

## 穗花杉双黄酮的药理作用及其分子机制研究进展

侯文爽, 曹井龙, 刘健, 薛慧, 李艳楠, 金成浩\*

黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院 黑龙江大庆

**【摘要】** 卷柏是卷柏科卷柏属, 多年生草本植物, 常用于治疗癌症、经闭痛经及跌扑损伤等病症。穗花杉双黄酮是从中草药卷柏中提取的一种天然活性物质, 具有良好的抗炎、抗肿瘤、降血糖及神经保护等多种药理作用。本文对穗花杉双黄酮的药理作用及其作用机制进行综述, 以为穗花杉双黄酮的深入研究与药物开发奠定理论基础。

**【关键词】** 穗花杉双黄酮; 抗肿瘤; 抗炎; 降血糖; 神经保护

**【基金项目】** 中央支持地方高校改革发展基金人才培养项目 (2020GSP16)

**【收稿日期】** 2023 年 1 月 29 日 **【出刊日期】** 2023 年 2 月 28 日 **【DOI】** 10.12208/j.ijcr.20230059

### Study and prospect of effects of Amentoflavone

Wenshuang Hou, Jinglong Cao, Jian Liu, Hui Xue, Yannan Li, Chenghao Jin\*

College of Life Science & Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing

**【Abstract】** Selaginella is a member of the genus Selaginella in the Selaginaceae family. The perennial plant is commonly used to treat cancer, dysmenorrhea and bruises. Amentoflavone is a kind of natural active substance extracted from Selaginellatariscina, has anti-inflammatory, antitumor, hypoglycemic and neuroprotection pharmacological effects. In this article, the pharmacological effects and mechanism of amentoflavone are reviewed, in order to lay the theoretical foundation for the in-depth research and drug development of amentoflavone.

**【Keywords】** Amentoflavone; Anti-tumor; Anti-inflammatory; Hypoglycemic; Neuroprotection

卷柏 (*Selaginellatariscina* (P. Beauv.) Spring), 又名为还魂草、石莲花、万年松等。卷柏分布广泛, 多生长于中国、蒙古国、西伯利亚、朝鲜半岛、日本以及印度的部分地区。卷柏是多年生草本植物, 具有良好的活血通经、清热解毒及抗惊厥等功效。穗花杉双黄酮是从卷柏中提取的一种多酚类化合物<sup>[1]</sup>, 分子式为  $C_{30}H_{18}O_{10}$ , 分子量为 538.46, 易溶于 DMSO 等有机溶剂。大量研究表明, 穗花杉双黄酮在生物医药领域中具有多种生物学活性, 包括抗肿瘤、抗炎、降血糖以及神经保护等多种药理作用<sup>[2-5]</sup>。现将对穗花杉双黄酮的药理作用及其分子机制进行综述, 为穗花杉双黄酮的进一步基础研究及临床应用提供理论依据。

#### 1 穗花杉双黄酮的抗肿瘤作用

恶性肿瘤 (Malignant tumor) 是指机体在物理、化学、病毒等致癌因素的作用下, 致癌因子大量分泌、

抑癌基因发生突变, 进而正常细胞演变成癌细胞, 并进一步大量增殖的一种疾病。恶性肿瘤具有无限增殖、易转化、易转移等特点, 严重危害患者的生命安全。研究发现, 穗花杉双黄酮可有效抑制多种癌细胞的增殖, 诱导癌细胞的凋亡。

##### 1.1 穗花杉双黄酮对肿瘤细胞的抑制增殖作用

肿瘤细胞的无限增殖是肿瘤生长过程中的一种典型特征, 大大增加病患的死亡率。李正华等<sup>[6]</sup>通过 CCK-8 实验检测穗花杉双黄酮对人骨肉瘤细胞的抑制增殖作用。结果发现, 穗花杉双黄酮以浓度依赖性的方式 (25、50、75 及 125  $\mu\text{mol/L}$ ) 抑制骨肉瘤细胞的增殖。进一步通过流式细胞术检测穗花杉双黄酮对骨肉瘤细胞细胞周期 G1 期与 S 期分布的影响。结果发现, 穗花杉双黄酮可降低骨肉瘤细胞活力, 促进骨肉瘤细胞停滞在 G1 期, 无法正常进入 S 期, 进而诱导骨肉瘤

作者简介: 侯文爽 (1999-) 女, 汉族, 硕士研究生, 主要从事抗癌中草药活性物质药理研究

\*通讯作者: 金成浩 (1977-) 男, 朝鲜族, 教授, 博导, 主要从事抗癌药物制备工艺及其药理活性研究

细胞周期中的 G0/G1 期阻滞, 最终抑制人骨肉瘤细胞的增殖。通过荧光定量 PCR 实验、免疫荧光实验及蛋白质免疫印迹实验检测穗花杉双黄酮对骨肉瘤细胞增殖相关蛋白表达水平的影响。结果发现, 穗花杉双黄酮可有效抑制骨肉瘤细胞  $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin) 核内表达, 同时发现骨肉瘤细胞中  $\beta$ -catenin、细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1) 基因与蛋白表达水平显著下降, 而 p21 的 mRNA 与蛋白表达水平明显升高, 说明穗花杉双黄酮通过抑制  $\beta$ -catenin 与 Cyclin D1 的表达水平和促进 p21 等增殖相关蛋白表达水平, 进一步抑制骨肉瘤细胞的增殖。

傅娟等<sup>[7]</sup>通过 MTS 实验检测穗花杉双黄酮对人血管瘤细胞的抑制增殖作用。结果发现, 穗花杉双黄酮以浓度依赖性的方式 (25、50、75 及 125  $\mu\text{mol/L}$ ) 抑制血管瘤 IH 内皮细胞的增殖。进一步通过流式细胞术检测穗花杉双黄酮对 IH 内皮细胞细胞周期 G1 期与 S 期分布的影响。结果发现, 穗花杉双黄酮 (75  $\mu\text{mol/L}$ ) 将 IH 内皮细胞周期阻滞在 G0/G1 期, 进而抑制人血管瘤 IH 内皮细胞的增殖。通过荧光定量 PCR 实验与蛋白质免疫印迹实验检测穗花杉双黄酮对 IH 内皮细胞增殖相关蛋白表达水平的影响。结果发现, 与对照组相比 IH 内皮细胞经穗花杉双黄酮 (75  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理后, IH 内皮细胞中  $\beta$ -catenin、Cyclin D1 mRNA 与蛋白表达水平下降, p21 的 mRNA 与蛋白表达水平上升, 说明穗花杉双黄酮通过抑制  $\beta$ -catenin 与 Cyclin D1 的表达水平和促进 p21 等增殖相关蛋白的表达水平, 进一步抑制血管瘤 IH 内皮细胞体外增殖。

杨雨等<sup>[8]</sup>通过 MTT 实验检测穗花杉双黄酮对人结肠癌细胞的抑制增殖作用。结果发现, 穗花杉双黄酮以浓度依赖性的方式 (50、100 及 150  $\mu\text{mol/L}$ ) 抑制结肠癌 SW480 细胞的增殖。进一步通过 Hoechst 33342 染色方法及 Annexin V FITC/PI 双染色流式细胞术检测穗花杉双黄酮对 SW480 细胞凋亡率及细胞核形态学变化的影响。结果发现, SW480 细胞经穗花杉双黄酮 (150  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理后, 与对照组相比 SW480 细胞大量固缩, 并出现凋亡小体, SW480 细胞凋亡率显著增加。进一步通过蛋白质免疫印迹实验检测穗花杉双黄酮对 SW480 细胞增殖相关蛋白表达水平的影响。结果发现, 对 SW480 细胞处理穗花杉双黄酮 (150  $\mu\text{mol/L}$ ) 24 h 后, SW480 细胞中  $\beta$ -catenin 的蛋白表达水平显著下降, 而半胱氨酸蛋白酶-3 (caspase-3) 表达水平显著上升, 说明穗花杉双黄酮通过调控  $\beta$ -catenin、caspase-3 等蛋白表达水平诱导其凋亡, 进

而抑制结肠癌 SW480 细胞的增殖。以上结果表明, 穗花杉双黄酮通过调控凋亡相关蛋白表达水平诱导肿瘤细胞凋亡, 进而抑制肿瘤细胞的增殖。

### 1.2 穗花杉双黄酮对肿瘤细胞的诱导凋亡作用

细胞凋亡是由基因控制的自主有序的程序性细胞死亡, 具有复杂的分子生物学机制。Lee S 等<sup>[9]</sup>通过蛋白质免疫印迹实验检测穗花杉双黄酮对人宫颈癌细胞凋亡相关蛋白表达水平的影响。结果发现, 对宫颈癌 SiHa 与 CaSki 细胞处理穗花杉双黄酮后, 抗凋亡因子 B 细胞淋巴瘤 (Bcl-2) 的表达水平下降, 促凋亡因子 Bax 的表达水平升高, 同时细胞色素 c 大量释放。进一步通过蛋白质免疫印迹实验检测穗花杉双黄酮对宫颈癌 SiHa 与 CaSki 细胞周期 G1 期与 S 期分布的影响。结果发现, SiHa 与 CaSki 细胞经穗花杉双黄酮处理后, SiHa 与 CaSki 细胞中细胞周期蛋白的表达水平显著下降, 而过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) 和磷酸酶、张力蛋白同系物 (PTEN)、环氧化酶 2 (COX-2) 及白细胞介素 32 (IL-32) 表达水平升高, 进而将 SiHa 与 CaSki 细胞停滞在 G1 期, 最终诱导 SiHa 与 CaSki 细胞的凋亡, 说明穗花杉双黄酮通过调控 COX-2/IL-32 途径及细胞周期蛋白的表达水平, 诱导宫颈癌 SiHa 与 CaSki 细胞凋亡。

沈飞等<sup>[10]</sup>通过采用克隆平板实验及 CCK-8 实验检测穗花杉双黄酮对非小肺癌细胞的抑制增殖作用。结果发现, 对非小肺癌 H358 与 H1299 细胞处理穗花杉双黄酮后, 穗花杉双黄酮以浓度依赖性的方式抑制 H358 与 H1299 细胞的增殖。进一步通过 Hoechst 染色及流式细胞术实验检测穗花杉双黄酮对 H358 与 H1299 细胞周期及细胞凋亡的影响。结果发现, H358 与 H1299 细胞经穗花杉双黄酮处理后, H358 与 H1299 细胞的细胞凋亡率增加。此外, 细胞周期调控蛋白 cyclinD1、CDK4、CDK6 的表达水平显著降低, 说明穗花杉双黄酮具有阻滞 H358 与 H1299 细胞的细胞周期的能力。同时通过蛋白质免疫印迹实验检测穗花杉双黄酮对 H358 与 H1299 细胞中凋亡相关蛋白表达水平的影响。结果发现, 对 H358 与 H1299 细胞处理穗花杉双黄酮后, H1299 与 H358 细胞中抗凋亡因子 Bcl-2、Bax 的表达水平显著下降, 相反蛋白 caspase-3 的表达水平升高, 说明穗花杉双黄酮不仅诱导细胞周期阻滞, 还通过调控 Bcl-2、Bax、caspase-3 等凋亡相关蛋白表达水平诱导其凋亡, 进而抑制非小肺癌 H358 与 H1299 细胞的增殖。

Yen TH 等<sup>[11]</sup>通过 MTT 实验检测穗花杉双黄酮对

胶质母细胞瘤细胞的抑制增殖作用。结果发现, 穗花杉双黄酮以浓度依赖性的方式(50、75 及 100  $\mu\text{mol/L}$ ) 抑制胶质母细胞瘤 U-87 MG 细胞的增殖。进一步通过流式细胞术实验及蛋白质免疫印迹实验检测穗花杉双黄酮对 U-87 MG 细胞凋亡信号通路蛋白表达水平的影响。结果发现, 与对照组相比, 对 U-87 MG 细胞处理穗花杉双黄酮 48 h 后, U-87 MG 细胞中 caspase-3 与 caspase-8 的表达水平升高, 阻断核因子- $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ) 激活, 降低抗凋亡蛋白 MCL1 与 C-FLIP 的表达水平, 说明穗花杉双黄酮通过调控 MCL1、C-FLIP、caspase-8 及 caspase-3 等凋亡相关蛋白表达水平诱导 U-87 MG 细胞凋亡。以上结果表明, 穗花杉双黄酮通过诱导细胞周期阻滞及调控凋亡相关蛋白表达水平诱导其凋亡, 进而抑制肿瘤细胞的增殖。

## 2 穗花杉双黄酮的抗炎作用

炎症 (Inflammation) 是指具有血管系统的活体组织对损伤因子的防御性反应, 是十分常见而又重要的基本病理过程。当患者出现炎症反应时, 最主要的特征是红肿热痛。在人体发生相对严重的炎症性疾病时常出现全身性的反应, 进而导致机体各器官功能下降, 严重威胁人类健康。研究发现, 穗花杉双黄酮可通过阻止有关信号通路介导的炎症反应的发生等途径对机体发挥保护作用。

侯田华<sup>[12]</sup>通过 ELISA 实验检测穗花杉双黄酮对急性胸肌炎模型小鼠胸肌水中的炎症因子表达水平的影响。结果发现, 穗花杉双黄酮可明显减少小鼠肺组织中 F4/80 阳性细胞数量, 降低胸水中白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ) 与肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的含量, 同时上调白介素-10 (IL-10) 的表达水平。进一步通过蛋白质免疫印迹实验检测穗花杉双黄酮对急性胸肌炎模型小鼠胸肌水中相关蛋白与炎症通路相关蛋白表达水平的影响。结果发现, 穗花杉双黄酮可有效抑制 NADPH 氧化酶 (NOX2、NOX4) 的升高, 促进诱导性一氧化氮合酶 (Keap1) 的降解与核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 的入核。同时发现抗氧化酶谷氨酰胺-半胱氨酸连接酶催化亚基 (GCLC)、谷氨酰胺-半胱氨酸连接酶修饰亚基 (GCLM)、NADPH 醌氧化还原酶 1 (NQO1) 及羟自由基-1 (HO-1) 的表达水平显著上升。穗花杉双黄酮还有效阻断 NF- $\kappa\text{B}$  的激活, 并下调 COX-2 与诱导性一氧化氮合酶 (iNOS) 的蛋白表达水平。以上结果表明, 穗花杉双黄酮可缓解角叉菜胶诱导的氧化应激, 并通过抑制 NF- $\kappa\text{B}$ 、有丝分裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 与信号传导及转录激活因子 3 (STAT3) 炎

性通路进而减轻角叉菜胶诱导的炎症反应。

李柏珍<sup>[13]</sup>等通过 RT 分析实验与 PCR 分析实验检测穗花杉双黄酮对促炎细胞因子的表达水平的影响。结果发现, 穗花杉双黄酮可抑制 COX-2 与 iNOS 表达量, 进而抑制前列腺素 E2 (PGE2)、一氧化氮 (NO)、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等促炎因子的产生, 其作用机理是穗花杉双黄酮可能通过抑制 NF- $\kappa\text{B}$  抑制因子 I $\kappa\text{B}$  的磷酸化与降解, 阻断 NF- $\kappa\text{B}$  亚基 p65、p50 的核易位与激活, 抑制 iNOS 的表达与 NO 的产生。此外, 穗花杉双黄酮可抑制胞外信号调节激酶 (ERK)、下游激活蛋白-1 (AP-1) 的活性, 阻断 ERK 信号通路, 抑制 PGE2 生成。以上结果表明, 穗花杉双黄酮可通过 ERK 与 NF- $\kappa\text{B}$  等信号途径发挥抗氧化和抗炎作用。

## 3 穗花杉双黄酮的降血糖作用

糖尿病 (Diabetes mellitus) 是因胰岛素的分泌不足或利用障碍所引起的碳水化合物、蛋白质及脂肪代谢紊乱性疾病。糖尿病在临床上主要以高血糖为特点, 血糖含量一旦异常增多就会引发多种并发症, 导致机体多处部位发生衰竭病变且很难治愈。研究发现, 穗花杉双黄酮可通过改善葡萄糖耐量等方式增强糖尿病患者处理糖的能力, 具有良好的降血糖功效。

郑晓珂等<sup>[14]</sup>通过葡萄糖氧化酶法检测穗花杉双黄酮对胰岛素抵抗 HepG2 细胞葡萄糖消耗的影响。结果发现, 穗花杉双黄酮在中糖状态下可使 HepG2 细胞的葡萄糖消耗量增加 24%, 对胰岛素刺激的 HepG2 细胞的葡萄糖消耗量增加具有协同作用。同时穗花杉双黄酮可显著增加胰岛素抵抗 HepG2 细胞模型的葡萄糖消耗量, 并干预胰岛素抵抗 HepG2 细胞胰岛素抵抗的形成, 说明穗花杉双黄酮能增加 HepG2 细胞对葡萄糖的基础消耗, 对 HepG2 细胞的胰岛素抵抗具有良好的改善作用。克迎迎等<sup>[15]</sup>通过蛋白组学分析检测穗花杉双黄酮对 2 型糖尿病大鼠的降糖作用的影响。结果发现, 穗花杉双黄酮可显著降低糖尿病大鼠的血糖, 其发挥降血糖作用机制与调节 PI3K-AKT、NF- $\kappa\text{B}$  等信号通路有关。以上结果表明, 穗花杉双黄酮可通过调控 PI3K-AKT、NF- $\kappa\text{B}$  等信号途径改善胰岛素抵抗的作用, 发挥降血糖的作用。

## 4 穗花杉双黄酮的神经保护作用

神经系统 (Nervous system) 是机体器官活动的调节中心。随着社会人口老龄化现象加重, 神经系统疾病的发病率呈逐年上升的趋势。当神经系统发生退行性变化时, 会出现炎症反应, 过度的神经炎症会对周围组织造成更大的损伤, 严重威胁人类健康。研究发

现, 穗花杉双黄酮在保护神经细胞与改善神经功能障碍等方面具有显著的疗效。

张莲珠<sup>[16]</sup>通过 MTT 实验检测穗花杉双黄酮对人神经母细胞瘤细胞的存活率的影响。结果发现, 穗花杉双黄酮 (<60  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 对人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞具有促进增殖作用。当浓度高于 60  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 穗花杉双黄酮对 SH-SY5Y 细胞不但没有促进增殖作用, 反而会抑制细胞生长。进一步通过蛋白免疫印迹实验检测穗花杉双黄酮对冈田酸诱导 SH-SY5Y 细胞内质网应激相关蛋白表达水平的影响。结果发现, 穗花杉双黄酮可调控 caspase-12 蛋白的表达水平, 并且通过抗蛋白质过磷酸化的方式维护微管的结构与功能, 进而保护神经细胞, 说明穗花杉双黄酮通过维护神经细胞微管结构与功能等方式对神经细胞进行保护作用。以上结果表明, 穗花杉双黄酮对神经系统具有良好的保护作用。

## 5 展望

穗花杉双黄酮作为天然中草药卷柏的多酚类提取物, 具有极高的药用价值与开发前景。大量研究表明, 穗花杉双黄酮在抗炎、抗肿瘤、降血糖及神经保护等方面具有良好的治疗效果。虽然目前对穗花杉双黄酮的研究报道较多, 但穗花杉双黄酮的具体药理分子机制相关研究较少, 缺乏详尽的理论依据与数据支撑, 因此需要结合相关中药学及药理学理论, 从分子、细胞及动物水平上开展更深入的基础研究, 以期对穗花杉双黄酮的进一步开发和临床应用研究提供理论依据。

## 参考文献

- [1] 张金丽, 曹文娟, 熊喜峰, 等. 穗花杉双黄酮抑制人脐静脉内皮细胞血管形成的实验研究[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2016, 55 (6): 148-152.
- [2] 王秋月, 王菊勇, 贾方, 等. 深绿卷柏提取物穗花杉双黄酮抗癌活性研究进展[J]. 中南药学, 2019(10):1734-1737.
- [3] 黄振青, 韦燕飞, 刘雪梅, 等. 穗花杉双黄酮对急性肝损伤大鼠炎症相关因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014(11): 147-150.
- [4] 张震, 王峰. 穗花杉双黄酮的生物活性研究进展[J]. 中国新药杂志, 2013(23): 2775-2778.
- [5] Cao B, Zeng M, Zhang Q, et al. Amentoflavone Ameliorates Memory Deficits and Abnormal Autophagy in  $\text{A}\beta_{25-35}$ -Induced Mice by mTOR Signaling. *Neurochem Res.* 2021;46(4):921-934.
- [6] 李正华, 纪涛, 任建政, 等. 穗花杉双黄酮对骨肉瘤细胞增殖及周期相关蛋白的影响[J]. 陕西医学杂志, 2022(05):534-538.
- [7] 傅娟, 刘媛媛, 李霞. 穗花杉双黄酮抑制小儿血管瘤内皮细胞体外增殖实验研究[J]. 陕西医学杂志, 2021(08): 937-940+965.
- [8] 杨雨, 徐文娟, 彭康, 等. 穗花杉双黄酮通过影响 caspase-3 和  $\beta$ -catenin 表达诱导结肠癌细胞 SW480 凋亡[J]. 南方医科大学学报, 2014(07):1035-1038.
- [9] Lee S, Kim H, Kang JW, et al. The biflavonoid amentoflavone induces apoptosis via suppressing E7 expression, cell cycle arrest at sub-G1 phase, and mitochondria-emanated intrinsic pathways in human cervical cancer cells. *J Med Food.* 2011; 14(7-8): 808-16.
- [10] 沈飞. 穗花杉双黄酮通过调节 CIP2A 促进非小细胞肺癌凋亡[D]. 南京医科大学, 2019(06).
- [11] Yen TH, Hsieh CL, Liu TT, et al. Amentoflavone Induces Apoptosis and Inhibits NF- $\kappa$ B-modulated Anti-apoptotic Signaling in Glioblastoma Cells. *In Vivo.* 2018;32(2): 279-285.
- [12] 侯田华. 穗花杉双黄酮对非感染性胸膜炎与肺损伤的作用及机制研究[D]. 吉林大学, 2022(01).
- [13] 李柏珍, 胡睿智, 湛晖, 等. 穗花杉双黄酮的生理功能及作用机制研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2021(10):19-24.
- [14] 郑晓珂, 魏悦, 冯卫生, 等. 穗花杉双黄酮体外降糖活性研究[C]. 182-187.
- [15] 克迎迎. 基于蛋白组学技术研究卷柏总黄酮及穗花杉双黄酮降糖作用机制[D]. 河南中医学院, 2014(01).
- [16] 张莲珠. 卷柏总黄酮及穗花杉双黄酮对认知障碍模型的治疗及可能作用途径[D]. 吉林大学, 2013(04).

**版权声明:** ©2023 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

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



**OPEN ACCESS**