

青蒿素的制备、用途和展望

阮栋梁¹, 王丰玲², 张英锋², 郑向军³

(1. 香港大学 化学系; 2 河北省秦皇岛市第一中学, 河北 秦皇岛 066000; 3. 北京师范大学 化学系 北京 100875)

摘要: 青蒿素是含有过氧桥的新型倍半萜内酯, 其衍生物有青蒿琥酯、蒿甲醚和二氢青蒿素等。青蒿素是有效的疟疾治疗药物, 此外它还具有抗肿瘤、抗寄生虫、影响免疫等药理作用。对青蒿素及其衍生物进行了综述。

关键词: 青蒿素; 抗疟疾; 药理作用

中图分类号: R282.76 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-0569(2007)02-0108-05

青蒿素 (artemisinin, QHS, 结构式见图 1) 是我国科研工作者于 1972 年首次从中草药青蒿中分离得到的含过氧桥的新型倍半萜内酯。青蒿素结构独特、高效低毒, 具有清热解毒、抗肿瘤、抗菌、抗疟、增强免疫等药理作用, 对脑型疟、恶性疟等有特效, 是我国唯一获得国际认可的抗疟新药, 已成为世界卫生组织推荐的治疗疟疾的理想药物。我国青蒿资源十分丰富, 目前其主要产业资源也在我国。青蒿素及其衍生物的相关研究已引起人们的广泛关注, 本文拟就青蒿素的制备、相关药理功能及应用前景作以简单介绍。

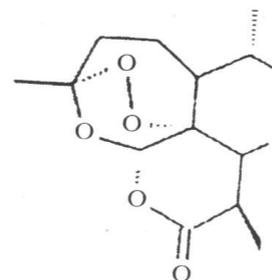


图 1 青蒿素的结构

1 青蒿素的制备^[1]

1.1 天然产物提取

1.1.1 有机溶剂萃取

青蒿素为白色针状结晶, 易溶于氯仿、丙酮、苯、乙酸乙酯, 可溶于乙醇、乙醚等。传统工艺用有机溶剂萃取青蒿中的有效成分, 然后用重结晶或柱层析等分离精制得到青蒿素。工艺路线一般如下: 干燥 - 破碎 - 浸泡 - 萃取 (反复多次) - 浓缩 - 粗品 - 精制。该法优点是工艺路线成熟, 易于工艺化, 缺点是需经过多次萃取浓缩, 步骤多, 能耗高, 周期长, 同时部分溶剂逃逸会造成环境污染。

1.1.2 超临界 CO₂ 萃取

超临界流体萃取是一种新兴的萃取分离技术。超临界流体具有较高的扩散传质速率和溶解性能 (通过改变 CO₂ 密度和温度、压力等操作参数可改变青蒿素的溶解性), 在有效成分含量较低的天然药物等的提取分离方面有独特的优势。该法将 CO₂ 高压液化作为萃取剂, 工艺路线简单 (主要是加压逆流和减压蒸发) 周期短, 常温可进行 (青蒿素几乎不发生热裂解等化学反应)。CO₂ 价格低, 无毒, 不燃, 可循环使用, 生产无环境污染。萃取物中杂质含量低, 提纯简单, 收率高, 但一次性设备投资大。

收稿日期: 2007-04-06 修回。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 20501003)。

作者简介: 阮栋梁 (1975-), 男, 香港大学博士研究生, 从事化学教学科研工作。

1.2 化学合成

目前世界上青蒿素类药物的生产主要是从青蒿植物中提取,但是青蒿植物中青蒿素的含量较低,难以满足市场需求。1983年许杏虎等人完成了从青蒿酸到青蒿素的半合成。1983年 Schmil 等以异薄荷酸为原料经 13 步反应得到青蒿素。1986年,许杏虎等报道了以 R(+)-香草醛为原料,经十几步的青蒿素全合成。1992年 Averty 等人以薄荷醇为原料合成青蒿素。青蒿素虽已能化学合成,但成本高、毒性大、产量低难以进行商业化生产。

1.3 植物组织培养

利用植物组织培养青蒿素从而改变青蒿素依赖天然的局面,是研究的新热点。国家“九·五”攻关项目“大规模植物细胞培养生产青蒿素”。利用基因工程技术,令发根农杆菌诱导黄花蒿(青蒿素含量较高)发根。还有学者利用生物反应器、流化床反应器、气生式内环流生物反应器等培养青蒿素均取得了较好成效。

1.4 生物合成^[2]

青蒿素的生物合成途径属于甲羟戊酸途径,该途径在细胞质中进行,合成步骤一般认为如下:(1)由

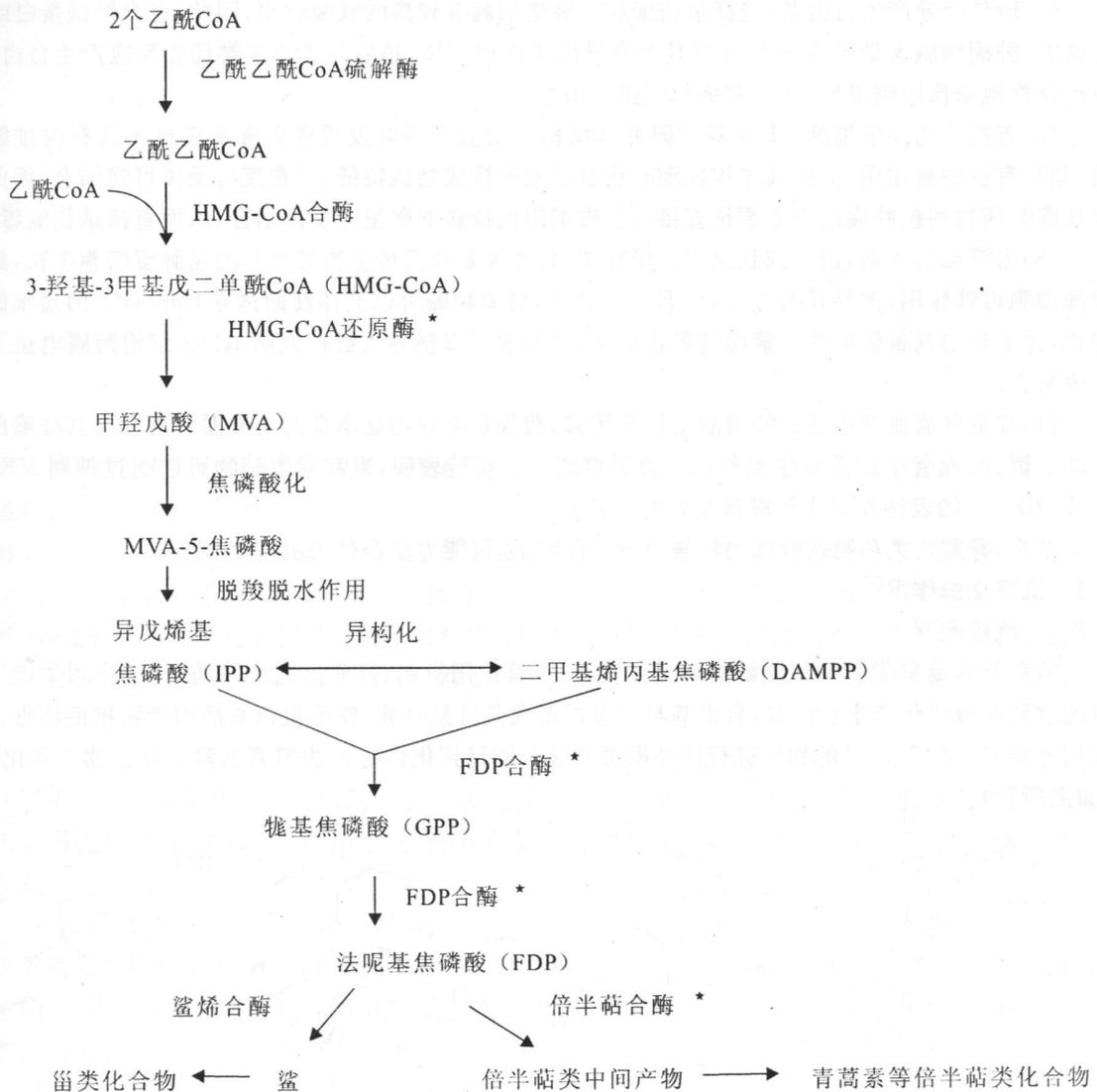


图 2 青蒿素的生物合成途径(* 为该途径的关键酶)

3个乙酰辅酶 A 缩合生成 3-羟基-3-甲基戊二单酰辅 A (HMG-CoA)。(2)在 HMG-CoA 还原酶

(HMGR)的作用下,产生甲羟戊酸(MVA)。(3)MVA经焦磷酸化及脱羧脱水作用,形成C₅的异戊烯基焦磷酸(IPP)。(4)IPP与其异构体二甲基烯丙基焦磷酸(DAMP)在法呢基焦磷酸合酶的催化下,通过亲电反应形成牛儿基焦磷酸(GPP),进而形成法呢基焦磷酸(FDP)。(5)法呢基焦磷酸(FDP)-青蒿酸-二氢青蒿酸-青蒿素。FDP经过酶促反应形成一种重要倍半萜类中间产物-amorpha-4,11-diene,该反应被认为是青蒿素形成过程的重要速控步骤。与青蒿素生物合成相关的酶主要有3种:3-羟基-3-甲基戊二酰CoA还原酶(HMGR),法呢基焦磷酸合酶(FDPS)和倍半萜合酶(环化酶)。目前,该合成途径的一些关键酶基因已被克隆,因此,通过基因工程方法获得高产青蒿素株系成为研究的新热点。

2 青蒿素的用途

青蒿素类化合物是一种与过去抗疟药作用机制完全不同的新型药物,目前衍生物主要有二氢青蒿素、蒿甲醚、蒿乙醚及青蒿琥酯。

2.1 抗肿瘤^[3,4]

目前青蒿素及其衍生物抗肿瘤作用主要涉及机理如下:

(1)Fe²⁺介导产生自由基,选择杀伤细胞。肿瘤细胞有较高的铁吸收率,因此,在有转铁蛋白或硫酸亚铁时,肿瘤细胞大量吸收Fe²⁺并以其为介导形成内过氧桥,稍后与青蒿素类药物反应产生自由基,于是选择性地杀伤肿瘤细胞,对正常细胞损伤却很小。

(2)直接杀伤肿瘤细胞。Lee等在研究其结构-功能关系时发现脱氧青蒿素虽不具有内过氧化基团,却具有抗肿瘤作用。分析其结构发现有明显的船-椅式结构特征,可直接与受体可逆结合,因此认为青蒿素类药物的抗肿瘤活性主要是直接与肿瘤细胞内特殊的靶蛋白受体结合,从而直接杀伤病毒细胞。

(3)阻滞细胞周期,诱导细胞凋亡。研究表明,青蒿素及其衍生物可以先加速肿瘤细胞生长,然后再发挥细胞毒性作用,诱导其凋亡。Dell'Eva等证实,青蒿琥酯可以选择性的诱导Kaposi's肉瘤细胞发生凋亡,并呈现出剂量依赖性。董海鹰等还证实,青蒿素可以诱导人红白血病K562细胞跨膜电位下降而发生凋亡。

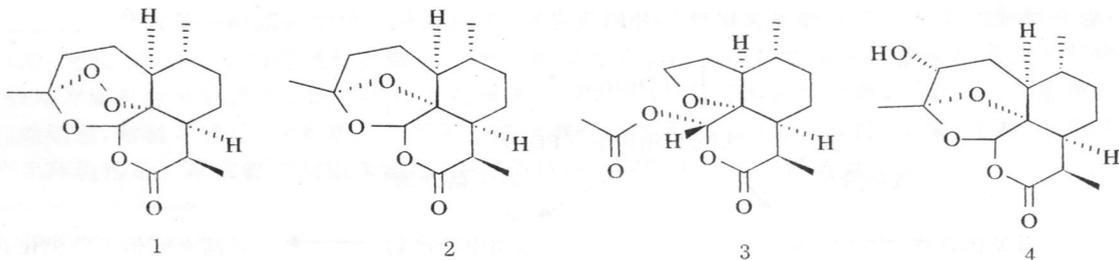
(4)抑制肿瘤血管生成。肿瘤的生长和转移,前提是必须建立丰富的血液循环来供应其旺盛的生化代谢。因此,血管生成是肿瘤生长的关键因素之一。实验表明,青蒿素类药物可以通过抑制VEGF和KDR/flk-1的表达而阻止肿瘤新血管的生成。

总之,青蒿素类药物抗肿瘤的机制尚不十分明了,可能为多途径的协同作用结果。

2.2 抗寄生虫作用^[5]

2.2.1 抗疟疾^[6]

抗疟是青蒿素类药物最原始的药理作用。关于其作用机制,目前占主流的是“两步作用学说”:青蒿素的过氧基被活化产生自由基,自由基与疟蛋白形成共价复合物,使疟蛋白失活而产生抗疟活性。研究者用青蒿素1与含Fe²⁺的物质进行体外模拟实验分别得到化合物2(去氧青蒿素),化合物3和化合物4(如图所示):



以Fe²⁺为催化剂,青蒿素在体内降解产生自由基的过程,有两条途径可分别产生化合物3和4(如图3)。

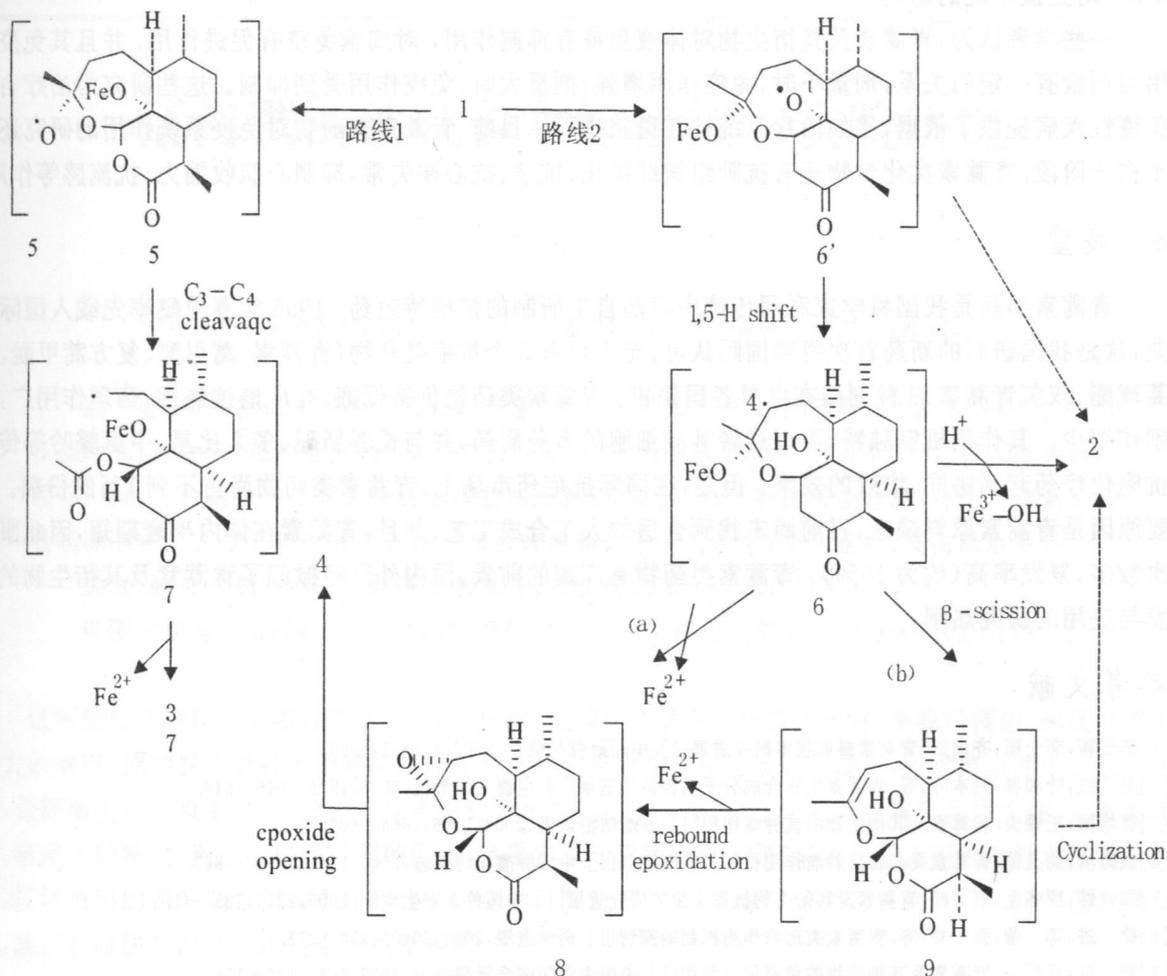


图 3 亚铁离子调节青蒿素降解的机制

路线 1: Fe^{2+} 催化使 O_1-O_2 键断裂,产生的自由基 5 经过 C_3-C_4 键的断裂产生自由基 7,后者在无烷化底物时失去 Fe^{2+} 生成化合物 3

路线 2 RO_1^{\cdot} 自由基能通过 H_4 的 1,5 氢转移成为仲 C_4 青蒿素和铁作用首先形成自由基 5 和 $6'$ (二者处于相互交换的平衡中)。中间活性物质 7 和 8 可能是潜在的烷化剂,致使疟原虫死亡

可见,过氧键是该类化合物具有抗疟活性的关键因素,但过氧键周围的结构应利于亚铁离子接近并活化过氧键进一步产生仲碳自由基烷化剂。但是,“两步作用学说”的提出和完善还需要更多的研究来证实。

2.2.2 抗弓形虫

弓形虫是人兽共患病的专性细胞内寄生原虫,研究表明青蒿素能明显抑制弓形虫侵入细胞,作用靶点为虫体细胞膜,线粒体和细胞核,从而损伤膜系结构,造成核膜断裂,线粒体肿胀,甚至出现核碎裂,核溶解现象

2.2.3 抗血吸虫

青蒿素及其多种衍生物均有抗血吸虫作用。它能有效杀灭进入宿主体内的幼虫,降低血吸虫的感染率和感染程度,如用于日本血吸虫的早期预防与治疗。一般认为,其活性基团仍是过氧桥,作用机理是影响糖类的代谢。

2.2.4 抗卡氏肺孢子虫

动物实验表明,青蒿素可抗大鼠的卡氏肺孢子虫。目前,效果较好的衍生物是双氢青蒿素和青蒿琥脂。青蒿素类化合物主要破坏卡氏肺孢子虫的膜系结构,表征为表膜的微绒毛脱落变形,孢子虫滋养体

胞浆及包囊内出现空泡,线粒体、内质网肿胀,核膜破裂,囊内小体溶解破坏等。

2.3 对免疫系统的影响^[7]

一些学者认为,青蒿素及其衍生物对体液免疫有抑制作用,对细胞免疫有促进作用。并且其免疫作用与剂量有一定的关系,剂量小时,免疫作用增强;剂量大时,免疫作用受到抑制。这些研究为治疗自身免疫性疾病提供了依据,比如治疗系统性红斑狼疮等。目前,青蒿素类药物对免疫系统作用的研究还处于初步阶段。青蒿素类化合物还有抗肺组织纤维化、抗孕、抗心律失常、抑制心肌收缩力、抗流感等作用。

3 展望

青蒿素类药是我国科学家利用传统中草药自主研制的抗疟特效药。1995年蒿甲醚率先载入国际药典,这是我国研制的新药首次得到国际认可。至今已有 5 个抗疟类药物(青蒿素、蒿甲醚、复方蒿甲醚、青蒿琥酯、双氢青蒿素)9 种剂型在世界各国销售。青蒿素类药物价格低廉,有广谱抗癌性,药理作用广,毒副作用少。其作用机制独特,可以逆转肿瘤细胞的多药耐药,并与长春新碱、多柔比星、甲氨蝶呤等传统抗癌化疗药起到协同、增效的效果。但是,在国际抗疟药市场上,青蒿素类药物尚占不到 1% 的份额。主要原因是青蒿素原料缺乏,目前尚未找到合适的人工合成工艺。并且,青蒿素在体内半衰期短,因此服用次数多,复发率高(约为 10%)。青蒿素类药物有广阔的前景,国内外已经掀起了青蒿素及其衍生物的开发与应用的研究热潮。

参考文献

- [1] 李子颖,李士雨,齐向娟.青蒿素提取技术研究进展[J].中药研究与信息,2002,4(2): 17- 20.
- [2] 田红,叶和春,刘本叶,等.青蒿素生物合成分子调控研究进展[J].生物工程学报,2003,19(6): 646- 648.
- [3] 曹培国,王肇炎.青蒿素及其衍生物的抗肿瘤作用[J].肿瘤防治杂志,2004,11(6): 666- 668.
- [4] 钱海洪,胡义德.青蒿素类药物抗肿瘤作用机制的研究进展[J].中华肿瘤防治杂志,2006,13(11): 867- 869.
- [5] 郑姣妹,罗冬生,刘毅.青蒿素及其衍生物抗寄生虫的研究进展[J].中国兽医寄生虫病,2005,13(3): 38- 41.
- [6] 徐进,郑莹,张睿,等.青蒿素类药物作用机制的探讨[J].药学进展,2002,26(5): 274- 277.
- [7] 舒贝,马行一.青蒿素及其衍生物的免疫调节作用[J].中国中西医结合肾病杂志,2005,6(3): 176- 178.

Preparation application and prospect of artemisinin

RU AN Dong-liang¹, W AN G Feng-ling²,

ZHAN G Ying-feng², ZHEN G Xiangjun³

(1. Department of Chemistry, Hong Kong University, China;

2. No. 1 High School in Qinhuangdao City of Hebei Province, Qinhuangdao 066000, China;

3. Department of Chemistry, Beijing Normal University 100875, China)

Abstract Artemisinin with an endoperoxide function was derived from artemisia by Chinese research workers in 1972. Its derivatives include artesunate, artemether, dihydroartemisinin etc. Artemisinin, which is the most effective antimalarial drug, has other pharmacological activity such as antitumor, antischistosome, affecting immunity etc. This article summarizes the research progress of artemisinin and its derivatives to provide references for the exploitation and utilization.

Key words artemisinin; antimalarial; pharmacological activity