

MOŽNOSTI VYUŽITÍ HUPERZINU A V LÉČBĚ ALZHEIMEROVY NEMOCI

LUCIE DR TINOVÁ a MIROSLAV POHANKA

Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany
v Brně, Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové
miroslav.pohanka@gmail.com

Došlo 24.11.11, přepracováno 16.7.12, přijato 14.9.12.

Klíčová slova: acetylcholinesterasa, acetylcholinový receptor, alzheimerova nemoc, huperzin A, *N*-methyl-D-aspartátový receptor, lykopodiové alkaloidy, ZT-1, selagin

Obsah

1. Úvod
2. Huperzin A v tradiční čínské medicíně
3. *Huperzia serrata* (vranec pilovitý) – zdroj sekundárních metabolitů
4. Přírodní původ huperzinu A
5. Působení huperzinu A na organismus
6. Příprava huperzinu A pro terapeutické použití
7. Huperzin A v klinických studiích

1. Úvod

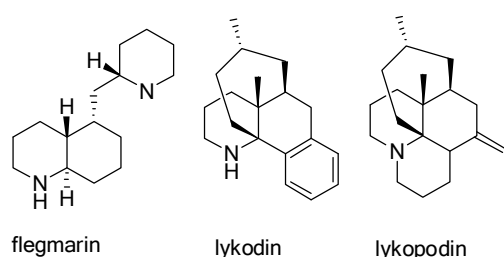
Alzheimerova nemoc (AD) je progresivní onemocnění postihující především starší část populace. Nicméně se jedná o jedno z celosvětově nejrozšířenějších neurodegenerativních onemocnění mozku. Odhaduje se, že v roce 2030 bude na 65,7 milionu lidí s nějakou formou demence, přičemž převažuje AD¹. Do patogeneze AD z hlediska molekulárního rozvoje patří zejména ztráta cholinergního přenosu a ubývání samotného neurotransmiteru acetylcholinu na neurosynapsích, vytváření neurotoxického beta-amyloidu a jeho ukládání ve formě amyloidního plaku². Na intracelulární úrovni dochází k rozvoji excitotoxicity spolu s hyperfosforylací tau-proteinu. Co však způsobuje výše zmíněné patologické změny, není známo. Zvažuje se řada rizikových faktorů, mezi něž patří zánětlivé procesy a genetická porucha na apolipoproteinu apo- ξ 4 podle Kim a spol.³. Oxidační stres a ztráta antioxidantní homeostázy, hraje nejspíš v patogenezi AD svou úlohu, a proto jsou pro potenciální léčivo antioxidantní vlastnosti jednoznačnou výhodou⁴. Jednoznačná etiologie nemoci je stále předmětem intenzivního výzkumu.

2. Huperzin A v tradiční čínské medicíně

Tradiční čínská medicína je celosvětově známý pojem a patří mezi tzv. alternativní způsoby léčeni, v dnešní době se tato oblast stává stále častěji vyhledávanou oblastí medicíny, díky multifunkčnímu účinku rostlinných výtažků na organismus, a umocňuje tím návrat k přírodnímu způsobu léčeni. Četná úskalí se objevují při jejich použití v praxi. Jsou to především legislativní problémy založené na samotném klinickém použití. Málo slibných účinných látek prošlo hlubším klinickým zkoušením, a proto nemohou být předepisovaná v běžné lékařské praxi. Tyto látky a jejich kombinace jsou ve formě potravních doplňků v některých východoasijských zemích (např. v Číně) a ve Spojených státech amerických běžně dostupné bez jakýchkoliv omezení. Právě proto v uvedené oblasti léčiv probíhá intenzivní výzkum a u nových látek se zjišťují chemické vlastnosti, biologická a farmakologická aktivita přírodních látek pocházejících z rostlinné i živočišné říše. Mezi tyto látky patří právě i huperzin A, též označovaný selagin.

3. *Huperzia serrata* (vranec pilovitý) – zdroj sekundárních metabolitů

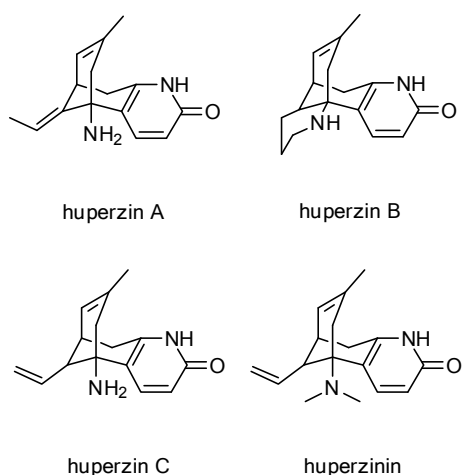
Českým názvem pro rostlinu *Huperzia serrata* (čínský Qian Ceng Ta, Jin Bu Huan) z čeledi *Huperziaceae* je vranec pilovitý. V čínské tradiční medicíně se používá stovky let a jsou zde s touto rostlinou bohatě zkušenosti. Alkaloid huperzin se nachází v rostlinách z řádu *Lycopodiophyta* (plavuně), třídy *Lycopodiopsida* (plavuňotvaré), čeledi *Huperziaceae*, *Lycopodiaceae* a dále pak v malých množstvích v rostlinách rodu *Selaginella*. Jedná se o skupinu plavuní charakterizovanou krátkými, vždyzelenými listy a kyjovitými strobilami (části rostlin podobné šišticím určené k nepohlanému rozmnožování). V čínské oblasti se sušené rostliny čeledi *Huperziaceae* podávají při teplotách, pohmožděninách, otocích, krevních ztrátách a schizofrenii⁵. Skupina *Lycopodia*, do které patří čeleď *Huperziaceae* (rod *Huperzia*, *Phlegmarius*), čeleď *Lycopodiaceae* a rod *Selaginella*, zahrnuje více jak 500 rostlinných druhů. Rostliny z těchto dvou čeledí a rodu *Selaginella* obsahují alkaloidy rostlin rodu *Lycopodium*, jejichž základní strukturální vzorec obsahuje 16 uhlíků a vychází z chinolizinu, pyridinu nebo α -pyridonu. Lykopodiové (rostliny rodu *Lycopodium*) alkaloidy se dělí na 4 hlavní skupiny, a to skupinu lykopodinovou, lykodinovou, fawcettiminovou a smíšenou⁶. Prvním objeveným alkaloidem těchto rostlin je lykopodin. Skupiny lykopodiových alkaloidů jsou patrné z obr. 1.



Obr. 1. Tři hlavní skupiny lykopodiových alkaloidů

4. Přírodní původ huperzinu A

Huperzin A (viz obr. 2) je tedy lykodinový alkaloid nacházející se v rostlinách čeledi *Huperziaceae*, *Lycopodiaceae* a rodu *Selaginella*. Největší zastoupení huperzinu A je ve vrancích *Huperzia serrata*, *H. herteriana* a *H. ovatifolia*, a právě tyto rostliny jsou sbírány pro izolaci účinné látky⁷. Huperzin se vyskytuje v mnoha modifikacích, a to jako huperzin A, huperzin B, C,D-W (cit.⁸). Obsahově převažující formou je huperzin A, méně zastoupeným je pak huperzin B. Obě látky mohou být v rostlině obsaženy současně s typicky převažujícím zastoupením huperzinu A. Zatímco huperzin B má sice širší terapeutický index než huperzin A, je méně selektivní a jeho afinita k AChE je mnohem nižší než pro huperzin A. Samotný huperzin A se vyskytuje ve dvou optických isomerech (–)-huperzin A a (+)-huperzin A. Terapeuticky aktivní, s téměř 7krát větší schopností inhibovat AChE, je enantiomer (–)-huperzin A, který se získává z rostlinného materiálu⁹. Organická synté-



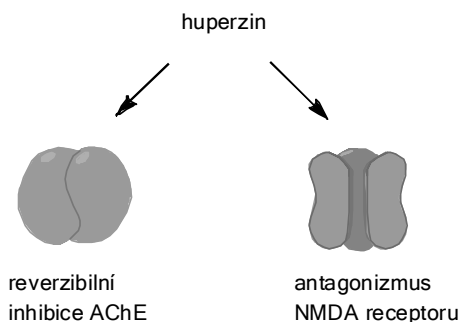
Obr. 2. Huperzin a jeho strukturální modifikace

za (–)-isomeru však není plně zvládnuta. Vzhledem k nižší ceně (jednoduchá organická syntéza) byl v mnohých studijních testování i racemát (±)-huperzin A.

5. Působení huperzinu A na organismus

Na místo účinku se huperzin A dostává pomalým prostupem přes hematoencefalickou bariéru a vykazuje vysokou specifitu k AChE. V těle působí jako stabilní, reverzibilní inhibitor AChE vázající se do periferního anionického místa. V organismu se AChE vyskytuje v několika formách. V mozku savců převládá tetramerní G4 (10S) forma AChE spolu s malým množstvím monomerní G1 (4S) formy AChE. Bylo zjištěno, že huperzin A selektivně inhibuje G4 formu AChE, zatímco ostatní používaná léčiva při léčbě Alzheimerovy choroby inhibují rovněž G1 formu AChE (cit.¹⁰). Inhibitory AChE zmírňují symptomatické projevy Alzheimerovy nemoci a zpomalují progresi onemocnění. V porovnání s ostatními inhibitory acetylcholinesteras (AChE) je huperzin A 2–8krát schopnější zvýšit hladinu acetylcholinu (neurotransmitter metabolizující se pomocí AChE) v cerebrálním kortexu a tento zmíněný efekt je navíc déletrvající, než bylo prokázáno pro současná léčiva AD působící jako IChE: rivastigmin a donepezil¹¹. Působení organismu na organismus je přehledně ukázáno v obr. 3.

Popsány jsou též antioxidační vlastnosti huperzinu A. Experimentálně bylo prokázáno zmírnění apoptických procesů indukované neurotoxickým beta-amyloidem¹². Bylo zjištěno, že mozková tkáň vystavená beta-amyloidu produkuje ve zvýšené míře reaktivní formy kyslíku, dochází v ní k poruše elektronového přenosu v mitochondriích a následné dysfunkci dýchacího řetězce a glukosového metabolismu s opětovným negativním efektem na hladinu reaktivních forem kyslíku. Bylo prokázáno, že huperzin A podle dosavadních studií na buněčných liniích NG108-15 PC12 zmírňuje beta-amyloidem způsobenou toxicitu¹³. Mimo jiné byla u huperzinu popsána schopnost působit jako antagonistu *N*-methyl-D-aspartátového receptoru, jehož zvýšené dráždění glutamátem při neurodegene-



Obr. 3. Receptory pro vazbu huperzinu A

rativních onemocněních, způsobuje excitotoxicitu a následnou buněčnou smrt¹⁴.

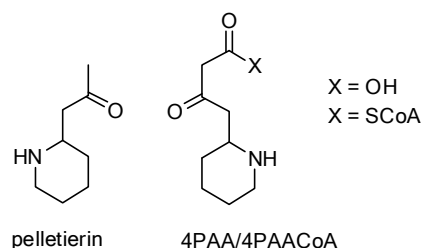
Huperzinu A se připisují i další příznivé účinky na organismus: ochrana před volnými radikály, regenerace a růst mozkových buněk po hypoxii nebo po mozkové ischemii¹⁵. Testy na laboratorních zvířatech rovněž poukazují na prokazatelné zvýšení hladiny nízkomolekulárních antioxidantů po aplikaci huperzinu A (cit.¹⁶). Díky své široké paletě příznivých účinků ovlivňující nervovou soustavu se huperzin A stává vhodným kandidátem pro léčbu AD, schizofrenie a také jako profylaktikum při otravách nervově paralytickými látkami^{17,18}. Poukazuje na to také fakt, že v Číně, odkud *H. serrata* pochází, je huperzin A léčivem první volby v léčbě AD (cit.¹⁹). Na druhou stranu je třeba prokázané terapeutické účinky hodnotit kriticky. V tomto směru bude rozhodující ukončení a vyhodnocení níže zmíněných probíhajících klinických studií.

6. Příprava huperzinu A pro terapeutické použití

Jak už bylo řečeno, přírodním zdrojem lykopodiových alkaloidů včetně huperzinu A, jsou výhradně z rostlin čeledi *Huperziaceae*, *Lycopodiaceae* a rod *Selaginella*. Jedná se o širokou skupinu rostlin vyskytující se téměř po celém světě. Samotná *Huperzia serrata* je rozšířena od Indie po jihovýchodní Asii. Získávání huperzinu A je náročný proces, jelikož rostliny *H. serrata* obsahují jen 0,007 % huperzinu A (cit.²⁰). Další nevýhodou je obtížné vytváření vhodných podmínek pro pěstování v kombinaci s velmi pomalým růstem a pozdní změnou v dospělosti.

Za běžných podmínek rostlina dospívá nejdříve po 12 až 15 letech, a následně žije kolem 20 let. Výtrusy této rostliny potřebují dlouhou dobu klidu. Po 6 letech z výtrusu vznikne prothallium, které roste jen tehdy, spojí-li se s vhodnou houbou a rozvine se endotrofní mykorrhiza²¹. Nejdříve po dvanáctém roce života rostliny se na jejích koncích vytvoří pohlavní orgány a tato rostlina se poprvé rozmnoží. Vyprodukuje gametofyty schopné založení další generace této obtížně pěstované rostliny. Nicméně rostlina se může rozmnožovat i vegetativně pomocí odpadlých pupenů listů, které samovolně ve vhodných podmínkách zakoření. Laboratorní pokusy o vegetativní množení jsou však velmi málo úspěšné a u většiny vědců není v tomto směru ani příliš optimistické očekávání. Kvůli zmíněným nezdarům v pěstování se problematikou kultivace zabývá mnoho biologů, mnozí odborníci věří, že daleko schůdnějším řešením bude cesta biosyntézy huperzinu A za pomoci aplikace izolovaných jednotlivých rostlinných enzymů z matečných rostlin a jejich následná exprese na buněčných liniích.

Ve vrancích byl objeven pouze jeden enzym podílející se nejspíš na biosyntéze huperzinu A, a to lysindekarboxylasa²². Prvním krokem k biologické tvorbě huperzinu A je samotná dekarboxylace lysinu tímto enzymem za vzniku kadaverinu. V rostlinné buňce následuje sled reakcí, kde dochází k připojení malonyl-CoA na $\Delta 1$ -piperidein a dvěma souběžným dekarboxylacím vedoucím přes sloučeniny

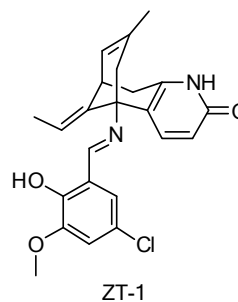


Obr. 4. Nejdůležitější prekurzory pro syntézu huperzinu A

v odborné literatuře označované jako 4PAA/4PAASCoA k důležitému meziproductu pelletierinu (obr. 4), který je považován za prekurzor v anabolismu lykopodiových alkaloidů včetně huperzinu A (cit.²³). Z těchto dvou prekurzorů několika oxidacemi, uzavíráním a otevíráním cyklu vznikají chtěné alkaloidy, mimo jiné flegmarin, lykodan, lykodin, huperzin B, huperzin A a huperzinin, který sled reakcí uzavírá.

7. Huperzin A v klinických studiích

V Číně proběhla dvojitě zaslepená klinická studie, která prokázala, že huperzin A je účinná a bezpečná látka pro dlouhodobou léčbu AD (cit.²⁴). Dle studie byly účinky zaznamenány při dávkování 1 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Sloučenina byla podávána jednou až dvakrát denně. Po podání trval prokázaný cholinergní efekt po dobu nejméně 6 hodin (cit.²⁵). Na čínském trhu existuje huperzin A pod obchodní značkou Focus Fast, který obsahuje mimo již zmíněný huperzin A i dalších 38 podpůrných složek. Z tohoto důvodu bude pro další perspektivu důležité vyhodnocení probíhající evropské studie, v rámci které je aplikována jediná účinná látka a lze tedy biologický efekt jednoznačně přisoudit konkrétní látce. Jedná se o klinickou studii s látkou ZT-1 (proléčivo – Schiffova báze huperzinu A; viz obr. 5). Dle preklinického zkoumání lze říci, že sloučenina ZT-1 má stejnou, ne-li vyšší biologickou dostupnost v jednotlivých



Obr. 5. Právě zkušební prekurzor ZT-1

mechanismech působení jako samotný huperzin A (cit.²⁶). Aktuálně je již uzavřena a vyhodnocena preklinická fáze testování založená na podávání látky ZT-1 opicím, u nichž byl vytvořen deficit acetylcholinu pomocí skopolaminu²⁷. V současnosti probíhá klinická fáze zkoušení perorální cestou s pacienty s lehkou a středně těžkou AD a s nadějnými předběžnými výsledky²⁸. Dále pak první fáze klinického zkoušení látky ZT-1 podávanou ve formě subkutánního implantátu²⁹. Význam huperzinu A jako léčiva AD se pravděpodobně do budoucna zvýší i díky faktu, že některé modelové experimenty poukázaly na zmírnění ukládání amyloidních plaků po aplikaci huperzinu A (cit.³⁰). Zmíněný efekt je způsoben sterickým obsazením periferního anionického místa AChE, které pravděpodobně hraje jistou roli v progresi AD cestou zrychlení ukládání amyloidních plaků³¹.

Autoři děkují Grantové agentuře České republiky za projekt P303/11/1907.

LITERATURA

- Weiner M. W., Aisen P. S., Jack C. R. Jr, Jagust W. J., Trojanowski J. Q., Shaw L., Saykin A. J., Morris J. C., Cairns N., Beckett L. A., Toga A., Green R., Walter S., Soares H., Snyder P., Siemers E., Potter W., Cole P. E., Schmidt M.: *Alzheimers Dement.* 6, 202 (2010).
- Wollen K. A.: *Altern. Med. Rev.* 15, 223 (2010).
- Kim J., Basak J. M., Holtzman D. M.: *Neuron* 63, 287 (2009).
- Guglielmotto M., Giliberto L., Tamagno E., Tabaton M.: *Front. Aging Neurosci.* 2, 1 (2010).
- Ma X., Tan C., Zhu D., Gang D. R.: *J. Ethnopharmacol.* 8, 54 (2006).
- Ayer W. A., Trifonov L. S.: *Lycopodium Alkaloids*. Academic Press, San Diego 1994.
- Bai D. L.: *Pure Appl. Chem.* 79, 469 (2007).
- Tan Ch., Ma X., Chen G., Zhu D.: *Can. J. Chem.* 81, 315 (2003).
- Tang X. C., Kindel G. H., Kozikowski A. P., Hanin I.: *J. Ethnopharmacol.* 44, 147 (1994).
- Bon S., Vigny M., Massoulie J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76, 2540 (1979).
- Wang R., Tang X. C.: *Neurosignals* 14, 71 (2005).
- Zhang H. Y., Yan H., Tang X. C.: *Cell. Mol. Neurobiol.* 28, 173 (2008).
- Zhang H. Y., Liang Y. Q., Tang X. C., He X. C. Bai D. L.: *Neurosci. Lett.* 317, 143 (2002).
- Xiao X. Q., Zhang H. Y., Tang X. C.: *J. Neurosci. Res.* 67, 30 (2002).
- Zhang H. Y., Zheng C. Y., Yan H.: *Chem. Biol. Interact.* 175, 396 (2008).
- Pohanka M., Hrabínova M., Zemek F., Drtinová L., Bandouchova H., Pikula J.: *Neuroendocrinol. Lett.* 32, 101 (2011).
- Bajgar J., Fusek J., Kassa J.: *Curr. Med. Chem.* 16, 2977 (2009).
- Ha G. T., Wong R. K., Zhang Y.: *Chem. Biodiversity* 8, 1189 (2011).
- Wu T. Y., Chen C. P., Jinn T. R.: *Taiwan J. Obstet. Gynecol.* 50, 131 (2011).
- Ma X., Gang D. R.: *J. Ethnopharmacol.* 113, 15 (2007).
- Freeberg J. A., Wetmore R. H.: *Phytomorphology* 7, 204 (1957).
- Ma X., Gang D. R.: *Nat. Prod. Rep.* 21, 752 (2004).
- Heathcock C. H., Kleinman E. F., Binkley E. S.: *J. Am. Chem. Soc.* 104, 1054 (1982).
- Zhang R. W., Tang X. C., Han Y. Y., Sang G. W., Zhang Y. D., Ma X. Y.: *Acta Pharmacol. Sin.* 12, 250 (1991).
- Xu S. S., Cai Z. Y., Qu Z. W., Yang R. M., Cai Y. L., Wang Q. G.: *Acta Pharmacol. Sin.* 16, 391 (1995).
- Li Y. L., Gross M. L.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 18, 65 (2004).
- Zhu D. Y., Tan C. H., Li Y. M.: *Medical Chemistry of Bioactive Natural Products*. Wiley-Interscience, Hoboken 2006.
- Singh H. B., Singh M. K.: *NeBio* 1, 27 (2010).
- Orgogozo J. M., Tamches E., Wilkinson D., Yancheva S. T., Gagliano C., Groscurin P., Porcher H., Scalfaro P.: *Neurobiol. Aging* 27, S16 (2006).
- Pohanka M.: *Biomed. Pap.* 155, 219 (2011).
- Gao X., Zheng C. Y., Yang L., Tang X. C., Zhang H. Y.: *Free Radical Biol. Med.* 46, 1454 (2009).

L. Drtinová and M. Pohanka (Faculty of Military Health Sciences, University of Defense, Hradec Králové): Potentials of Huperzine A Use in Alzheimer Disease Treatment

Huperzine A, a mixture of compounds suitable for pharmaceutical purposes, has been used as an active substance in traditional Chinese medicine. The compounds mainly rank among lycopodin alkaloids from the plant *Huperzia serrata* and other plants from the families *Huperziaceae* and *Lycopodiaceae* and the *Selaginella* genus. In these families huperzine A prevails. The compounds are suitable for treatment of the Alzheimer disease (AD) by inhibition of acetylcholinesterase and antagonizing NMDA *N*-methyl-D-aspartate receptors. Currently clinical tests of huperzine A in the AD treatment are performed. The aim of the present review is to summarize basic facts about huperzine A compounds and discuss their suitability for the therapy.