

内源性硫化氢供体S-炔丙基半胱氨酸药理作用研究进展

席海燕¹, 何先亮², 李启秀¹, 勝呂綸貴子^{1,2*}, 齐 炜², 茅以诚^{1,3}, 朱依淳^{1,2,3}

¹复旦大学药学院, 上海

²澳门科技大学药学院, 澳门

³复旦大学小分子活性物质上海市高校重点实验室, 上海

Email: *rsuguro@must.edu.mo

收稿日期: 2021年8月6日; 录用日期: 2021年9月3日; 发布日期: 2021年9月10日

摘 要

S-炔丙基半胱氨酸(S-propargyl-cysteine, SPRC)是通过对大蒜内含硫活性成分S-烯丙基半胱氨酸(SAC)结构修饰改造得到的新型内源性硫化氢(H₂S)供体。研究发现, SPRC及其缓控释剂可以调控体内H₂S水平, 在多个心血管疾病模型中表现出良好的保护作用, 可以通过发挥抗炎、抗氧化、抗纤维化等机制, 起到保护心肌缺血、促进血管新生、稳定动脉粥样硬化斑块等作用。此外, SPRC在脑血管疾病、阿尔茨海默病、癌症、糖尿病肾病、子宫内膜异位症等疾病模型中也表现出良好的药理活性。本文通过文献查找和资料收集对SPRC药理作用研究进展进行综述, 以期SPRC的进一步研究提供参考。

关键词

S-炔丙基半胱氨酸, 硫化氢, 药理作用

Research Progress on Pharmacological Effects of S-Propargyl-Cysteine, the Endogenous Hydrogen Sulfide Donor

Haiyan Xi¹, Xianliang He², Qixiu Li¹, Rinkiko Suguro^{1,2*}, Wei Qi², Yicheng Mao^{1,3}, Yizhun Zhu^{1,2,3}

¹School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai

²School of Pharmacy, Macau University of Science and Technology, Macau

³Shanghai Key Laboratory of Bioactive Small Molecules, Fudan University, Shanghai

Email: *rsuguro@must.edu.mo

*通讯作者。

文章引用: 席海燕, 何先亮, 李启秀, 勝呂綸貴子, 齐炜, 茅以诚, 朱依淳. 内源性硫化氢供体 S-炔丙基半胱氨酸药理作用研究进展[J]. 药物资讯, 2021, 10(5): 274-282. DOI: 10.12677/pi.2021.105035

Received: Aug. 6th, 2021; accepted: Sep. 3rd, 2021; published: Sep. 10th, 2021

Abstract

S-propargyl-cysteine (SPRC) is a novel endogenous hydrogen sulfide (H₂S) donor obtained by modifying the structure of the sulfur-containing active ingredient S-allylcysteine (SAC) in garlic. Studies have found that SPRC and its controlled-release formulations can regulate the level of H₂S in vivo and have shown effective protective effects in multiple cardiovascular disease models. SPRC has exerted anti-inflammatory, anti-oxidation and anti-fibrosis effects to protect ischemic myocardium, promote angiogenesis, and to stabilize atherosclerotic plaque, etc. In addition, SPRC also has shown great pharmacological activity in other disease models such as cerebrovascular disease, Alzheimer's disease, cancer, diabetic nephropathy, and endometriosis. This article reviews the current research progress on pharmacological effects of SPRC through literature search and data collection, aiming at providing the reference for the further research of SPRC.

Keywords

S-Propargyl-Cysteine, Hydrogen Sulfide, Pharmacological Effects

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

硫化氢(H₂S)是继一氧化碳(CO)和一氧化氮(NO)之后的第三个内源性生物活性分子。在哺乳动物体内, H₂S 以半胱氨酸和同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)为底物, 由胱硫醚-β-合成酶(cystathionine beta synthase, CBS)、胱硫醚-γ-裂解酶(cystathionine Gamma Lyase, CSE/CTH)和 3-巯基丙酮酸硫转移酶(3-mercaptopyruvate sulfurtransferase, 3-MST)等催化合成。众多研究发现 H₂S 在人体内参与调节血管张力、心肌收缩力、神经传递、胰岛素分泌、炎症等[1]。当 H₂S 的生物学作用在不断被揭示的同时, 越来越多的 H₂S 供体也在不断被发现。S-炔丙基半胱氨酸(S-propargyl-cysteine, SPRC), 是将大蒜内含硫活性成分 S-烯丙基半胱氨酸(S-allyl-L-cysteine, SAC)的烯丙基修饰改造为炔丙基得到的新型内源性 H₂S 供体, 研究发现这种含有硫原子的氨基酸半胱氨酸衍生物, 可以调控体内 H₂S 水平, 在多个疾病模型中表现出较为显著的治疗作用。同时, SPRC 的多种缓控释剂型如纳米长循环脂质体、聚乳酸微球等也在不断被用于疾病模型研究, 本文将根据疾病类型对 SPRC 的药理活性和作用机制进行综述。

2. 心血管疾病

2.1. 心肌梗死

在大鼠急性心肌梗死(myocardial Infarction, MI)模型和缺氧心肌细胞模型中, 与对照组相比, SPRC 治疗可使心肌梗塞面积减少, 血清中乳酸脱氢酶(lactate Dehydrogenase, LDH)、肌酸激酶(creatine Kinase, CK)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平降低, 心脏功能改善, 使 MI 大鼠的 CSE 活性和血浆 H₂S 浓度增加。同时发现 SPRC 可以提高缺氧心肌细胞的存活率, 使 CSE 的 mRNA 和蛋白表达水平上调, 而 CSE

抑制剂 DL-炔丙基甘氨酸(DL-propargylglycine, PAG)则可以使 SPRC 的保护作用消失,证明 SPRC 是通过 CSE/H₂S 相关通路发挥心脏保护作用[2]。

2.2. 心肌损伤

在多柔比星(doxorubicin, Dox)诱导的 H9C2 心肌细胞损伤模型中,SPRC 可以提高细胞活力、减少 LDH 释放、调控糖蛋白 130 (gp130)/信号传导与转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)下游信号分子蛋白表达、抑制细胞凋亡及氧化应激水平异常、降低线粒体功能紊乱及细胞内钙离子超载。在 Dox 诱导的小鼠心肌毒性模型中,SPRC 可以通过激活 gp130/STAT3 改善心功能异常及心肌病理损伤,抑制心肌细胞凋亡并调控 gp130/STAT3 下游抗凋亡蛋白表达。这两种模型均证明了 SPRC 通过激活 gp130 介导的 STAT3 信号通路改善 Dox 心脏毒性,发挥心肌保护作用[3]。

在 Dox 诱导的原代心肌细胞损伤模型中,SPRC 通过激活 STAT3 提高 CSE 蛋白表达水平,增强 STAT3 与 CSE 相互作用,并调控 STAT3 下游蛋白表达,在 Dox 诱导的小鼠心力衰竭模型中,SPRC 可通过激活 STAT3 改善心功能异常及心脏病理损伤,抑制心肌细胞坏死凋亡。两者均证明 SPRC 通过激活 STAT3 介导的 CSE 表达改善 Dox 诱导的心肌凋亡及心力衰竭,为 H₂S 供体治疗心力衰竭提供新的分子基础和治疗策略[3]。

研究发现 SPRC 对正常大鼠心肌的收缩没有影响,但可以抑制大鼠心室乳头肌在缺氧/复氧(H/R)之后细胞的凋亡水平以及维持细胞的基本形态,其机制与抑制心室乳头肌在缺氧过程中的收缩有关。同时 SPRC 可以增强心肌细胞在 H/R 之后的存活率,改善细胞复氧之后收缩降低的现象,其机制可能为缺氧过程中降低细胞外钙的流入,增加肌浆网对细胞内钙的摄取,降低在复氧初期钙离子的大量释放,从而减轻细胞钙超载达到保护细胞的作用[4]。

2.3. 心力衰竭

在异丙肾上腺素(ISO)诱导的野生型和 CSE 基因敲除型小鼠心力衰竭模型以及过氧化氢(H₂O₂)诱导的 H9C2 细胞氧化应激模型中发现,内源性 H₂S 缺失会导致小鼠对 ISO 诱导的心肌损伤更为敏感。SPRC 可以通过刺激 CSE 表达,提高机体内 H₂S 含量,而 H₂S 可通过巯基化直接作用于钙离子/钙调素依赖性蛋白激酶 II (calcium/calmodulin-Dependent Protein Kinase II, CaMKII),调节 CaMKII 活性,抑制心肌细胞凋亡,减少氧化应激损伤,从而发挥抗心衰保护作用。该研究首次证明 CaMKII cysteine-6 是 H₂S 调控的重要位点,可以通过巯基化修饰抑制 CaMKII 激活,进而抑制线粒体通透性转换孔(mPTP)异常开放,从而提高线粒体功能发挥心肌保护作用,同时证明 H₂S 可通过沉默信息调节因子 1 (sirtuin1, SIRT1)途径对抗氧化应激,发挥心肌保护作用[5]。

在探究 SPRC 缓释剂(CR-SPRC)对大鼠心肌梗死后心力衰竭的保护作用及相关分子机制[6][7]中发现,CR-SPRC 能明显提高冠状动脉左前降支结扎引起的急性心肌梗死大鼠的存活率、降低心肌梗死面积及左室纤维化面积、提高左室射血分数、降低左室内径指数、提高心衰大鼠的心功能、促进心脏中的血管新生(尤其能促进结扎部位周围的血管的形成),CR-SPRC 可增加血清中 H₂S 浓度以及梗死周边区中 CSE 蛋白表达,并能维持谷胱甘肽(glutathione, GSH)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和超氧化物歧化酶(super oxide dismutase, SOD)等抗氧化酶的水平,抑制梗死周边区中凋亡相关因子(bax、caspase-9 和 caspase-3)等来发挥抗氧化及抗凋亡作用,此外 CR-SPRC 还能够降低梗死心脏中生长刺激表达因子 2 (growth stimulating express gene 2, ST2)的表达,并调控下游的丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)及蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB/Akt)信号通路。CR-SPRC 所表现出来的这一系列心脏保护作用均优于普通 SPRC,这不仅为 H₂S 介导的药物治疗提供了一个崭新的研究方向,也为该化合物剂型的研究提供了一个参考。

通过薄膜水化法制备成的 SPRC 纳米长循环脂质体在体内外均具有良好的缓释效果,能长时间提高

体内血浆和组织中 SPRC 以及 H_2S 浓度, 与游离 SPRC 相比, SPRC 纳米长循环脂质体对大鼠心力衰竭模型表现出更良好的治疗效果, 其机制主要是通过提高体内 H_2S 水平而发挥抗氧化、抗纤维化作用, 与转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)/Smad3 信号通路有关[8]。

2.4. 血管生成

探究 SPRC 在正常状态及缺血状态下对血管新生作用[9]时发现, 在体外实验中, SPRC 可以促进人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)的活力、增殖、黏附、迁移以及管腔形成。在正常状态下的体内实验中, SPRC 可以促进大鼠动脉环中细胞的向外迁出、促进 Matrigel 栓中的血管生成、促进血管向植入海绵中延伸、促进烫伤的愈合以及促进鸡胚绒毛尿囊膜上的血管新生。在缺血状态下的体内实验中, SPRC 可以在小鼠下肢缺血模型中促进血流恢复、侧支循环生成以及使得毛细血管密度增加。在大鼠心梗模型中, SPRC 能促进心功能恢复、减少梗死面积及纤维化面积、增加侧支循环。原代 HUVEC 细胞经 SPRC 处理后, STAT3 磷酸化显著增强。RNA 干扰证实了 STAT3 在介导 SPRC 促血管生成作用中的关键作用, 但共结晶排除了 SPRC 和 STAT3 直接作用的可能, 而免疫共沉淀则显示 SPRC 处理后血管内皮生长因子受体 2(VEGFR2)与 STAT3 的作用加强, 同时免疫荧光和染色质免疫沉淀显示 SPRC 诱导了 STAT3 的核转位, SPRC 引起 STAT3 与血管内皮生长因子(*Vegf*)、细胞外调节蛋白激酶(*Erk*)、*Cth*、及 *Akt* 启动子的结合增强, 随后检测到血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及 CTH 蛋白合成增加。该实验首次阐明了 SPRC 促血管新生中 STAT3 所介导的相关分子机制, 包括 H_2S -VEGFR2-STAT3 这条 STAT3 激活通路的首次提出, 以及 STAT3 对于 *Vegf*、*Cth* 基因转录激活的发现, 为硫化氢及 STAT3 的基础研究提供了理论支持[9]。

2.5. 动脉粥样硬化

通过体内外模型探究 SPRC 对动脉粥样硬化斑块的作用及其机制[10], 结果表明 SPRC 可以降低血脂, 抑制斑块的形成。SPRC 能够抑制炎症因子诱导的 MAPK 通路的激活及转录因子激活因子蛋白-1 (AP-1) 的活化, 导致基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloprotein 9, MMP-9) 的表达减少, 从而抑制斑块区细胞外基质的降解。抑制溶血磷脂酰胆碱(Lyso-phosphocholine, LysoPC)诱导的凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1 (low-density lipoprotein receptor-1, LOX-1) 的表达和 B 淋巴细胞瘤-2 基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 的下调, 减少 Caspase 通路的激活, 抑制血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)的凋亡, 增加斑块纤维帽中 VSMC 的含量。同时 SPRC 能够增加巨噬细胞和 VSMC 的自噬, 促进泡沫细胞的清除以及 VSMC 的损伤修复, 因而推测 SPRC 具有稳定斑块的作用。

3. 脑血管疾病

在脑血管疾病中, SPRC 是否存在类似于在心血管疾病中所表现出的保护作用? 研究发现人和大鼠随着年龄的增大, 体内的 H_2S 含量与 Hcy、活性氧(ROS)一样呈上升趋势, 而急性脑梗病人血清中 H_2S 浓度是显著下降的($P < 0.01$), 长时间观察脑缺血 - 再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI)大鼠血清中 H_2S 浓度发现其先下降后上升。通过 gain-lost 实验, 在大鼠和 CBS^{+/+} + MST-ckd 小鼠 CIRI 模型中发现 SPRC 对 CIRI 有治疗作用, 并通过 H_2S 含量的测定明确治疗作用是由 H_2S 介导的。通过体内和原代神经元的氧糖剥夺(oxygen glucose deprivation, OGD)实验, 发现 H_2S 发挥保护作用是通过 CBS 和 MST/ H_2S /LC3-II 通路以及抗氧化机制实现的, 该研究为脑缺血性疾病的防治提供了新思路[11]。

4. 抗氧化

在高糖刺激的 H9C2 心肌细胞系中, SPRC 处理能够显著降低高糖诱导的凋亡及细胞内 ROS 聚集。

SPRC 能够增加核因子 E2 相关因子 2 (Nuclear factor-erythroid 2 related factor 2, Nrf2) 的稳定性并促进其向核内迁移, 上调其转录活性, 并最终诱导下游抗氧化酶的表达和活性的提高。进一步的研究表明 SPRC 主要是通过 CSE 及 Akt 通路干扰 Nrf2 与 Kelch 样 ECH-相关蛋白 1 (kelch-like ECH-associated protein 1, KEAP1) 的结合, 激活 Nrf2, 最终升高其下游抗氧化酶的表达。在链脲佐菌素(streptozocin, STZ)诱导的大鼠二型糖尿病模型中也发现同细胞系一样的结果[12]。

在蛋氨酸和胆碱缺乏(methionine and choline deficient diet, MCD)饮食诱导的小鼠非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)模型中, SPRC 能显著降低肝脏 ROS 和 MDA 水平、提高 SOD 活性, 上调 Akt 的磷酸化、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1)和 CSE 的表达及 Nrf2 的核转位, 在油酸(oleic acid, OA)诱导的 HepG2 细胞中, SPRC 表现出相同的作用机制。而磷酸肌醇 3 激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)抑制剂 LY294002 可消除 SPRC 诱导的 HO-1 表达和 Nrf2 核转位, CSE 抑制剂 PAG 和 HO-1 siRNA 可消除 SPRC 的抗氧化作用。这些结果证明 SPRC 通过 PI3K/Akt/Nrf2/HO-1 信号通路对 NAFLD 产生抗氧化作用[13]。

5. 炎症

在探究 SPRC 对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的 H9C2 心肌细胞炎症的作用[14]中发现, SPRC 呈剂量依赖性抑制 LPS 诱导的肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS) mRNA 的表达、激活 PI3K/Akt 信号通路, 有效抑制 LPS 诱导的细胞外调节蛋白激酶 1/2 (extra-cellular-regulated kinase 1/2, ERK1/2)激活、核因子 κ B 抑制蛋白 α (I κ B α)降解以及核因子 κ B(NF- κ B)p65 磷酸化、细胞内 ROS 产生, 同时 SPRC 可增强 LPS 诱导的 CSE 和 H₂S 的下调。该结果表明 SPRC 通过抑制 I κ B α /NF- κ B 信号通路、激活 PI3K/Akt 信号通路、调节 CSE/H₂S 通路、抑制 ROS 生成等在 LPS 刺激的 H9C2 细胞中发挥抗炎作用。

在 TNF- α 诱导的 HUVEC 内皮细胞炎症模型中, SPRC 呈剂量依赖性抑制 TNF- α 诱导的 ICAM-1、血管细胞黏附分子(vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1)蛋白表达, 进而抑制 U937 单核细胞与内皮细胞 HUVEC 的黏附, 同时 SPRC 可显著诱导 TNF- α 刺激的 HUVEC 细胞中 CSE 表达, 有效抑制 TNF- α 诱导的细胞内 ROS 产生、c-Jun 氨基末端激酶 1/2(c-Jun N-terminal kinase, JNK1/2)激活、I κ B α 降解以及 NF- κ B p65 磷酸化和核转位[15]。

在雨蛙肽诱导的小鼠急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)模型中, 在 AP 诱导前 3 小时 SPRC 预处理可以显著改善模型小鼠的胰腺损伤和肺损伤, 抑制炎症细胞因子白细胞介素-1 β (IL-1 β)和白细胞介素-6 (IL-6)的释放, 促进抗炎细胞因子白细胞介素-10 (IL-10)的释放, 同时与模型组和空白组相比, SPRC 处理使得血浆中 H₂S 水平发生显著性差异。但 AP 诱导前 12 小时 SPRC 预处理对胰腺和肺部炎症却没有明显改善作用。这为 SPRC 对 AP 的保护作用提供了新证据, 而其机制可能与内源性 H₂S 的缓慢释放以及其对 CSE 的负反馈调节有关[16]。

在 IL-1 β 诱导的人类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)滑膜成纤维细胞系 MH7A 中, SPRC 呈浓度依赖性抑制其炎症介质的表达、ROS 的产生以及 MMP-9 的表达和活性。此外, SPRC 还可阻断 IL-1 β 介导的 MH7A 细胞的迁移和侵袭。在大鼠佐剂诱导的关节炎(adjuvant induced arthritis, AIA)模型中, SPRC 治疗可显著减轻大鼠 AIA 的严重程度。进一步发现, SPRC 可显著诱导 HO-1 的表达, 该作用与 KEAP1 的降解和 Nrf2 的核转位有关, 这一作用归因于 KEAP1 半胱氨酸残基的巯基化。该研究首次证明了内源性 H₂S 调节剂 SPRC 通过上调 Nrf2-抗氧化反应元件(antioxidant responsive element, ARE)信号通路在 RA 中发挥抗炎作用[17]。

利用聚乳酸(poly-lactic acid, PLA)包载 SPRC 制作成的 SPRC 聚乳酸微球(SPRC@PLA), 在体外能够持续释放 SPRC, 且释药可达 4 天, 同时能够促进体内 H_2S 的持续释放, 释放时间在 3 天左右。研究发现 SPRC@PLA 对 RA 大鼠有更好的治疗效果, 同时延长了给药间隔[18]。利用树枝状介孔二氧化硅纳米球(dendritic mesoporous silica nanosphere, DMSN)和 SPRC 构建的 SPRC@DMSN, 在体内均表现出持久的 SPRC 释放力。在体内 SPRC 的释放延长可以通过 CSE/ H_2S 途径进一步促进 H_2S 的持续释放。在大鼠 AIA 模型中, SPRC@DMSN 表现出良好的抗炎作用[19]。

在 LPS 或 IL-6 诱导的小鼠急性炎症性贫血模型和松节油诱导的小鼠慢性炎症性贫血模型以及炎症性铁调素被诱导表达的肝细胞(系)模型中, SPRC 能够抑制炎症性铁调素表达, 升高血清铁和转铁蛋白饱和率, 改善红细胞形态, 纠正低铁血症, 同时缓解炎症性贫血小鼠的脾肿大和脾脏铁蓄积。机制研究表明, SPRC 能够减少炎症刺激下巨噬细胞 IL-6 的释放、促进 SIRT1 介导的 STAT3 去乙酰化作用、以及通过激活单磷酸腺苷激活的蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK)促进细胞因子信号抑制物 1 (suppressor of cytokine signaling 1, SOCS1)介导的 Janus 激酶 2 (janus kinase 2, JAK2)蛋白降解。揭示了 SPRC 作为炎症性贫血治疗药物的可能性[20]。

6. 神经退行性疾病

在阿尔茨海默病(alzheimers disease, AD)的发生和发展过程中, 神经胶质细胞发挥着重要作用, 当 β 淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)在 AD 患者脑内聚集时, 神经胶质细胞募集并且活化, 产生或释放促炎症因子, 诱导氧化应激, 导致 tau 蛋白的过度磷酸化, 并且对神经元突触和线粒体产生毒性作用, 同时加剧 A β 的生成[21]。降低神经炎症的损害对 AD 的治疗具有重要作用。研究发现 SPRC 能够明显减轻 LPS 诱导的大鼠空间学习和记忆障碍, 其机制可能与抑制海马 TNF- α 、肿瘤坏死因子受体 1 (tumor necrosis factor receptor 1, TNFR1)、A β 前体蛋白(amyloid β -precursor protein, A β PP)的 mRNA 及蛋白表达, 抑制 I κ B- α 降解以及 NF- κ B p65 激活等有关[22]。

此外, SPRC 可抑制大鼠侧脑室注射 A β 25-35 所致的认知功能障碍和神经元超微结构损伤。SPRC 可抑制大鼠海马 TNF- α 、环氧合酶-2 (cyclooxygenase, COX-2)的 mRNA 及蛋白表达, 抑制 ERK1/2 磷酸化水平、I κ B- α 降解以及 NF- κ B p65 激活。该发现提示 SPRC 可能是治疗 AD 的潜在药物[23]。

7. 癌症

SPRC 对于癌症的作用探究, 起初是在胃癌细胞中进行, 研究发现 SPRC 能够显著降低 SGC-7901 胃癌细胞的存活率, 抑制其增殖和迁移, 并使得细胞周期停滞在 G1/S 期。体内实验表明, SPRC 对 SGC-7901 荷瘤裸鼠肿瘤细胞增殖的抑制率达 40%~75%, 同时能够诱导肿瘤组织中的促凋亡作用, 上调肿瘤细胞中 p53 和 Bax 的表达, 以及上调 CSE 蛋白的表达并提高 H_2S 释放水平, 而 CSE 抑制剂 PAG 则可以显著抑制 SPRC 的抗肿瘤作用, 从而推测 SPRC 可能是通过 CSE/ H_2S 相关通路发挥抗肿瘤作用[24]。

与正常细胞系相比, SPRC 对人乳腺癌细胞具有更强的细胞毒性, 可通过抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡、阻断细胞周期、降低细胞侵袭、调控肿瘤相关基因的表达以及增加化疗的敏感性等方式实现其抗肿瘤作用。体内实验也表现出良好的抑制肿瘤生长和转移的效果。探究机制发现, SPRC 可以诱导 DNA 损伤, 同时激活死亡受体及线粒体介导的、caspase 依赖的凋亡通路, 以及诱导乳腺癌细胞周期停滞于 S 或者 G2/M 期, 下调 S 或者 G2/M 期调控因子细胞周期蛋白(Cyclins)等的表达。在不同 P53 背景的胰腺癌细胞系中, SPRC 能够有效诱导胰腺癌细胞凋亡并抑制其生长, SPRC 通过混合谱系激酶 3 (MAP3K mixed-lineage kinase 3, MLK3)-丝裂原活化蛋白激酶激酶 4 (Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 4, MKK4)级联激活 JNK-Jun-转录激活因子 3 (Activating Transcription Factor 3, ATF3)-CCAAT/增强子结合蛋

白同源蛋白(C/EBP homology protein, CHOP)通路,通过激活 JNK 的磷酸化水平以及降低 JNK 的泛素化调节 JNK 的蛋白水平,从而激发内质网应激产生,动物实验也表明 SPRC 对裸鼠 Panc-1 细胞移植瘤以及原位种植瘤的生长均具有剂量依赖性的抑制作用[25]。

8. 糖尿病肾病

在 STZ 诱导的大鼠糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)模型中,SPRC 给药可以显著改善 DN 大鼠肾功能损伤及肾脏纤维化。其能够缓解糖尿病引起的体重减轻,改善多尿症状,降低肾脏指数,改善血脂中甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)的含量,减轻肾脏的纤维化及糖原沉积,降低纤连蛋白和 I/IV 胶原蛋白的表达,降低炎症因子 mRNA 的表达,降低 TGF- β 1 及 Smad3 磷酸化水平,同时降低 JAK2/STAT3、p38/ERK 的磷酸化水平。而在高糖诱导的系膜细胞增殖模型中,SPRC 可显著抑制高糖导致的系膜细胞过度增殖和肥大,从而减少肾组织中细胞外基质的沉积。综合来看,SPRC 改善糖尿病肾损伤可能与抑制 JAK2/STAT3 参与的 TGF- β 1/Smad3 信号通路的激活有关,同时 p38 和 ERK 通路也参与其中。推测 H₂S 在整个过程中发挥着重要作用[26]。

9. 子宫内膜异位症

通过子宫内膜间质细胞系、C57BL/6 小鼠子宫内膜异位症模型、Wistar 大鼠子宫角粘连模型研究 SPRC 对子宫内膜异位症及其粘连的作用,发现 SPRC 能够有效抑制 IL-1 β 诱导的子宫内膜间质细胞炎症反应,其机制与降低 ERK1/2 磷酸化、抑制 NF- κ B 激活有关。SPRC 能够明显改善内异症模型小鼠的热痛觉过敏,使病灶缩小,减轻纤维化。同时,SPRC 能够抑制子宫角粘连模型大鼠的术后粘连形成。该结果显示 SPRC 有可能成为内异症治疗的前景药物[27]。

10. 总结与展望

SPRC 作为一种半胱氨酸类似物,在包括心脑血管疾病等多个临床前研究模型中表现出潜在的治疗作用,尤其在抗炎、抗氧化、抗纤维化等方面具有显著的效果。但其本身仍具有不稳定、半衰期短等特性,从而限制了其进一步的成药性。SPRC 的聚乳酸微球及纳米脂质体等缓控剂型的研究,为其向临床的转化提供了可能,值得开展深入的后续研究。另一方面,SPRC 作为内源性气体信号分子,在不同疾病中的具体作用机制研究仍较为有限,通过研究从而阐明其直接作用靶点和机制,将对今后以气体信号小分子药物的开发和应用提供新的思路 and 理论依据。

基金项目

上海市小分子活性物质重点实验室项目(ZDSYS14005)。

参考文献

- [1] Wang, R. (2012) Physiological Implications of Hydrogen Sulfide: A Whiff Exploration That Blossomed. *Physiological Reviews*, **92**, 791-896. <https://doi.org/10.1152/physrev.00017.2011>
- [2] Wang, Q., Liu, H.R., Mu, Q., *et al.* (2009) S-Propargyl-Cysteine Protects Both Adult Rat Hearts and Neonatal Cardiomyocytes from Ischemia/Hypoxia Injury: The Contribution of the Hydrogen Sulfide-Mediated Pathway. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **54**, 139-146. <https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e3181ac8e12>
- [3] Wu, J., Guo, W., Lin, S.Z., *et al.* (2016) Gp130-Mediated STAT3 Activation by S-Propargyl-Cysteine, an Endogenous Hydrogen Sulfide Initiator, Prevents Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Cell Death & Disease*, **7**, e2339. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.209>
- [4] Liang, Y.H., Shen, Y.Q., Guo, W., *et al.* (2014) SPRC Protects Hypoxia and Re-Oxygenation Injury by Improving Rat Cardiac Contractile Function and Intracellular Calcium Handling. *Nitric Oxide*, **41**, 113-119. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.05.010>

- [5] Wu, D., Hu, Q., Tan, B., *et al.* (2018) Amelioration of Mitochondrial Dysfunction in Heart Failure through S-Sulphydration of Ca(2+)/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II. *Redox Biology*, **19**, 250-262. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.08.008>
- [6] Huang, C., Kan, J., Liu, X., *et al.* (2013) Cardioprotective Effects of a Novel Hydrogen Sulfide Agent-Controlled Release Formulation of S-Propargyl-Cysteine on Heart Failure Rats and Molecular Mechanisms. *PLoS ONE*, **8**, e69205. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069205>
- [7] Tran, B.H., Huang, C., Zhang, Q., *et al.* (2015) Cardioprotective Effects and Pharmacokinetic Properties of a Controlled Release Formulation of a Novel Hydrogen Sulfide Donor in Rats with Acute Myocardial Infarction. *Bioscience Reports*, **35**, e00216. <https://doi.org/10.1042/BSR20140185>
- [8] Tran, B.H., Yu, Y., Chang, L., *et al.* (2019) A Novel Liposomal S-Propargyl-Cysteine: A Sustained Release of Hydrogen Sulfide Reducing Myocardial Fibrosis via TGF- β 1/Smad Pathway. *International Journal of Nanomedicine*, **14**, 10061-10077. <https://doi.org/10.2147/IJN.S216667>
- [9] Kan, J., Guo, W., Huang, C., *et al.* (2014) S-Propargyl-Cysteine, a Novel Water-Soluble Modulator of Endogenous Hydrogen Sulfide, Promotes Angiogenesis through Activation of Signal Transducer and Activator of Transcription 3. *Antioxidants & Redox Signaling*, **20**, 2303-2316. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5449>
- [10] 熊青卉. 硫化氢及其内源性供体 SPRC 对动脉粥样硬化斑块稳定性的影响[D]: [博士学位论文]. 上海: 复旦大学药学院, 2013.
- [11] 辛晓明. 炔丙基半胱氨酸(SPRC)对脑缺血再灌注损伤的保护作用及机制研究[D]: [博士学位论文]. 上海: 复旦大学药学院, 2016.
- [12] Yang, H., Mao, Y., Tan, B., *et al.* (2015) The Protective Effects of Endogenous Hydrogen Sulfide Modulator, S-Propargyl-Cysteine, on High Glucose-Induced Apoptosis in Cardiomyocytes: A Novel Mechanism Mediated by the Activation of Nrf2. *European Journal of Pharmacology*, **761**, 135-143. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.05.001>
- [13] Li, W., Ma, F., Zhang, L., *et al.* (2016) S-Propargyl-Cysteine Exerts a Novel Protective Effect on Methionine and Choline Deficient Diet-Induced Fatty Liver via Akt/Nrf2/HO-1 Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2016**, Article ID: 4690857. <https://doi.org/10.1155/2016/4690857>
- [14] Pan, L.L., Liu, X.H., Gong, Q.H., *et al.* (2011) S-Propargyl-Cysteine (SPRC) Attenuated Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Response in H9C2 Cells Involved in a Hydrogen Sulfide-Dependent Mechanism. *Amino Acids*, **41**, 205-215. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-0834-1>
- [15] Pan, L.L., Liu, X.H., Zheng, H.M., *et al.* (2012) S-Propargyl-Cysteine, a Novel Hydrogen Sulfide-Modulated Agent, Attenuated Tumor Necrosis Factor- α -Induced Inflammatory Signaling and Dysfunction in Endothelial Cells. *International Journal of Cardiology*, **155**, 327-332. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2011.12.059>
- [16] Sidhapuriwala, J.N., Hegde, A., Ang, A.D., *et al.* (2012) Effects of S-Propargyl-Cysteine (SPRC) in Caerulein-Induced Acute Pancreatitis in Mice. *PLoS ONE*, **7**, e32574. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032574>
- [17] Wu, W.J., Jia, W.W., Liu, X.H., *et al.* (2016) S-Propargyl-Cysteine Attenuates Inflammatory Response in Rheumatoid Arthritis by Modulating the Nrf2-ARE Signaling Pathway. *Redox Biology*, **10**, 157-167. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.08.011>
- [18] Yu, Y., Wang, Z., Ding, Q., *et al.* (2021) The Preparation of a Novel Poly(Lactic Acid)-Based Sustained H(2)S Releasing Microsphere for Rheumatoid Arthritis Alleviation. *Pharmaceutics*, **13**, 742. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050742>
- [19] Yu, Y., Wang, Z., Yang, Q., *et al.* (2021) A Novel Dendritic Mesoporous Silica Based Sustained Hydrogen Sulfide Donor for the Alleviation of Adjuvant-Induced Inflammation in Rats. *Drug Delivery*, **28**, 1031-1042. <https://doi.org/10.1080/10717544.2021.1921075>
- [20] Wang, M., Tang, W., Xin, H., *et al.* (2016) S-Propargyl-Cysteine, a Novel Hydrogen Sulfide Donor, Inhibits Inflammatory Hepcidin and Relieves Anemia of Inflammation by Inhibiting IL-6/STAT3 Pathway. *PLoS ONE*, **11**, e0163289. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163289>
- [21] Hansen, D.V., Hanson, J.E. and Sheng, M. (2018) Microglia in Alzheimer's Disease. *Journal of Cell Biology*, **217**, 459-472. <https://doi.org/10.1083/jcb.201709069>
- [22] Gong, Q.H., Wang, Q., Pan, L.L., *et al.* (2011) S-Propargyl-Cysteine, a Novel Hydrogen Sulfide-Modulated Agent, Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Spatial Learning and Memory Impairment: Involvement of TNF Signaling and NF- κ B Pathway in Rats. *Brain, Behavior, and Immunity*, **25**, 110-119. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.09.001>
- [23] Gong, Q.H., Pan, L.L., Liu, X.H., *et al.* (2011) S-Propargyl-Cysteine (ZYZ-802), a Sulphur-Containing Amino Acid, Attenuates Beta-Amyloid-Induced Cognitive Deficits and Pro-Inflammatory Response: Involvement of ERK1/2 and NF- κ B Pathway in Rats. *Amino Acids*, **40**, 601-610. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0685-1>
- [24] Ma, K., Liu, Y., Zhu, Q., *et al.* (2011) H₂S Donor, S-Propargyl-Cysteine, Increases CSE in SGC-7901 and Cancer-

- Induced Mice: Evidence for a Novel Anti-Cancer Effect of Endogenous H₂S? *PLoS ONE*, **6**, e20525.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020525>
- [25] Wang, W., Cheng, J., Zhu, Y. (2015) The JNK Signaling Pathway Is a Novel Molecular Target for S-Propargyl-Cysteine, a Naturally-Occurring Garlic Derivatives: Link to Its Anticancer Activity in Pancreatic Cancer *in Vitro* and *in Vivo*. *Current Cancer Drug Targets*, **15**, 613-623.
<https://doi.org/10.2174/1568009615666150602143943>
- [26] Qian, X., Li, X., Ma, F., *et al.* (2016) Novel Hydrogen Sulfide-Releasing Compound, S-Propargyl-Cysteine, Prevents STZ-Induced Diabetic Nephropathy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **473**, 931-938.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.03.154>
- [27] 夏叶. 内外源性硫化氢供体在子宫内膜异位症及其粘连中作用探究[D]: [博士学位论文]. 上海: 复旦大学药学院, 2014.