

DOI: 10.13376/j.cbls/2015163

文章编号: 1004-0374(2015)09-1181-12

青蒿素类化合物抗肿瘤研究新进展

袁 亚, 李晓光, 巴 乾, 王 慧*

(中国科学院上海生命科学研究院营养科学研究所, 中国科学院食品安全重点实验室(筹), 上海 200031)

摘 要: 传统中药及其天然活性成分为现代医药发展提供了丰富的资源。青蒿素及其衍生物的抗疟活性已得到世界公认, 具有起效快、药效高、毒副作用低等优点。不断深入的研究揭示了该类化合物具有良好的抗肿瘤作用, 如诱导细胞周期阻滞、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等。目前, 在认识青蒿素类化合物抗癌分子作用机理的基础上对其进行结构改造, 为新型一类抗肿瘤药物的研制奠定基础。对青蒿素及其衍生物的抗肿瘤活性及相关分子机制研究现状进行了综述。

关键词: 青蒿素; 青蒿素衍生物; 肿瘤; 分子机制

中图分类号: R730.5; R927.2

文献标志码: A

New progresses on the antitumor research of artemisinin-derived compounds

YUAN Ya, LI Xiao-Guang, BA Qian, WANG Hui*

(Key Laboratory of Food Safety Research, Institute for Nutritional Sciences,
Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract: Traditional Chinese medicine and related natural active ingredients provide rich resources for the development of modern medicine. The antimalarial activities of artemisinin and its derivatives have been widely acknowledged around the world, because of its quick effect, high efficacy and low toxicity. As research continues, artemisinin has been demonstrated to have cytotoxic effects against a variety of cancer cells through inducing cell cycle arrest, promoting apoptosis, preventing angiogenesis, and abrogating cancer metastasis, etc. Great progresses have been achieved on anti-tumor mechanisms of artemisinin compounds and these were systematically reviewed here, which may provide sights for novel anticancer agents development in the future.

Key words: artemisinin; artemisinin derivatives; tumor; molecular mechanisms

青蒿素是我国药学工作者 20 世纪 70 年代从菊科植物黄花蒿 (*Artemisia annua* L.) 的叶和花蕾中分离获得的一种含有过氧基团、具有抗疟疾作用的倍半萜内酯类化合物^[1]。在临床上, 青蒿素及其衍生物是通过自身含有的过氧桥跟疟疾虫体内的血红素或亚铁离子(宿主血红蛋白的代谢产物)反应, 发生过氧桥断裂, 同时形成自由基, 达到氧化杀伤疟疾虫的作用^[2], 其疗效显著、起效快且无明显的副作用^[3]。除抗疟活性外, 青蒿素类药物还具有其他多种药理作用, 例如抗血吸虫^[4]、抗心律失常、抗平喘、抗内毒素^[5]、抗变态反应^[6]、抗红斑狼疮^[7]以及免疫抑制等作用^[8]。近年来, 随着对青蒿素及其衍生物研究的不断深入, 其抗肿瘤活性逐渐被发现并日益

受到关注。本文就青蒿素类化合物的发展现状及其抗肿瘤活性和相关分子机制进行综述, 以期为新型青蒿素类抗癌药物的开发提供相关信息和基础。

1 青蒿素类衍生物的种类和研究现状

1.1 青蒿素的来源

中药黄花蒿在我国古代民间疗法中用于治疗多种疾病, 包括疥癣、皮肤湿痒、淋巴管炎、消化不

收稿日期: 2015-03-27; 修回日期: 2015-04-17

基金项目: 国家杰出青年科学基金项目(81125020);
上海市科技支撑项目(12431900500)

*通信作者: E-mail: huiwang@sibs.ac.cn; Tel: 021-54920941

良以及疟疾等。1972年,我国科学家屠呦呦及其研究团队重新发现并确定其中抗疟有效单体,命名为“青蒿素”,并在2011年获得拉斯克医学奖。最初,青蒿素从中药黄花蒿中直接提取,工艺复杂且提取率仅为千分之一。虽然黄花蒿是世界广布品种,但其青蒿素的含量随黄花蒿产地的不同而差异极大,世界上绝大多数地区生产的黄花蒿中青蒿素含量都很低,无工业提取价值。目前,全球约80%的原料产自享有“世界青蒿之乡”的重庆酉阳。同时,黄花蒿的产量受环境及天气的影响较大,提取青蒿素消耗大量的有机溶剂产生大量的废弃物,从而造成严重的土地和材料资源的浪费。

在植物体内,青蒿素可能通过二氢青蒿酸过氧化物中间体,经光催化由二氢青蒿酸氧化得到。1983年,Xu等^[9]以青蒿酸为原料半合成青蒿素;Schmid和Hofheinz首次研究出全合成方法^[10]。此后,国内外报道了较多的全合成、半合成青蒿素方法^[11]。然而由于合成成本高昂,目前青蒿素仍然主要来源于黄花蒿提取或经黄花蒿中青蒿酸半合成而得。通常,青蒿素的含量仅为黄花蒿花和叶干重的0.01%~0.8%^[12];植物组织培养也仅能将青蒿素含量提高4~11倍^[13]。虽然青蒿素的提取率不断提高,但其产量显著受到来源的限制。

由于青蒿素的抗疟活性,其市场需求量极大,如何提高青蒿素的产量始终是世界科技界和产业界的热门课题。近年来,国内外在基因工程和人工合成制备青蒿素等方面的研究获得了重要突破。2006年,Keasling研究团队将青蒿素前体紫穗槐二烯的合成基因引入酿酒酵母,通过改造焦磷酸法尼酯的合成通路,开发出一种高产青蒿酸的工程菌^[14-15],能够将普通的糖类发酵成青蒿酸,改变了从中药黄花蒿中提取青蒿酸的历史,使青蒿酸的产量不再受到植物栽培的限制;并且,经微生物发酵而来的青蒿酸,提取成本低,提取过程对环境友好,在提高产量的同时减少了净化成本。2012年,我国科学家张万斌教授科研团队研发出一种由青蒿酸高效人工合成青蒿素的方法^[16],他们使用特定催化剂,将青蒿酸还原后所得到的二氢青蒿酸经过一个无需光照的常规合成途径获得过氧化二氢青蒿酸,再经氧化重排高效得到青蒿素。该方法经济且合成路线短,将青蒿素的收率提高至60%左右,非常适合于大规模的工业化生产。

1.2 青蒿素及其衍生物的分类

由于青蒿素的水溶性和油溶性较差、不易被胃

肠道吸收、难以制成合适的剂型、生物利用度低等因素,其临床使用大大受限。双氢青蒿素(dihydroartemisinin, DHA)是青蒿素体内代谢主要活性形式,水溶性和抗疟活性均强于青蒿素,且毒性更小。然而,双氢青蒿素的稳定性低于青蒿素,水溶性仍然不理想。近年来伴随着青蒿素及其衍生物被发现具有较好的抗肿瘤活性,科学家在青蒿素和双氢青蒿素的基础上进行结构改造,以期发现具有更高抗疟以及肿瘤功效的衍生物。相关衍生物主要包括青蒿素9位碳修饰的衍生物、10位碳修饰的衍生物和聚合物等。

1.2.1 青蒿素9位碳结构修饰

青蒿素9位取代基及其立体构型对活性有较大的影响,9位C取代的衍生物多用于治疗疟疾,抗肿瘤的应用并不广泛。Ekthawatchai等^[17]合成了一系列青蒿素碳9位的衍生物(图1),发现9位取代基的立体构型对活性具有重要的影响。青蒿素9位碳上的衍生物具有一定的抗疟活性,对人表皮细胞、人乳头腺癌细胞表现出较低的毒性。

1.2.2 青蒿素10位碳结构修饰

青蒿素10位碳结构修饰衍生物是目前青蒿素衍生物中种类最多的一类,主要包括酯类、醚类、酰胺类、糖基化、肽类衍生物等。

1.2.2.1 酯类衍生物

为了提高青蒿素的水溶性,科学家将双氢青蒿素10位碳上的羟基以酯基取代,得到青蒿素酯类衍生物。在此类酯类衍生物中,青蒿琥酯的钠盐是最早的水溶性青蒿素衍生物,对肝癌^[18]、肺癌^[19]、乳腺癌^[20]、卵巢癌^[21]、宫颈癌^[22]、胰腺癌^[23]、白血病^[24]、黑色素瘤^[25]、成视网膜细胞瘤^[26]均显示较好的抗肿瘤效果,具有抑制肿瘤生长和侵袭转移、抑制血管生成、促进凋亡等活性。在青蒿琥酯(图2)的基础上进一步改造出的芳甲基醚衍生物,尤其当芳环带有卤素时,其抗癌活性更高^[27]。双氢青蒿素苯甲酸酯能够抑制人舌鳞状癌细胞生长^[28]。在青蒿琥酯的基础上偶联 β -环糊精,不仅增加了青蒿琥酯的水溶性,更显著增加了其对结直肠癌的抗癌活性,其半数致死浓度为0.5~5.0 $\mu\text{mol/L}$ ^[29]。然而,酯键在体内容易断裂,导致酯类衍生物的稳定性较差。

1.2.2.2 醚类衍生物

将双氢青蒿素10位碳上羟基的氢原子以烷基取代得到醚类衍生物,可显著增加其水溶性以及在水溶液中的稳定性。此外,醚类衍生物油溶性好,

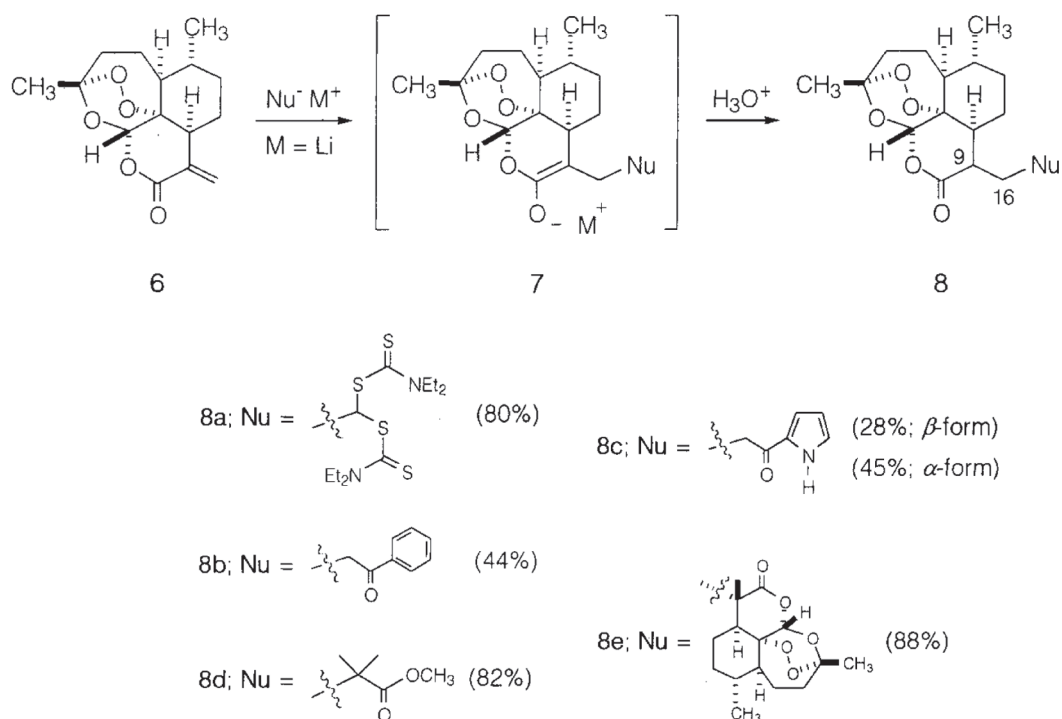
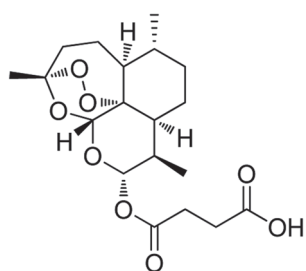
图1 青蒿素9位碳修饰衍生物^[17]

图2 青蒿琥酯的结构简式

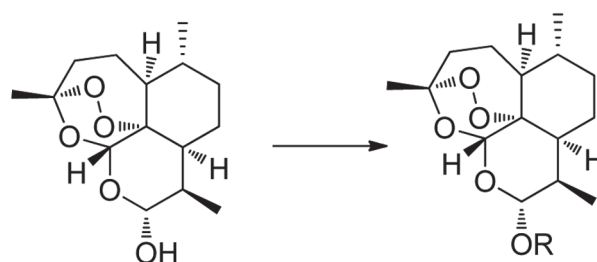


图3 青蒿素醚类衍生物结构简式

可以制成针剂,更易应用于临床。蒿甲醚和蒿乙醚是青蒿素醚类衍生物中最受关注的衍生物。研究显示蒿甲醚(图3)对脑胶质瘤^[30]、胃癌^[31]、肝癌^[32]细胞具有抑制作用。蒿乙醚具有促进凋亡、改善肿瘤微环境的生物活性^[33]。芳香醚青蒿素衍生物是青蒿素一类重要醚类衍生物,抗癌活性较高,其中对氟苯基和对溴苯基取代的衍生物对髓性白血病HL60细胞和T淋巴细胞株Jarket细胞的IC₅₀可达0.1~0.5 $\mu\text{mol/L}$ 。醚类衍生物虽然在细胞水平上表现出较好的抗肿瘤活性和化学稳定性,然而进入体内后经羟基化迅速代谢,限制其生物利用度,并且该类衍生物有毒副作用。

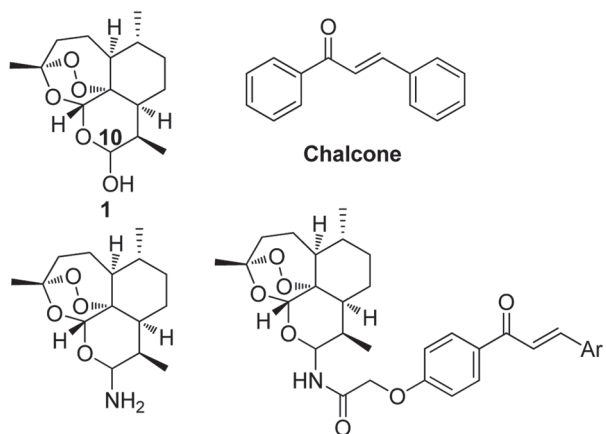
1.2.2.3 酰胺类衍生物

酰胺类衍生物是双氢青蒿素的10位碳上羟基

被氨基取代而得到的一类衍生物。酰胺脱氧青蒿素是酰胺类衍生物中最基本的一种,其他衍生物均在其酰胺键上增加取代基团得到。酰胺脱氧青蒿素具有高度酸稳定性,对多种癌细胞具有较强的抗癌活性,且体内毒副作用较低,并且该类衍生物具有很好的抑制血管生成作用^[34]。Xie等^[35]将查尔酮与双氢青蒿素以酰胺键相连(图4),筛选出的青蒿素衍生物在HT-29和HeLa细胞中的抗肿瘤活性相比双氢青蒿素提高10~70倍^[35]。

1.2.2.4 糖基化衍生物

近年来,科学家发现通过对已有化疗药物的糖基化修饰,可以减少原药毒副作用,并增加其生物利用度^[36]。糖基化青蒿素衍生物是将双氢青蒿素10位碳上的羟基以糖类物质取代而得到一类衍生物

图4 青蒿素酰胺键衍生物^[35]

(图5)。糖基化衍生物水溶性较高、不良反应少、抗肿瘤活性更强。研究发现该类化合物对胃癌和宫颈癌细胞抑制作用较好,其中半乳糖基双氢青蒿素对人宫颈癌细胞具有较强的抑制作用,在动物模型中的抑瘤率达到50%以上^[37]。

1.2.2.5 肽类衍生物

肽类衍生物是将双氢青蒿素10位碳上羟基的

氢原子以肽类物质取代而得到的一类衍生物,水溶性高。由于癌细胞快速增殖过程需要大量铁离子,因此,癌细胞表面转铁蛋白受体的表达量为正常细胞的5~15倍^[38]。青蒿素-转铁蛋白衍生物有助于提高青蒿素类化合物对肿瘤细胞的特异性,降低其对正常细胞的杀伤作用^[39],且该类衍生物具有比青蒿素更强的抗癌活性(图6)。相对正常细胞,双氢青蒿素-转铁蛋白对乳腺癌细胞MCF-7的杀伤作用提高了至少280倍^[40]。青蒿素-转铁蛋白经热敏的磁性纳米脂质体承载增加其稳定性,并能够达到靶向癌细胞的作用^[41]。然而,青蒿素-转铁蛋白作为大分子化合物,只能通过静脉注射方式给药,限制了其给药剂量,而且它与内源性转铁蛋白共同竞争细胞表面的转铁蛋白受体,限制其抗癌活性的进一步提高。

在此基础上,Oh等^[42]将青蒿素与一种能够靶向转铁蛋白表面洞穴的肽链HAIYPRH相连,减小了青蒿素-转铁蛋白的体积,对白血病细胞具有很好的抑制作用且对正常细胞几乎没有毒性,同时发现连接了肽链的青蒿素二聚体比单体具有更高的抗癌活性。

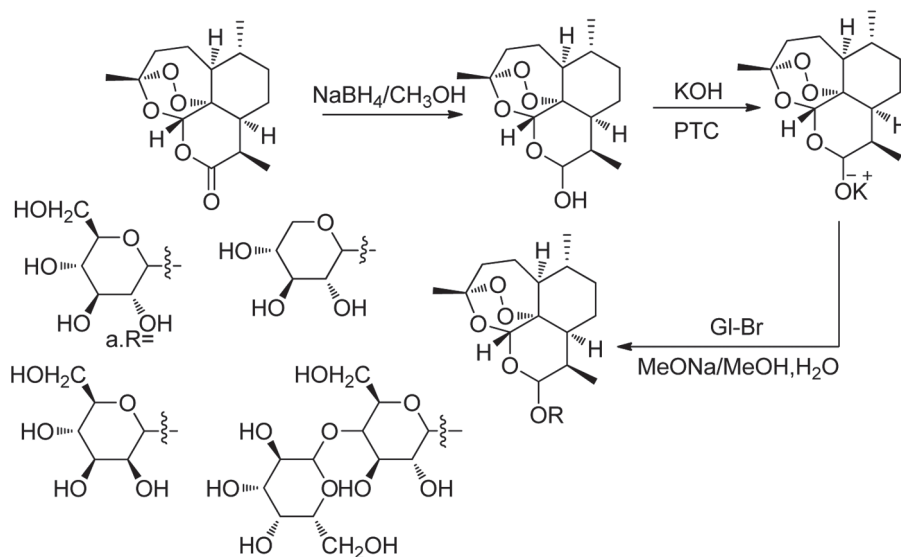


图5 青蒿素的糖基化修饰

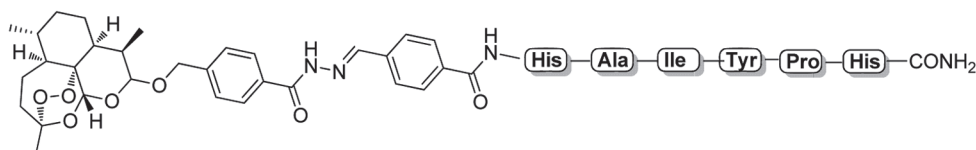


图6 青蒿素-转铁蛋白衍生物

1.2.3 二聚体和多聚体衍生物

此类衍生物是将两个或多个青蒿素结构的衍生物聚合, 以增强其稳定性并获得更强的抗肿瘤活性。现已合成具有抗肿瘤活性的衍生物, 主要为 10- 位二聚体和 16- 位二聚体, 10- 位二聚体为去氧二聚体和缩醛二聚体。Chadwick 等^[43] 合成了 10- 位二聚体 (图 7), 并探讨了其在白血病细胞中的抑制作用。Begue 等^[44] 报道了一系列 16- 位二聚体, 其中大多数衍生物对肺癌和淋巴瘤细胞具有抑制作用。Zhang 等^[45] 合成出溶解度随 pH 变化的二聚体, 能够有效抑制乳腺癌细胞中 HER2 的表达和三阴乳腺癌细胞中 EGFR 基因的表达, 具有更强的抑制细胞生长活性。此外, 该二聚体在中性酸碱度中能够与脂质体纳米粒子紧密结合, 而在酸性环境中能够高效释放, 有利于靶向肿瘤病灶给药^[46]。

通过对青蒿素的结构修饰, 已合成许多具有抗肿瘤活性的衍生物, 其中一些研究较为成熟的衍生物处于临床研究阶段, 并显示出较好的临床治疗效果 (表 1)。目前, 大部分青蒿素类衍生物的合成和改造主要针对青蒿素进行侧链改造, 并对合成的衍生物进行活性筛选。然而, 这种传统的筛选方法比较费时、费力, 且带有较强偶然性, 因此, 药物设计的理论研究显得尤为重要。了解青蒿素类化合物的抗肿瘤作用机制, 从而进行有针对性的药物改造, 进而增加青蒿素类化合物的抗肿瘤活性和特异性成为发展新型抗癌化合物的重要步骤。

2 青蒿素类化合物抗肿瘤机制概述

青蒿素类化合物对多种肿瘤细胞的生长具有抑制作用。分子、细胞、动物等水平研究显示, 青蒿素及其衍生物能够促进细胞凋亡^[52]、抑制细胞生长^[53]、降低血管形成^[54]、阻断细胞的侵袭和转移^[55]、改变肿瘤微环境等。除此之外, 青蒿素类化合物对

癌细胞的放疗有增敏作用^[56], 能增敏或逆转肿瘤细胞对传统化疗药物的耐药性^[52,57]。临床研究还发现, 青蒿素对于多种耐药肿瘤患者具有一定治疗效果^[58-59]。表 2 总结了青蒿素及其衍生物在抗癌方面所调控的主要信号通路^[60], 包括凋亡信号通路、细胞周期相关信号通路、生长因子受体信号通路、多种类固醇受体和转录因子及其信号通路以及血管生成、侵袭转移能力相关信号通路等。

2.1 青蒿素类化合物促进肿瘤细胞凋亡

青蒿素及其衍生物在多种肿瘤细胞中均被报道具有显著的凋亡促进作用。在低浓度条件下, 青蒿素类化合物能够显著导致周期阻滞发生, 而高剂量能够进一步导致细胞凋亡和肿瘤坏死产生。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。相对青蒿素, 双氢青蒿素促凋亡效果是青蒿素 10 倍左右^[28]。细胞和动物水平研究结果显示, 双氢青蒿素能够激活肝癌和卵巢癌细胞凋亡级联反应中 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, 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^[52]。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, 而这两个蛋白在 Bcl-2 的转录调控中发挥重要的作用^[61]; 双氢青蒿素能够抑制脑胶质瘤 Akt 磷酸化以及后续的 caspase-3 激活, 从而促进细胞凋亡, 抑制细胞生长^[62]; 双氢青蒿素在黑色素瘤细胞中诱导 Bcl-2 家族的 NOXA 蛋白的表达, 从而调控凋亡^[63]。在低分化的人结肠癌细胞系中, 青蒿琥酯增加了 E-cadherin 的表达, 使 β -catenin 从细胞核定位到了细胞膜上, 抑制了活跃的 Wnt 信号通路, 促进癌细胞凋亡和抑制生长^[64]。

p38 MAPK 在细胞应激反应、细胞生长和凋亡等过程中发挥重要的功能。研究显示, 双氢青蒿素在肺癌细胞中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 p38 MAPK 和胞内钙离子释放, 促进细胞凋亡^[65]。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。然而, 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, 这一调控机制是否作为一种青蒿素普遍抗癌机制需要在多种细胞模型中证实。

青蒿素类化合物的抗癌功效主要是依赖其化学

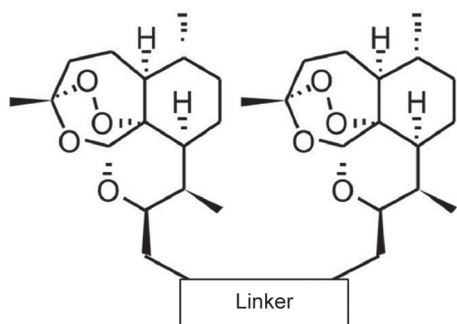


图7 青蒿素二聚体

表1 青蒿素类衍生物临床研究进展

药物	适应症	人数	给药途径	剂量	给药周期	起止时间	临床研究阶段	结果	参考文献
青蒿琥酯	转移性乳腺癌、原位晚期乳腺癌	30	口服	100、150、200 mg/d	8~12周	2008-10~2011-09	I 期	安全	NCT00764036
青蒿琥酯	肝癌	15	口服	200~400 mg/d	14天	2014-11~2017-06	I 期	试验进行中	NCT02304289
青蒿琥酯	实体瘤	18	静脉注射	8、12、18、25、34、45 mg/kg, 第1和第8天给药	3周	2015-01~2016-12	I 期	试验进行中	NCT02353026
青蒿琥酯	II/III期宫颈上皮内瘤样病变	30	栓剂	50 mg/5 d, 200 mg/5 d	28周	2015-02~2018-02	I 期	试验进行中	NCT02354534
青蒿琥酯	中晚期非小细胞肺癌	120	静脉推注, 联合化疗药	120 mg/d	42天	2003-03~2005-12	已终止	提高疾病控制率, 疾病进展时间延长4周	Zhang等 ^[47]
青蒿琥酯	IV期葡萄膜黑色素瘤	2	口服, 联合化疗药	50 mg/次, 2次/d	9个疗程	2002-02~2004-11	已终止	生存期延长至11、47个月(原2~5个月)	Berger等 ^[48]
青蒿琥酯	喉部鳞状细胞癌	1	肌肉注射	60 mg/d, 1~15 d	9个月	2001-01~2002-11	已终止	生存期延长8个月, 2个月肿瘤缩小70%	Singh和Verma ^[49]
双氢青蒿素	子宫颈癌	10	口服	50 mg/d, 16 d以后 200 mg/d	28天	2008-08~2010-08	已终止	生存期中值12个月(原4个月)	Jansen等 ^[50]
蒿甲醚	垂体大腺瘤	1	口服, 联合放疗	40 mg/d(0.5mg/kg), 后逐渐递减为每周2次	12个月	2004-04~2005-11	已终止	症状缓解, 肿瘤大小不变但密度变小	Singh和Panwar ^[51]
蒿甲醚	实体瘤	21	舌下喷雾剂	20 mg	16周	2014-10~2016-10	I 期	试验进行中	NCT02263950
		66		根据 I 期结果确定	28天		II 期		

表2 青蒿素及其衍生物所调控的细胞过程和信号通路总结

受调控的信号通路	参与的相关蛋白(表达或活性)
凋亡通路	降低Bcl-2和Bcl2L1转录活性; 增加Bax和Bad转录活性; 增加细胞内部钙信号; 增加p38 MAPK磷酸化; 激活caspase-3和caspase-9; 增加遗传毒性应激反应 降低survivin蛋白的转录; 抑制S-谷胱甘肽转移酶活性
细胞周期	降低周期蛋白CDK2、CDK4、CDK6、cyclin D1、cyclin D3、cyclin E、cyclin A、JAB1和E2F1的转录活性; 增加p21、p27和IFIT3蛋白表达
生长因子受体信号通路	降低ERBB2、EGFR、p42/44 MAPK水平; 降低IFN- γ 和IL-2的水平; 增加IFN- α 应答基因的表达; 增加AKT和I κ B蛋白活性; 降低Ras-GTP和Raf的磷酸化
类固醇受体和转录因子的活性和表达	转录抑制Ero α 的表达; 促进AR蛋白的降解; 增加配体依赖的CAR和PXR的活性; 降低Sp1表达和活性; 降低磷酸化Sp-1的水平; 降低AP-1转录复合物的活性; 降低NF- κ B入核能力和转录活性
血管生成/侵袭能力	降低HIF-1 α 的水平; 降低KDR的水平; 降低 α v β 3的转录活性; 降低MMP2、MMP9和BMP1的水平

结构中的过氧桥基团与疟原虫体内丰富的血红素或亚铁离子反应, 形成自由基氧化杀伤疟疾虫。青蒿素的抗癌作用也被认为与过氧桥的作用相关。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离子。在游离铁存在的情况下, 青蒿素能够产生具有细胞毒性的碳骨架自由基, 从而对癌细胞产生直接的氧化损伤, 因此, 青蒿素对肿瘤细胞的选择性杀伤作用可能与铁代谢有关^[66]。此外, 与正常细胞相比, 肿瘤细胞由于缺乏抗氧化酶, 对自由基更为敏感, 使得青蒿素能够有效地抑制肿瘤细胞, 而对正常细胞具有较低的毒性。有研究表明, 缺失内过氧桥基团的青蒿素对肿瘤细胞的毒性显著降低 50%, 但不会完全丧失抗癌活性^[67], 因此青蒿素的抗癌活性还与过氧化物非依赖的机制有关。

2.2 青蒿素类化合物诱导肿瘤细胞周期阻滞

据报道青蒿素类化合物能够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存在差异。研究显示, 青蒿素和双氢青蒿素能够降低 G₁ 期周期相关蛋白 Cyclin D1、Cyclin E、CDK2、CDK4 和 E2F1 的表达, 促进细胞周期阻滞基因 p21 和 p27 的表达, 造成细胞周期 G₁ 期阻滞^[68]; 青蒿素还能特异地靶向磷酸化反应过程, 通过抑制转录因子 Sp-1 磷酸化, 进而抑制内源性 Sp-1 与 CDK4 启动子的结合, 控制细胞周期相关蛋白的表达从而阻断周期进展^[61]; 双氢青蒿素通过下调 Cyclin E、CDK2、CDK4、CDK6、NF- κ B 和上调 p27, 抑制了 G₀/G₁ 到 S 期的进程^[69]; 通过上调 RKIP 抑制了细胞的生长^[70]。青蒿琥酯在白血病、小细胞肺癌、

结肠癌、脑胶质瘤中引起 G₂/M 期阻滞^[71]。

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^[72]。

2.3 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基础, 血管新生过程依赖于血管内皮细胞的有丝分裂, 其中血管生成因子 VEGF 及其受体 VEGFR 相关信号通路的激活在此过程中起着关键性的作用。Anfosso 等^[73]研究发现, 青蒿素及其衍生物对于美国国立卫生院批注的 60 种细胞系均显示出不同程度的抗血管成立能力。Wartenberg 等^[74]研究发现, 青蒿素能够通过氧化应激反应抑制低氧诱导因子 HIF-1 α 的表达, 该基因可以转录激活 VEGFA、EPO 的表达, 从而在肿瘤低氧组织新生血管过程中发挥重要功能。除了抑制血管生成因子 VEGF 外, 青蒿琥酯还能抑制其受体 VEGFR 的表达。在卵巢癌动物模型中, 免疫组化结果显示青蒿琥酯治疗组的组织切片中新生血管标记物 CD31 和 VEGF 及其受体 KDR/flk-1 的表达量降低, 表明其抑制了血管生成^[21]。

2.4 青蒿素类化合物抑制肿瘤细胞迁移和侵袭

肿瘤细胞转移是癌症进展过程的重要环节, 也是导致患者死亡的重要原因。大量研究报道青蒿素能够抑制肿瘤细胞的迁移能力。例如, 青蒿素能够通过激发 Cdc42 增强 E-cadherin 活性, 使得细胞间的黏附能力增强, 降低癌细胞的迁移能力^[75]。此外,

青蒿素能够通过调控转录因子 Sp-1 下调基质金属蛋白酶 MMP-2 的表达^[76]；调节基质金属蛋白酶家族中 MMP-7、u-PA、MMP-9、MMP-11、TIMP2 和整合素蛋白 $\alpha\beta 3$ 的表达^[77-79]，从而抑制肿瘤细胞的迁移。还有研究报道青蒿素类化合物通过降低 VEGF-C 的表达，抑制淋巴管的生成，从而抑制肿瘤经淋巴转移^[80]，抑制 VEGF 诱导的血道转移^[81]。

2.5 青蒿素类化合物调节肿瘤微环境

在肿瘤微环境中，巨噬细胞中的肿瘤相关巨噬细胞 (TAM) 被认为具有多种促进肿瘤生长转移的功能，比如分泌生长因子和蛋白酶、促进血管生成、抑制适应性免疫等^[82]。双氢青蒿素能抑制巨噬细胞渗透进入肿瘤原位和转移灶，提示了青蒿素类化合物抗癌活性的新机制^[78]。

调节性 T 细胞 (Treg) 是肿瘤微环境的一个重要成员，能够使免疫反应沉默^[83]，早期肿瘤组织中积累 Treg 细胞与肿瘤发展和不良预后相关。在小鼠乳腺癌模型中，青蒿素显著降低了 Treg 在肿瘤基质中的数目，增加了脾细胞上清中的 IFN- γ /IL-4 的比例^[84]，从而抑制了免疫微环境对肿瘤发展的作用。在小鼠乳腺癌模型中，蒿甲醚增强了普通小鼠体内的迟发型超敏反应和血凝抗体，减少了荷瘤小鼠脾脏中 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 细胞，增加了 IL-4 和 IFN- γ 的产生^[85]。同样在乳腺癌模型中，Noori 和 Hassan^[86] 也检测到了 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 细胞的下降和促进 IFN- γ 、抑制 IL-4 的分泌使得 Th2 转向 Th1 通路。双氢青蒿素能够降低 PGE₂，抑制 NO 和细胞因子 (IL-1b、IL-6、TNF- α 、VEGF) 的产生，从而调控免疫功能^[87]，说明调节肿瘤微环境是青蒿素类化合物抗癌活性的分子机制之一。

2.6 青蒿素类化合物的化学增敏作用

目前临床肿瘤化疗存在较为严重的副反应，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。本实验室的研究发现，双氢青蒿素能够有效地促进卵巢癌对于卡铂治疗的敏感性，其可能是通过细胞凋亡来实现的^[21]；同时，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 (gemcitabine) 的治疗效果，进一步促进细胞 G₁ 期周期阻滞和细胞凋亡^[52]。其他研究也显示，双氢青蒿素能够增敏替莫唑胺 (temozolomide) 对脑胶质瘤的作用^[88]；与环磷酰胺 (CTX) 联用能够有效抑制肺癌转移^[89]；与吉西他滨联用增加小细胞肺癌的凋亡^[90]；与白藜芦醇具有协同增效作用^[91]；与氯喹 (chloroquine) 联用增强了肺癌和乳

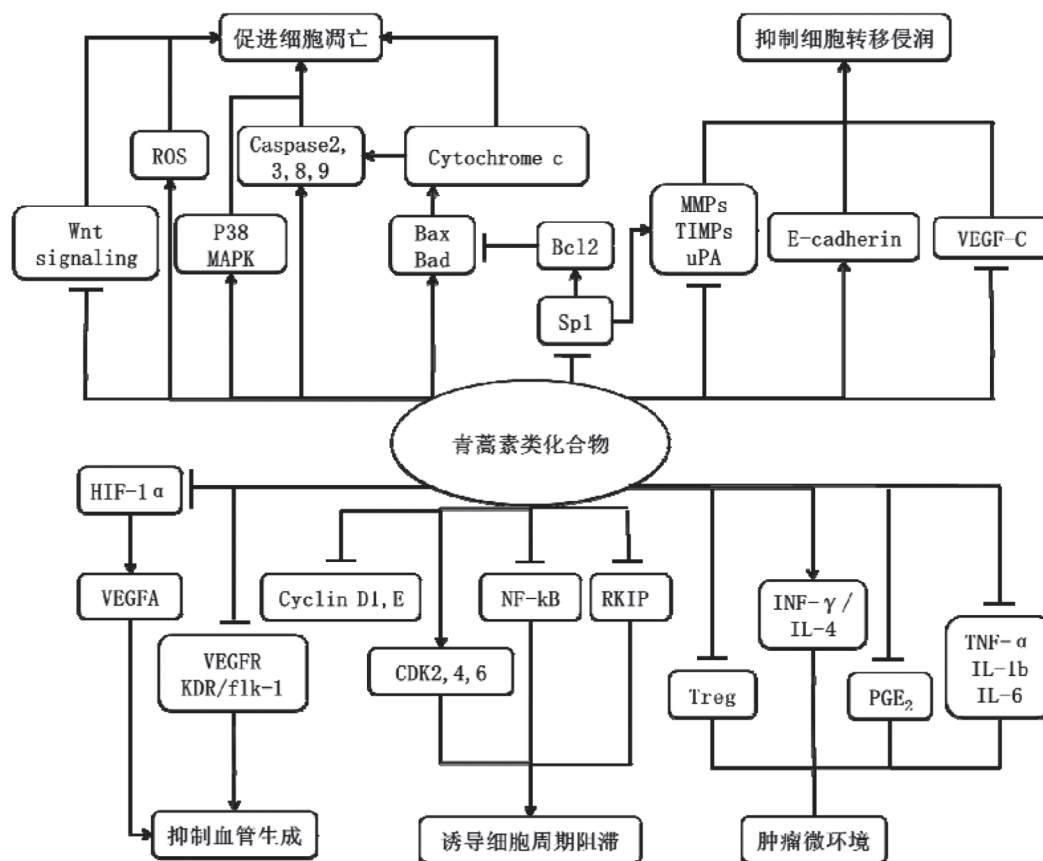
腺癌细胞的自噬^[92]；与铂类化合物联用增强药物对乳腺癌的作用^[93]，预示着青蒿素类药物与化疗联合用药的新策略。

因此，青蒿素具有广谱抗癌潜力，能够促进细胞凋亡、抑制细胞生长和转移、抑制血管生成、调节肿瘤微环境能力 (图 8)，并在肿瘤的联合治疗中与传统化疗抗癌药物起到协同增效的作用，可能成为一种新的临床肿瘤治疗的策略和方案。

3 展望

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进行结构改造，以提高药效、减小毒副作用，是一条发现新药的有效途径。与传统细胞毒性抗癌药物相比，青蒿素类衍生物在杀伤癌细胞的同时对正常细胞的毒性较小；具有广谱抗癌能力；能够通过抗增殖、抗转移、抗血管生成及调节肿瘤微环境等多条途径达到抗癌功效；在肿瘤的联合治疗中与传统化疗抗癌药物起到协同增效的作用。因此，青蒿素及其衍生物化合物在药物研发方面具有极其广泛的应用前景。

然而，为了将青蒿素类化合物改进成为更加高效、低毒的抗癌药物，一些重要的问题值得进一步研究。(1) 青蒿素本身对癌细胞的选择性杀伤机理尚不明确，并且大部分青蒿素类衍生物化合物对正常细胞的毒性机制还需进一步研究。(2) 青蒿素单独使用的抗癌效果难以达到临床应用目的，而青蒿素及其衍生物与传统化疗药物联合使用，显著增强一线化疗用药的抗癌效果并无明显毒副作用。尤其在化疗药物耐药的癌细胞中，青蒿素仍表现出显著的抗癌活性，提示青蒿素可能作为联合化疗药物降低癌细胞对传统化疗药物的耐药性，但相关的分子机制需要进一步研究。(3) 目前，青蒿素类化合物的抗癌机制研究大部分都集中于青蒿素、双氢青蒿素和一些简单的单体，而对青蒿素衍生物及其聚合物抗癌机制了解十分有限，青蒿素衍生物在抗癌活性方面的构效关系仍需大量的实验说明和证实。(4) 不同的青蒿素类化合物对不同的癌细胞具有不同的抗癌功效，提示青蒿素在抗癌活性方面具有一定的选择性，在细胞内可能通过某些特定靶标分子产生抗癌活性。(5) 青蒿素类化合物除对肿瘤细胞具有选择性杀伤作用外，还具有调节肿瘤微环境、抗血管生成、抑制转移等作用，这些活性是介导青蒿素类化合物的抗肿瘤作用的主要生物学过程，然而相关分子机制不清晰、不系统。因此，在未来针对青



青蒿素类化合物抗癌机制主要体现在促进ROS介导的氧化损伤的产生; 通过caspase依赖和非依赖途径、Wnt通路诱导细胞凋亡; 通过调控周期相关蛋白导致细胞周期阻滞; 降低HIF-1 α 、VEGF及其受体表达等途径抑制血管生成; 通过调控MMP-TIMP、E-cadherin、VEGF-C等抑制细胞浸润转移; 通过调控多种细胞因子和免疫细胞重塑肿瘤微环境。

图8 青蒿素类化合物主要的抗肿瘤机制图示

蒿素及其衍生物的抗癌药物研究和开发中, 不仅需要关注青蒿素直接杀伤细胞活性的机制研究, 还需进一步考察青蒿素通过调控肿瘤微环境产生抗癌活性的分子机制, 鉴定其直接作用靶标, 并建立合理的药物筛选平台, 为开发出新型具有临床应用价值的抗癌药物提供研究基础。

[参 考 文 献]

[1] Miller LH, Su X. Artemisinin: discovery from the Chinese herbal garden. *Cell*, 2011, 146: 855-8

[2] Chaturvedi D, Goswami A, Saikia PP, et al. Artemisinin and its derivatives: a novel class of anti-malarial and anti-cancer agents. *Chem Soc Rev*, 2010, 39: 435-54

[3] Benakis A, Paris M, Loutan L, et al. Pharmacokinetics of artemisinin and artesunate after oral administration in healthy volunteers. *Am J Trop Med Hyg*, 1997, 56: 17-23

[4] Liu R, Dong HF, 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

[5] Tan Y, Zhao Y, Lin Q, et al. Experimental study on antiendotoxin effect of extracts from *Artemisia annua* L. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 1999, 24: 166-71,92

[6] Li T, Chen H, Wei N, et al. Anti-inflammatory and immunomodulatory mechanisms of artemisinin on contact hypersensitivity. *Int Immunopharmacol*, 2012, 12: 144-50

[7] Li WD, Dong YJ, Tu YY, et al. Dihydroarteannuin ameliorates lupus symptom of BXSB mice by inhibiting production of TNF- α and blocking the signaling pathway NF- κ B translocation. *Int Immunopharmacol*, 2006, 6: 1243-50

[8] Lee SH, Cho YC, Kim KH, et al. Artesunate inhibits proliferation of naive CD4 T cells but enhances function of effector T cells. *Arch Pharm Res*, 2015, 38: 1195-203

[9] Xu XX, Zhu J, Chou WH. The stereospecific synthesis of arteannuin-B. *Kexue Tongbao*, 1983, 28(6): 859-9

[10] Schmid G, Hofheinz W. Total aynthesis of Qinghaosu. *Am Chem Soc*, 1983, 105: 624-5

[11] Paddon CJ, Keasling JD. Semi-synthetic artemisinin: a model for the use of synthetic biology in pharmaceutical development. *Nat Rev Microbiol*, 2014, 12: 355-67

[12] Efferth T. Willmar Schwabe Award 2006: antiplasmodial

- and antitumor activity of artemisinin--from bench to bedside. *Planta Med*, 2007, 73: 299-309
- [13] Liu C, Zhao Y, Wang Y. Artemisinin: current state and perspectives for biotechnological production of an antimalarial drug. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2006, 72: 11-20
- [14] Ro DK, Paradise EM, Ouellet M, et al. Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast. *Nature*, 2006, 440: 940-3
- [15] Paddon CJ, Westfall PJ, Pitera DJ, et al. High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin. *Nature*, 2013, 496: 528-32
- [16] 上海交通大学. 一种由青蒿酸制备青蒿素的方法: 中国, CN102718773A [P]. 2012-10-10
- [17] Ekthawatchai S, Kamchonwongpaisan S, Kongsaree P, et al. C-16 artemisinin derivatives and their antimalarial and cytotoxic activities: syntheses of artemisinin monomers, dimers, trimers, and tetramers by nucleophilic additions to artemisitene. *J Med Chem*, 2001, 44: 4688-95
- [18] Vandewynckel YP, Laukens D, Geerts A, et al. Therapeutic effects of artesunate in hepatocellular carcinoma: repurposing an ancient antimalarial agent. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 26: 861-70
- [19] Zhou CJ, Pan WL, Wang XP, et al. Artesunate induces apoptosis via a Bak-mediated caspase-independent intrinsic pathway in human lung adenocarcinoma cells. *J Cell Physiol*, 2012, 227: 3778-86
- [20] Subramanian N, Abimanyu S, Vinoth J, et al. Biodegradable chitosan magnetic nanoparticle carriers for sub-cellular targeting delivery of artesunate for efficient treatment of breast cancer. 8th International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers [C], 2010, 1311: 16-424
- [21] Chen HH, Zhou HJ, Wu GD, 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
- [22] Luo JD, Zhu W, Tang YT, et al. Artemisinin derivative artesunate induces radiosensitivity in cervical cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Rad Oncol*, 2014, 9: 84
- [23] Du JH, Zhang HD, Ma ZJ, et al. Artesunate induces oncosis-like cell death *in vitro* and has antitumor activity against pancreatic cancer xenografts *in vivo*. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2010, 65(5): 895-902
- [24] Wang Y, Yang JC, Chen L, et al. Artesunate induces apoptosis through caspase-dependent and -independent mitochondrial pathways in human myelodysplastic syndrome SKM-1 cells. *Chem Biol Interact*, 2014, 219: 28-36
- [25] Ramacher M, Umansky V, Efferth T. Effect of artesunate on immune cells in ret-transgenic mouse melanoma model. *Anticancer Drugs*, 2009, 20: 910-17
- [26] Zhao F, Wang H, Kunda P, et al. Artesunate exerts specific cytotoxicity in retinoblastoma cells via CD71. *Oncol Rep*, 2013, 30: 1473-82
- [27] Wu JM, Shan F, Wu GS, et al. Synthesis and cytotoxicity of artemisinin derivatives containing cyanoarylmethyl group. *Eur J Med Chem*, 2001, 36: 469-79
- [28] Nam W, Tak J, Ryu JK, et al. Effects of artemisinin and its derivatives on growth inhibition and apoptosis of oral cancer cells. *Head Neck*, 2007, 29: 335-40
- [29] Jiang RJ, Zhao YL, Chen YJ, et al. Synthesis, characterization, and *in vitro* evaluation of artesunate- β -cyclodextrin conjugates as novel anti-cancer prodrugs. *Carbohydr Res*, 2014, 400: 19-25
- [30] Li XY, Zhao Y, Sun MG, et al. Multifunctional liposomes loaded with paclitaxel and artemether for treatment of invasive brain glioma. *Biomaterials*, 2014, 35: 5591-604
- [31] Alcantara DD, Ribeiro HF, Cardoso PCD, et al. *In vitro* evaluation of the cytotoxic and genotoxic effects of artemether, an antimalarial drug, in a gastric cancer cell line (PG100). *J Appl Toxicol*, 2013, 33: 151-6
- [32] Chen HJ, Huang XR, Zhou XB, et al. Potential sonodynamic anticancer activities of artemether and liposome-encapsulated artemether. *Chem Commun (Camb)*, 2015, 51: 4681-4
- [33] Mohamadabadi MA, Hassan ZM, Hosseini AZ, et al. Study of immunomodulatory effects of arteether administered intratumorally. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2013, 12: 57-62
- [34] Jung M, Park N, Moon HI, et al. Synthesis and anticancer activity of novel amide derivatives of non-acetal deoxyartemisinin. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19: 6303-6
- [35] Xie LJ, Zhai X, Ren LX, et al. Design, synthesis and antitumor activity of novel artemisinin derivatives using hybrid approach. *Chem Pharma Bull*, 2011, 59: 984-90
- [36] Jeong YI, Na HS, Cho KO, et al. Antitumor activity of adriamycin-incorporated polymeric micelles of poly (γ -benzyl L-glutamate)/poly(ethylene oxide). *Int J Pharm*, 2009, 365: 150-6
- [37] Li Y, Wu JM, Shan F, et al. Synthesis and cytotoxicity of dihydroartemisinin ethers containing cyanoarylmethyl group. *Bioorg Med Chem*, 2003, 11: 977-84
- [38] Reizenstein P. Iron, free radicals and cancer. *Med Oncol Tumor Pharmacother*, 1991, 8: 229-33
- [39] Yang Y, Zhang X, Wang X, et al. Enhanced delivery of artemisinin and its analogues to cancer cells by their adducts with human serum transferrin. *Int J Pharm*, 2014, 467: 113-22
- [40] Xie WL, Yang PH, Zeng X, et al. Effects of 4-(12-dihydroartemisininoxy) benzoic acid hydrozide-transferrin targeted drug on human breast cancer cells. *Chn J Analyt Chem*, 2009, 37: 671-5
- [41] Gharib A, Faezizadeh Z, Mesbah-Namin SA, et al. Preparation, characterization and *in vitro* efficacy of magnetic nanoliposomes containing the artemisinin and transferrin. *Daru*, 2014, 22: 44
- [42] Oh S, Kim BJ, Singh NP, et al. Synthesis and anti-cancer activity of covalent conjugates of artemisinin and a transferrin-receptor targeting peptide. *Cancer Lett*, 2009, 274 33-9
- [43] Chadwick J, Mercer AE, Park BK, et al. Synthesis and biological evaluation of extraordinarily potent C-10 carba

- artemisinin dimers against *P-falciparum* malaria parasites and HL-60 cancer cells. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17: 1325-38
- [44] Begue JP, Bonnet-Delpon D, Crousse B, et al. Dimeric derivatives of artemisinin and application in anticancer therapy: WO, 2009080805 [P]. 2009-07-02
- [45] Zhang YT, Zhan X, Wang LG, et al. pH-responsive artemisinin dimer in lipid nanoparticles are effective against human breast cancer in a xenograft model. *J Pharm Sci*, 2015, 104: 1815-24
- [46] Zhang YJ, Gallis B, Taya M, et al. pH-responsive artemisinin derivatives and lipid nanoparticle formulations inhibit growth of breast cancer cells *in vitro* and induce down-regulation of HER family members. *PLoS One*, 2013, 8(3): e59086
- [47] Zhang ZY, Yu SQ, Miao LY, et al. Artesunate combined with vinorelbine plus cisplatin in treatment of advanced non-small cell lung cancer: a randomized controlled trial. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*, 2008, 6: 134-8
- [48] Berger TG, Dieckmann D, Efferth T, et al. Artesunate in the treatment of metastatic uveal melanoma--first experiences. *Oncol Rep*, 2005, 14: 1599-603
- [49] Singh NP, Verma KB. Case report of a laryngeal squamous cell carcinoma treated with artesunate. *Arch Oncol*, 2002, 10: 279-80
- [50] Jansen FH, Adoubi I, J CK, et al. First study of oral Artemimol-R in advanced cervical cancer: clinical benefit, tolerability and tumor markers. *Anticancer Res*, 2011, 31: 4417-22
- [51] Singh NP, Panwar VK. Case report of a pituitary macroadenoma treated with artemether. *Integr Cancer Ther*, 2006, 5: 391-4
- [52] 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: 1358-70
- [53] Gong XM, 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: 718-24
- [54] Zhang JL, 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
- [55] Tan W, Feng S, Luo X, et al. Artemisinin inhibits *in vitro* and *in vivo* invasion and metastasis of human hepatocellular carcinoma cells. *Phytomedicine*, 2011, 18: 158-62
- [56] Reichert S, Reinboldt V, Hehlhans S, et al. A radiosensitizing effect of artesunate in glioblastoma cells is associated with a diminished expression of the inhibitor of apoptosis protein survivin. *Radiother Oncol*, 2012, 103: 394-401
- [57] 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: 5519-30
- [58] Mukanganyama S, Widersten M, Naik YS, et al. Inhibition of glutathione S-transferases by antimalarial drugs possible implications for circumventing anticancer drug resistance. *Int J Cancer*, 2002, 97: 700-5
- [59] 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: 1555-61
- [60] Firestone GL, Sundar SN. Anticancer activities of artemisinin and its bioactive derivatives. *Expert Rev Mol Med*, 2009, 11: e32
- [61] Willoughby JA Sr, Sundar SN, 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: 2203-13
- [62] Cao L, Duanmu WS, Yin Y, et al. Dihydroartemisinin exhibits anti-glioma stem cell activity through inhibiting p-AKT and activating caspase-3. *Pharmazie*, 2014, 69: 752-8
- [63] Cabello CM, Lamore SD, Bair WB, et al. Switching enemies: the redox antimalarial dihydroartemisinin targets human metastatic melanoma cells but not primary melanocytes through induction of NOXA-dependent apoptosis. *Free Rad Biol Med*, 2010, 49: S73
- [64] Li LN, Zhang HD, Yuan SJ, et al. Differential sensitivity of colorectal cancer cell lines to artesunate is associated with expression of β -catenin and E-cadherin. *Eur J Pharmacol*, 2008, 588: 1-8
- [65] Mu DG, Zhang W, Chu DL, et al. The role of calcium, P38 MAPK in dihydroartemisinin-induced apoptosis of lung cancer PC-14 cells. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2008, 61: 639-45
- [66] O'Neill PM, Barton VE, Ward SA. The molecular mechanism of action of artemisinin-the debate continues. *Molecules*, 2010, 15: 1705-21
- [67] Mercer AE, Maggs JL, Sun XM, et al. Evidence for the involvement of carbon-centered radicals in the induction of apoptotic cell death by artemisinin compounds. *J Biol Chem*, 2007, 282: 9372-82
- [68] Tran KQ, Tin AS, Firestone GL. Artemisinin triggers a G₁ cell cycle arrest of human Ishikawa endometrial cancer cells and inhibits cyclin-dependent kinase-4 promoter activity and expression by disrupting nuclear factor- κ B transcriptional signaling. *Anticancer Drugs*, 2014, 25: 270-81
- [69] Chen H, Sun B, Wang S, et al. Growth inhibitory effects of dihydroartemisinin on pancreatic cancer cells: involvement of cell cycle arrest and inactivation of nuclear factor- κ B. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136: 897-903
- [70] Hu CJ, Zhou L, Cai Y. Dihydroartemisinin induces apoptosis of cervical cancer cells via upregulation of RKIP and downregulation of Bcl-2. *Cancer Biol Ther*, 2014, 15: 279-88
- [71] Steinbruck L, Pereira G, Efferth T. Effects of artesunate on cytokinesis and G₂/M cell cycle progression of tumour cells and budding yeast. *Cancer Genomics Proteomics*,

- 2010, 7: 337-46
- [72] 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: 617-23
- [73] 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: 269-78
- [74] 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: 1647-55
- [75] Tan WF, Shen F, Luo XJ, et al. Artemisinin inhibits *in vitro* and *in vivo* invasion and metastasis of human hepatocellular carcinoma cells. *Phytomedicine*, 2011, 18: 158-62
- [76] Sun HJ, Meng XZ, Han JH, et al. Anti-cancer activity of DHA on gastric cancer-an *in vitro* and *in vivo* study. *Tumor Biol*, 2013, 34: 3791-800
- [77] Rasheed SAK, Efferth T, Asangani IA, et al. First evidence that the antimalarial drug artesunate inhibits invasion and *in vivo* metastasis in lung cancer by targeting essential extracellular proteases. *Int J Cancer*, 2010, 127: 1475-85
- [78] Wu BC, Hu K, Li S, et al. Dihydroartemisinin inhibits the growth and metastasis of epithelial ovarian cancer. *Oncol Rep*, 2012, 27: 101-8
- [79] Buommino E, Baroni A, Canozo N, et al. Artemisinin reduces human melanoma cell migration by down-regulating α V β 3 integrin and reducing metalloproteinase 2 production. *Invest New Drugs*, 2009, 27: 412-8
- [80] Wang J, Zhang BC, Guo Y, et al. Artemisinin inhibits tumor lymphangiogenesis by suppression of vascular endothelial growth factor C. *Pharmacology*, 2008, 82: 148-55
- [81] Guo L, Dong FY, Hou YL, et al. Dihydroartemisinin inhibits vascular endothelial growth factor-induced endothelial cell migration by a p38 mitogen-activated protein kinase-independent pathway. *Exp Ther Med*, 2014, 8: 1707-12
- [82] Lewis CE, Pollard JW. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. *Cancer Res*, 2006, 66: 605-12
- [83] Beyer M, Schultze JL. Regulatory T cells: major players in the tumor microenvironment. *Curr Pharm Des*, 2009, 15: 1879-92
- [84] Langroudi L, Hassan ZM, 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: 1055-61
- [85] Farsam V, Hassan ZM, Zavaran-Hosseini A, et al. Antitumor and immunomodulatory properties of artemether and its ability to reduce CD4(+) CD25(+) FoxP3(+) T reg cells *in vivo*. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11: 1802-8
- [86] Noori S, Hassan ZM. Dihydroartemisinin shift the immune response towards Th1, inhibit the tumor growth *in vitro* and *in vivo*. *Cell Immunol*, 2011, 271: 67-72
- [87] Zhu XX, Yang L, Li YJ, et al. Effects of sesquiterpene, flavonoid and coumarin types of compounds from *Artemisia annua* L. on production of mediators of angiogenesis. *Pharmacol Rep*, 2013, 65: 410-20
- [88] Karpel-Massler G, Westhoff MA, Kast RE, et al. Artesunate enhances the antiproliferative effect of temozolomide on U87MG and A172 glioblastoma cell lines. *Anticancer Agents Med Chem*, 2014, 14: 313-8
- [89] Zhou HJ, Zhang JL, Li A, et al. Dihydroartemisinin improves the efficiency of chemotherapeutics in lung carcinomas *in vivo* and inhibits murine Lewis lung carcinoma cell line growth *in vitro*. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2010, 66: 21-9
- [90] Zhao C, Gao W, Chen T. Synergistic induction of apoptosis in A549 cells by dihydroartemisinin and gemcitabine. *Apoptosis*, 2014, 19: 668-81
- [91] Li P, Yang S, Dou M, et al. Synergic effects of artemisinin and resveratrol in cancer cells. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2014, 140: 2065-75
- [92] Ganguli A, Choudhury D, Datta S, et al. Inhibition of autophagy by chloroquine potentiates synergistically anti-cancer property of artemisinin by promoting ROS dependent apoptosis. *Biochimie*, 2014, 107 Pt B: 338-49
- [93] Suberu JO, Romero-Canelon I, Sullivan N, et al. Comparative cytotoxicity of artemisinin and cisplatin and their interactions with chlorogenic acids in MCF7 breast cancer cells. *Chem Med Chem*, 2014, 9: 2791-7