

雷公藤主要活性成分的结构修饰及药理活性研究进展

韩菁婕^{1*}, 柳芳², 张相林^{2#}, 郑虎占¹(1.北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2.中日友好医院, 北京 100029)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)04-0560-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.04.40

摘要 目的:为雷公藤主要化学成分的结构修饰及相似化合物的增效减毒研究提供参考。方法:以“雷公藤甲素”“雷公藤红素”“衍生物”“Triptolide”“Celastrol”“Derivative”等为主题词,组合查询1972—2014年中国医院知识总库(CHKD)及PubMed数据库中的相关文献,对雷公藤主要活性成分雷公藤甲素和雷公藤红素的结构修饰及药理活性研究进行总结。结果与结论:与雷公藤甲素和雷公藤红素有关的中文文献分别为895、320篇,英文文献545、230篇,其中有效文献分别为13、5、17、5篇。雷公藤甲素和雷公藤红素的主要药效结构是内酯和环氧烷,前者主要的结构修饰方式是羟基化、氯化、C14位成盐等方式,得到的化合物(如雷公藤氯内酯醇、琥珀酰雷公藤甲素单酯钠、2-甲胺基乙酸雷公藤甲素酯柠檬酸盐等)具有保护神经元、降低器官移植后的排斥反应、减轻因顺铂引起的急性肾损伤等作用;后者主要通过酯化方式,得到的化合物(如28位羟基取代衍生物)具有抑制多种癌细胞的作用。通过结构修饰可达到增加水溶性、增强活性和降低毒性等目的,所得衍生物在新药研发方面显示出较好的应用前景。

关键词 雷公藤甲素;雷公藤红素;结构修饰;活性

雷公藤药材来源于卫矛科雷公藤属植物雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook.f.)及昆明山海棠(*Tripterygium hypoglaucum* (Lévl.) Hutchins.)的根及根茎。其性寒,味苦涩,具有祛风除湿、通络活络、消肿止痛、解毒杀虫等功效^[1]。药理研究表明,雷公藤有显著的抗肿瘤、抗炎以及免疫抑制活性,其主要活性成分为雷公藤甲素(Triptolide)、雷公藤红素(Celastrol)、雷公藤乙素(Tripdiolide)等^[2-3]。雷公藤及其活性成分虽具有很好的药理活性,但也具有一定的毒性,因此在很大程度上限制了其临床应用。雷公藤中主要毒性成分为二萜类、生物碱类和三萜类等^[4],且铅、砷、镉含量较高。其中二萜类毒性最大,对心、肝、胃肠道及骨髓均具有明显毒副作用^[5]。雷公藤的活性成分同时也是毒性成分,对其活性成分的减毒研究一直是国内外研究的热点之一。

结构修饰是指通过化学或生物学的方法对活性天然产物进行结构改造,多用于优化活性、提高生物利用度和降低毒性。笔者分别以“雷公藤甲素”“雷公藤红素”为主题词,查阅中国医院知识总库(CHKD)1972—2014年的相关文献,分别检索到文献895、320篇,再以“衍生物”为主题词在结果中检索,分别得到17、9篇文献,剔除重复文献、二次文献后,查得符合条件的文献分别为13、5篇;分别以“Triptolide”“Celastrol”为主题词检索PubMed中1972—2014年的文献,分别检索到545、230篇,再以“Derivative”为主题词在结果中检索,分别检索到文献21、11篇,剔除重复文献、二次文献后得有效文献分别为17、5篇。在有效文献的基础上,笔者就国内外有关雷公藤主要活性成分雷公藤甲素和雷公藤红素的结构修饰以及药理活性改变进行分析总结,以期对雷公藤化学成分的研究提供参考。

1 以雷公藤甲素为先导化合物的结构修饰

雷公藤甲素又称雷公藤内酯醇,是一种环氧二萜类化合物,其化学结构式见图1A。

现代研究表明,雷公藤甲素不仅有抗类风湿作用还有抗癌作用^[6]。在免疫抑制方面,雷公藤甲素既能诱导促进细胞免

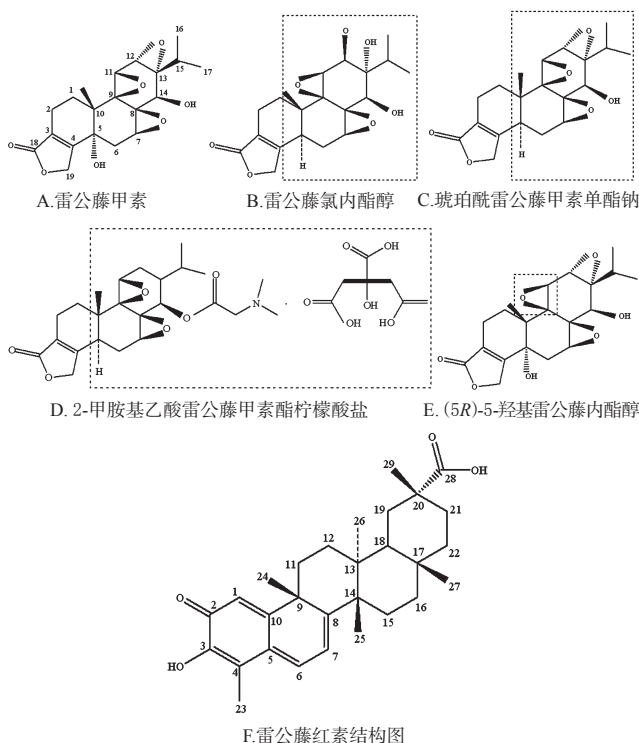


图1 化学结构式

疫、体液免疫的CD4⁺细胞凋亡,也能诱导抑制体液免疫、抗病毒、抗肿瘤的CD8⁺细胞凋亡^[7]。但这一部分的相关研究结论大部分源于体外培养的T淋巴细胞,对单核/巨噬细胞的变化规律知之甚少。目前研究大多认为雷公藤甲素产生肝毒性的途径是降低人肝L-02细胞存活力,耗散线粒体膜电位并释放细胞色素C(呼吸的电子传递链中),下调抗细胞凋亡因子Bcl-2蛋白水平,上调促细胞凋亡因子Bax蛋白水平,通过线粒体途径诱导细胞凋亡从而产生细胞毒性等,从而造成肝损伤^[8]。也有研究认为是通过氧化应激产生肝毒性^[9]。雷公藤甲素在体内均可改善祖细胞骨架蛋白和裂孔膜蛋白的表达分布,抑制系膜细胞增生,改善细胞外基质沉淀。其具有明显的生殖毒性,可使小鼠睾丸中内皮一氧化氮合成酶(eNOS)表达明显下调,Fas-L和Bax明显上调。这可能与核转录因子(NF)-κB表

* 硕士研究生。研究方向:中药安全性监测、治疗药物监测。
E-mail:han_jingjie@163.com

通信作者:主任药师,硕士生导师。研究方向:治疗药物监测、中药安全性监测。电话:010-84205370。E-mail:zryhyzxl@126.com

达的过度抑制引起睾丸组织凋亡相关基因表达上调导致睾丸组织凋亡有关^[10]。其还可损伤肾小管上皮细胞,致毛细血管通透性增加,使部分蛋白漏出肾小球囊,刺激壁层上皮细胞增生。雷公藤甲素分子结构中环氧烷和内酯部分是维持药效的结构基础,环氧烷是产生毒性的主要结构基础。现对以雷公藤甲素为先导化合物进行结构修饰的几种化合物进行介绍。

1.1 雷公藤氯内酯醇

雷公藤氯内酯醇(Tripchlorolides)是雷公藤甲素经羟基氯化并氯化修饰后得到的减毒单体,其化学结构式见图1B^[11]。其不仅提高了母体化合物的溶解性,也使后者毒性大大降低,而且增强了免疫抑制活性,具有分子量小、亲脂性高,能通过血脑屏障、血神经屏障等特点。雷公藤氯内酯醇在体内和体外试验中表现出拮抗多种神经毒性物质对多巴胺(DA)能神经元的损伤作用、对抗实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)所致的神经损伤,故具有一定程度的神经保护作用^[12]。研究表明,雷公藤氯内酯醇可能通过阻断NF- κ B信号通路,发挥对拟阿尔茨海默病(AD)样大鼠海马神经元的保护作用^[13]。

1.2 琥珀酰雷公藤甲素单酯钠

琥珀酰雷公藤甲素单酯钠(PG490-88)是雷公藤甲素的14-琥珀酸盐,其化学结构式见图1C。其作为一种水溶性前药,能够在血液中转化为雷公藤甲素^[14]。该药已通过美国FDA和欧共体药物主管机构EMA批准,正在美国、法国、比利时进行临床试验^[15]。PG490-88具有水溶性好、稳定性高、血浆内生物转换率高的特点^[16]。临床前的大量体内、外抗肿瘤实验表明,其对多种人肿瘤细胞株裸鼠异种移植瘤具有非常强的抑制活性^[17],能有效降低器官移植的加速型排斥反应和预防慢性排斥反应^[18],且能减轻因顺铂引起的急性肾损伤^[19]。

1.3 2-甲胺基乙酸雷公藤甲素酯柠檬酸盐

2-甲胺基乙酸雷公藤甲素酯柠檬酸盐(MC002)又称为2-甲胺基乙酸雷公藤甲素酯柠檬酸盐,是雷公藤甲素结构式中母核上C14的-H被氨基取代所形成的半合成衍生物,具有显著抗肿瘤活性,其化学结构式见图1D。通过对雷公藤甲素母核C14位的羟基进行修饰,使其进入机体后经酯酶催化生成雷公藤内酯醇从而发挥细胞毒作用。其具有水溶性好、刺激性小、广谱的特点,在制剂和临床给药方面具有一定优势^[20-22]。

1.4 (5R)-5-羟基雷公藤内酯醇

(5R)-5-羟基雷公藤内酯醇(LLDT-8)是雷公藤甲素通过结构修饰得到的同分异构体,其化学结构式见图1E。该化合物已申请中国专利和专利合作协定(PCT),并获得授权,已经完成非临床研究,于2009年10月获得原国家食品药品监督管理局(SFDA)颁发的药物临床试验批件。LLDT-8在保留了免疫抑制活性的同时,在一定程度上降低了毒性。李萍等^[23]研究证实,LLDT-8对多种自身免疫性疾病(如类风湿性关节炎、多发性硬化症、免疫性肝损伤、肺纤维化等)和移植排斥反应(如心肌移植、骨髓移植)具有治疗作用,并对其作用机制进行了探讨。

1.5 MRx102

MRx102为雷公藤甲素的衍生物,已被MyeloRx, LLC公司申请为专利并受保护,目前由MyeloRx公司进行临床前研究。John MF等^[24]的研究表明,在大鼠无可见有害作用水平(NOEL)实验中,MRx102的安全性是雷公藤甲素的20~60倍。Carter BZ等^[25]的研究结果表明,MRx102有潜在的体外抗白血病活性,在大鼠体内进行的急性髓性白血病(AML)相关研究结果显示,MRx102可有效促进AML细胞系的凋亡;在低

浓度下,MRx102具有诱导CD34⁺前体凋亡、降低OCI-AML3细胞系中X连锁凋亡蛋白(XIAP)和骨髓细胞白血病蛋白(Mcl-1)的表达水平以及抑制RNA合成的作用。

2 以雷公藤红素为先导化合物的结构修饰

雷公藤红素属于三萜类,是第一个被分离出来的雷公藤活性成分,其化学结构式见图1F。大量研究表明,雷公藤红素可通过激活经典的凋亡途径杀灭细胞,尤其对增殖期的细胞更敏感,具有良好的抗肿瘤、免疫抑制与抗炎活性以及抗神经退行性疾病活性,其抗肿瘤活性是目前研究的热点。Tozawa K等^[26]发现雷公藤红素能够使多发性骨髓瘤细胞株停留在G₁期,并诱导细胞凋亡,其机制可能与激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(Caspase-3)和NF- κ B途径有关。Rajendran P等^[27]首次证明雷公藤红素通过抑制STAT3信号通路发挥抑制增殖、诱导细胞凋亡的效果。Venkatesha SH等^[28-29]表明,雷公藤红素能够有效减轻关节炎,并且认为该作用是通过调节主要致炎细胞因子以适应于疾病相关的抗原而实现的。Paris D等^[30]证实雷公藤红素可能通过NF- κ B依赖性机制调节淀粉蛋白前B位分解酶1(BACE-1)的表达,作为一个间接BACE-1抑制剂而降低淀粉样蛋白沉着,因此有望用于AD的治疗。根据近年来的报道,雷公藤红素的不良反应集中在对造血系统的损伤^[31]以及对尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶的强抑制^[32]方面,在与其他药物合用时应关注有无不良反应发生。现以雷公藤红素为先导化合物进行结构修饰的情况介绍如下。

2.1 酯类衍生物

雷公藤红素容易被硼化钠还原成双氢雷公藤红素,3位羟基可用氯化铝锂酯化成多种酯,29位羧基可通过酯化反应得到酯类化合物^[33]。其酯类衍生物能增加细胞内热休克蛋白(HSP70)的表达,减少逆境对细胞的胁迫表达,抑制中央神经系统的受伤或老化,故可用于治疗中枢系统疾病如AD、帕金森病等。

2.2 28位羟基取代衍生物

将雷公藤红素的28位羟基换为-NH(CH₂)₂CH₃,得到雷公藤红素丙酰胺;将28位羟基换为-O(CH₂)₂CH₃,得到雷公藤红素丙酯^[34]。这两种衍生物均可明显抑制白血病HL-60细胞、乳腺MD-MB-231/ATCC细胞、大肠癌COLO250细胞、中央神经系统U251、皮肤癌SCO1细胞、前列腺癌PC-3细胞、非小型细胞肺癌NC1-H522细胞的生长,可作为广谱性抗癌药物。

将雷公藤红素的28位-H换为-H_mC_n(n=10~20, m=2n+1, 2n-1, 2n-3等),可得到一系列以毒性低、水溶性强、活性高为特点的雷公藤红素衍生物^[35]。其中当n=16时,即-H被-CH₂(CH₂)₁₄CH₃取代时,得到的衍生物的抗肿瘤、抗炎活性较高,有显著的前列腺靶向性,可在前列腺中快速聚集并较长时间保留。细胞试验显示给药后在1.5 h时达到浓度峰值,48 h后仍处于较高水平。

3 讨论

雷公藤及其制剂,如雷公藤多苷片,在临床中已大量使用,且已被列为国家基本药物品种,主要用于治疗类风湿性关节炎、斑秃、皮炎、肾病综合征等,疗效显著。但雷公藤不良反应较多,比如恶心少纳、皮肤溃烂、肝功能异常等。现代研究表明,其具有肝毒性、损伤肾小管上皮细胞肾毒性以及诱导睾丸组织细胞凋亡的生殖毒性等。为了保留雷公藤及其化学成分的活性同时降低毒性,目前研究主要集中于:(1)通过剂型改良,结合生物技术使药物在体内对靶细胞的选择性增强;(2)参考中药配伍理论,将雷公藤活性成分与其他成分如甘草

中活性成分合用;(3)利用化学方法对雷公藤主要活性成分进行结构修饰等方面。结合近年来研究可知,雷公藤主要活性成分雷公藤甲素和雷公藤红素的主要药效结构部分是内酯和环氧烷,通过结构修饰,可达到增加水溶性、增强活性和降低毒性等目的。这为雷公藤化学成分的进一步研究,以及相似化合物的减毒增效研究提供了有益参考。

参考文献

- [1] 冯群,栾永福,孙蓉.基于功效和物质基础的雷公藤毒性研究进展[J].中国药物警戒,2013,10(2):88.
- [2] 马哲,梁茂新,张颖.中药雷公藤化学成分及药理作用研究进展[J].亚太传统医药,2011,7(3):157.
- [3] 薛冠明,薛蕾,闫德友.雷公藤化学成分、生物活性及其资源利用概述[J].青海农林科技,2013(4):24.
- [4] 孙新,张素敏,田春华,等.雷公藤及其安全性[J].中国新药杂志,2001,10(7):539.
- [5] 薛璟,贾晓斌,谭晓斌,等.雷公藤化学成分及其毒性研究进展[J].中华中医药杂志,2010,25(5):726.
- [6] 刘明星,董静,杨亚江,等.雷公藤甲素的研究进展[J].中国中药杂志,2005,30(3):170.
- [7] 翁庚民,赖先阳,胡永红,等.雷公藤诱导细胞凋亡的研究进展[J].中草药,2002,33(11):1 053.
- [8] Yao JC, Jiang ZZ, Duan WG, *et al.* Involvement of Mitochondrial pathway in triptolide-induced cytotoxicity in human normal liver L-02 cells[J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(4):592.
- [9] Mei ZN, Li XK, Wu QR, *et al.* The research on the anti-inflammatory activity and hepatotoxicity of triptolide-loaded solid lipid nanoparticle[J]. *Pharm Acological Research*, 2005, 51(4):345.
- [10] 吴建元,肖玉玲,丁虹,等.雷公藤片对小鼠睾丸组织的毒性作用及其分子机制研究[J].中药材,2005,28(3):207.
- [11] 杨光忠,陈玉.雷公藤氯内酯醇研究进展[J].中药材,2006,29(2):200.
- [12] 崔艳秋,陆莉,王晓民.雷公藤内酯醇及其衍生物的神经保护作用机制[J].首都医科大学学报,2011,32(6):859.
- [13] 王伟伟,郑关毅.雷公藤氯内酯醇对拟阿尔茨海默病样大鼠海马神经元的保护作用[J].国际内科学杂志,2008,35(10):564.
- [14] Fidler JM, Li K, Chung C, *et al.* PG490-88, a derivative of triptolide, causes tumor regression and sensitizes tumors to chemotherapy[J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(9):855.
- [15] 李健友,夏素霞,宋少江.雷公藤二萜类化学成分及在研新药的研究进展[J].沈阳药科大学学报,2012,29(11):901.
- [16] 金亚宏,张毅,原桂东,等. PG490及PG736的抗肿瘤活性研究[J].中国现代医药杂志,2007,9(11):5.
- [17] 徐任生,赵维民.基于中药有效成分的新药研究[J].中国天然药物,2005,3(6):322.
- [18] Pan F, Fisman O, Wynn C, *et al.* PG490-88, a new immunosuppressant, effectively prevents acute and chronic rejection in rat renal allografts[J]. *Transplant Proc*, 2005, 37(1):134.
- [19] Kim HJ, Ravichandran K, Ozkok A, *et al.* The water-soluble triptolide derivative PG490-88 protects against cisplatin-induced acute kidney injury[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2014, 349(3):518.
- [20] 时瀚,郭姗姗,时宇静,等. MC002 诱导人喉癌细胞Hep-2 凋亡及其作用机制[J].中国现代医药杂志,2011,13(6):1.
- [21] 苏丹,郭姗姗,金亚宏,等.雷公藤内酯醇半合成衍生物对人结肠癌细胞系荷瘤小鼠肿瘤抑制作用的研究[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(11):58.
- [22] 金亚宏,王意忠,苏丹,等. MC002 对 A-549、HT-1080 荷瘤小鼠肿瘤生长抑制作用的研究[J].中国药理学通报,2008,24(9):1 196.
- [23] 李萍,陈慧桥,柯樱,等.雷藤舒的药理毒理研究综述[C]//第五届全国雷公藤学术会议论文汇编.泰宁:中国中西医结合学会,2008,63-68.
- [24] John MF, Jinhua A, Bing ZC, *et al.* Preclinical antileukemic activity, toxicology, toxicokinetics and formulation development of triptolide derivative MRx102[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2014, 73(5):961.
- [25] Carter BZ, Mark DH, Shi Y, *et al.* MRx102, a triptolide derivative, has potent antileukemic activity in vitro and in a murine model of AML[J]. *Leukemia*, 2012, 26(3):443.
- [26] Tozawa K, Sagawa M. Quinone methide tripterine, celastrol, induces apoptosis in human myeloma cells via NF- κ B pathway[J]. *Int J Oncol*, 2011, 39(5):1 117.
- [27] Rajendran P, Li F, Shanmugam MK, *et al.* Celastrol suppresses growth and induces apoptosis of human hepatocellular carcinoma through the modulation of STAT3/JAK2 signaling cascade in vitro and in vivo[J]. *Cancer Prev Res: Phila*, 2012, 5(4):631.
- [28] Venkatesha SH, Yu H, Rajaiah R, *et al.* Celastrol suppresses autoimmune arthritis by modulating antigen-induced cellular and humoral effector responses[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(17):15 138.
- [29] Venkatesha SH, Astry B, Nanjunsaiyah SM, *et al.* Suppression of autoimmune arthritis by celastrol-derived celastrol through modulation of pro-inflammatory chemokines[J]. *Bioorg Med Chem*, 2012, 20(17):5 229.
- [30] Paris D, Ganey NJ, Laporte V, *et al.* Reduction of β -amyloid pathology by celastrol in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease[J]. *J Neuroinflammation*, 2010, doi:10.1186/11742-2094-7-17.
- [31] Kusy S, Ghosh EE, Herzenberg LA, *et al.* Development of B cells and erythrocytes is specifically impaired by the drug celastrol in mice[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4):e35 733.
- [32] Zhang YS, Tu YY, Gao XC, *et al.* Strong inhibition of celastrol towards UDP-glucuronosyl transferase (UGT) 1A6 and 2B7 indicating potential risk of UGT-based herb-drug interacting[J]. *Molecules*, 2012, 17(6):6 832.
- [33] 王家强,刘军峰,关玉昆,等.雷公藤红素衍生物的合成与评价[J].中草药,2009,40(2):201.
- [34] 朱永亮.雷公藤红素及其衍生物用于癌症、炎症及中枢神经系统疾病的治疗:中国,CN101624415[P].2010-01-13.
- [35] 烟台靶点药物研究有限公司.一种雷公藤红素衍生物及其制备方法与应用:中国,CN101311187[P].2008-11-26.

(收稿日期:2015-05-20 修回日期:2015-07-15)

(编辑:林 静)