

## 叶绿素衍生物的生物活性研究进展

李 月, 樊军文, 陈志龙(第二军医大学海医系防护医学教研室, 上海 200433)

**摘要:**叶绿素衍生物是近年发展起来一类很有理论研究与药用价值的化合物。本文对叶绿素衍生物生物活性的研究进展情况作一综述, 讨论了叶绿素衍生物对肿瘤、肝脏损伤、贫血等疾病的作用。

**关键词:**叶绿素; 叶绿素衍生物; 生物活性

**中图分类号:** R961

**文献标识码:** A

**文章编号:** 10006-0111(2001)05-0266-04

## The progress on the research of the biological activities of chlorophyll derivatives

LI Yue, FAN Jun-wen, CHEN Zhi-long (Lab of Toxicol & Pharmacy, Faculty of Naval Medicine, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**ABSTRACT:** The progress in the field of the biological activities of chlorophyll derivatives is reviewed in this paper with 20 references, their perspective in the treatment of cancer, hepatic impairment and anaemia ect. is also discussed.

**KEY WORDS:** chlorophyll; chlorophyll derivatives; biological activities

叶绿素(Chlorophyll)是生命赖以生存的重要物质, 人类生存所需要的能量绝大部分是通过叶绿素的光合作用获取的。叶绿素在光、热、酸及碱的作用下易降解生成一系列二氢卟吩化合物。除光合作用外叶绿素衍生物(chlorophyll derivatives, CPD)还具有促进造血功能、抗肿瘤、杀菌、抗诱变、保肝及抗溃疡等多方面的生物活性。本文对叶绿素衍生物的生物活性研究进展作一综述。

### 1 光合作用

在生物体光反应中心, 叶绿素吸收太阳光能后, 通过一系列能量传递与电子传递过程, 将太阳能转化为生物可利用的化学能, 使生物体得以生存繁衍。

### 2 肿瘤光动力损伤作用

光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)始于20世纪70年代, 经过了30年来的大量基础和临床研究, 现已发展成为肿瘤的法定疗法之一。这一肿瘤新疗法的日趋成熟使光动力治癌新药研究进入了一个飞速发展的新时期。目前光动力治癌药物的发展重点为中介取代芳基卟吩、叶绿素降解衍生物、水溶性金属酞菁和苯并卟啉等单体化合物<sup>[1]</sup>。叶绿素降解产物及其衍生物具有明确的化学结构, 且在600~700nm波长处吸收系数较高, 光敏作用强, 毒

性低, 是一类极具发展前途的潜在光动力治疗药物。

该类衍生物包括脱镁叶绿酸a、二氢卟吩e<sub>6</sub><sup>[2]</sup>、紫红素-18和二氢卟吩p<sub>6</sub>及其各自的衍生物。目前, 国外报道较多的二氢卟吩e<sub>6</sub>衍生物Npe<sub>6</sub>已经美国FDA批准进入II期临床试验。它的吸收峰为664nm, 分子吸光系数为光敏素(photofrin)的10倍, 应用2~4h后, 在肿瘤内的聚集达到高峰, 水溶性使它可从尿中排泄, 日光过敏反应弱, 有希望进行PDT的临床治疗<sup>[2]</sup>。二氢卟吩e<sub>6</sub>三甲酯己醚在1mg/kg时即对肿瘤产生抑制作用<sup>[3]</sup>。近期, 姚建忠等<sup>[4-7]</sup>对二氢卟吩e<sub>6</sub>、二氢卟吩f、二氢卟吩f甲醚及二氢卟吩p<sub>6</sub>酰胺衍生物的肿瘤光生物活性作了深入研究, 药理试验结果表明, 不同二氢卟吩衍生物的光敏化力、对体外人癌细胞光灭活作用和动物移植瘤的光动力疗效均明显高于血卟啉衍生物(HpD)。

另外, 紫红素的衍生物Tinetiopurpurin(SnET<sub>2</sub>)的激发光波长为664nm, 在国外已进入了I/II期临床试验。Kaplan等人用SnET<sub>2</sub>作为光敏剂进行了转移性皮肤癌的PDT治疗, 临床效果较好<sup>[8]</sup>。

### 3 抗氧化作用

将叶绿素及其衍生物作为一种抗氧化剂, 日本学者Sato曾作过比较深入的研究。体外实验结果表明, 叶绿素借助于抑制脂质过氧化作用和抑制溶酶体释放来保护溶酶体膜免受过氧化损伤。将叶绿

素或其衍生物注入动物腹腔,发现它们分布于肝亚细胞器如线粒体、微粒体和溶酶体内,发挥抗氧化作用而抑制脂质膜的氧化损伤,并能有效地防止抗坏血酸诱导脂质过氧化所造成的肝微粒体功能损害,抑制在低渗葡萄糖介质中孵育所致酸性磷酸酯酶和芳基硫酸酯酶从溶酶体中的释放。由于人体肝脏、肾脏等器官损伤的一系列病变均与体内脂质的过氧化作用有关,因此叶绿素衍生物被广泛应用于器官损伤的保护。

原卟啉和一种组成复杂的二氢卟吩铜络合物的混合物铜叶绿酸钠对肝脏有保护作用。铜叶绿酸钠在体内可明显减轻四氯化碳引起的肝脏损伤。预先用铜叶绿酸钠也可明显抑制四氯化碳引起的血浆谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)和异枸橼酸脱氢酶浓度(肝脏坏死指标)的升高、肝脏甘油三酯的增加(肝损伤特点)以及肝脏色氨酸吡咯酶活性下降(四氯化碳致蛋白质合成障碍的指标)<sup>[9]</sup>。此外,铜叶绿酸钠对硫代乙酰胺、醋氨酚和四氯化碳所致急性肝损伤具有良好的保护作用,对四氯化碳所致大鼠慢性肝损伤亦有较好的治疗作用。

由蚕砂制备的铁叶绿酸钠在预防性给药时对 D-GalN 致急性肝损伤引起的 AST、ALT 活性增高有显著抑制作用,对四氯化碳引起 ALT、总胆红素增高亦有显著抑制作用,而且对 D-GalN 急性肝中毒后立即给药,也有良好的治疗作用,可保护肝脏,促进和加速肝功能恢复<sup>[10]</sup>。

应用铁紫红素 7 治疗肾脏缺血再灌注损伤,结果显示,治疗组肾组织匀浆中 MDA 及血清中 LDH 的水平均显著降低,病理症状也有所减轻<sup>[11]</sup>。

#### 4 促进创伤和溃疡愈合及治疗烧伤

Smith 等发现水溶性叶绿素衍生物可加速动物实验性创伤和烧伤的愈合。在临床试验中与青霉素、磺胺等药物比较,叶绿素治愈创伤的作用最强,速度亦最快。Combes 用水溶性叶绿素衍生物治疗皮肤病及皮肤创伤患者。结果表明,叶绿素溶液及软膏能促进肉芽组织及上皮组织的生长。

局部应用时,叶绿酸钠可通过活化成纤维细胞,促进胶原纤维生长,最终加速创伤的上皮形成,加速小鼠和豚鼠实验性皮肤创伤的治愈。同时,叶绿酸钠可促进局部血管扩张,改善创伤部位血液循环,对各种慢性溃疡(如醋酸溃疡、可的松溃疡等)和急性溃疡(如幽门结扎溃疡)都有抑制作用。

铜叶绿酸钠与甲苯乃噻、消化性粘蛋白或某些单用并无抑制溃疡作用的药物(如阿托品、甘草根

提取物等)合并应用有抗溃疡协同作用。

锌叶绿酸 a 也是另一种很有希望的药物。该药对 20 例烧伤患者进行曝露疗法治疗,无 1 例感染,用此药治疗烧伤具有创面渗出液少、结痂快等优点,将其用来治疗一般溃疡、口腔溃疡、唇炎、疱疹等均收到较好的疗效。锌叶绿酸 a 也可作补锌剂,并优于其它补锌剂,其味甜,也可作静脉注射<sup>[12]</sup>。

水溶性叶绿素衍生物抗溃疡作用的机理尚不清楚。除了与其促进损伤组织愈合有关外,还可能与其抑制某些消化酶的活性有关。实验证明,叶绿酸的铜、铁络合物对脂蛋白酶活性、叶绿素及叶绿酸对麦芽  $\alpha$ -淀粉酶活性、二氢卟吩对胰脂酶活性以及二氢卟吩 e<sub>6</sub> 对脂酶、胃蛋白酶及  $\alpha$ -淀粉酶活性均有抑制作用。

#### 5 抗菌、抗病毒作用

Smith 观察到水溶性叶绿素衍生物对葡萄球菌、链球菌及厌氧产孢子菌有抑制作用。Koser 和 Nevin 等证明铜叶绿酸钠能抑制葡萄球菌、链球菌和乳酸杆菌的生长。Mowbray 和 El-Nakeeb 等发现叶绿酸铜钠对革兰阳性菌有抑制作用,1%浓度的叶绿酸铜钠对其生长抑制率达 98.818%~99.999%。但叶绿酸铜钠对革兰阴性菌的抑制作用则不一致。Klebsiella aerogenes 和革兰阳性菌一样对叶绿酸铜钠敏感,生长抑制率高达 99.982%;而绿脓杆菌的生长则不受叶绿酸铜钠的影响;灵杆菌、普通变形杆菌及大肠杆菌的生长仅部分受叶绿酸铜钠抑制。

二氢卟吩衍生物是一类光敏抗菌物质,其抗菌谱与 Mowbray 和 El-Nakeeb 等报道的类似,但其抗菌活性与光照强度有关,光敏抗菌作用与单线态氧存在有关。

二氢卟吩衍生物还具有抗病毒作用。将镁叶绿酸钠加至亚洲甲型流感病毒 101 株或牛痘病毒悬液中,3min 后,部分毒体膜即遭破坏;30min 后,核酸也遭到破坏<sup>[13]</sup>。将叶绿酸钠局部应用于皮肤科和眼科疱疹病人,显示有明显的抗病毒作用。

#### 6 抗贫血作用

血液色素和绿色植物色素间的化学关系的建立,是叶绿素药理学应用的最早研究。瑞士伯尔尼大学药理学研究所主任 Burgi 博士最早通过动物及临床试验证明叶绿素及其衍生物对贫血的治疗作用。Burgi 用一种叶绿素-铁化合物治疗了 126 例贫血病人,所有病例不仅在血象方面疗效显著,而且病人食欲增加,同时病人的一般状况都表明治疗效果明显。Aoki 等在 20 世纪 30 年代已证明,叶绿素

能被机体用来促进血红蛋白的再生。

Izotova 报道,从叶绿素制得的含铁化合物如叶绿素铁、铁二氢卟吩 $e_6$ 、三羧酸以及叶绿酸铁钠能有效地治疗软毛动物的贫血。铁叶绿酸钠能明显提高正常小鼠粒单组细胞(CFU-GM)和红系组细胞(CFU-E)增殖分化能力及外周血网织红细胞比例,提示有刺激骨髓造血作用,它还能减轻乙酰苯肼致溶血性贫血小鼠外周血红细胞和血红蛋白降低的程度,失血性贫血大鼠经SIC治疗,能明显升高外周血红细胞和血红蛋白以及降低网织红细胞比例,并提高血清铁水平和转铁蛋白饱和度,表示它对动物实验性贫血有良好的疗效<sup>[14]</sup>。

叶绿酸铜钠盐不仅能提升<sup>60</sup>Co辐射小鼠的周围血象中红细胞、血红蛋白、白细胞、血小板等指标,且对辐射小鼠骨髓中多能干细胞(CFU-S)、粒单组细胞、红系组细胞及骨髓有核细胞的恢复有明显的促进作用,对骨髓基质细胞的修复也有一定的调节作用;对再生障碍性贫血的临床有效率达到80%。

某些二氢卟吩衍生物的铁、钴、锰等络合物对化学物质及辐射引起的白细胞减少症具有明显的预防和治疗作用。叶绿酸铁对由对苯二磷酸亚乙基乙酰胺引起的白细胞减少有预防作用。张广明等<sup>[15,16]</sup>合成了一系列不同的二氢卟吩金属络合物,并在实验模型上初步证明了其对辐射引起的再生障碍性贫血的治疗作用。结果表明,它们不仅能明显延长实验动物的平均存活时间和平均存活数,还能增高实验鼠的白细胞计数,并明显促进造血干细胞向红系的转化。其中二氢卟吩 $e_6$ 单甲酯铜络合物的作用最强。

## 7 抗诱变作用

Lai于1979年首先提出叶绿素有抗诱变作用,他开始观察到麦芽的提取物能抑制苯并(a)芘[B(a)P]引起的诱变作用,接着发现叶绿素是这种抗诱变的主要成分。叶绿素的水溶性代谢产物叶绿酸也有相同的抗诱变作用。

目前,有关叶绿素抗诱变作用的研究多采用Ames试验,并已获得了比较肯定和一致的结果。叶绿酸铜钠对几种已知诱变剂和致癌物质如苯并(a)芘、N-甲基亚硝基脲等以及氨基酸热解产物的致突变活性有抑制作用。此外,它还能抑制许多日常生活环境和膳食中经常接触的复杂混合物,如炸牛肉、炸羊肉的提取物、红葡萄汁、红葡萄酒、香烟烟雾、鼻烟、咀嚼烟、尘埃、煤尘、柴油引擎排出尘粒等的诱变作用。

在哺乳动物体内试验中直接证明叶绿素抗诱变作用的报道较少。Abraham等曾发现给小鼠注射环磷酰胺后,立即用富含叶绿素的菠菜汁灌胃,环磷酰胺诱发的骨髓细胞微核受抑制,抑制率约50%。把环磷酰胺溶于菠菜汁中灌胃后,菜汁对环磷酰胺诱发的微核同样具有抑制作用<sup>[17]</sup>。在睾丸染色体畸变试验中,豌豆叶绿素对环磷酰胺诱导的小鼠精母细胞染色体畸变有抑制作用。祝慧娟等研究设计的3种不同程度实验中,小鼠给予叶绿酸铜钠0.8、2.0、5.0mg/kg对环磷酰胺诱导嗜多染红细胞的微核发生率均有明显的抑制作用<sup>[18]</sup>。Renner利用中国仓鼠研究了叶绿酸对强诱变剂噻替哌所致染色体畸变的抑制作用,结果表明叶绿素对断裂效应的抑制率为70%~85%,且有明显的剂量反应关系<sup>[19]</sup>。

关于叶绿素衍生物的抗诱变机制,迄今仍不十分明确。目前,一般认为其作用机制可能涉及:抗氧化和自由基清除作用;直接与诱变剂形成复合物抑制其诱变作用;影响与诱变物代谢有关的酶活性,从而促进诱变物及其代谢产物的降解与排泄;光还原作用和光动力作用。

## 8 其它

叶绿素衍生物如叶绿酸的铜、铁和钴络合物以及脱镁叶绿素具有抗补体作用,从而抑制免疫溶血反应。

铬叶绿酸钠与化学合成口服降糖药合用,对血糖、血脂的降低有一定的疗效,有进一步研究及开发价值<sup>[20]</sup>。

叶绿素衍生物可用于高血压和臭鼻症的治疗,也可用于腐蚀性损伤的除臭。

目前,对叶绿素衍生物的生物活性研究日益增多,它已被广泛应用于工业、农业、医药等各个领域。结构明确、理化性质稳定、组成恒定的叶绿素衍生物单体或混合制剂是叶绿素类新药的研究方向。

## 参考文献:

- [1] 王瑞平. 光动力疗法在肿瘤治疗中的应用[J]. 国外医学·生物医学工程分册, 1999, 22(6): 356.
- [2] Spikes JD. Photobleaching of mono-l-aspartyl chlorin  $e_6$  (Npe6): a candidate sensitizer for the photodynamic therapy of tumors[J]. Photochem Photobiol, 1993, 58: 346.
- [3] Pandey RK, Shiao FY, Ramachandran K et al. Long wavelength photosensitizers related to chlorins and bacteriochlorins for use in photodynamic therapy[J]. J Chem Soc Perkin Trans, 1992, 11: 1377.
- [4] 姚建忠, 沈卫楠, 陈文晖, 等. 二氢卟吩 $e_6$ 的合成及其光敏化力和肿瘤光生物活性[J]. 中国医药工业杂志, 2000, 31(5): 215.
- [5] 姚建忠, 贺祥, 沈卫楠, 等. 二氢卟吩f的合成及肿瘤光生物活性[J]. 中国药学杂志, 1999, 34(2): 846.

- [6] 姚建忠, 陈文晖, 贺祥, 等. 二氢叶吩甲醚的合成及其光敏化力和肿瘤光生物活性[J]. 药理学杂志, 2000, 35(1): 63.
- [7] 姚建忠, 陈文晖, 沈卫疆, 等. 二氢叶吩 p6 酰胺衍生物对小鼠 S180 移植肉瘤的初步光动力疗效[J]. 第二军医大学学报, 2000, 21(1): 80.
- [8] Kaplan MJ. Photodynamic therapy in the management of metastatic cutaneous adenocarcinomas; case reports from phase I/2 studies using tin ethyl etipurpurin (SnET<sub>2</sub>) [J]. J Surg Oncol, 1998, 67(20): 121.
- [9] Sato M, Imai K, Kimura R, et al. Effect of sodium copper chlorophyllin on lipid peroxidation. VIII. Its effect on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats [J]. Chem Pharm Bull, 1985, 33(8): 3530.
- [10] 裘维焰, 周振鹤, 应树华. 蚕砂提取物-铁叶绿酸钠对动物急性肝损伤保护及治疗作用的实验研究[J]. 中国中医药科技, 1998, 5(2): 93.
- [11] 夏维木, 刘定益, 陈杞. 铁紫红素 7 对肾脏缺血再灌注损伤保护作用的实验研究[J]. 解放军医学杂志, 1999, 24(2): 138.
- [12] 陶海鹏, 孙振贤, 刘明善, 等. 锌叶绿酸 a 的合成及初步临床应用[J]. 华西医科大学报, 1990, 21(3): 341.
- [13] Mekler LB, Bychovsky AF, Krikun BL. Electron microscope study of the viricidal properties of sodium magnesium-chlorophyllin [J]. Nature, 1969, 222(5193): 574.
- [14] 刘雪莉, 陈凯, 史红, 等. 铁叶绿酸钠对正常小鼠祖细胞集落和实验性贫血的影响[J]. 中华血液学杂志, 1997, 18(5): 234.
- [15] 张广明, 吴秋业, 陈贯虹. 四吡咯金属络合物的合成及其对再生障碍性贫血的实验性疗效研究[J]. 中国药物化学杂志, 1998, 8(2): 79.
- [16] 张广明, 许德余, 计国桢, 等. 叶绿素降解产物金属络合物的合成及其对<sup>60</sup>Co 辐射小鼠的放射保护作用[J]. 药理学杂志, 1998, 33(10): 748.
- [17] Abraham SK, Mahajan S, Kesavan PC. Inhibitory effects of dietary vegetables on the in vivo clastogenicity of cyclophosphamide [J]. Mut Res, 1986, 172: 51.
- [18] 祝慧娟, 郑一凡, 黄幸经. 叶绿酸钠的抗诱变作用及其机理[J]. 癌变·畸变·突变, 1995, 7(1): 34.
- [19] Renner HW. In vivo effects of single or combined dietary anti-mutagen mutagen-induced chromosomal aberrations [J]. Mut Res, 1990, 244: 185.
- [20] 陶海鹏, 俞华珊, 王爱群. 铬叶绿酸钠的合成及其临床试用初探[J]. 华西药理学杂志, 1999, 14(2): 102.

收稿日期: 2001-03-28

## · 药物不良反应 ·

### 氧氟沙星 G 注射液静滴致狂躁并休克 1 例

郑 谊, 江立富, 么 威 (解放军第 5 医院, 银川 750004)

关键词: 氧氟沙星 G; 休克

中图分类号: R976

文献标识码: D

文章编号: 1006-0111(2001)05-0269-01

喹诺酮类药物对神经系统的不良反应主要是诱发癫痫, 提示幼儿、老年患者慎用等。但患者用药后出现狂躁不安致休克还未见报道, 现就使用氧氟沙星 G 注射液后出现狂躁不安而致休克 1 例报道如下:

#### 1 临床资料

患者王某, 男, 38a, 宁夏籍, 2000 年 11 月 8 日, 因左手无名指断离伤, 来院诊治。医师进行清创缝合包扎后, 考虑患者伤口污染严重, 收入急诊科住院治疗。患者自述既往无其他精神病史, 常有失眠, 不易入睡。经查, 心、肺正常, 神经系统反射正常, 血、尿、粪常规正常, T 36.7℃, iv gtt 氧氟沙星 G 注射液, 当滴入约 200ml 时, 患者即出现狂躁, 自己拔掉输液器, 辱骂护士。经医师、护士强制压迫在床, im 地西洋 10mg 和氯丙嗪 5mg 后, 约 10min 患者入睡。d2 继续 iv gtt 本品约 100ml, 患者突然从床上跳起, 拔掉输液器, 辱骂他人, 低头碰墙壁, 医护人员强制压迫于

床上, 查患者脉搏细弱, 40 次/min, 呼吸急促, BP 6/8kPa, 四肢发冷, 处于休克状态。立即静脉给 5% 葡萄糖注射液加肾上腺素 1mg 和地塞米松 5mg, 吸氧气等抢救措施, 35min 后基本恢复正常。查体: 心、肺、肝、脑电图正常, 血压 14/7.9kPa。d3 停用本品改为阿莫西林胶囊口服, 观察 48h, 未出现类似症状。1mo 后, 随访患者伤口痊愈, 也未出现上述症状。

#### 2 讨论

患者在使用氧氟沙星后出现狂躁, 给镇静剂后症状消失, 当次日第二次使用时, 出现狂躁并休克。第三日将氧氟沙星改为阿莫西林时再未出现狂躁症状, 表明狂躁并休克的原因与使用氧氟沙星关系密切。提示, 医师在给有精神病史或神经官能症患者 iv gtt 氧氟沙星 G 注射液之前, 一定要详细询问病史, 有精神病史或神经官能症者慎用。

收稿日期: 2001-04-13