

青蒿素及其衍生物抗肿瘤研究进展

李晓光, 巴乾, 李井泉, 王慧*

上海交通大学公共卫生学院, 上海 200025

* 联系人, E-mail: huiwang@shsmu.edu.cn

2017-03-21 收稿, 2017-04-12 修回, 2017-04-13 接受, 2017-05-10 网络版发表

摘要 青蒿素是中医药学的一枚瑰宝, 其抗疟活性已得到世界公认, 拯救了上百万人的生命. 不断深入的科学研究揭示青蒿素及其衍生物还具有抗肿瘤作用, 如抑制细胞生长、促进细胞凋亡、抑制肿瘤血管生成、阻断肿瘤细胞的侵袭转移过程. 目前科学家对其抗肿瘤的认识已经取得了长足进步. 本文从青蒿素及其衍生物的抗肿瘤机制、联合用药方案、临床研究及未来发展方向进行综述.

关键词 青蒿素, 青蒿素衍生物, 抗疟活性, 抗癌活性, 分子机制, 发展方向

青蒿素(artemisinin), 是我国科学家20世纪70年代从植物黄花蒿(*Artemisia annua* L.)的叶和花蕾中提取的一种含有过氧基团、具有有效抗疟疾作用的倍半萜内脂类化合物^[1,2]. 中国中医药科学家屠呦呦教授因发现青蒿素获得2015年诺贝尔生理学或医学奖. 青蒿素是继奎宁之后的抗疟疾特效药, 成功挽救了千百万患者的生命. 双氢青蒿素(dihydroartemisinin)是青蒿素体内代谢的主要活性产物, 其抗疟活性高、毒性小. 以青蒿素为基础, 我国科学家又相继研制出了双氢青蒿素、蒿甲醚(artemether)、蒿乙醚(arteether)、青蒿琥酯(artesunate)等具有更强活性和其他优点的抗疟药物^[3]. 当今, 以青蒿素衍生物为基础的联合疗法成为各国应对疟疾疫情的首选药物. 构效关系研究表明, 青蒿素分子中的过氧基团是其关键的抗疟药效团, 过氧基团能够氧化疟原虫所吞噬的血红细胞中的铁卟啉, 同时形成自由基, 破坏疟原虫的消化空泡细胞膜, 最终杀伤疟疾虫^[1,3,4]; 另一种抗疟机制认为疟原虫体内的肌内质网钙三磷酸腺苷酶(sarco endoplasmic reticulum calcium adenosine triphosphatase, SERCA, 钙质子泵)是青蒿素的作用靶点^[5,6]. 目

前, 已鉴定许多与青蒿素相互作用的蛋白参与了疟原虫的生理和病理过程^[7,8]. 随着研究的深入, 青蒿素类药物除广泛应用于抗疟治疗外还具有其他多种药理作用, 如抗血吸虫作用^[9,10]、抗心律失常、平喘、抗内毒素^[11]、抗变态反应^[12,13]、红斑狼疮^[14], 以及免疫抑制等^[15,16].

针对青蒿素及其衍生物的活性研究还发现该类化合物具有明显的抗肿瘤作用, 对多种肿瘤细胞的生长具有抑制作用. 分子、细胞、动物水平的研究结果显示, 青蒿素及其衍生物能够抑制细胞生长、促进细胞凋亡、抑制肿瘤血管生成、改变激素应答反应、阻断肿瘤细胞的侵袭转移过程. 美国国立卫生研究院发展项目(developmental therapeutics program, DTP)研究显示, 在55种人肿瘤细胞株中, 青蒿素衍生物青蒿琥酯具有较强的抑制白血病、结肠癌、对黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、肾脏肿瘤等不同类型肿瘤细胞的作用^[17]. 此外, 化学稳定性较高的一些青蒿素衍生物能够选择性杀伤肿瘤细胞, 而对正常细胞无明显毒副作用^[18]. 研究还发现, 青蒿素能够在一定程度上改善多种临床耐药肿瘤病人的

引用格式: 李晓光, 巴乾, 李井泉, 等. 青蒿素及其衍生物抗肿瘤研究进展. 科学通报, 2017, 62: 1964–1972

Li X G, Ba Q, Li J Q, et al. Anticancer effect of artemisinin and its derivatives: Research progress, mechanism of action and future perspectives (in Chinese). Chin Sci Bull, 2017, 62: 1964–1972, doi: 10.1360/N972017-00314

药物敏感性^[19,20]。本研究组从青蒿素及其衍生物抗癌机制^[21-23]、信号网络调控^[24]、安全性^[25]到新型青蒿素抗癌衍生物的设计改造^[26,27]等进行了一系列研究,显示青蒿素及其衍生物有望成为抗肿瘤治疗药物的新成员。本文对目前青蒿素及其衍生物的抗肿瘤机理、联合用药方案、临床试验研究及未来发展方向等方面进行论述。

1 青蒿素及其衍生物抗癌机制

青蒿素及其衍生物的抗癌机制至今尚未完全阐明,一般认为其抗肿瘤功效主要通过激活或抑制多条相互互补的细胞信号通路,这些结果已经在多种细胞和动物模型中得以证实。青蒿素类化合物抗癌活性及相关分子机制根据肿瘤类型和组织来源的不同而表现出相似的和特异性的反应特征,其抗癌潜能概括起来主要表现在如下6个方面:(i)靶向铁离子及其代谢通路产生氧化自由基,选择性杀伤癌细胞^[28-30];(ii)诱导癌细胞系凋亡^[23,31-33];(iii)阻滞细胞周期^[21,34,35];(iv)调控肿瘤相关基因的表达^[33,36-38];(v)抑制血管形成^[39-41];(vi)阻断细胞的侵袭和转移^[42]。

1.1 青蒿素与铁代谢

青蒿素类化合物良好的抗癌功效主要依赖其化学结构中的过氧桥基团,该基团与疟原虫体内丰富的血红素或亚铁离子反应,形成碳自由基而氧化杀伤疟疾虫。与正常细胞相比,肿瘤细胞的生长需要通过转铁蛋白受体摄入大量的铁,因而与疟原虫相似,细胞内含有丰富的游离铁离子。青蒿素可以与铁离子反应形成大量自由基,进而杀伤肿瘤细胞^[43]。此外,与正常细胞相比,肿瘤细胞由于缺乏抗氧化酶因而对自由基更为敏感。这些特征使青蒿素杀伤效应具有选择性,青蒿素能够有效抑制肿瘤细胞而对正常细胞具有较低毒性,因而适合被开发成抗肿瘤药物。研究显示,通过与转铁蛋白预孵育后增加细胞内的铁含量,可以显著提高细胞对青蒿素的敏感性;细胞内转铁蛋白及铁代谢相关重要蛋白如ATP结合转运蛋白(ATP binding cassette subfamily B member 6, ABC6)的水平与其对青蒿素类化合物的敏感性正相关^[44]。本研究组在长期研究青蒿素及其衍生物的抗肿瘤效果及作用机制的过程中,发现靶向铁代谢通路是青蒿素类化合物发挥抗肿瘤活性的新机制。研

究发现,双氢青蒿素能造成肿瘤细胞铁元素的缺乏、降低铁元素的吸收、干扰细胞内铁元素既有的平衡状态,且这种改变与氧化损伤无关。进一步研究发现,DHA可以降低细胞膜上的转铁蛋白受体1(TfR1)水平,通过脂筏介导的内吞作用对其进行调控,减弱细胞对铁的吸收从而杀伤肿瘤细胞,而这一过程是不依赖于氧化损伤反应^[22]。

需要注意的是,多项研究显示青蒿素处理肿瘤细胞后一些癌基因和抑癌基因的变化似乎要显著多于铁代谢相关基因的变化^[36];在60种细胞株中给予8种不同的青蒿素衍生物刺激,仅有12个铁应答蛋白发生了改变^[45];青蒿素抗癌敏感性与肿瘤细胞的组织来源相关;也有报道显示,青蒿素类化合物能够有效杀伤肿瘤细胞,而对于转铁蛋白受体无显著影响;这些结果提示,青蒿素的抗癌活性不能简单地用铁代谢和广谱的氧化损伤毒性反应来解释。

1.2 青蒿素及其衍生物调控细胞凋亡相关信号通路,促进肿瘤细胞凋亡

青蒿素及其衍生物在多种肿瘤细胞中均报道具有显著的凋亡促进作用,其中低剂量青蒿素类化合物能够导致周期阻滞,高剂量导致细胞凋亡和肿瘤坏死。双氢青蒿素是其中促凋亡效果最明显的衍生物,其促凋亡活性剂量比青蒿素低10倍^[46]。在敏感的肿瘤细胞中,青蒿素类化合物能够调节凋亡相关信号通路蛋白和组分的表达和活性。本研究组的细胞和动物水平研究结果显示,青蒿素类衍生物能够激活肝癌和卵巢癌细胞凋亡级联反应中的caspase-3和caspase-9,促进线粒体细胞色素c的释放,进而启动死亡受体和线粒体caspase介导的凋亡反应,同时在这一过程中凋亡抑制蛋白Bcl-2的表达降低,促凋亡蛋白Bax和Bad的表达增加^[23]。其他研究人员在胰腺癌细胞中也发现了类似的结果,双氢青蒿素能够显著提高胰腺癌细胞BxPC-3和AsPC-1细胞的Bcl-2/Bax比例,促进caspase-9激活,进而启动凋亡相关信号通路,促进细胞凋亡产生^[47]。此外,双氢青蒿素能够显著抑制乳腺癌中雌激素受体ER α 的表达及前列腺癌中转录因子Sp-1的活性,这两个蛋白在Bcl-2的转录调控中发挥重要作用^[48,49]。

p38 MAPK在细胞应激反应、细胞生长和凋亡等过程中发挥重要功能。在肺癌中,青蒿素类化合物能够通过磷酸化激活p38 MAPK,促进细胞内钙离子信号

级联反应, 阻断p38MAPK和胞内钙离子释放能够有效抑制双氢青蒿素诱导的细胞凋亡^[50]. 此外, 青蒿素在结肠癌细胞中也展现出类似的钙信号调节作用. 当然青蒿素类化合物对于p38 MAPK及胞内钙信号的调节与其促凋亡反应之间的确切机制还有待进一步研究, 同时该调控是否作为一种普遍的作用方式出现在多种细胞模型中尚有待证实.

肿瘤抑制基因p53是p38 MAPK下游的重要调控蛋白, 尽管青蒿素类衍生物对p53的表达和活性的影响尚无完整的报道, 但研究显示p53的状态(野生型、突变型、缺失)与细胞对于药物的敏感性方面具有不同的研究报道. 在结肠癌HCT116 p53^{+/+}与HCT116 p53^{-/-}中, 青蒿素均能够抑制两种细胞的增殖能力^[51]; 在一些细胞模型中, 青蒿素并不能调节p53的水平而在其他一些细胞中却表现出不同的结果; 在p53野生型和缺失的肝癌细胞中, 青蒿素均能促进p53下游周期和生长调节基因p21的表达, 诱导细胞凋亡, 显示其p53非依赖的抗肿瘤功效^[21]; 也有结果显示在卵巢癌中, 双氢青蒿素似乎对p53野生型肿瘤细胞的促凋亡作用更加明显^[52].

上述研究显示, 青蒿素类化合物能够调节细胞凋亡通路相关的基因/蛋白的水平 and 活性, 具有良好的促肿瘤凋亡作用, 其确切分子机制可能随细胞来源不同、基因背景差异及衍生物化学结构的不同而展现出特异性的胞内信号反应.

1.3 青蒿素类化合物诱导细胞周期阻滞

据报道青蒿素类化合物能有效地抑制肿瘤细胞的周期进展, 调控周期相关蛋白的表达和活性, 这一调节反应因细胞组织来源和状态的不同而展现出差异性. 本研究组的结果显示, 青蒿素和双氢青蒿素能够显著抑制肝癌细胞HepG2和Hep3B细胞的增殖, 促进其细胞周期G1期阻滞, 降低G1期周期相关蛋白Cyclin D1, Cyclin E, CDK2, CDK4, E2F1的表达, 促进抑癌基因p21和p27的表达^[21]. 其他研究人员在前列腺癌细胞LNCaP中也发现了类似的G1期阻滞和相关蛋白的改变, 同时青蒿素能够通过抑制转录因子Sp-1磷酸化, 进而阻断内源性Sp-1与CDK4启动子的结合, 提示青蒿素能够特异性地靶向磷酸化反应过程, 控制细胞周期相关蛋白的表达从而阻断周期进展^[48]. 在乳腺癌研究中发现, 青蒿素阻断细胞周期进展与细胞对雌激素的敏感性相关, 青蒿素对于雌

激素敏感的乳腺癌细胞展现出更为显著的周期抑制效应, 这一结果提示雌激素受体ER相关信号通路参与了青蒿素的周期抑制过程^[36].

1.4 青蒿素类化合物抑制血管生成

血管系统的建立是肿瘤细胞生长和生存的重要过程, 包括了一系列复杂事件如肿瘤细胞分泌血管形成所需的因子和物质、借助基质金属蛋白酶等重塑细胞外基质和新生血管的形成等. 这一过程依赖于血管内皮细胞的有丝分裂, 而血管生成因子VEGF及其受体VEGFR相关信号通路的激活起决定性作用. 在一项研究中利用美国国立卫生研究院批注的60种细胞系基因表达结果发现, 青蒿素及其衍生物能够展现出显著的抗血管能力^[53]; 与之类似, 其他研究报道青蒿素能够显著抑制低氧诱导因子HIF-1 α 的表达, 该基因可以转录激活VEGFA的表达, 在肿瘤低氧组织新生血管过程中发挥重要功能; 青蒿素能够通过氧化应激反应抑制HIF-1 α 和VEGFA的表达, 这一过程可以被抗氧化剂维生素E和甘露醇所阻断^[54]; 研究还显示, 除抑制血管生成因子VEGF外, 青蒿素类化合物还能抑制其受体VEGFR的表达, 在卵巢癌动物模型中, 青蒿琥酯能抑制新生血管标记物CD31和VEGF受体KDR的表达^[55].

有趣的是, 具有相似结构的倍半萜内酯类化合物也展现出相似的抗血管生成作用, 如窃衣素(torilin)能够抑制VEGFA的表达进而阻断新生血管形成^[56], 来源于植物云木香(*Saussurea lappa*)的木香烯内酯可以抑制KDR信号通路^[57]. 由于青蒿素类化合物及其他倍半萜类衍生物具有血管生成抑制作用, 因此也在一些啮齿类发育模型中显示出一定的胚胎毒性, 如神经管、腮弓和体节发育缺陷等.

1.5 青蒿素及其衍生物抑制肿瘤细胞迁移和侵袭能力

侵袭性与转移能力是癌细胞区别于正常细胞的最基本的特征之一, 也是导致患者肿瘤复发、病情恶化而最终死亡的病理基础. 许多研究报道, 青蒿素能够抑制细胞的侵袭和转移能力, 这与降低基质金属蛋白酶MMP2和整合素蛋白 $\alpha v \beta 3$ 的表达有关, 这些蛋白在细胞迁移和侵袭过程中发挥重要功能^[58]. 近期研究也显示, 青蒿素可以调节MMP-2的表达, 而MMP-2转录活性受到转录因子Sp-1的调控; 其他研

究显示,青蒿素调节基质金属蛋白酶MMP-9, MMP-11及BMP-1的表达,提示基质金属蛋白酶家族可能是青蒿素抗癌的重要靶点^[41]。血管生成是肿瘤远端转移后定植生长所必需的关键环节,研究显示,青蒿素、青蒿琥酯及其他衍生物能够通过抑制多种促血管生成因子如VEGF, FGF, HIF-1和上调血管生成抑制因子从而发挥抗肿瘤转移功效^[53,59]。

此外,本研究组近期研究结果显示,双氢青蒿素能够在卵巢癌中有效抑制肿瘤转移的上皮间质形态转换过程(epithelial-mesenchymal transition, EMT),显著抑制多种调控EMT的转录因子的表达如Snail, Slug和Twist,进而促进E-cadherin表达,抑制肿瘤迁移和侵袭抑制。

2 青蒿素及其衍生物的化学增敏作用

目前临床肿瘤治疗方案的一个问题是较为严重的副反应,因此发展新的治疗方案以增加治疗效果、降低毒副作用成为亟待解决的问题。阿霉素、吉西他滨、多西紫杉醇、顺铂或卡铂是临床最为常见的化疗用药。大量基于青蒿素的联合化疗用药方案已经开展,发现其能增敏或逆转肿瘤细胞对传统化疗药物的耐药性。

2.1 青蒿素与阿霉素

化疗增敏是青蒿素与其他化疗药物协同作用的一个重要机制。研究显示,青蒿素类衍生物如青蒿素、双氢青蒿素或青蒿琥酯与阿霉素联合使用,能够显著增加多药耐药肿瘤细胞的敏感性。青蒿素通过降低线粒体膜电位及ATP浓度参与该过程,而并不影响多药耐药相关蛋白(multidrug resistance associated protein 1, MRP1)的表达及其介导的药物外排^[20]。另有研究显示,青蒿素类化合物能够显著促进阿霉素耐药细胞的凋亡,并通过线粒体凋亡途径增敏阿霉素的抗肿瘤效果^[60]。

2.2 青蒿素与吉西他滨

研究报道,双氢青蒿素能够显著增敏吉西他滨对于胰腺癌的治疗效果。70%的胰腺癌具有NF- κ B信号的组成型激活,抑制癌细胞凋亡,促进细胞增殖。吉西他滨已知能够促进NF- κ B信号通路的激活。而联合用药后,双氢青蒿素能够显著抑制吉西他滨诱导的NF- κ B的激活,从而有效增加其疗效^[61]。另外,

双氢青蒿素能够以ROS非依赖、线粒体凋亡信号和死亡受体级联信号依赖的方式增敏吉西他滨对于肺癌A549的治疗效果^[62]。本研究组在肝癌细胞中也发现,青蒿素和双氢青蒿素能够有效地增敏吉西他滨的治疗效果,促进细胞G1期周期阻滞和细胞凋亡^[21]。

2.3 青蒿素与铂类药物

胃癌模型研究显示,青蒿素联合顺铂具有协同抗癌效果,通过产生ROS抑制肿瘤细胞上皮-间叶形态转换、血管生成及ATP的产生。青蒿素还能下调DNA同源重组关键蛋白RAD51的表达,协同顺铂促进卵巢癌的双联DNA断裂^[63]。此外,mTOR的激活是卵巢癌顺铂耐药的主要原因之一,双氢青蒿素能够通过抑制mTOR活性,增加耐药细胞对于顺铂的敏感性^[64]。本研究组也发现,双氢青蒿素能够通过诱导G2期细胞周期阻滞有效地促进卵巢癌对于卡铂治疗的敏感性^[55]。

2.4 青蒿素相关临床试验

在一项小型单中心、随机双盲结肠癌临床试验中,术前每天口服青蒿琥酯(200 mg, $n=12$, 共14 d)能显著抑制结肠癌术后复发,显示青蒿琥酯具有体内抗结肠癌功效,并且病人具有良好的耐受^[65]。另一项单中心的颈部肿瘤临床试验评估了口服青蒿素类药物的有效性、安全性及临床获益。结果显示,青蒿素类药物无明显毒副作用,免疫组化结果显示治疗后p53, EGFR, Ki67和CD31均显著下调,提示青蒿素类药物的良好体内抗肿瘤效果^[66]。在一项青蒿琥酯与顺铂或长春瑞滨联合化疗的非小细胞肺癌临床试验中,经静脉注射120 mg青蒿琥酯($n=60$)联合化疗方案能够显著抑制肿瘤的生长,并无明显毒副反应产生^[67]。

3 未来发展方向

由于青蒿素类药物与传统抗癌药物相比价格低廉且来源广泛,同时具有广谱抗癌潜能而对正常机体无明显毒副作用,还具有逆转肿瘤细胞对传统化疗药物耐药性等能力,在肿瘤联合治疗中可能与传统化疗抗癌药物起到协同、增效的作用;而传统的化疗药物很难达到抗增殖、抗转移、抗血管生成及抗炎等多管齐下的功效。因此,该类物质无论是在肿瘤治疗方面,还是在药物研发方面,都具有极其广泛的应用前景。

3.1 青蒿素抗肿瘤靶标的确证和个性化用药

人们对青蒿素类药物在抗肿瘤和抗疟的作用机理的认识已经取得了长足的进步。近期, Wang等人^[8]利用生物素标记的青蒿素衍生物, 在疟原虫中发现了124个与青蒿素相互作用蛋白, 这些靶蛋白在寄生虫的生存过程中发挥重要作用。目前, 青蒿素及其衍生物发挥抗癌活性的确切分子机制仍不够清楚。已知其通过调节活性氧自由基、氧化DNA损伤、维持DNA双链断裂、诱导细胞周期阻滞和凋亡等多种抗癌机制, 但其直接作用靶标和敏感人群标志物尚未被解析。为提高其治疗效果, 发展为新型临床用药、实现个体化肿瘤治疗效果, 需要结合生物物理学、生物化学等多学科交叉手段进一步解析其分子靶标及更为精确的信号通路。由于青蒿素已被批准为临床治疗疟疾的药物, 因此阐明其抗癌特征和直接作用靶点及相关分子机制对于该类药物的进一步改造、肿瘤类型和遗传背景的选择及病人的个体化治疗至关重要, 这需要药物学家、分子生物学家等共同努力而完成。

3.2 青蒿素与免疫治疗

化疗药物对于免疫系统的作用可能具有两面性^[68]。一方面, 传统化疗药物如环磷酰胺和氨甲喋呤在抑制肿瘤生长的同时也会损害外周T细胞的增殖和效应功能, 进而发挥免疫抑制效应; 而多数细胞毒药物诱导的细胞死亡通过凋亡途径, 这也是一种非免疫原性的细胞死亡, 即诱导免疫耐受死亡。而另一方面, 有些化疗药物可以从免疫系统的参与中获益, 如吉西他滨会触发细胞免疫原性死亡(immunogenic cell death, ICD), 产生抗原特异性的肿瘤免疫反应。而对于后者, 可以通过两种方式发挥免疫激活作用: 一种启动非经典凋亡通路, 诱导肿瘤细胞的免疫原性; 另一种是细胞毒药物消除免疫抑制微环境, 上调免疫因子的表达。

虽然青蒿素对免疫系统调控作用的研究尚处于起步阶段, 但有研究报道其能通过调控多种免疫抑制细胞如中性粒细胞、巨噬细胞、调节性T细胞而发

挥免疫调节作用。有研究显示, 双氢青蒿素能够通过降低巨噬细胞的浸润抑制卵巢癌的转移能力^[69]; 在小鼠(*Mus musculus*)乳腺癌模型中, 研究发现青蒿素能够有效降低调节性T细胞的数量, 降低肿瘤免疫抑制的能力^[70,71]。以上研究提示, 通过青蒿素与化疗药物或免疫治疗药物联合使用激发抗肿瘤免疫反应成为一种可能, 这为青蒿素的临床抗肿瘤应用指明了另一新的方向。

3.3 新型青蒿素抗癌衍生物设计和改造

青蒿素及人工合成主要衍生物(如双氢青蒿素、蒿甲醚、青蒿琥酯等)普遍存在水溶差的问题, 导致青蒿素生物利用度低, 口服利用率低, 需要在短时间内大剂量反复给药才能达到治疗效果, 而大剂量反复给药势必导致耐药性的产生, 影响治疗效果。同时青蒿素及衍生物的半衰期极其短, 因此对其结构进行改造, 寻找合适的青蒿素抗癌衍生物是当今研究的热点。以天然活性物质作为新药的先导化合物, 应用药物设计的原理, 对它们进行结构改造, 以达到提高药效减小毒副作用的目的, 开发新的高效低毒药物, 增加化疗药物的敏感性和选择性, 降低或逆转耐药效应, 是发现新药的一条有效途径。以青蒿素为骨架结构进行改造和设计产生新型更高效低毒的青蒿素类化合物的研究方兴未艾, 也已经取得一些研究进展, 如青蒿素单体、二聚体和三聚体的结构改造大大提高了青蒿素的抗肿瘤效果^[18,72]; 研究发现, 通过与转铁蛋白共价偶联, 可以显著提高青蒿素和双氢青蒿素新型衍生物的肿瘤杀伤效率和选择特异性^[73]。本研究组利用拼合原理, 通过对双氢青蒿素的改造, 拼合临床所使用的细胞毒类、激素类等药物, 以期达到对肿瘤细胞的选择性毒性的目的, 从而实现抗肿瘤作用。通过高通量药物活性筛选发现, 发现了结构新颖、抗肿瘤效果优异的青蒿素衍生物ARS4。在体内肝癌和卵巢癌原位、皮下、转移等模型中均发现ARS4表现出优于双氢青蒿素的抗肿瘤效果且无明显毒副作用^[26]。

参考文献

- 1 Miller L H, Su X. Artemisinin: Discovery from the Chinese herbal garden. *Cell*, 2011, 146: 855–858
- 2 Coordinating Group for Research on the Structure of Qinghaosu. A new type of sesquiterpene lactone—Qinghaosu (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 1977, 22: 142 [青蒿素结构研究协作组. 一种新型的倍半萜内酯—青蒿素. *科学通报*, 1977, 22: 142]
- 3 Meshnick S R. Artemisinin: Mechanisms of action, resistance and toxicity. *Int J Parasitol*, 2002, 32: 1655–1660
- 4 Chaturvedi D, Goswami A, Saikia P P, et al. Artemisinin and its derivatives: A novel class of anti-malarial and anti-cancer agents. *Chem Soc Rev*, 2010, 39: 435–454
- 5 Haynes R K, Cheu K W, N'Da D, et al. Considerations on the mechanism of action of artemisinin antimalarials: Part 1—the “carbon radical” and “heme” hypotheses. *Infect Disord Drug Targets*, 2013, 13: 217–277
- 6 Arnou B, Montigny C, Morth J P, et al. The *Plasmodium falciparum* Ca²⁺-ATPase PfATP6: Insensitive to artemisinin, but a potential drug target. *Biochem Soc Trans*, 2011, 39: 823–831
- 7 Ismail H M, Barton V, Phanchana M, et al. Artemisinin activity-based probes identify multiple molecular targets within the asexual stage of the malaria parasites *Plasmodium falciparum* 3D7. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 2080–2085
- 8 Wang J, Zhang C J, Chia W N, et al. Haem-activated promiscuous targeting of artemisinin in *Plasmodium falciparum*. *Nat Commun*, 2015, 6: 10111
- 9 Li H J, Wang W, Li Y Z, et al. Effects of artemether, artesunate and dihydroartemisinin administered orally at multiple doses or combination in treatment of mice infected with *Schistosoma japonicum*. *Parasitol Res*, 2011, 109: 515–519
- 10 Liu R, Dong H F, Guo Y, et al. Efficacy of praziquantel and artemisinin derivatives for the treatment and prevention of human schistosomiasis: A systematic review and meta-analysis. *Parasit Vectors*, 2011, 4: 201
- 11 Tan Y Q, Zhao Y, Lin Q Y, et al. Experimental study on antiendotoxin effect of extracts from *Artemisia annua* L. (in Chinese). *China J Chin Mater Med*, 1999, 24: 166–171 [谭余庆, 赵一, 林启云, 等. 青蒿提取物抗内毒素实验研究. *中国中药杂志*, 1999, 24: 166–171]
- 12 Cheng C, Ho W E, Goh F Y, et al. Anti-malarial drug artesunate attenuates experimental allergic asthma via inhibition of the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway. *PLoS One*, 2011, 6: e20932
- 13 Li T, Chen H, Wei N, et al. Anti-inflammatory and immunomodulatory mechanisms of artemisinin on contact hypersensitivity. *Int Immunopharmacol*, 2012, 12: 144–150
- 14 Li W D, Dong Y J, Tu Y Y, et al. Dihydroarteannuin ameliorates lupus symptom of BXSB mice by inhibiting production of TNF-alpha and blocking the signaling pathway NF-kappa B translocation. *Int Immunopharmacol*, 2006, 6: 1243–1250
- 15 Noori S, Hassan Z M. Dihydroartemisinin shift the immune response towards Th1, inhibit the tumor growth *in vitro* and *in vivo*. *Cell Immunol*, 2011, 271: 67–72
- 16 Zhao Y G, Wang Y, Guo Z, et al. Dihydroartemisinin ameliorates inflammatory disease by its reciprocal effects on Th and regulatory T cell function via modulating the mammalian target of rapamycin pathway. *J Immunol*, 2012, 189: 4417–4425
- 17 Efferth T, Dunstan H, Sauerbrey A, et al. The anti-malarial artesunate is also active against cancer. *Int J Oncol*, 2001, 18: 767–773
- 18 Paik I H, Xie S, Shapiro T A, et al. Second generation, orally active, antimalarial, artemisinin-derived trioxane dimers with high stability, efficacy, and anticancer activity. *J Med Chem*, 2006, 49: 2731–2734
- 19 Mukanganyama S, Widersten M, Naik Y S, et al. Inhibition of glutathione S-transferases by antimalarial drugs possible implications for circumventing anticancer drug resistance. *Int J Cancer*, 2002, 97: 700–705
- 20 Reungpatthanaphong P, Mankhetkorn S. Modulation of multidrug resistance by artemisinin, artesunate and dihydroartemisinin in K562/adr and GLC4/adr resistant cell lines. *Biol Pharm Bull*, 2002, 25: 1555–1561
- 21 Hou J, Wang D, Zhang R, et al. Experimental therapy of hepatoma with artemisinin and its derivatives: *In vitro* and *in vivo* activity, chemosensitization, and mechanisms of action. *Clin Cancer Res*, 2008, 14: 5519–5530
- 22 Ba Q, Zhou N, Duan J, et al. Dihydroartemisinin exerts its anticancer activity through depleting cellular iron via transferrin receptor-1. *PLoS One*, 2012, 7: e42703
- 23 Chen T, Li M, Zhang R, et al. Dihydroartemisinin induces apoptosis and sensitizes human ovarian cancer cells to carboplatin therapy. *J Cell Mol Med*, 2009, 13: 1358–1370
- 24 Huang C, Ba Q, Yue Q, et al. Artemisinin rewires the protein interaction network in cancer cells: Network analysis, pathway identification, and target prediction. *Mol Biosyst*, 2013, 9: 3091–3100
- 25 Ba Q, Duan J, Tian J Q, et al. Dihydroartemisinin promotes angiogenesis during the early embryonic development of zebrafish. *Acta Pharmacol Sin*, 2013, 34: 1101–1107
- 26 Li X, Zhou Y, Liu Y, et al. Preclinical efficacy and safety assessment of artemisinin-chemotherapeutic agent conjugates for ovarian cancer. *EBioMedicine*, 2016, 14: 44–54

- 27 Zhang X, Ba Q, Gu Z, et al. Fluorescent coumarin-artemisinin conjugates as mitochondria-targeting theranostic probes for enhanced anticancer activities. *Chemistry*, 2015, 21: 17415–17421
- 28 Singh N P, Lai H. Selective toxicity of dihydroartemisinin and holotransferrin toward human breast cancer cells. *Life Sci*, 2001, 70: 49–56
- 29 Lai H, Singh N P. Selective cancer cell cytotoxicity from exposure to dihydroartemisinin and holotransferrin. *Cancer Lett*, 1995, 91: 41–46
- 30 May W S Jr, Cuatrecasas P. Transferrin receptor: Its biological significance. *J Membr Biol*, 1985, 88: 205–215
- 31 Singh N P, Lai H C. Artemisinin induces apoptosis in human cancer cells. *Anticancer Res*, 2004, 24: 2277–2280
- 32 Disbrow G L, Baegle A C, Kierpiec K A, et al. Dihydroartemisinin is cytotoxic to papillomavirus-expressing epithelial cells *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res*, 2005, 65: 10854–10861
- 33 Lee J, Zhou H J, Wu X H. Dihydroartemisinin downregulates vascular endothelial growth factor expression and induces apoptosis in chronic myeloid leukemia K562 cells. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2006, 57: 213–220
- 34 Li Y, Shan F, Wu J M, et al. Novel antitumor artemisinin derivatives targeting G1 phase of the cell cycle. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, 11: 5–8
- 35 Gong X M, Zhang Q, Torossian A, et al. Selective radiosensitization of human cervical cancer cells and normal cells by artemisinin through the abrogation of radiation-induced G2 block. *Int J Gynecol Cancer*, 2012, 22: 718–724
- 36 Efferth T, Olbrich A, Bauer R. mRNA expression profiles for the response of human tumor cell lines to the antimalarial drugs artesunate, arteether, and artemether. *Biochem Pharmacol*, 2002, 64: 617–623
- 37 Aldieri E, Atragene D, Bergandi L, et al. Artemisinin inhibits inducible nitric oxide synthase and nuclear factor NF- κ B activation. *FEBS Lett*, 2003, 552: 141–144
- 38 Efferth T. Molecular pharmacology and pharmacogenomics of artemisinin and its derivatives in cancer cells. *Curr Drug Targets*, 2006, 7: 407–421
- 39 Dell'Eva R, Pfeffer U, Vene R, et al. Inhibition of angiogenesis *in vivo* and growth of Kaposi's sarcoma xenograft tumors by the anti-malarial artesunate. *Biochem Pharmacol*, 2004, 68: 2359–2366
- 40 Zhang J L, Wang Z, Hu W, et al. DHA regulates angiogenesis and improves the efficiency of CDDP for the treatment of lung carcinoma. *Microvasc Res*, 2013, 87: 14–24
- 41 Cao Q, Jiang Y, Shi J, et al. Artemisinin inhibits the proliferation, migration, and inflammatory reaction induced by tumor necrosis factor- α in vascular smooth muscle cells through nuclear factor kappa B pathway. *J Surg Res*, 2015, 194: 667–678
- 42 Tan W F, Shen F, Luo X J, et al. Artemisinin inhibits *in vitro* and *in vivo* invasion and metastasis of human hepatocellular carcinoma cells. *Phytomedicine*, 2011, 18: 158–162
- 43 Bustos M D, Gay F, Diquet B. *In-vitro* tests on Philippine isolates of *Plasmodium falciparum* against four standard antimalarials and four qinghaosu derivatives. *Bull World Health Organ*, 1994, 72: 729–735
- 44 Kelter G, Steinbach D, Konkimalla V B, et al. Role of transferrin receptor and the ABC transporters ABCB6 and ABCB7 for resistance and differentiation of tumor cells towards artesunate. *PLoS One*, 2007, 2: e798
- 45 Efferth T, Benakis A, Romero M R, et al. Enhancement of cytotoxicity of artemisinins toward cancer cells by ferrous iron. *Free Radic Biol Med*, 2004, 37: 998–1009
- 46 Nam W, Tak J, Ryu J K, et al. Effects of artemisinin and its derivatives on growth inhibition and apoptosis of oral cancer cells. *Head Neck*, 2007, 29: 335–340
- 47 Chen H, Sun B, Pan S, et al. Dihydroartemisinin inhibits growth of pancreatic cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Anticancer Drugs*, 2009, 20: 131–140
- 48 Willoughby J A Sr, Sundar S N, Cheung M, et al. Artemisinin blocks prostate cancer growth and cell cycle progression by disrupting Sp1 interactions with the cyclin-dependent kinase-4 (*CDK4*) promoter and inhibiting *CDK4* gene expression. *J Biol Chem*, 2009, 284: 2203–2213
- 49 Dong L, Wang W, Wang F, et al. Mechanisms of transcriptional activation of *BCL-2* gene expression by 17 β -estradiol in breast cancer cells. *J Biol Chem*, 1999, 274: 32099–32107
- 50 Mu D, Zhang W, Chu D, et al. The role of calcium, P38 MAPK in dihydroartemisinin-induced apoptosis of lung cancer PC-14 cells. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2008, 61: 639–645
- 51 Efferth T, Sauerbrey A, Olbrich A, et al. Molecular modes of action of artesunate in tumor cell lines. *Mol Pharmacol*, 2003, 64: 382–394
- 52 Jiao Y, Ge C M, Meng Q H, et al. Dihydroartemisinin is an inhibitor of ovarian cancer cell growth. *Acta Pharmacol Sin*, 2007, 28: 1045–1056
- 53 Anfosso L, Efferth T, Albini A, et al. Microarray expression profiles of angiogenesis-related genes predict tumor cell response to artemisinins. *Pharmacogenomics J*, 2006, 6: 269–278

- 54 Wartenberg M, Wolf S, Budde P, et al. The antimalaria agent artemisinin exerts antiangiogenic effects in mouse embryonic stem cell-derived embryoid bodies. *Lab Invest*, 2003, 83: 1647–1655
- 55 Chen H H, Zhou H J, Wu G D, et al. Inhibitory effects of artesunate on angiogenesis and on expressions of vascular endothelial growth factor and VEGF receptor KDR/flk-1. *Pharmacology*, 2004, 71: 1–9
- 56 Kim M S, Lee Y M, Moon E J, et al. Anti-angiogenic activity of torilin, a sesquiterpene compound isolated from *Torilis japonica*. *Int J Cancer*, 2000, 87: 269–275
- 57 Jeong S J, Itokawa T, Shibuya M, et al. Costunolide, a sesquiterpene lactone from *Saussurea lappa*, inhibits the VEGFR KDR/Flk-1 signaling pathway. *Cancer Lett*, 2002, 187: 129–133
- 58 Buommino E, Baroni A, Canozo N, et al. Artemisinin reduces human melanoma cell migration by down-regulating alpha V beta 3 integrin and reducing metalloproteinase 2 production. *Invest New Drugs*, 2009, 27: 412–418
- 59 Zhou H J, Wang W Q, Wu G D, et al. Artesunate inhibits angiogenesis and downregulates vascular endothelial growth factor expression in chronic myeloid leukemia K562 cells. *Vascul Pharmacol*, 2007, 47: 131–138
- 60 Efferth T, Giaisi M, Merling A, et al. Artesunate induces ROS-mediated apoptosis in doxorubicin-resistant T leukemia cells. *PLoS One*, 2007, 2: e693
- 61 Wang S J, Gao Y, Chen H, et al. Dihydroartemisinin inactivates NF-kappaB and potentiates the anti-tumor effect of gemcitabine on pancreatic cancer both *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Lett*, 2010, 293: 99–108
- 62 Zhao C, Gao W, Chen T. Synergistic induction of apoptosis in A549 cells by dihydroartemisinin and gemcitabine. *Apoptosis*, 2014, 19: 668–681
- 63 Wang B, Hou D, Liu Q, et al. Artesunate sensitizes ovarian cancer cells to cisplatin by downregulating RAD51. *Cancer Biol Ther*, 2015, 16: 1548–1556
- 64 Feng X, Li L, Jiang H, et al. Dihydroartemisinin potentiates the anticancer effect of cisplatin via mTOR inhibition in cisplatin-resistant ovarian cancer cells: Involvement of apoptosis and autophagy. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 444: 376–381
- 65 Krishna S, Ganapathi S, Ster I C, et al. A randomised, double blind, placebo-controlled pilot study of oral artesunate therapy for colorectal cancer. *EBioMedicine*, 2015, 2: 82–90
- 66 Jansen F H, Adoubi I, Kc J C, et al. First study of oral Artemimol-R in advanced cervical cancer: Clinical benefit, tolerability and tumor markers. *Anticancer Res*, 2011, 31: 4417–4422
- 67 Zhang Z Y, Yu S Q, Miao L Y, et al. Artesunate combined with vinorelbine plus cisplatin in treatment of advanced non-small cell lung cancer: A randomized controlled trial. *Chin J Integr Med*, 2008, 6: 134–138
- 68 Emens L A, Middleton G. The interplay of immunotherapy and chemotherapy: Harnessing potential synergies. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3: 436–443
- 69 Wu B, Hu K, Li S, et al. Dihydroartemisinin inhibits the growth and metastasis of epithelial ovarian cancer. *Oncol Rep*, 2012, 27: 101–108
- 70 Langroudi L, Hassan Z M, Ebtekar M, et al. A comparison of low-dose cyclophosphamide treatment with artemisinin treatment in reducing the number of regulatory T cells in murine breast cancer model. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10: 1055–1061
- 71 Azimi Mohamadabadi M, Hassan Z M, Zavaran Hosseini A, et al. Arteether exerts antitumor activity and reduces CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ T-reg cells *in vivo*. *Iran J Immunol*, 2013, 10: 139–149
- 72 Lai H C, Singh N P, Sasaki T. Development of artemisinin compounds for cancer treatment. *Invest New Drugs*, 2013, 31: 230–246
- 73 Nakase I, Lai H, Singh N P, et al. Anticancer properties of artemisinin derivatives and their targeted delivery by transferrin conjugation. *Int J Pharmaceut*, 2008, 354: 28–33

Summary for “青蒿素及其衍生物抗肿瘤研究进展”

Anticancer effect of artemisinin and its derivatives: Research progress, mechanism of action and future perspectives

LI XiaoGuang, BA Qian, LI JingQuan & WANG Hui*

School of Public health, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

* Corresponding author, E-mail: huiwang@shsmu.edu.cn

There is an increasing interest in developing natural product anticancer agents that have better efficacy and safety profiles than conventional synthetic compounds. Artemisinin, which is clinically used antimalarial agent, has saved millions of lives across the global, especially in the developing world. Preclinical investigation and clinical experience have shown the potential anticancer effect of artemisinin and its derivatives. The major anticancer mechanisms of actions seem to be directed toward tumor cell growth and proliferation generated by cell cycle arrest and apoptosis mediated by reactive oxygen species (ROS) and inhibition of tumor angiogenesis. Multiple studies have shown additive synergistic effect of artemisinin on synthetic chemotherapeutic drugs such as doxorubicin, gemcitabine, paclitaxel, and cisplatin. This review provides a comprehensive discussion of these cellular responses and anti-tumor mechanism of artemisinin and its derivatives, and potential combination with chemotherapies as well as some clinical trials involving artemisinins. However, the therapeutic potencies of artemisinin and some synthetic derivatives such as dihydroartemisinin, artemether, arteether, and artesunate are limited by their low solubility, short half-life and poor bioavailability. Great efforts have been made to overcome these weaknesses via enhanced pharmacological and pharmacokinetics properties and targeted anticancer activities. Moreover, immunotherapy is one of the most exciting areas of new discoveries and treatments for many different kinds of cancer. Harnessing the synergy between immunotherapy and chemotherapy toward additive clinical activity can offer new direction to the use of artemisinins. More investigations are required on the immunomodulatory mechanisms of artemisinins in cancer. An effort is also made towards presentation the new directions on artemisinin studies such as the immunomodulation and immunotherapy and designation of novel artemisinin derivatives with better biological activities. It is expected that this review will provide first-hand information on the anti-tumor development of artemisinin.

artemisinin, artemisinin related derivatives, antimalarials, anticancer activity, mechanism of action, future perspectives

doi: 10.1360/N972017-00314