

DOI: 10.13376/j.cblls/2022168

文章编号: 1004-0374(2022)12-1550-09

# 奇壬醇的功能及抗炎作用机制研究进展

张 梦<sup>1,2</sup>, 沈小芳<sup>1,2</sup>, 翟立红<sup>1,2</sup>, 肖 娟<sup>1,2\*</sup>

(1 湖北文理学院医学部分子医学实验室, 襄阳 441053; 2 湖北文理学院附属医院襄阳市中心医院, 神经科学与脑科学研究所, 襄阳 441021)

**摘要:** 奇壬醇 (kirenol, kir) 是从传统抗风湿药豨莶草中提取的活性成分, 因其具有广泛的药理学活性, 近几年引起国内外科工作者的研究兴趣。现代临床前研究证实 kir 具有多种生物学活性, 包括抑制细胞生长、促凋亡、抗炎、心脏保护、抗光老化、抗脂肪生成、抗菌、改善肌肉功能、抗关节炎、促进骨折和伤口愈合等。大量研究发现 kir 通过调节 NF- $\kappa$ B 和 Nrf2 在各种体内和体外疾病模型中发挥抗炎作用, 提示抗炎是 kir 的主要生物学功能。该文综合分析近年来发表的研究成果, 总结 kir 的生物学功能和抗炎分子机制、应用前景及不足, 为 kir 的下一步基础研究和临床应用研究提供线索。

**关键词:** 奇壬醇; 功能; 抗炎; 分子机制

中图分类号: R96 文献标志码: A

## The research progress on the function and anti-inflammatory mechanisms of kirenol

ZHANG Meng<sup>1,2</sup>, SHEN Xiao-Fang<sup>1,2</sup>, ZHAI Li-Hong<sup>1,2</sup>, XIAO Juan<sup>1,2\*</sup>

(1 Department of Molecular Medicine Laboratory, Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441053, China;  
2 Institute of Neuroscience and Brain Diseases, Xiangyang Central Hospital, Affiliated Hospital of Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441021, China)

**Abstract:** Kirenol (kir) is an active ingredient extracted from Herba Siegesbeckiae which is a traditional antirheumatic herb in China. In recent years, kir has attracted the interests of researchers for its extensive pharmacological activity. Modern preclinical studies have confirmed that kir has a variety of biological activities, including inhibiting cell growth, promoting apoptosis, anti-inflammation, cardiac protection, anti-photoaging, anti-adipogenesis, antibacterial, muscle improvement, anti-arthritis, promoting fracture and wound healing, etc. Many studies have found that kir plays an anti-inflammatory role *in vivo* and *in vitro* by regulating NF- $\kappa$ B and Nrf2, suggesting that anti-inflammation is the main biological function of kir. This paper comprehensively analyzed the research results published in recent years, summarized the biological function and anti-inflammatory molecular mechanisms of kir, and analyzed its application prospects and limitations, in order to provide clues for the future preclinical and clinical researches on kir.

**Key words:** kirenol; function; inflammation; molecular mechanisms

豨莶草 (Siegesbeckiae Herba) 作为多基原中药之一, 《中国药典》一部 2020 版收载其为菊科植

物豨莶 *Siegesbeckia orientalis* L (图 1a)、腺梗豨莶 *S. pubescens* Makino (图 1b) 或毛梗豨莶 *S. glabrescens*

收稿日期: 2022-04-09; 修回日期: 2022-06-23

基金项目: 襄阳市科技局项目 (No. 2021YL45; 2021YL48); 2021年湖北文理学院大学生创新创业训练计划项目 (No. 202110519002)

\*通信作者: E-mail: ju\_126@126.com

Makino (图 1c) 的干燥地上部。

目前已从豨薟草中分离出 122 种化学成分<sup>[1]</sup>, 这些成分主要为二萜类、倍半萜类、黄酮类等, 其中二萜类成分含量高且被认为是豨薟草主要的活性物质, 二萜类成分主要包含 kir ( $C_{20}H_{34}O_4$ )、豨薟苷和豨薟精醇等 (含量大小顺序为 kir > 豨薟苷 > 豨薟精醇), 其现行标准收载于《中国药典》一部 2020 版, 以 kir 含量作为测定指标, 规定 kir ( $C_{20}H_{34}O_4$ ) 的含量不得少于 0.050%<sup>[2]</sup>。豨薟草作为临床常用中药材之一, 传统上用于治疗高血压、神经衰弱、类风湿性关节炎、哮喘和蛇 - 咬伤、过敏性疾病、瘫痪、酸痛、皮肤疾病、风疹、月经紊乱、四肢麻木、头晕、头痛和疟疾等疾病<sup>[3]</sup>。现代研究证实, 豨薟草具有抗血栓、抗风湿、抗炎镇痛、舒张血管、抗肿瘤、阻滞钙通道、促皮肤创伤愈合、免疫抑制、镇静催眠、降血糖等作用<sup>[4]</sup>。

kir 是从豨薟草中分离得到的主要有效成分 (二萜类), 化学分子结构如图 2<sup>[5]</sup>。近几年 kir 广泛的药理学作用引起了国内外相关实验室的研究兴趣, 其对类风湿性关节炎、多发性硬化、溃疡性结肠炎、心血管疾病、糖尿病、皮肤创伤、抗光老化、抗脂肪生成、抗肿瘤、骨损伤和关节疾病等均具有治疗潜力。

除了传统的抗风湿活性, kir 新的生物学活性和功能逐步被揭示, 本文将总结分析 kir 的生物学功能和抗炎分子机制、应用前景及不足, 为 kir 的下一步基础研究和临床应用研究提供线索。

## 1 豨薟草中kir的含量

《中国药典》一部 2020 版根据 kir 的含量对豨薟草进行质控, 规定 kir 的含量不得少于 0.050%。kir 在不同国家来源的, 或者同一国家不同地区来

源的豨薟草中的含量不尽相同。此外, 豨薟草茎、枝、叶三个部位中的 kir 含量也不相同。三种豨薟植物 (豨薟 *Siegesbeckia orientalis* L、腺梗豨薟 *S. pubescens* Makino 和毛梗豨薟 *S. glabrescens* Makino) 中的组成成分和 kir 的含量也存在明显差异<sup>[6]</sup>。这些变化可归因于外部因素, 如收获时间、季节、环境因素和储存条件等, 以及内部因素, 如植物起源和遗传变异等。利用超高效液相色谱 (ultra-performance liquid chromatography, UPLC) 分析毛梗豨薟 *S. glabrescens* Makino 和豨薟 *S. orientalis* L 提取物中的 kir 含量分别为 0.33 %<sup>[7]</sup> 和 0.24%<sup>[8]</sup>。以高效液相色谱法 (high-performance liquid chromatography, HPLC) 测定中国 17 批市售合格豨薟草药材及茎、枝、叶中 kir 的含量, 平均含量分别为 0.16%、0.01%、0.04%、0.56%, 可以看出 kir 在豨薟草叶子中的含量最高, 因此在药材收取、运输和保存过程中应注意避免损失叶子<sup>[9]</sup>。

## 2 kir的药代动力学和毒性

口服或者灌胃给药 kir 之后, 雄性 SD 大鼠体内 kir 的分布、吸收和排泄迅速, kir 很快被机体吸收并产生药理作用, 但是不会在大鼠体内累积产生毒性<sup>[10-12]</sup>。将 kir 以 2 g/kg 的剂量对雌性和雄性 ICR 小鼠进行连续 14 d 的口服给药, 并没有引起小鼠外观改变、中毒症状以及死亡<sup>[13]</sup>。体外实验证实 kir (60  $\mu\text{mol/L}$ ) 对破骨细胞前体细胞和破骨细胞无毒性作用<sup>[14]</sup>。利用糖皮质激素泼尼松龙治疗大鼠关节炎可引起促肾上腺皮质激素 (ACTH) 和糖皮质激素受体  $\alpha(\text{GR}\alpha)$  下调, kir 对大鼠关节炎的治疗效果和泼尼松龙相当, 但并不会引起 ACTH 和  $\text{GR}\alpha$  下调<sup>[15]</sup>。使用三种毒性评估软件工具, 包括 QSAR 方法学共识法 (QSAR methodologies consensus method)、



注: (a) 豨薟 *S. orientalis* L; (b) 腺梗豨薟 *S. pubescens* Makino; (c) 毛梗豨薟 *S. glabrescens* Makino

图1 三种豨薟草图片<sup>[11]</sup>

系统聚类法 (hierarchical clustering method) 和最邻近算法 (nearest neighbour method) 对大鼠口服 kir 的半数致死量 (lethal dose 50%, LD<sub>50</sub>) 进行预测, 分别为 6 003.02 mg/kg、5 872.13 mg/kg 和 6 136.82 mg/kg<sup>[16]</sup>。

kir 不仅没有明显毒副作用, 反而具有显著的肝脏保护作用。kir (40 mg/kg/d, 连续 4 周) 预防性注射大鼠对乙醇诱导的肝脏毒性具有显著保护作用, kir 的肝脏保护作用机制与抑制活性氧产生、维持线粒体膜电位、上调氧化应激相关标记物有关<sup>[17]</sup>。

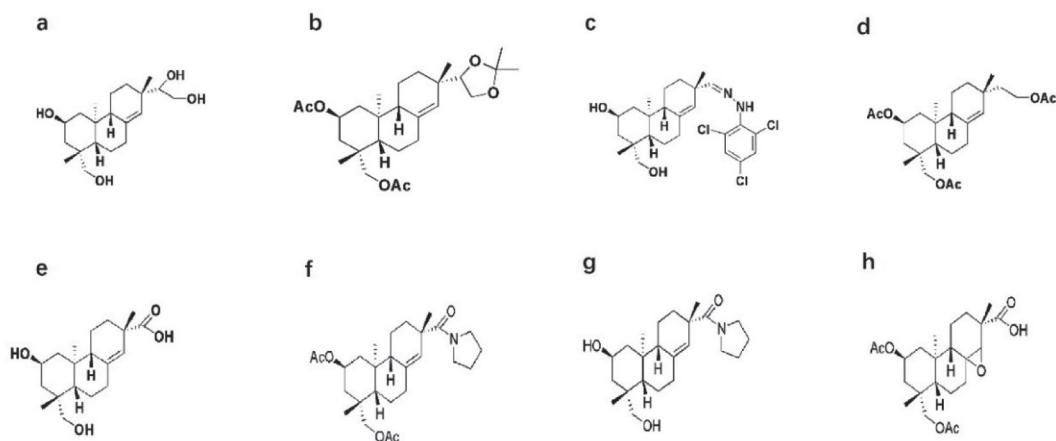
尽管有关 kir 的药理学毒性研究偏少, 但是对豨薟草的药理学毒性研究较多, 目前研究认为正常剂量使用豨薟草提取物治疗疾病并不会引起明显的毒副作用<sup>[18]</sup>。《景岳全书》记载豨薟“味苦, 气微寒, 有小毒”, 然而诸多本草都被指出具有“小毒”, 但是《中国药典》一部 2020 版并未称豨薟草具有“小毒”<sup>[2]</sup>。连续 14 d 给小鼠口服豨薟草水提取物 (3.0 g/kg) 可引起间质性肺炎, 但是停药两周后毒性损伤减轻, 表明大剂量服用豨薟草引起的毒性作用是可以逆转的<sup>[1]</sup>。不同提取方法提取的豨薟草提取物含有的毒性成分各不相同。与石油醚、氯仿和乙酸乙酯等溶剂提取法相比较, 正丁醇和水提取的豨薟

草提取物中含有的毒性成分较多, 其中水提取物的 LD<sub>50</sub> 为 18.00 g/kg, 正丁醇提取物的 LD<sub>50</sub> 为 20.00 g/kg; 此外, 70% 乙醇提取物对小鼠也具有毒性, LD<sub>50</sub> 为 22.24 g/kg<sup>[1]</sup>。腺梗豨薟 *S. pubescens* Makino 的毒性要强于豨薟 *S. orientalis* L<sup>[1]</sup>。Wu 等<sup>[19]</sup> 研究发现 SD 大鼠连续 24 周灌胃给药豨薟草提取物 (蒸馏水回流提取法, 5 g/kg, 每周 6 天, 连续 24 周) 可以引起体重减轻及肝肺损伤等。虽然豨薟草提取物含有毒性成分, 且毒性作用与豨薟草剂量成正比, 然而具体是豨薟草哪些活性成分引起器官毒性并不清楚, 有待于进一步研究阐明。

### 3 kir 的生物学功能

豨薟草含有多种生物活性物质, 具有多种药理学活性, 是一种很有前途的药用植物。豨薟草主要用于缓解类风湿症状和改善关节运动, 近几年的研究工作发现豨薟草具有抗炎、抗肿瘤、抗过敏、抗氧化、抗血栓和抗菌等多种药理活性, 而且还具有保护心肌和脑缺血损伤的作用<sup>[1]</sup>。

kir 作为豨薟草的主要活性物质之一, 国内外临床前研究证实 kir 也具有多种生物学功能, 包括



注: (a) kir 结构: (1R)-1-((2S,4aR,4bS,6S,8R,8aS)-6-hydroxy-8-(hydroxymethyl)-2,4b,8-trimethyl-4,4a,5,6,7,8a,9,10-octahydro-3H-phenanthren-2-yl)ethane-1,2-diol。 (b~h) kir 衍生物结构: (b) ((1R,3S,4aS,4bR,7S,10aS)-3-acetoxy-7-((R)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-1,4a,7-trimethyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,9,10,10a-dodecahydrophenanthren-1-yl)methyl acetate; (c) ((1R,3S,4aS,4bR,7S,10aS)-1-(hydroxymethyl)-1,4a,7-trimethyl-7-((2-(2,4,6-trichlorophenyl)hydrazono)methyl)-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,9,10,10a-dodecahydrophenanthren-3-yl)methyl acetate; (d) ((1R,3S,4aS,4bR,7S,10aS)-3-acetoxy-1,4a,7-trimethyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,9,10,10a-dodecahydrophenanthrene-1,7-diyl)bis(methylene) diacetate; (e) ((2S,4aR,4bS,6S,8R,8aS)-6-hydroxy-8-(hydroxymethyl)-2,4b,8-trimethyl-2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,8a,9,10-dodecahydrophenanthrene-2-carboxylic acid; (f) ((1R,3S,4aS,4bR,7S,10aS)-3-acetoxy-1,4a,7-trimethyl-7-(pyrrolidine-1-carbonyl)-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,9,10,10a-dodecahydrophenanthren-1-yl)methyl acetate; (g) ((2S,4aR,4bS,6S,8R,8aS)-6-hydroxy-8-(hydroxymethyl)-2,4b,8-trimethyl-2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,8a,9,10-dodecahydrophenanthren-2-yl)(pyrrolidin-1-yl)methanone; (h) ((3S,6aS,7R,9S,10aR,10bS)-9-acetoxy-7-acetoxymethyl)-3,7,10a-trimethyldodecahydro-1hphenanthro [1,10a-b]oxirene-3-carboxylic acid

图2 kir 及其衍生物结构图



抑制肿瘤细胞生长和促进肿瘤细胞凋亡、抗炎、心脏保护、促进骨折愈合和预防骨质疏松、抗脂肪生成、促糖尿病伤口愈合、抗光老化、抗菌和增强运动耐力等。

### 3.1 抗炎

#### 3.1.1 类风湿性关节炎和骨关节炎

胶原诱导性关节炎 (CIA) 是研究类风湿性关节炎 (RA) 的实验动物模型。kir 通过抑制滑膜成纤维细胞 (FLS) 的迁移、增殖和侵袭, 以及抑制 FLS 分泌炎症细胞因子进而对 CIA 动物模型发挥保护作用<sup>[20]</sup>。kir 上调核膜联蛋白-1 (nuclear annexin-1), 抑制 NF- $\kappa$ B 活性, 下调炎症细胞因子, 进而减轻 CIA 关节炎<sup>[15]</sup>。也有研究证实 kir 通过调节 T 细胞平衡 (上调保护性 Treg 细胞, 下调炎症性 Th1 和 Th17 细胞) 和促进自身免疫性 CD4<sup>+</sup>T 细胞凋亡抑制类风湿性关节炎<sup>[21-22]</sup>。

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一种以关节软骨破坏和炎症反应为主要特点的慢性退行性疾病, 用 IL-1 $\beta$  刺激培养软骨细胞证实, kir 预处理可以显著抑制 IL-1 $\beta$  诱导的一氧化氮 (NO)、前列腺素 E2 (PGE2)、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白介素-6 (IL-6)、环氧合酶-2 (COX-2)、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 和含有血小板凝血酶敏感蛋白结构域的解聚素与金属蛋白酶-5 (ADAMTS-5) 表达, 显著抑制软骨蛋白聚糖和 II 型胶原的降解。此外, kir 还可以显著抑制 IL-1 $\beta$  诱导的 PI3K/Akt 和 NF- $\kappa$ B 信号通路磷酸化, 对小鼠 OA 模型发挥保护作用<sup>[23]</sup>。

#### 3.1.2 皮肤炎症和疼痛

利用卡拉胶诱导急性炎症模型发现, kir 乳膏 (0.4%~0.5%w/w) 与吡罗昔康凝胶 (0.5%w/w) 具有相同的抗炎效果, 机制与 kir 抑制炎症细胞浸润以及炎症细胞因子 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的分泌有关。利用完全弗氏佐剂 (CFA) 诱导慢性炎症关节肿胀发现, 0.5% 的 kir 乳膏显著抑制关节肿胀, 效果与 0.5% 吡罗昔康凝胶相当。0.4%~0.5% 的 kir 乳膏显著抑制福尔马林诱导的晚期疼痛, 机制与 kir 抑制炎症细胞因子 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的分泌有关<sup>[13]</sup>。另有研究证实, kir 皮肤药贴 (10% w/w) 可以显著抑制 CFA 诱导的炎症以及醋酸诱导的疼痛<sup>[24]</sup>。kir 还可以通过下调皮肤组织中的 COX-2, 抑制炎症细胞浸润, 上调皮肤疼痛阈值, 发挥镇痛作用<sup>[25]</sup>。

#### 3.1.3 神经系统炎症

利用脂多糖 (LPS) 诱导 BV2 小胶质细胞炎症, kir 显著下调 iNOS 和 COX-2, 抑制 LPS 诱导的 NO

产生进而发挥抗炎作用<sup>[26]</sup>。CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群 Th1 和 Th17 是引起中枢神经系统退行性病变多发性硬化症 (MS) 的主要炎症性 T 细胞, kir 通过下调 Th1 和 Th17 细胞及其分泌的炎症细胞因子 IFN- $\gamma$  和 IL-17A 显著抑制中枢神经系统炎症脱髓鞘和炎症淋巴细胞浸润, 进而对 MS 发挥保护作用; 此外, kir 下调 Th1 和 Th17 细胞的机制与促进活化诱导的自身免疫性 CD4<sup>+</sup>T 细胞凋亡相关, 促凋亡机制与激活线粒体通路相关<sup>[27]</sup>。

#### 3.1.4 口腔和消化系统炎症

利用右旋糖酐硫酸钠 (DSS) 诱导溃疡性结肠炎 (UC) 发现, kir 通过下调炎症细胞因子 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  和 IL-17A, 促进炎症性 CD4<sup>+</sup>T 细胞凋亡, 进而对 UC 发挥预防作用<sup>[28]</sup>。kir 通过调节氧化应激和发挥抗炎作用显著降低 N-甲基-N-亚硝基脲 (MNG) 诱导的大鼠胃癌发病率, 并显著减小肿瘤体积。在大鼠胃癌模型中, kir 抑制肝脏和胃组织脂质过氧化, 上调抗氧化分子超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx), 下调硫氧还蛋白、谷胱甘肽氧还蛋白、NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 PGE2<sup>[29]</sup>。在仓鼠口腔鳞状细胞癌模型中, kir 可以抑制肿瘤细胞增殖、抗炎、抗脂质过氧化, 增强抗氧化功能<sup>[30]</sup>。

#### 3.1.5 呼吸系统和心血管系统炎症

在 LPS 诱导急性肺损伤 (ALI) 模型中, kir 通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路下调炎症细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$ , 进而对 ALI 肺部炎症损伤发挥保护作用<sup>[31]</sup>。此外, kir 通过 AMP 激活的蛋白激酶 2 (adenosine 5'-mono-phosphate (AMP)-activated protein kinase 2, AMPK2)-核因子 PIPI 红系 2-相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 通路上调 SOD 和 GPx 的水平, 减少活性氧 (ROS) 产生, 对 ALI 肺泡血管屏障发挥保护作用<sup>[31]</sup>。利用 B[a]P 诱导脐静脉内皮细胞 HUVEC 损伤, kir 通过激活 PI3K/AKT-Nrf2 通路抑制 ROS 产生和 DNA 损伤, 保护 HUVEC 免受氧化应激损伤<sup>[32]</sup>。

### 3.2 抑制肿瘤细胞生长和促进肿瘤细胞凋亡

kir 呈时间依赖性抑制人类慢性髓源白血病细胞 K562 细胞增殖, 其 24、48 和 72 h 的半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>) 分别为 53.05、18.19 和 15.08  $\mu$ g/mL, kir 阻滞 K562 细胞周期于 S 期, 以 caspase 非依赖方式, 通过线粒体途径诱导 K562 细胞凋亡, 并促进 K562 细胞中 ROS 的累积、导致线粒体膜电位 (MMP) 下降, 诱

导细胞色素 c 释放, 下调 Bcl-2 水平和上调 Bax 以及 tBid 的表达。此外, kir 还可以促进 K562 细胞中磷酸化 p53 (Ser 6 和 Ser 37) 和 p21 蛋白的表达<sup>[33]</sup>。但是, kir 对 HL-60、Raji、Jurkat、THP-1 和 Molt-4 细胞系没有明显的抑制增殖作用<sup>[33]</sup>。自身免疫性炎症性 CD4<sup>+</sup> T 细胞活化过程中存在活化诱导性凋亡, kir 可通过线粒体途径诱导自身免疫性 CD4<sup>+</sup> T 细胞凋亡, 机制与上调 Bax、caspase-3 和细胞色素 c 有关<sup>[27]</sup>。kir 抑制人类滤泡性甲状腺癌细胞 FTC133 增殖 (IC<sub>50</sub> = 30 μmol/L), 促进 FTC133 凋亡, 上调处于 G<sub>1</sub> 期和亚 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期的细胞, 下调处于 S 期和 M 期的细胞, 下调 MMP, 增加 ROS 产生, 显著降低内源性抗氧化剂如 CAT、SOD 和谷胱甘肽 (GSH) 的水平<sup>[34]</sup>。此外, kir 下调细胞存活相关蛋白 ERK1/2、p38、JNK1/2 以及磷酸化的 PI3K1/2 和 AKT, 上调总 AKT 水平以及磷酸化的 p38 和 JNK1/2<sup>[34]</sup>。

### 3.3 心脏保护

在糖尿病性心肌病模型中, kir 对心脏的保护作用不是通过降低血糖和血脂, 而是通过抑制 NF-κB 信号通路和抑制心肌纤维化相关 Smad2/3 信号通路, 进而对心肌细胞发挥保护作用 (增加心肌细胞活力、抑制 MMP 丢失、抑制心肌细胞凋亡), 并且抑制心肌成纤维细胞的增殖<sup>[35]</sup>。此外, kir 可以抑制阿霉素 (DOX) 诱导的 H9c2 大鼠心肌细胞肥厚, 其机制与激活 PI3K/AKT、Nrf2 信号通路, 抑制 caspase 依赖的细胞凋亡有关<sup>[36]</sup>。

### 3.4 促进骨折愈合和预防骨质疏松

kir 通过激活 MC3T3-E1 细胞中的骨形态发生蛋白 (BMP) 和 Wnt/β-catenin 信号通路刺激成骨细胞分化, 上调成骨细胞分化标志物 ALP、I 型胶原 (ColA1) 和骨桥蛋白 (OPN) 以及上调骨保护素 / 核因子 κB 受体活化因子配体 (OPG/RANKL) 的表达<sup>[37]</sup>。kir 可能通过早期激活 Wnt/β-catenin 和 Runx-2 通路, 以剂量依赖性方式促进骨折愈合<sup>[38]</sup>。kir 呈剂量依赖性 (20 μmol/L、40 μmol/L、60 μmol/L) 抑制破骨细胞前体向破骨细胞分化<sup>[14]</sup>。kir 通过抑制 caveolin-1/NFATc1 和 NF-κB/MAPKs/c-Fos 信号通路 (抑制 NF-κB p65、p-p38、p-ERK 和 c-Fos, 抑制 F-肌动蛋白环形成、NFATc1 的表达和核转位、Ca<sup>2+</sup> 振荡和 caveolin-1) 抑制破骨细胞生成和骨吸收, 预防卵巢切除诱导的骨质疏松症<sup>[39]</sup>。kir 促进成骨细胞分化, 抑制破骨细胞生成和分化, 提示 kir 是治疗或预防骨质疏松症的潜在候选药物。

### 3.5 抗脂肪生成、促伤口愈合、抗光老化、抗菌和增强运动耐力

Wnt/β-catenin 信号通路负向调节脂肪生成, kir 通过激活 Wnt/β-catenin 信号通路抑制脂肪生成关键转录因子表达进而抑制 3T3-L1 脂肪细胞的分化与脂肪生成<sup>[40]</sup>。

kir 抑制 NF-κB、COX-2、iNOS、基质金属蛋白酶 -2 (MMP-2) 和基质金属蛋白酶 -9 (MMP-9) 表达, 通过发挥抗炎和抗氧化作用促进链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠的伤口愈合<sup>[41]</sup>。

kir 通过抑制氧化应激和 MAPK/NF-κB 通路, 抑制胶原降解和基质金属蛋白酶 (MMP), 进而防止光老化<sup>[42]</sup>。kir 具有抗氧化和抗黑色素生成作用, 可用来预防氧化诱导的色素沉着<sup>[43]</sup>。

kir 对革兰氏阳性菌如枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、葡萄球菌、表皮葡萄球菌和口腔葡萄球菌) 具有抗菌作用, 而对革兰氏阴性菌和真菌没有作用<sup>[44]</sup>, 但是 kir 的抗菌功能研究是在体外进行的, 并不能保证在体内具有相同的抗菌效果。

kir 上调小鼠骨骼肌中线粒体调节基因, 包括过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 -1α (peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator-1α, PGC-1α)、雌激素相关受体 α (estrogen-related receptor α, ERRα)、核呼吸因子 1 (nuclear respiratory factor 1, NRF-1) 和线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, TFAM), 进而增强线粒体生物发生, 通过激活 AMPK/SIRT1/PGC-1α/PPARδ 信号通路显著增加 ATP 的产生和线粒体活性, 进而增强运动耐力<sup>[45]</sup>。

## 4 kir 发挥抗炎作用的分子机制

AMPK 是真核细胞中的一种丝氨酸 / 苏氨酸激酶, 可以被氧化应激、饥饿、运动、激素、小分子药物等激活。AMPK 通过增强 SIRT1、FOXO、PGC1α 和 p53 等因子活性, 抑制 NF-κB 信号转导, 进而抑制炎症反应<sup>[46-48]</sup>。此外, AMPK 可以保护细胞免受线粒体功能障碍, 抑制内质网氧化应激反应, 而内质网氧化应激是 NF-κB 信号转导的有效诱导剂<sup>[47]</sup>。AMPK 通过 ULK1 激活线粒体自噬过程, 同时通过 PGC-1α 转录调控新的线粒体产生, AMPK 对线粒体的这种双重调控作用体现在用新的功能性线粒体替换掉有缺陷的线粒体, 实现线粒体的自我“净化作用”, 在许多生理及病理过程中发挥重要作用<sup>[49]</sup>。AMPK 通过促进 Nrf2 的磷酸化激活 Nrf2, 进而促



进抗氧化分子转录, 抑制体内 ROS 积累<sup>[48]</sup>。

综合分析 kir 的生物学功能和机制, 不难发现, 抗炎抗氧化是 kir 的主要生物学功能, 虽然相应的机制研究很多, 但是并不深入和系统。综合分析现有的研究结果, 推测 kir 可能主要通过抑制 NF- $\kappa$ B、促进 Nrf2 通路和线粒体生物合成等发挥抗炎作用(图 3)。

此外, 使用 Molegro Virtual Docker 6.0 工具进行分子对接研究发现, kir 对炎症靶点的亲和力为 COX-2 > 5-脂氧合酶(LOX-5) > 趋化因子受体 4(CXCR4) > 人前列腺素 E 受体(EP3)<sup>[16]</sup>。也有研究使用 4.2 自动对接工具(4.2 Auto-Dock tool)进行分子对接研究发现, 炎症细胞因子 IL-1、TNF- $\alpha$  和 IL-6 都可以与 kir 结合, 其中 IL-6 是 kir 的最佳结合靶点<sup>[3]</sup>。

## 5 kir的应用

如今市场上的大多数非甾体抗炎药, 如双氯芬

酸、布洛芬、萘普生等都具有各种不良副作用。深入了解炎症性疾病的发生发展机制对于开发新的分子靶点和新药至关重要。此外, 发现具有足够特异性、最低副作用和高效的新型抗炎药比如中药单体也非常重要。

### 5.1 纳米载体药物递送系统

常规抗炎用药为了达到抗炎效果, 需要大剂量使用抗炎药物, 因此会对健康组织器官产生不良的副作用, 分子靶向药物只针对特定靶点分子, 缺乏细胞类型特异性。因此, 采用创新的药物递送方法来定制特定身体区域的药物递送是解决紧迫问题的可行方案<sup>[50]</sup>。

纳米技术在优化增强药效、靶向运输以及药物释放控制和运输方面发挥重要作用, 可以改善大剂量非特异性药物使用对身体健康组织器官的不必要的副作用或毒性<sup>[16]</sup>。由于纳米载体表面积/体积比例增大, 可以提高药物的溶解度和溶出速率, 纳米载体还可以帮助药物在体循环中停留更长时间, 增

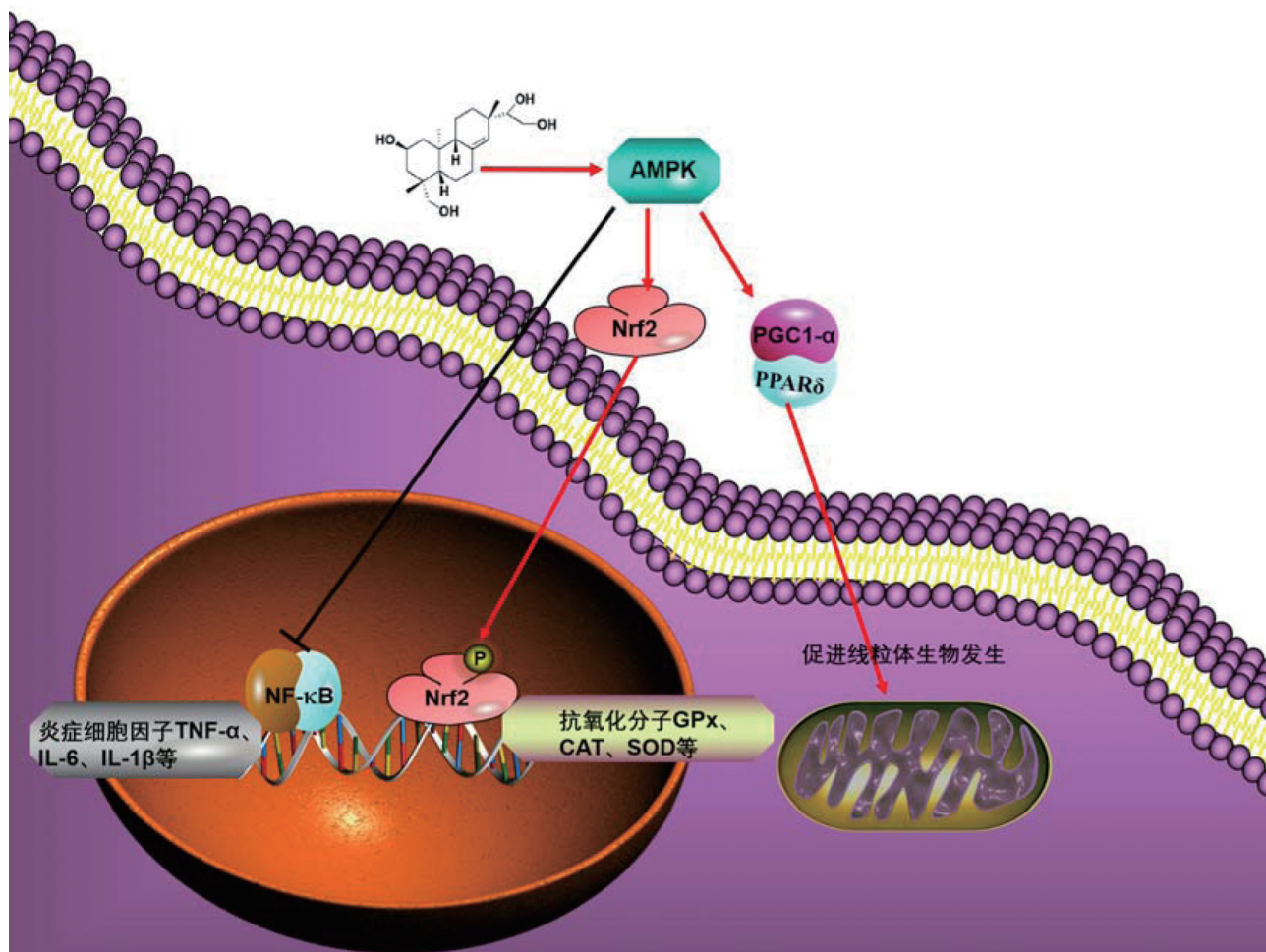


图3 kir抗炎作用机制

加药物分布,实现药物靶向和跨屏障转运<sup>[16]</sup>。此外,纳米载体已被用于改善分子的物理化学和药代动力学特性<sup>[16]</sup>。在关节炎等许多炎症性疾病中,纳米乳液和纳米凝胶制剂可以通过局部给药改善药物在皮肤上的渗透和积聚<sup>[16]</sup>。

基于纳米颗粒(nanoparticles, NPs)的药物递送系统(drug delivery system, DDS)可以降低耐药性并提高靶器官/系统中的药物浓度<sup>[51]</sup>,Huang等<sup>[52]</sup>于2019年合成装载有阿霉素(Doxorubicin, Dox)和kir的黑磷纳米颗粒量子点(black phosphorus nanoparticle quantum dots, BPQDs),BPQD被包裹在红细胞膜(red blood cell membrane, RBCm)囊泡中,形成抗肿瘤纳米颗粒,该RBC@BPQD-Dox kir具有高载药量,具有显著的抗肿瘤功效。

## 5.2 kir衍生物

此外,为了增强kir的抗炎效果,减轻kir的细胞毒性,研究人员通过改变kir结构官能团合成了一系列kir衍生物,这些衍生物显示出比kir( $IC_{50} = 1.73 \pm 0.3 \mu\text{mol/L}$ )更加强大的抗炎功能,其中有七种kir衍生物(图2b~h)的抗炎功能甚至超过了临床药物氢化可的松( $IC_{50} = 1.17 \pm 0.8 \mu\text{mol/L}$ ),尤其是图2f中的kir衍生物,其 $IC_{50}$ 为 $0.94 \pm 0.1 \mu\text{mol/L}$ <sup>[53]</sup>。

## 6 总结和展望

综上,kir的功能主要集中在抗炎和抑癌两方面,然而抗炎和抑癌机制相冲突,kir的抗炎作用与减少ROS和上调抗氧化分子相关,而kir的抑癌作用与增加ROS和抑制内源性抗氧化分子相关。因此,推测在癌细胞中是否存在某种机制将kir的抗氧化活性转换为促氧化活性,或者kir的浓度高低水平以及所处的环境和位置(炎症和癌症)决定了其到底是发挥抗氧化还是促氧化作用。此外,kir抑制癌细胞增殖,促进癌细胞凋亡的分子机制研究仍然非常粗浅,例如,增加癌细胞中ROS的累积究竟是kir自身的作用还是kir代谢产物的副作用需要进一步阐明。

kir强大的抗炎功能主要与抑制NF- $\kappa$ B、下调炎症细胞因子、促进Nrf2磷酸化、上调抗氧化分子、促进线粒体生物合成和下调活性氧相关,然而kir治疗不同疾病之间的分子机制联系缺乏系统和深入研究。截至目前,关于kir的药代动力学、生物利用度和毒性评估研究数据仍然十分有限,需要更多的研究数据确保kir的用药安全性。当前对kir的药效研究多集中在体外细胞、小鼠和大鼠,需要在犬

型动物身上验证kir的用药效果和安全性。kir的部分衍生物的抗炎功能尽管强于氢化可的松,但仅仅是用于体外raw 264.7小鼠单核巨噬细胞实验,缺乏体内验证。装载kir的纳米颗粒递送系统、合成低毒高效的kir衍生物,以及kir联合其他药物使用增强药效是否可以优化kir临床应用效果。这些都可能是未来深入研究kir功能、机制和临床应用的研究方向。

## [参 考 文 献]

- [1] Wang Q, Liang YY, Li KW, et al. Herba Siegesbeckiae: a review on its traditional uses, chemical constituents, pharmacological activities and clinical studies. *J Ethnopharmacol*, 2021, 275: 114117
- [2] 范帅帅,高乐,田伟,等. 豨莶草化学成分和药理作用及质量标志物(Q-Marker)的预测分析. *中草药*, 2021, 52: 7389-400
- [3] Ibrahim SRM, Altyar AE, Sindi IA, et al. Kirenol: a promising bioactive metabolite from siegesbeckia species: a detailed review. *J Ethnopharmacol*, 2021, 281: 114552
- [4] 徐丽伟,徐帅,王菁,等. 豨莶草药理作用研究进展. *长春中医药大学学报*, 2021, 37: 704-8
- [5] Jiang Z, Yu QH, Cheng Y, et al. Simultaneous quantification of eight major constituents in Herba Siegesbeckiae by liquid chromatography coupled with electrospray ionization time-of-flight tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 55: 452-7
- [6] Linghu KG, Zhao GD, Xiong W, et al. Comprehensive comparison on the anti-inflammatory effects of three species of *Sigesbeckia* plants based on NF- $\kappa$ B and MAPKs signal pathways *in vitro*. *J Ethnopharmacol*, 2020, 250: 112530
- [7] Zhong Z, Zhang Q, Tao H, et al. Anti-inflammatory activities of *Sigesbeckia glabrescens* Makino: combined *in vitro* and *in silico* investigations. *Chin Med*, 2019, 14: 35
- [8] Chu JMT, Xiong W, Linghu KG, et al. *Sigesbeckia Orientalis* L. extract attenuates postoperative cognitive dysfunction, systemic inflammation, and neuroinflammation. *Exp Neurobiol*, 2018, 27: 564-73
- [9] 郝五四,范自全,奚健强,等. 豨莶草茎、枝、叶的化学成分比较分析. *中国医药工业杂志*, 2019, 50: 987-92
- [10] Yin Y, Sun Y, Jiang Z. Pharmacokinetics study of two active diterpenoids from Herba Siegesbeckiae in rat plasma. *Yao Xue Xue Bao*, 2016, 51: 631-6
- [11] Huo L, Jiang Z, Lei M, et al. Simultaneous quantification of Kirenol and ent-16 $\beta$ ,17-dihydroxy-kauran-19-oic acid from Herba Siegesbeckiae in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its application to pharmacokinetic studies. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2013, 937: 18-24
- [12] Song XL, Zhang QY, Wang ZM, et al. A rapid and simple RP-HPLC method for quantification of kirenol in rat plasma after oral administration and its application to

- pharmacokinetic study. *Biomed Chromatogr*, 2011, 25: 542-6
- [13] Wang JP, Zhou YM, Ye YJ, et al. Topical anti-inflammatory and analgesic activity of kirenol isolated from *Siegesbeckia orientalis*. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137: 1089-94
- [14] 曹阳. 奇壬醇对RANKL诱导破骨细胞前体向破骨细胞分化的影响及机制. 延安: 延安大学, 2021
- [15] Wang ZM, Zhu SG, Wu ZW, et al. Kirenol upregulates nuclear annexin-1 which interacts with NF- $\kappa$ B to attenuate synovial inflammation of collagen-induced arthritis in rats. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137: 774-82
- [16] Nasir NN, Sekar M, Fuloria S, et al. Kirenol: a potential natural lead molecule for a new drug design, development, and therapy for inflammation. *Molecules*, 2022, 27: 734
- [17] Sun D, Li Y, Cao H, et al. Hepatoprotective potential of kirenol on ethanol-induced liver toxicity in albino rats and acetaminophen-induced oxidative stress-mediated apoptosis in hepatic HepG2 cells. *J Biochem Mol Toxicol*, 2021, 35: e22786
- [18] Tao HX, Zhao GD, Linghu KG, et al. Botany, traditional use, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Siegesbeckia Herba* (Xixiancao): a review. *Phytochem Rev*, 2020, 20: 569-87
- [19] Wu JY, Chan YC, Guo H, et al. Twenty-four-week oral dosing toxicities of *Herba Siegesbeckiae* in rats. *BMC Complement Med Ther*, 2020, 20: 341
- [20] Wu J, Li Q, Jin L, et al. Kirenol inhibits the function and inflammation of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis *in vitro* and *in vivo*. *Front Immunol*, 2019, 10: 1304
- [21] Lu Y, Xiao J, Wu ZW, et al. Kirenol exerts a potent anti-arthritic effect in collagen-induced arthritis by modifying the T cells balance. *Phytomedicine*, 2012, 19: 882-9
- [22] Lu Y, Xiao J, Wu Z, et al. Effects of kirenol on bovine type II collagen-induced rat lymphocytes *in vivo* and *in vitro*. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2012, 32: 1-6
- [23] Hu W, Mao C, Sheng W. The protective effect of kirenol in osteoarthritis: an *in vitro* and *in vivo* study. *J Orthop Surg Res*, 2022, 17: 195
- [24] Quan P, Jiao B, Shang R, et al. Alternative therapy of rheumatoid arthritis with a novel transdermal patch containing *Siegesbeckia Herba* extract. *J Ethnopharmacol*, 2021, 265: 113294
- [25] Li YS, Zhang J, Tian GH, et al. Kirenol, darutoside and hesperidin contribute to the anti-inflammatory and analgesic activities of *Siegesbeckia pubescens* makino by inhibiting COX-2 expression and inflammatory cell infiltration. *J Ethnopharmacol*, 2021, 268: 113547
- [26] Lee M, Kim SH, Lee HK, et al. ent-kaurane and ent-pimarane diterpenes from *Siegesbeckia pubescens* inhibit lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in BV2 microglia. *Biol Pharm Bull*, 2014, 37: 152-7
- [27] Xiao J, Yang R, Yang L, et al. Kirenol attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting differentiation of Th1 and Th17 cells and inducing apoptosis of effector T cells. *Sci Rep*, 2015, 5: 9022
- [28] Liu X, Du Y, Liu G, et al. Kirenol relieves dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice by inhibiting inflammatory cytokines and inducing CD4(+) T lymphocyte apoptosis. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2019, 39: 1387-92
- [29] Liu W, Li Y, Li C. Kirenol exhibits the protective role against N-methyl-N-nitrosourea-induced gastric cancer in rats via modulating the oxidative stress and inflammatory markers. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2020, 39: 345-55
- [30] Deng Y, Ma M, Guo G, et al. Kirenol regulates the cell proliferative and inflammatory markers in DMBA-induced oral squamous cell carcinogenesis in hamster. *Environ Toxicol*, 2021, 36: 328-38
- [31] Lin FC, Lee SS, Li YC, et al. Protective effects of kirenol against lipopolysaccharide-induced acute lung injury through the modulation of the proinflammatory NF $\kappa$ B pathway and the AMPK2-/Nrf2-mediated HO-1/AOE pathway. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10: 204
- [32] Rajendran P, Alzahrani AM, Ahmed EA, et al. Kirenol inhibits B[a]P-induced oxidative stress and apoptosis in endothelial cells via modulation of the Nrf2 signaling pathway. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 5585303
- [33] Lu Y, Qian R, Xiao J, et al. Kirenol, a compound from *Herba Siegesbeckiae*, induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia K562 cells. *Pharmazie*, 2014, 69: 148-53
- [34] Wang Y, Xu J, Alarifi S, et al. Kirenol inhibited the cell survival and induced apoptosis in human thyroid cancer cells by altering PI3K/AKT and MAP kinase signaling pathways. *Environ Toxicol*, 2021, 36: 811-20
- [35] Wu B, Huang XY, Li L, et al. Attenuation of diabetic cardiomyopathy by relying on kirenol to suppress inflammation in a diabetic rat model. *J Cell Mol Med*, 2019, 23: 7651-63
- [36] Alzahrani AM, Rajendran P, Veeraraghavan VP, et al. Cardiac protective effect of kirenol against doxorubicin-induced cardiac hypertrophy in H9c2 cells through Nrf2 signaling via PI3K/AKT pathways. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 3269
- [37] Kim MB, Song Y, Hwang JK. Kirenol stimulates osteoblast differentiation through activation of the BMP and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathways in MC3T3-E1 cells. *Fitoterapia*, 2014, 98: 59-65
- [38] Karaman I, Gunay AE, Yerer MB, et al. Effect of kirenol on the interaction between the WNT/ $\beta$ -catenin and RUNX2/TCF/LEF1 pathways in fracture healing *in vivo*. *Acta Orthop Traumatol Turc*, 2020, 54: 320-9
- [39] Zou B, Zheng J, Deng W, et al. Kirenol inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis and prevents ovariectomized-induced osteoporosis via suppressing the Ca(2+)-NFATc1 and Cav-1 signaling pathways. *Phytomedicine*, 2021, 80: 153377
- [40] Kim MB, Song Y, Kim C, et al. Kirenol inhibits adipogenesis through activation of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 445: 433-8
- [41] Ren J, Yang M, Chen J, et al. Anti-inflammatory and



- wound healing potential of kirenol in diabetic rats through the suppression of inflammatory markers and matrix metalloproteinase expressions. *Biomed Pharmacother*, 2020, 129: 110475
- [42] Kim J, Kim MB, Yun JG, et al. Protective effects of standardized *Siegesbeckia glabrescens* extract and its active compound kirenol against UVB-induced photoaging through inhibition of MAPK/NF- $\kappa$ B pathways. *J Microbiol Biotechnol*, 2017, 27: 242-50
- [43] Shim SY, Lee YE, Lee M. Antioxidant compounds, kirenol and methyl ent-16 $\alpha$ , 17-dihydroxy-kauran-19-oate bioactivity-guided isolated from *Siegesbeckia glabrescens* attenuates MITF-mediated melanogenesis via inhibition of intracellular ROS production. *Molecules*, 2021, 26: 1940
- [44] Wang JP, Zhou YM, Zhang YH. Kirenol production in hairy root culture of *Siegesbeckia orientalis* and its antimicrobial activity. *Pharmacogn Mag*, 2012, 8: 149-55
- [45] Kim MB, Kim C, Hwang JK. Standardized *Siegesbeckia orientalis* L. extract increases exercise endurance through stimulation of mitochondrial biogenesis. *J Med Food*, 2019, 22: 1159-67
- [46] Salminen A, Hyttinen JM, Kaarniranta K. AMP-activated protein kinase inhibits NF- $\kappa$ B signaling and inflammation: impact on healthspan and lifespan. *J Mol Med (Berl)*, 2011, 89: 667-76
- [47] Andris F, Leo O. AMPK in lymphocyte metabolism and function. *Int Rev Immunol*, 2015, 34: 67-81
- [48] Xu W, Zhao T, Xiao H. The implication of oxidative stress and AMPK-Nrf2 antioxidative signaling in pneumonia pathogenesis. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11: 400
- [49] Mihaylova MM, Shaw RJ. The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism. *Nat Cell Biol*, 2011, 13: 1016-23
- [50] Jahangirian H, Lemraski EG, Webster TJ, et al. A review of drug delivery systems based on nanotechnology and green chemistry: green nanomedicine. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 2957-78
- [51] Yao Y, Zhou Y, Liu L, et al. Nanoparticle-based drug delivery in cancer therapy and its role in overcoming drug resistance. *Front Mol Biosci*, 2020, 7: 193
- [52] Huang X, Wu B, Li J, et al. Anti-tumour effects of red blood cell membrane-camouflaged black phosphorous quantum dots combined with chemotherapy and anti-inflammatory therapy. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47: 968-79
- [53] Wang J, Sun H, Li Y, et al. Synthesis and preliminary anti-inflammatory activity exploration of novel derivatives of kirenol. *New J Chem*, 2020, 44: 19250-61