

雷公藤红素抗神经退行性疾病研究概况

钱利武^{1,2}, 周国勤¹, 陈师农^{1,2*}, 黄和平³ (1.安徽省药物研究所天然产物研究室, 合肥 230022; 2.安徽省中药研究与开发重点实验室, 合肥 230022; 3.安徽中医学院药学院, 合肥 230038)

摘要: 雷公藤红素为传统中药雷公藤的活性成分之一, 临床上主要用于风湿类、肾炎、红斑狼疮、皮肤病变等疾病的治疗。近期研究发现, 雷公藤红素在抗帕金森综合症、阿尔海默氏症、肌萎缩性脊髓侧索硬化症及亨廷顿病等方面同样具有很高的潜在药用价值, 本文对近 6 年来雷公藤红素在抗神经退行性疾病方面的研究情况做一综述。

关键词: 雷公藤红素; 神经退行性疾病; 帕金森综合症; 肌萎缩性脊髓侧索硬化症; 亨廷顿病; 阿尔海默病
中图分类号: R289.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1007-7693(2011)07-0629-05

Recent Advances in the Study of Celastrol Anti-Neurodegenerative Diseases

QIAN Liwu^{1,2}, ZHOU Guoqin¹, CHEN Shinong^{1,2*}, HUANG Heping³ (1.Laboratory of Natural Products, Anhui Institute of Materia Medica, Hefei 230022, China; 2.Key Laboratory of Research and Development of Chinese Medicine of Anhui Province, Hefei 230022, China; 3.Department of Pharmacy, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, China)

作者简介: 钱利武, 男, 博士, 助理研究员
Tel: (0551)3669422 E-mail: csn5749@163.com

Tel: (0551)3658348

E-mail: qianlw@163.com

*通信作者: 陈师农, 男, 研究员

ABSTRACT: Celastrol, an active compound isolated from traditional Chinese medicine *Tripterygium wilfordii* Hook. f., was used in clinic practices for the treatment of rheumatism, nephritis, lupus erythematosus and dermatopathy. Current researches indicated that celastrol has potent anti-Parkinson's disease, Alzheimer's disease, Amyotrophic lateral sclerosis and Huntington's disease activities. In this paper, advances in studies of celastrol anti-neurodegenerative diseases in the recent six years were reviewed.

KEY WORDS: celastrol; neurodegenerative disease; Parkinson's disease; Amyotrophic lateral sclerosis; Huntington's disease; Alzheimer's disease

雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook. f.)系卫矛科雷公藤属植物,其根、叶、花及果均可入药,为我国传统医学中一种常用中药。雷公藤红素(celastrol, CSL)是其根皮中的一种天然活性成分,为雷公藤中分离到的第一个单体化合物^[1]。近年来,国内外学者针对 CSL 开展了大量的研究,在抗肿瘤、抗风湿、抗炎、抗菌杀虫等方面都取得了很大的进展。笔者总结了 CSL 在抗神经退行性疾病方面的研究进展,并就其减毒增效、结构修饰及构效关系等方面的研究作一展望。

1 CSL 结构特点

CSL 又名南蛇藤素或南蛇藤醇,分子式为 $C_{29}H_{38}O_4$,呈红色针状结晶,mp 185~200 °C,不溶于水,易溶于有机溶剂。从结构上看 CSL 属于五环三萜类色素,A 环且呈醌式结构,其 2,3 位为邻二酚羟基,E 环上连接一个羧基基团,一般认为 CSL 的生物活性与 A 环及羧基等结构密切相关,结构图见图 1^[2]。

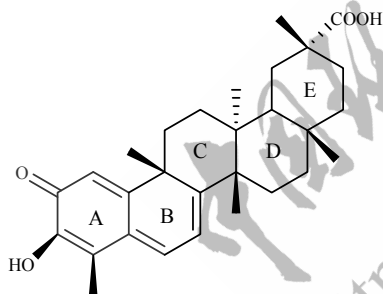


图 1 雷公藤红素的结构

Fig 1 The structure of celastrol

2 对神经退行性疾病的作用

神经退行性疾病(neurodegenerative disease, ND)是由于神经元退变、死亡所导致的以中枢神经系统损害为主的一大类疾病,按疾病的表现形式可分为两类:一类与运动功能相关,如肌萎缩性侧索硬化症、帕金森病及亨廷顿病等;另一类与认知功能相关,如阿尔海默病。目前,神经退行性疾病已成为神经病学和神经科学的研究热点问题^[3-7]。研究人员正致力于研制及从天然活性化合物库中寻找有效的药物,CSL 则是其中一种非常有前景的天然产物。

2.1 对帕金森病的作用

帕金森氏病(Parkinson's disease, PD)又称震颤麻痹,是中老年人群中常见的中枢神经系统变性疾病,其病因还没有弄清,目前认为氧化性应激、线粒体功能障碍、炎症及兴奋性毒性等可能会导致黑质(substantia nigra, SN)中多巴胺能神经元(dopaminergic neuron, DN)的减少及死亡^[8],进而产生 PD。迄今为止对该病的治疗均为对症治疗,尚无可以使变性的神经细胞恢复的根治方法。

CSL 能显著增加脑部多巴胺的含量。在果蝇 PD 模型中,与对照组相比,CSL 的剂量为 $5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, DN 存活率提高 41%;当浓度为 $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,存活率则提高了 48%。在低剂量情况下, $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ CSL 能增加 30% 的脑部多巴胺含量,浓度为 $5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,多巴胺的含量增加 92%。米诺环素(minocycline)是一种常用的神经保护药物,能显著提高 DN 存活率、增加脑部多巴胺的含量,但其有效剂量大于 CSL。资料显示,达到相同的神经保护功能,米诺环素的浓度要比 CSL 大 10^4 左右^[8]。CSL 及米诺环素的神经保护功能可能与其抗氧化和抗炎活性有关,因为氧化性应激和炎症均能导致 PD 的发生。2,3-二羟基-6-硝基-7-氨基喹啉(NBQX)与 CSL 相比,在果蝇 PD 模型中仅能发挥 DN 保护功能,而不能恢复脑部多巴胺含量。

CSL 可显著抑制神经元的减少并促进热激蛋白 70(Hsp70)的增加。1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)是一种诱发多种动物出现类似帕金森症的神经毒素,在脑部 SN 内 MPTP 脱氢生成 MPP^+ 离子,可抑制线粒体复合酶,从而导致神经细胞的死亡。Carine 等^[9]研究表明, $3 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 CSL 可显著抑制 PD 模型小鼠多巴胺及 SN 致密部中神经元的减少。CSL 通过多种因素发挥神经保护作用,在 MPTP 诱导的小鼠 PD 模型中,CSL 促使 SN 中 Hsp 70 增加, Hsp70 抑制了 $\text{TNF-}\alpha$ 和 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 的活性,从而阻止星形胶质细胞和致炎细胞因子的释放以及较少神经细胞的凋亡。

2.2 对肌萎缩性脊髓侧索硬化症的作用

肌萎缩性脊髓侧索硬化症(Amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种难以治愈的神经退行性疾病,主要由中枢神经系统内运动神经元退化所致。ALS多发于40岁以上中老年,起病缓慢,呈进行式发展,表现为受累部位肌肉萎缩、吞咽及呼吸困难、丧失自理能力等,最终会因呼吸衰竭而死,世卫组织将ALS与癌症和艾滋病一起称为人类的三大绝症。目前,针对ALS尚缺乏有效的药物,利鲁唑(riluzole)是当前唯一经FDA批准用于ALS治疗的药物,其对于ALS患者生存率的提高作用不明显。

实验显示,G93A SOD1转基因ALS小鼠口服CSL后,生存时间显著延长,ALS症状显现时间延迟,模型鼠的运动功能得到改善;此外,中枢神经元的存活率大幅提高。免疫组化数据显示,CSL处理的ALS模型鼠腰脊髓部位TNF- α 及iNOS均有所降低^[10]。

Bernadett等^[11]通过体外培养从SD大鼠胚胎中分离出运动神经元,在培养体系中加入星形孢菌素及H₂O₂,使之处于应激状态;再通过arimoclomol(一种用于中枢神经系统退行性疾病治疗的口服药物)和CSL处理这些运动神经元。结果发现,arimoclomol和CSL均可上调Hsp的表达,尤其是Hsp70明显增加,但在运动神经元的存活率方面两者存在相反的结果,arimoclomol具有神经保护作用,而CSL却启动caspase介导的细胞凋亡。该研究说明两个问题:一是引起Hsp表达上调的药物未必能发挥神经保护作用,应激反应和神经保护两者之间没有必然的联系;二是CSL在动物体内对神经元的反应也许与在体外培养液中不同,这需要在以后的研究中予以重视。不过,目前在动物实验中,CSL对神经元的反应是一致的^[12-15]。尽管CSL在细胞水平及动物体内均表现出抑制神经退变活性,但在转基因模型动物、人体毒性、药动学及中枢神经渗透性等方面需进一步深入研究^[16]。

2.3 对亨廷顿病的作用

亨廷顿病(huntington's disease, HD)主要由家族遗传或基因突变所致,常表现为舞蹈性运动以及认知和行为障碍。HD属于多聚谷氨酰胺疾病(polyglutamine disease, PD)的一种类型,是由亨廷顿蛋白(huntingtin, Htt)N端多聚谷氨酰胺序列非正常延长引起的神经退行性疾病。目前该病尚无法彻底根治,通过神经移植和药物可以控制、减

缓情绪波动及动作问题^[17-19]。

Carine^[9]通过在路易鼠皮下植入含3-硝基丙酸的微型渗透泵构建HD模型鼠,以6 mg·kg⁻¹·d⁻¹的剂量分2次腹腔内注射CSL,连续处理5d后显微观察,与对照组相比纹状体的损伤减少了98%,而纹状体内Hsp70的表达则增加了19%。

从分子水平上看,HD是一种由于基因突变所致的遗传性神经退行性疾病,原因是编码亨廷顿蛋白(Huntingtin, Htt)的基因发生突变,使得该蛋白氨基末端的谷氨酰胺重复序列发生异常,进而促使蛋白质构象发生改变,Htt突变蛋白易聚集并对神经细胞产生毒性。资料显示,在HD基因模型动物实验中,CSL和藤黄酸能显著抑制突变体Htt的聚集,其IC₅₀分别为3.55和0.87 μ mol·L⁻¹;同时,CSL及胡桃醌还能使纹状体细胞中全长突变体Htt的非正常细胞定位发生逆转^[20]。

2.4 对阿尔海默病的作用

阿尔海默病(Alzheimer's disease, AD)是以进行性认知和记忆功能丧失为临床特征的中枢神经系统退行性疾病,由德国科学家阿尔海默于1906年首次描述。AD的病因尚无法确定,一般认为AD患者具有2个主要的神经病理学特征:胞外衰老斑、胞内神经原纤维缠结。AD护理难度大,病残及病死率高,给社会和家庭带来沉重负担,目前尚缺乏非常有效的药物。

研究发现, β -淀粉样蛋白(A β)在脑部聚集形成老年斑,引起中枢神经元的蜕变是AD的重要神经病理学特征。A β 由淀粉样前体蛋白(App)经 β -(BACE-1)和 γ -分泌酶酶解而成。抑制淀粉样蛋白的合成、聚集及沉淀是防治AD的有效途径,见图2。

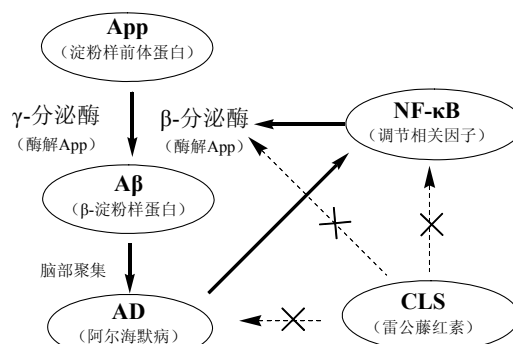


图2 AD的形成及其调控

“→”表示促进或激活;“---×→”表示下调或抑制

Fig 2 The formation and regulation model of Alzheimer's disease(AD)

The solid arrows indicate promotion or activation; the dashed arrows with cross sign indicate down-regulation or suppression

体外实验显示,CSL呈剂量依赖性抑制NF- κ B活性和BACE-1的表达,并通过减少App蛋白 β 位点的裂解实现抑制 $A\beta_{1-40}$ 和 $A\beta_{1-42}$ 的形成,从而减低脑部中枢神经中App-CTF β 和A β s β 的水平^[21]。在体内研究中,CSL可减少可溶性及不溶性 $A\beta_{1-38}$, $A\beta_{1-40}$ 及 $A\beta_{1-40}$ 蛋白的含量。此外,通过长期给药,脑部A β 斑块及小神经胶质的活性均趋于减少或减弱。

在AD大鼠模型中,CSL剂量为7 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时能显著改善模型鼠的记忆、学习能力及精神运动^[14]。AD患者通常伴随炎症的发生,同时小神经胶质细胞明显增加,增加了促炎细胞因子和氧化剂的合成。CSL兼有抗炎和抗氧化活性,可有效阻断中枢神经系统中促炎因子的合成,保护神经元细胞膜,抑制过氧化物对神经系统的损伤^[22]。

3 展望

综上所述,CSL是一种能有效防治中枢神经退行性病变的天然产物,主要通过下面3个方面发挥神经保护功能:①抑制细胞因子TNF- α ,NF- κ B,IL-1,IL-6的形成,减少中枢神经元凋亡及损伤;②清除自由基及过氧化物,保护神经细胞结构稳定性,阻止神经递质多巴胺及乙酰胆碱的减少;③启动热激反应,上调Hsp的表达,减少异常蛋白质的合成,逆转蛋白质的错误折叠,由于神经退行性患者常出现tau蛋白的异常磷酸化、A β 的堆积与损伤、Htt谷氨酰胺非正常重复等^[23],启动热激反应对于神经退行性患者来说显得尤为重要。

天然产物是一座储量庞大的先导化合物库,也是创新药物研发的重要源泉。作为传统抗风湿及抗炎中药,雷公藤在我国的应用源远流长,然而在神经保护方面,国内鲜见相关的研究。在国外的研究中,尽管CSL细胞及动物实验中显示良好的中枢神经保护活性,但还缺乏相应的毒理学及药动学等资料,需要在未来的研究中予以补充和完善。

目前生物催化与生物转化技术正在迅速向药物创制领域渗透,将会成为我国药物源头创新最有希望的技术之一^[24],具有反应条件温和、立体选择性强、催化效率高、反应种类多以及环境污染小等特点,尤其在具复杂结构天然产物的结构修饰中有着显著的优势,深受研究人员的关注,因此在今后可利用种类繁多、性能各异的生物酶系,开展CSL

的结构多样性研究,同时结合化学修饰构建CSL化合物群(库)。通过中枢神经退行性疾病的药理学模型及药物信息学相关知识,探讨神经保护功能与化合物结构之间的构效关系,基于CSL药物分子的三维结构信息及其与相关大分子相互作用,发现CSL活性及毒性的关键结构域或基团,有助于快速筛选出高效低毒的新药先导化合物,对形成具有自主知识产权的抗中枢神经退行性病变药物将具有重要的意义和广阔的应用前景。

REFERENCES

- [1] ZHANG D H, YANG C X, QIN W Z, et al. Research review of celastrol in the past 20 years [C]// Proceedings of the 4th national conference on celastrol(第四届全国雷公藤学术会议论文汇编). Shanghai: Chinese Association of the Integrative Medicine, 2004: 1-5.
- [2] HIRONORI S, KENTARO K, YOSHIHISA T, et al. Structural basis of potent antiperoxidation activity of the triterpene celastrol in mitochondria: effect of negative membrane surface charge on lipid peroxidation [J]. Free Radical Bio Med, 1994, 17(3): 201-207.
- [3] AMBEGAOKAR S S, ROY B, JACKSON G R. Neurodegenerative models in Drosophila: Polyglutamine disorders, Parkinson disease, and amyotrophic lateral sclerosis [J]. Neurobiol Dis, 2010, 40(1): 29-39.
- [4] HUNG C W, LIOU Y J, TSENG L M, et al. Stem cell-based neuroprotective and neurorestorative strategies [J]. Int J Mol Sci, 2010, 11(5): 2039-2055.
- [5] KATALIN S, HERMINA R, JÓZSEF T, et al. Mitochondria, metabolic disturbances, oxidative stress and the kynurenine system, with focus on neurodegenerative disorders [J]. J Neurol Sci, 2007, 257(1/2): 221-239.
- [6] LAURA F, QIU C X. Prevention of common neurodegenerative disorders in the elderly [J]. Exp Gerontol, 2009, 44(1/2): 46-50.
- [7] MASSIMO G, NICOLA L, ALESSIA C, et al. Neurodegenerative diseases [J]. Radiol Clin N Am, 2008, 46(4): 799-817.
- [8] KATHARINA F, STEPHAN G, YANG Y F, et al. Neuroprotective effects of compounds with antioxidant and anti-inflammatory properties in a Drosophila model of Parkinson's disease [J]. BMC Neurosci, 2009, 10(1): 109.
- [9] CARINE C, NOEL Y C, CHEN J Y, et al. Celastrol protects against MPTP- and 3-nitropropionic acid-induced neurotoxicity [J]. J Neurochem, 2005, 94(4): 995-1004.
- [10] MAHMOUD K, KHATUNA K, SUSANNE P, et al. Celastrol blocks neuronal cell death and extends life in transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis [J]. Neurodegener Dis, 2005, 2(5): 246-254.
- [11] BERNADETTE K, LINDA G. Activation of the heat shock response in a primary cellular model of motoneuron neurodegeneration-evidence for neuroprotective and neurotoxic effects [J]. Cell Mol Biol Lett, 2009, 14(2): 319-335.
- [12] ARI M C, IAN R B. Induction of heat shock proteins in differentiated human and rodent neurons by celastrol [J]. Cell Stress Chaperon, 2007, 12(3): 237-244.
- [13] IAN R B. Heat shock proteins and protection of the nervous

- system [J]. *Ann NY Acad Sci*, 2007, 1113(1): 147-158.
- [14] WESTERHEIDE S D, BOSMAN J D, MBADUGHA B N, et al. Celastrols as inducers of the heat shock response and cytoprotection [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279 (53): 56053-56060.
- [15] AMY T, JAMES D W, LADA K, et al. Activation of heat shock and antioxidant responses by the natural product celastrol: transcriptional signatures of a thiol-targeted molecule [J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(3): 1104-1112.
- [16] TRAYNOR B J, BRUIJN L, CONWIT R, et al. Neuroprotective agents for clinical trials in ALS: A systematic assessment [J]. *Neurology*, 2006, 67(1): 20-27.
- [17] ENIKO V, KRISZTINA V, LASZLO V, et al. Neuroprotective effects of L-carnitine in a transgenic animal model of Huntington's disease [J]. *Biomed Pharmacother*, 2010, 64(4): 282-286.
- [18] THONG C M, JESSICA L B, BENJAMIN O, et al. Metformin therapy in a transgenic mouse model of Huntington's disease [J]. *Neurosci Lett*, 2007, 411(2): 98-103.
- [19] STEPHEN B D, ANNE E R. Stem cell transplantation for Huntington's disease [J]. *Exp Neurol*, 2007, 203(2): 279-292.
- [20] WANG J, GINES S, MACDONALD M E, et al. Reversal of a full-length mutant huntingtin neuronal cell phenotype by chemical inhibitors of polyglutamine-mediated aggregation [J]. *BMC Neurosci*, 2005, 6(1): 1.
- [21] PARIS D, GANEY N J, LAPORTE V, et al. Reduction of β -amyloid pathology by celastrol in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease [J]. *J Neuroinflammation*, 2010, 7: 17.
- [22] ALLISON A, CACABELOS R, LOMBARDI V R M, et al. Celastrol, a potent antioxidant and anti-inflammatory drug, as a possible treatment for Alzheimer's disease [J]. *Prog Neuro-Psychoph Biol Psych*, 2001, 25(7): 1341-1357.
- [23] ZHANG Y Q, SARGE K D. Celastrol inhibits polyglutamine aggregation and toxicity through induction of the heat shock response [J]. *J Mol Med*, 2007, 85(12): 1421-1428.
- [24] OUYANG P K. Strengthen the application of biocatalytic and biotransformation in the source innovation of creative drugs in China [J]. *Chin J Nat Med(中国天然药物)*, 2007, 5(3): 161.

收稿日期: 2010-09-07