

石杉碱甲的研究进展

许明, 宋新波*, 张丽娟
天津中医药大学, 天津 300193

摘要 综述石杉碱甲的研究进展, 分别从作用机制、药理作用、合成以及结构修饰等方面对石杉碱甲的研究进行总结, 并简述其发展方向: ZT-1 作为石杉碱甲的替代物, 已经在欧洲完成 II 期临床, 有望成为我国具有自主知识产权, 又有希望打入国际市场的创新药物。

关键词 石杉碱甲; 作用机制; 药理作用; 合成; 结构修饰

中图分类号: R282.71 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2010)06-0442-05

Advances in research on huperzine A

XU Ming, SONG Xin-bo, ZHANG Li-juan
Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract The research and development of huperzine A are summarized separately by its mechanism, pharmacology, synthesis, and the structure modification and its development direction is outlined in this paper. ZT-1 as a substitute of huperzine A, the Phase II trial in clinic has been completed in Europe. Huperzine A as an innovation drug is expected to enter the international market with the Chinese intellectual property.

Key words huperzine A; mechanism; pharmacology; synthesis; structure modification

蛇足石杉 *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev, 又名千层塔, 石松目 (*Lycopodiales*) 石杉科 (*Huperziaceae*) 石杉属 (*Huperzia* Bernh.) 植物 (Holub 分类系统), 为多年生蕨类植物, 生于林荫下湿地或沟谷, 分布于东北至长江流域及华南、西南各地, 有退热、止血、续筋、除湿消瘀、止血功效, 民间用于治疗肺炎、肺痈、劳伤吐血、痔疮便血、跌打损伤、肿毒等症^[1]。在 20 世纪 80 年代, 上海药物研究所的刘嘉森^[2]等从该植物中分离出了具有抗乙酰胆碱酯酶活性的石松类生物碱有效单体石杉碱甲 (huperzine A, Hup A) (质量分数为 0.0216%, 又名福定碱 fordine) 和石杉碱乙 (活性约为石杉碱甲 A 的 1/10, 质量分数为 0.0093%), 二者均有很强的抑制胆碱酯酶活性^[3], 特别是 Hup A, 引起了国际、国内药物科学家们的浓厚兴趣。

老年性痴呆亦称阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD), 实质上是一种记忆减退、认知障碍、人格改变为特征的脑退行性疾病。它是现代社会最

常见的老年性中枢神经系统疾病之一, 是仅次于心血管病、癌症、脑中风之后严重威胁老人生命健康的高发病。老年痴呆症逐年增加的原因较为复杂, 有社会、不良生活方式、遗传等因素, 而胆碱能神经系统受损是公认的原因之一^[4], 但与世界人口逐年老龄化、老龄队伍不断扩大密切相关。临床研究表明, 胆碱酯酶抑制剂可能是目前治疗老年性痴呆症最有效的一类药物, 而 Hup A 所具有的药理活性, 为老年痴呆症的治疗带来了希望。

Hup A 是一种石松生物碱, 化学名为 (5R, 9R, 11E) -5-氨基-11-亚乙基-5, 6, 9, 10-四氢-7-甲基-5, 9-亚甲环芳辛并-2(1H)-吡啶酮^[5-6] (图 1)。

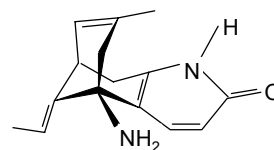


图 1 石杉碱甲的结构式

Fig. 1 Structure of huperzine A

收稿日期: 2010-06-28

作者简介: 许明 (1981—), 男, 山西晋中人, 硕士, 生药学, 主要从事天然药物的分离与工艺。Tel: 13602092897 E-mail: xuming896@sohu.com

* 通讯作者 宋新波, Tel: 13302121899 E-mail: songxinbo@tjutc.edu.cn

Hup A 不仅是一高效、高选择性的可逆性乙酰胆碱酯酶抑制剂，并具有提高学习、记忆功能的功能，它的选择性、生物利用度和改善记忆的作用好于已被 FDA 批准用于 AD 治疗的药物他克林和 E2020。所以，Hup A 是临床治疗 AD 很有前途的新一代乙酰胆碱酯酶抑制剂。

1 Hup A 的作用机制

神经细胞之间能够相互沟通信息，主要是依靠神经递质来实现，乙酰胆碱（Ach）就是大脑内极为重要的神经递质。神经递质学说认为：Ach 是存在与大脑神经之间的一种信息传递物质。大脑记忆功能的强弱与大脑内 Ach 的量有关。当大脑内它的含量高时，记忆脑区神经传导功能就比较强，脑神经之间信息传递速度就快，人的记忆力就强，各项脑功能也相应得到改善。反之，如它的量降低，记忆脑区神经传导功能就减弱，脑神经之间信息传递速度就慢，人的记忆力就下降，就会出现各种脑功能障碍，如老年痴呆症。所以维持相对高的 Ach 水平，就是解决记忆力下降的一条途径。但在神经细胞突触间隙，突触前膜释放的 Ach 传递了神经冲动信号后，很快就会被乙酰胆碱酯酶（AchE）水解。Hup A 能提高 Ach 的半衰期，图 2、图 3 是 Hup A 与 AchE 相互作用图，可以看出，AchE 的立体结构中有一个凹陷，这就是它的活性部位，Ach 和 Hup A 都可以进入，而 Hup A 进去后水解较慢，使 AchE 活性受抑制，从而导致胆碱能神经末梢释放的 AchE 堆积，产生拟胆碱作用。它主要针对真性胆碱酯酶具有选择性抑制作用，抑制强度是假性胆碱酯酶的数千倍。抑制方式为竞争性和非竞争性的混合型抑制，与单纯竞争性抑制有显著不同，这种混合性抑制 AchE 的作用使 Ach 灭活的时间延长。而 Ach 的作用表现在普遍认为是使海马区神经细胞突触面积增大；另外发现 Ach 受体接受 Ach 后，引起了神经细胞钙离子的内流，从而激发了一系列的信号放大，影响基因转录，产生记忆蛋白，进而提高记忆^[7]。

2 Hup A 的药理作用

2.1 抗 AchE 作用

Hup A 可以通过与 AchE 结合为复合物起到抑制 AchE 的作用。体外实验证明，Hup A 与 AchE 的结合是可逆的，Hup A 被释放后 AchE 可恢复活性。由于 Hup A 对 AchE 和丁酰胆碱酯酶（BuChE）抑制强度有很大差别，所以脑内乙酰胆碱水平显著

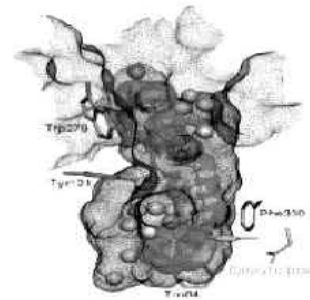


图 2 AchE 整体轮廓图
Fig.2 Outline map of AchE



图 3 AchE 肽链空间结构图
Fig.3 Space structure of AchE peptide chain

升高而外周升高作用不明显，从而减少了外周胆碱能副作用^[8]。

2.2 对肌肉的作用

Hup A 在催醒、抗肌松作用实验中，取得相似的结果，说明 Hup A 有加强肌肉收缩的作用^[9]。

2.3 神经保护作用

Hup A 有对抗有机磷神经毒性作用、对抗谷氨酸盐的毒性、对抗氧化应激，抑制缺血缺氧性脑损伤、抑制 NO 的神经毒性、修复记忆损害的作用^[10]。

2.4 镇痛作用

Hup A 具有一定的镇痛效果，用热板法（热刺激）和腹部收缩（化学刺激）法可对大鼠产生剂量依赖性提高疼痛阈的作用^[11]。

2.5 抗凋亡作用

Hup A 通过抑制活性氧簇（reactive oxygen species, ROS）的形成和 caspase-3 酶的活性；改善细胞凋亡作用和上调 bcl-2 基因水平，下调 bax 和 P53 的表达；通过原代神经元凋亡试验发现，Hup A 的抗凋亡作用可能是通过抑制线粒体释放细胞色素 C，进而抑制 caspase-3 活性表达，抑制细胞凋亡的

发生^[12]。

3 毒理学研究

通过对不同种属的动物进行 Hup A 的毒性研究发现, 相对其他胆碱酯酶抑制剂如加兰他敏、他克林、Hup A 产生严重的胆碱能不良反应较少, 产生流涎作用很弱。阿托品对 Hup A 产生的毒性有明显的拮抗作用, Hup A 对大鼠肝细胞极性作用和肝毒性无关^[13]。但在治疗过程中, 发现存在不良反应: 7 岁男童, 因患儿童孤独症而给予 Hup A 口服治疗。首次用药约 30 min 后, 患儿突然倒地、四肢抽搐、双眼上翻, 持续约 1 min, 之后昏睡, 诊为癫痫样发作。给予补液及阿托品、咪塞米治疗, 患儿迅速清醒, 未再发生抽搐^[14]。另有报道^[15], Hup A 导致过敏反应的情况, 对比发现, 本例患儿无发热、皮疹、造血系统抑制、肝肾功能损害、休克等表现, 单纯白细胞暂时性升高可以用急性应激反应来解释, 故药物过敏可基本排除。通过本例, 提示儿童尤其是孤独症患者使用石杉碱甲的安全性需要进一步研究, 临床使用应该非常慎重, 可能会导致癫痫样发作的严重不良反应。

4 Hup A 的合成

Hup A 在蛇足石杉中仅占万分之一左右, 并且蛇足石杉植物来源困难, 生长周期长。为了解决 Hup A 的来源问题, 很多科学工作者都付出了艰辛的努力。1992 年, 钱立刚等^[16]详细报道了消旋 Hup A 的全合成: 采用采用 5-乙氧羰基-6-甲基吡啶酮-2 为

原料, 经 7 步反应合成重要中间体 2-甲氧基-5-甲氧羰基-6-羰基-5,6,7,8-四氮喹啉, 之后经过一系列反应最后得到消旋 Hup A。

在研究过程中发现, 天然产物 (-)-Hup A 与其非天然对映体 (+)-Hup A 对 AchE 的抑制活性有差别, 前者是后者的 38~50 倍, 这种对映体之间的活性差异与其不同的立体构型与酶的作用位点密切相关。然而, 它们对 NMDA 酶的抑制却具有相同活性。由此, 天然 (-)-Hup A 及非天然 (+)-Hup A 的化学全合成研究受到了药物化学家的广泛关注^[17]。

(-)-Hup A 的化学制备方法, 概括起来可分为不对称合成法和外消旋体分离法, 然而, 现有的利用不对称合成技术制备 (-)-Hup A 的方法都需要与钯配位的手性配体, 其制备、分离以及纯化都有一定难度, 目前仅限于实验室规模; 另一方面, 这些手性催化剂回收又较困难, 工业上放大生产并不经济可行; 而通过外消旋体拆分制备 (+)-Hup A 虽然也有报道, 但其过程同样成本昂贵, 仅限于实验室小量制备。

2008 年, 何煦昌等^[18]申请专利, 他们在中国科学院上海药物研究所前期工作的基础上, 成功运用化学拆分剂, 经非对映异构体盐的外消旋体拆分, 制备 (-)-Hup A 和非天然 (+)-Hup A 方法。具体是从得到中间体 2-甲氧基-5-甲氧羰基-6-羰基-5,6,7,8-四氮喹啉之后, 再经过一系列反应, 最后得到 (-)-Hup A。如图 4 所示。

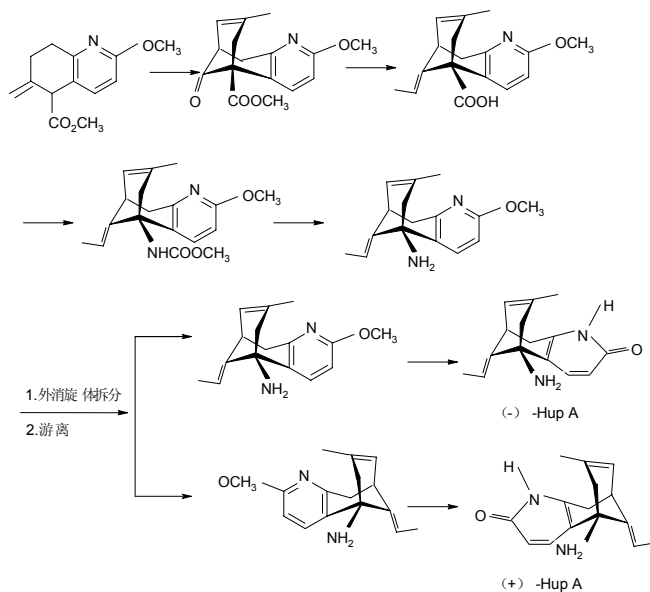


图 4 (-)-Hup A 和 (+)-Hup A 的拆分

Fig. 4 Splits of (-)-Hup A and (+)-Hup A

5 Hup A 结构改造和应用

Hup A 所特有的桥环和氨基结构，不仅为全合成、也为其结构改造带来一定的困难。保留石杉碱甲基本骨架的类似物的合成工作，其难度不亚于石杉碱甲本身的全合成。因此，人们合成了许多结构简化的石杉碱甲类似物，以期找到结构简单且具有活性的化合物。然而到目前为止，已合成的结构简单的单环、双环石杉碱甲类似物几乎没有活性。这说明不饱和的三碳桥环对 AchE 形成的静电场影响 Hup A 的活性。

在 Hup A 结构改造和修饰中，谭昌恒等^[10]发现了活性与 Hup A 相当而且选择性大大提高的新化合物异兰香石杉碱甲 (iso-vanillin Hup A, 图 5)，但是异兰香石杉碱甲不稳定，因此，进一步合成了 ZT-1 (图 5)。马小超^[19]对 ZT-1 进行了肝毒性评价，发现体内药理剂量对大鼠和猴肝脏无损伤，毒理剂量可引起一过性肝损伤。2004 年，ZT-1 在欧洲进入

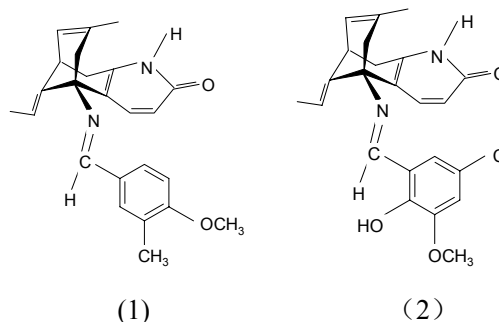


图 5 异兰香石杉碱甲 (1) 和 ZT-1 (2) 的结构式
Fig. 5 Structure of iso-vanillin Hup A (1) and ZT-1(2)

II 期临床，2006 年底完成。现已申请了中国、美国、欧洲和日本专利。

2007 年，邱明华等^[20]申请专利，以 Hup A 为原料，合成了一系列 Hup A 的衍生物，均有显著的抗 AchE 活性，见图 6。

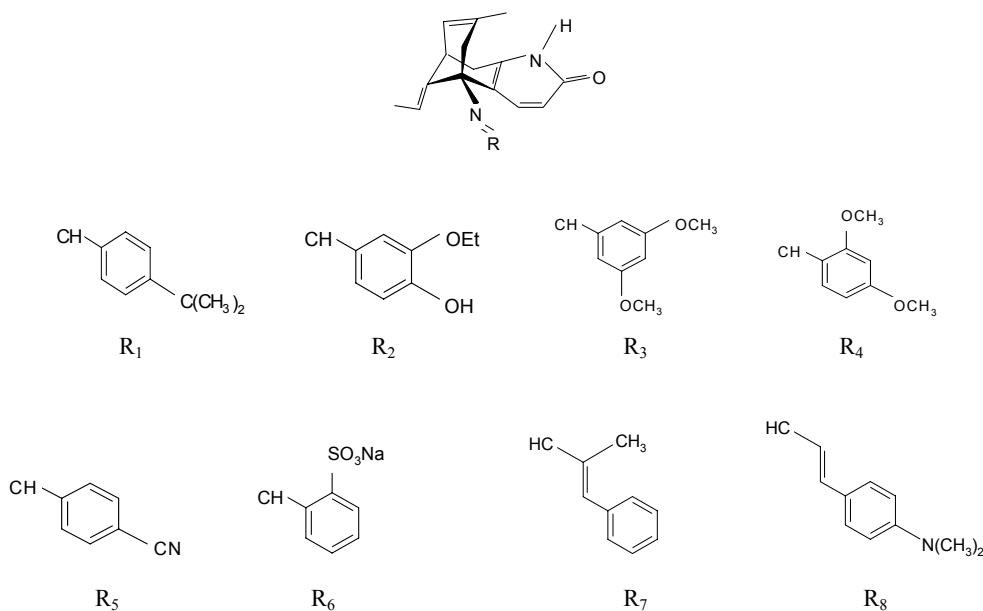


图 6 石杉碱甲衍生物
Fig.6 Structures of Hup A derivatives

6 Hup A 的展望

Hup A 自 1993 年美国 FDA 批准上市，作为食品添加剂或营养保健品已在美国互联网上销售，用于提高记忆功能；于 1994 年获我国卫生部门批准应用于治疗 AD 及良性记忆障碍等症，药品商品名哈伯因。随着研究的深入，ZT-1 有望成为我国具有自主知识产权，又有希望打入国际市场的创新药物，

对于长期被国际医药主流市场“拒之门外”的中国医药研发更具有非同寻常的意义。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986, 1138.
- [2] 刘嘉森, 俞超美, 周有作, 等. 石杉碱甲和石杉碱乙的化学研究[J]. 化学学报, 1986, 44(10): 1035-1040.

- [3] 查圣华, 李秀男, 孙海虹, 等. 从千层塔总微波协助提取石杉碱甲和石杉碱乙[J]. 中国生物工程杂志, 2004, 11 (24): 87-89.
- [4] 康胜利, 李丹, 华会明, 等. 山龙眼科植物化学成分与药理作用研究进展[J]. 现代药物与临床, 2009, 24 (6): 321-326.
- [5] 曾繁星, 蒋华良. 石杉碱甲的合成及结构改造研究进展[J]. 化学进展, 2000, 12 (1): 63-76.
- [6] Liu C X, Xiao P G, Peng Y, *et al.* Challenges in Research and Development of Traditional Chinese Medicine [J]. *Chin Herb Med*, 2009, 1 (1): 1-28.
- [7] 刘建廷. 石杉碱甲的制备及其药理学和药效学研究[D]. 四川: 四川师范大学, 2006.
- [8] Tang X C, Han Y F. Pharmacological profile of huperzine A, a novel acetylcholinesterase inhibitor from Chinese herb [J]. *Drugs Rev*, 1999, 5(3): 281-300.
- [9] Dai T J. Effects of huperzine A to reverse general anesthesia and antagonize muscular relaxation [J]. *J Clin Anesthesiol*, 1992, 8(5): 247-249.
- [10] 张磊, 万谦宏, 高文远. 石杉碱甲的研究进展[J]. 中草药, 2005, 36 (9): 1422-1426.
- [11] Nicoletta G, Carla G, Cesare M, *et al.* Antinociceptive profile of the natural cholinesterase inhibitor huperzine A [J]. *Drug Deve Res*, 2001, 54(1): 19-26.
- [12] 陈中华, 张秀珍. 石杉碱甲的研究进展[J]. 生命科学仪器, 2008, 6: 42-44.
- [13] Ma X C, Xin J, Wang H X. Acute effects of huperzine A and tacrine on rat liver [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2003, 24 (3): 247-250.
- [14] 周丹. 石杉碱甲致儿童孤独症患者癫痫样发作[J]. 药物不良反应杂志, 2008, 10 (4): 285-286.
- [15] 赵玉芬, 黄芳, 陈军林. 口服石杉碱甲致急性肾功能衰竭死亡 1 例[J]. 中国新药杂志, 2006, 15(15): 1305-1306.
- [16] 钱立刚, 顾坤健, 嵇汝运. 消旋石杉碱甲的全合成研究[J]. 中国药物化学杂志, 1992, 2(2): 1-8.
- [17] Bai D L, Tang X C. Huperzine A, a potential therapeutic agent for treatment of Alzheimer's Disease [J]. *Curr Med Chem*, 2000, 7(3): 355-374.
- [18] 何煦昌, 白东鲁, 齐创宇. 经非对映异构体盐的外消旋体拆分制备天然(-)-石杉碱甲的方法[P]. 中国专利: CN101130520A, 2008-02-27.
- [19] 马小超, 屠曾宏. ZT-1 的肝毒性评价及其对 P450 表达的影响[J]. 中国药理通讯, 2004, 21 (4): 29.
- [20] 邱明华, 颜健, 杨付梅, 等. 石杉碱甲衍生物, 其制备方法及其应用[P]. 中国专利: CN101054363 2007-10-17.

《现代药物与临床》杂志征稿、征订启事

《现代药物与临床》杂志 (CN12-1407/R, ISSN 1674-5515) 是国家级医药科技期刊, 2009 年 1 月由《国外医药·植物药分册》更名为《现代药物与临床》, 并被 CNKI 中国期刊全文数据库、中国核心期刊 (遴选) 数据库等刊载。为了进一步提高期刊质量, 2010 年出版的《现代药物与临床》全新改版, 更加突出创新性与实用性, 紧跟国内外药学发展趋势, 适时追踪热点, 从栏目内容、文章质量, 到封面版式、装帧印刷都得到了全面的提升与改进。

办刊宗旨: 报道国内外药物研究的新进展与新技术, 以及药物在临床应用方面的最新动态, 为新药研发、生产人员以及临床医生与药剂师合理用药提供有益的参考。

内容与栏目: 涵盖药物的基础研究与临床研究各学科, 设置“专论与综述”、“实验研究”、“临床研究”、“未来药物”、“药事管理”、“知识产权”、“药物经济学”和“市场信息”等栏目。“专论与综述”栏目除报道植物药研究的最新进展外, 诚征有关药物与临床研究前沿的前瞻性文章。

读者对象: 药物研发、生产、监管人员, 以及临床医生与药剂师。

《现代药物与临床》双月刊, 国内外公开发售, 封面铜板彩色覆膜。为扩大信息量、缩短出版周期, 本刊由 64 页扩版为 80 页; 为惠顾广大读者, 改版不提价, 每期定价仍为 15 元, 全年 90 元。本刊自办发行, 请直接与编辑部联系订阅。

本刊网上在线投稿、审稿、查询系统正式开通, 欢迎投稿、欢迎订阅!!!

地址: 天津市南开区鞍山西道 308 号 (300193) 电话与传真: (022) 23006823

网址: www.中草药杂志社.中国

邮箱: dc@tiprpress.com

www.tiprpress.com

modernpharm@163.com

开户银行: 兴业银行天津南开支行

账号: 44114010010081504

户名: 天津中草药杂志社