分子抗肿瘤抑制剂^[5]。

1.3 诱导肿瘤细胞凋亡

BCL-2 家族成员均含有 BH3 结构域,因此,左旋棉酚作为非选择性 BH3 类似物,可以与 BCL-2 家族中各种成员的 BH3 结合域结合,Oliver 等^[6]通过实验证明,左旋棉酚不但能够特异性结合在细胞内 BCL-2/BCL-xl 蛋白的 BH3 位点,取代与之结合的促凋亡蛋白如 BAX/BAK,直接发挥抑制 BCL-2/BCL-xl 活性的作用,还能够直接与促凋亡蛋白如 BAK 的 BH3 位点相结合,由于 BAK 蛋白存在于线粒体外膜,被左旋棉酚激活后,便迅速在线粒体外膜寡聚化,破坏线粒体膜的完整性,释放细胞色素 C 等促凋亡因子,从而激活 caspase 诱导细胞凋亡。Balakrishnan 等^[7]的实验也证实,棉酚作为一种 BH3 类似物,通过与抗凋亡蛋白的结合诱导慢性淋巴细胞白血病细胞的凋亡。醋酸棉酚能有效抑制人宫颈癌 HeLa 细胞的增殖,且呈剂量-时间依赖性。表明醋酸棉酚能促进 HeLa 细胞中 BAX 蛋白的表达并降

低 BCL-2 蛋白的表达水平,推测醋酸棉酚可能通过调节 BAX 及 BCL-2 蛋白表达促进细胞凋亡。醋酸棉酚能够激活 caspase23、caspase28、caspase29,故推测醋酸棉酚可能通过激活 caspase 家族凋亡相关激酶诱导细胞凋亡,其途径可能与线粒体途径及死亡受体途径相关^[8]。有研究也表明,醋酸棉酚具有促进人鼻咽癌 CNE2 细胞凋亡的作用,检测结果证实,CNE2 细胞存在 BCL-2 基因高表达,醋酸棉酚能够抑制抗凋亡因子 BCL-2 的表达并上调促凋亡因子 BAX 的表达水平,说明醋酸棉酚的抗肿瘤作用机制可能是通过干预凋亡相关基因表达实现的^[9]。

活性氧 (ROS) 可通过细胞脂质过氧化、损伤 DNA 分子、调节细胞凋亡相关基因诱导细胞凋亡。最近研究提出,ROS 可能参与了线粒体起源的凋亡通路,许多生物介质如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、 γ -干扰素 (IFN- γ) 以及抗肿瘤药物均可刺激肿瘤细胞产生 ROS,诱导凋亡发生。在棉酚诱导人大肠癌 COLO205 细胞凋亡的实验中发现,棉酚体内外的抗肿瘤作用是通过活性氧依赖的线粒体途径实现的^[10]。

棉酚能有效抑制白血病细胞系 Jurkat T 细胞的增殖并诱导其发生凋亡,呈现时间-剂量依赖关系。棉酚通过线粒体途径引起线粒体跨膜电位下降可能是其诱导肿瘤细胞凋亡的途径之一,并且线粒体跨膜电位下降可能早于细胞膜内侧的 PS 外翻和细胞核染色质形态改变等一系列变化。这些结果提示,棉酚是潜在有效的抗白血病药物^[11]。

1.4 与放化疗联合的协同作用

联合用药是肿瘤化疗中极为常用的方法。将 0.05% 的棉酚联合 0.1 μ mol/L 的他莫昔芬或多柔比星作用于乳腺癌细胞,结果表明,棉酚对乳腺癌细胞系有抗增殖作用,而且在乳腺癌细胞中检测出 P-糖蛋白含量降低,并存在剂量依赖效应^[12]。另有研究表明,低浓度棉酚可增加肿瘤细胞系 A549、FaDu、H1299、MCF7 和 Du145 的放疗敏感性,其机制主要是抑制 DNA 双链断裂的修复^[13]。Mohammad 等^[14]开展了关于左旋棉酚治疗弥散性大细胞淋巴瘤的临床前研究,研究显示,在体外实验中,左旋棉酚与 CHOP 化疗方案联合治疗的效果均明显高于两者单独使用时的效果,表明左旋棉酚具有增强化疗敏感性的作用。

2 其他药理作用

2.1 抑制角质化细胞增殖和抗氧化作用

Dodou 等^[15]对合成的阻转异构体棉酚及其衍生物的抗增殖和抗氧化活性进行了研究,证明棉酚的任何一种外消旋体以及个别的阻转异构体对于银屑病的治疗都有很大的潜力。

2.2 抗病毒和抗寄生虫作用

早在 20 世纪 80 年代就有研究报道,棉酚及其衍生物有一定的对抗 I 型人类免疫缺陷病毒和 II 型单纯疱疹病毒的生物活性^[16-17]。理论上,任何对血吸虫糖酵解途径关键酶起抑制作用的药物均可能具有抗血吸虫作用。对疟原虫及牛巴贝虫 LDH 的研究表明,棉酚及其衍生物以 LDH 为分子靶标,具有一定的抗疟原虫及牛巴贝虫作用,在新药研究中具有一定意义^[18]。有学者发现,棉酚对日本血吸虫 LDH 具有显著的抑制作用,尽管棉酚对宿主有一定毒性,但对其衍生物的研究有助于抗血吸虫病新药的筛选^[19]。

2.3 抗自身免疫作用

有学者研究了棉酚对正常人外周血 T 淋巴细胞体外活化作用的影响,在体外活化模型中,棉酚能够同时抑制多克隆激活剂 PHA 和 PDB 对 T 细胞的活化作用,提示其作用部位可能位于 PKC 或下游,并提示棉酚具有潜在的免疫调节作用^[20]。

2.4 抗生育作用

近几年,低剂量棉酚联合甾体类激素作为男性避孕药的相关研究较为深入,结果显示,甾体激素在被用来抑制精子发生的同时也降低了棉酚对精原细胞的侵害,从而使低剂量的棉酚能够充分快速地发挥其抑制精子发生的作用^[21]。棉酚和激素两者相

辅相承,从降低精子产量和破坏精子运动能力两个重要环节发挥作用,从而比单独使用其中之一更快、更好地使大鼠达到抗生育效果^[22]。也有学者报道了棉酚造成精子质量降低的机制之一是由于其造成睾丸组织内 NO 的过量产生,从而损伤睾丸组织内的多种细胞所致,能降低睾丸内 NO 含量的药物可提高精子质量^[23]。

3 不良反应

3.1 低钾血症

棉酚可以导致低钾血症。使用中必须熟悉低钾血症的临床表现,及时发现与处理,以便杜绝不良后果,有条件者应定期监测血钾的水平。

3.2 永久性无精子症

棉酚可致生精上皮萎缩。部分损害时仍有可能恢复生育力,但若全部受损则不能恢复,而造成永久性不育。

3.3 其他

肌无力、食欲减退、恶心、呕吐等胃肠道反应以及心悸及肝功能轻度改变;可引起绝经的更年期症状出现,闭经、性欲减退、潮热、皮肤瘙痒、出汗等^[1]。

4 结语

数年来,棉酚在以抗肿瘤为主的研究已表现出其良好的药用前景和应用价值。由于左旋棉酚为棉酚的主要活性成分,因此筛选并合成一系列稳定的左旋棉酚衍生物以及新剂型的研发,使之具有更强的生物活性,对棉酚的进一步开发利用具有十分重要的战略意义。

参考文献:

- [1] Dodou K. Investigations on gossypol: past and present developments. *Expert Opin. Investig [J]. Drugs*, 2005, 14 (11): 1419 - 1434.
- [2] 朱玉山,陈隼. 线粒体与细胞凋亡调控[J]. *生命科学*, 2008, 20(4): 506 - 513.
- [3] Le Blancm, Russo J, Kudelka AP, *et al.* An *in vitro* study

of inhibitory activity of gossypol, acottonseed extract, in human carcinoma cell lines [J]. *Pharmacol Res*, 2002, 46 (6): 551 - 555.

- [4] Badawy SZ, Souid AK, Cuenca V, *et al.* Gossypol inhibits proliferation of endometrioma cells in culture [J]. *Asian J Androl*, 2007, 9(3): 388 - 393.

- [5] 詹文华, 闫钢, 邵淑萍. 左旋棉酚诱导人前列腺癌细胞 PC-3 和 DU-145 凋亡的效果观察[J]. 山东医药, 2008, 48(28): 86-87.
- [6] Oliver CL, Miranda MB, Shangary S, *et al.* (-)-Gossypol acts directly on the mitochondria to overcome BCL-2-and Bcl-X(L)-mediated apoptosis resistance[J]. Mol Cancer Ther, 2005, 4(1): 23-31.
- [7] Balakrishnan K, Wierda WG, Keating MJ, *et al.* Gossypol, a BH3 mimetic, induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells[J]. Blood, 2008, 112(5): 1971-1980.
- [8] 田丹, 汪森明, 张积仁, 等. 醋酸棉酚对人宫颈癌细胞增殖的影响及其机制初探[J]. 解放军医学杂志, 2008, 33(9): 1158.
- [9] 梁璐, 汪森明, 胡喜钢, 等. 醋酸棉酚对人鼻咽癌细胞凋亡的影响及其作用机制探讨[J]. 实用医学杂志, 2008, 24(7): 1099-1101.
- [10] Ko Chingguai, Shen Shingchuan, Yang Liangyo, *et al.* Gossypol reduction of tumor growth through ROS-dependent mitochondria pathway in human colorectal carcinoma cells[J]. Int J Cancer, 2007, 121(8): 1670-1679.
- [11] 许文彬, 徐丽慧, 卢宏松, 等. 棉酚对 Jurkat T 细胞增殖与凋亡的影响[J]. 细胞生物学杂志, 2008, 30: 742-746.
- [12] Ye Weiping, Chang Hsianglin, Wang Lishu, *et al.* Modulation of mul-tidrug resistance gene expression in human breast cancer cells by gossypol-enriched cottonseed oil[J]. Anticancer Res, 2007, 27(1A): 107-116.
- [13] Kasten-Pisula U, Windhorst S, Dahm-Daphi J, *et al.* Radiosensitization of tumour cell lines by the polyphenol Gossypol results from depressed double-strand break repair and not from enhanced apoptosis[J]. Radiother Oncol, 2007, 83(3): 296-303.
- [14] Mohammad RM, Wang S, Aboukameel A, *et al.* Preclinical studies of a nonpeptidic small-molecule inhibitor of BCL-2 and Bcl-x (1) [(-)-gossypol] against diffuse large cell lymphoma[J]. Mol Cancer Ther, 2005, 4(1): 13-21.
- [15] Dodou K, Anderson RJ, Lough WJ, *et al.* Synthesis of gossypol atropisomers and derivatives and evaluation of their anti-proliferative and anti-oxidant activity [J]. Bioorg Med Chem, 2005, 13(13): 4228-4237.
- [16] Radloff RJ, Deck LM, Royer RE, *et al.* Antiviral activities of gossypol and its derivatives against herpes simplex virus type II [J]. Pharmacol Res Commun, 1986, 18(11): 1063-1073.
- [17] Lin TS, Schinazi R, Griffith BP, *et al.* Selective inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication by the (-) but not the (+) enantiomer of gossypol [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1989, 33(12): 2149-2151.
- [18] Razakantoanina V, Nguyen Kim PP, Jaureguiberry G. Antimalarial activity of new gossypol derivatives[J]. Parasitol Res, 2000, 86(8): 665-668.
- [19] 吕刚, 胡旭初, 黄灿, 等. 棉子酚、吡喹酮、蒿甲醚对重组日本血吸虫乳酸脱氢酶的作用[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2007, 25(5): 401-405.
- [20] 何贤辉, 曾耀英, 李振, 等. 棉酚对多克隆激活剂活化人 T 淋巴细胞的抑制作用[J]. 中国病理生理杂志, 2001, 17(6): 510-514.
- [21] 崔光辉, 钱晓菁, 许增禄, 等. 低剂量棉酚甲基睾酮和炔雌醇联合用药作为男性避孕药的安全性检测[J]. 解剖学报, 2007, 38(6): 713-717.
- [22] 钱晓菁, 许增禄, 徐园园, 等. 低剂量棉酚与激素联合应用的抗生育作用位点的研究[J]. 解剖学报, 2007, 38(6): 746-750.
- [23] 楚世峰, 王玉珠, 郑里翔, 等. 棉酚造成大鼠精子质量下降与 NO 之间关系的研究[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(11): 1518-1521.