

靶向瞬时受体电位通道天然调节剂的研究进展

曹南开¹, 吕海宁¹, 卫宁宁², 李军¹, 屠鹏飞¹, 王克威^{2*}, 姜勇^{1*}

(1. 北京大学药学院, 天然药物与仿生药物国家重点实验室, 北京 100191; 2. 青岛大学药学院, 山东 青岛 266021)

摘要: 超家族瞬时受体电位 (transient receptor potential, TRP) 通道是存在于细胞膜上的非选择性阳离子通道, 28 个成员分为 7 个亚家族, 广泛分布于人体的组织器官内, 作为生物感受器参与调节视觉、听觉、味觉、痛觉和触觉等功能。到目前为止, 从自然界中已发现 TRP 通道天然调节剂有 100 余种, 来源于 70 余种动植物。本文系统综述了这些天然调节剂的来源、结构类型及其作用特点和机制, 旨在为靶向 TRP 通道天然调节剂的发现及创新药物研究提供参考。

关键词: 瞬时受体电位通道; 天然调节剂; TRPV; TRPA; TRPM; TRPC; 辣椒素

中图分类号: R931.7; Q71

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 05-0673-12

Natural modulators of transient receptor potential channels

CAO Nan-kai¹, LÜ Hai-ning¹, WEI Ning-ning², LI Jun¹, TU Peng-fei¹, WANG Ke-wei^{2*}, JIANG Yong^{1*}

(1. State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China; 2. School of Pharmacy, Qingdao University, Qingdao 266021, China)

Abstract: Transient receptor potential (TRP) channels are non-selective and cation-permeable channels in the cell membrane, widely distributed in tissues and organs of human body. As biosensors, TRP channels can regulate the functions of vision, hearing, taste, pain, and touch, etc. So far, more than 100 different kinds of natural modulators targeting TRP channels have been identified from 70 species of plants or animals. In this review article, we attempt to summarize the effect of known natural active compounds on TRP channels with focuses on their sources, structures, action features and mechanisms. Hopefully this review can provide some useful information that can facilitate discovery of more specific natural modulators, and development of innovative therapeutic drugs targeting TRP channels.

Key words: transient receptor potential channel; natural modulator; TRPV; TRPA; TRPM; TRPC; capsaicin

瞬时受体电位 (transient receptor potential, TRP) 通道是存在于细胞膜上的非选择性阳离子通透的离子通道。迄今在哺乳动物中, 超家族 TRP 通道有 28 个成员^[1]。根据其氨基酸序列的同源性差异, TRP 通道家族可分为 7 个亚族, 分别为 TRPA (ankyrin)、TRPC (canonical)、TRPM (melastatin)、TRPML

(mucolipin)、TRPN (NOMPC)、TRPP (polycystin) 和 TRPV (vanilloid)^[2]。TRP 离子通道在哺乳动物体内分布较为广泛, 与感觉信息传递 (如视觉、痛觉和温度觉等)、调节细胞内 Ca²⁺平衡及生长发育等生理活动密切相关。TRP 通道基因突变导致多种系统疾病的发生, 如 TRPC6 有 6 种基因突变都与局灶性节段性肾小球硬化症的发生有关; TRPM1 有 14 种基因突变与先天性的夜盲症相关; TRPM2 和 TRPM7 的基因突变与肌萎缩性脊髓侧索硬化症相关; TRPM6 的基因突变与低镁继发性低钙血症相关; TRPML1 的基因突变与 IV 型粘多糖症相关; TRPP2 的基因突变与多囊性肾

收稿日期: 2016-12-14; 修回日期: 2017-02-07.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81473106, 81222051).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-82802719, E-mail: yongjiang@bjmu.edu.cn;

Tel: 86-532-82991070, E-mail: wangkw@qdu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2016-1187

病相关^[3]; TRPA1 的基因突变与一种家族偶发性的疼痛综合症有关; TRPV3 的基因突变与奥姆斯特德综合症 (Olmsted syndrome) 有关; TRPV4 的基因突变与人脊椎干骺端发育不良、肩胛肌脊髓性肌萎缩、2C 型腓骨肌萎缩症和末梢神经痛相关^[4]。因此, 了解 TRP 离子通道的生物学特征及已发现的天然调节剂的作用机制, 对发现更为有效、特异的天然药物分子用于治疗疾病和提高人类健康水平具有重要的意义。

纵观 TRP 通道及其调节剂的研发历程不难看出, 天然活性产物作为工具在 TRP 通道的发现方面发挥了重要作用。一些具有芳香、辛辣及刺激性的天然小分子化合物, 如辣椒素、薄荷醇、大蒜素、胡椒碱和姜黄素等已被证实是 TRP 通道的重要调节剂, 特别是辣椒素的发现, 极大推动了 TRPV1 通道蛋白的功能研究及其他同源通道蛋白的发现。近年来, 解析的 TRPV1 通道蛋白结构显示其为四聚体 (图 1a), 通道孔区位于 4 个对称亚基形成的结构正中, 决定离子的选择性和转运速度。当离子和小分子化合物进入孔区时, 能影响离子流的方向。辣椒素结合并激动 TRPV1 时, 高门几乎没有结构的变化, 而是由低门打开产生离子流 (图 1b)^[5,6]。但是, 植物或动物毒素如 RTX 或 DkTx 激活 TRPV1 时, 高门和低门都发生了极大的结构变化。目前, 辣椒素作为治疗带状疱疹后的神经痛的药物研发已进入 III 期临床试验^[7]。

鉴于天然产物在 TRP 通道调控方面发挥的重要作用, 本文试图综述 TRP 通道天然调节剂的研究进展, 并归纳总结不同类型的天然产物对 TRP 通道各亚型的选择性及作用强度, 旨在为更多天然调节剂的发现及创新药物研究提供参考与指导。

1 TRPV 通道

哺乳动物的 TRPV 亚族包含 6 个成员, TRPV1~6。

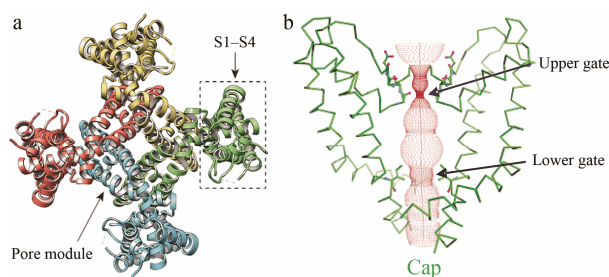


Figure 1 The cryo-electron microscopy structure and dual-gate diagram of rTRPV1^[5,6]. a: Bottom view focusing on transmembrane core, including S1-S4 and S5-P-S6 pore modules. b: Solvent-accessible pathway along the pore mapped using the HOLE program for capsaicin-bound TRPV1 structure. There is no change in the selectivity filter that was named after upper gate, whereas the lower gate is markedly expanded

TRPV1~4 通道为非选择性阳离子通道, 在感觉神经元中表达, 对温度、渗透压及机械力的变化较为敏感, 可传递热、痛等外界刺激信号; TRPV5 和 TRPV6 则对 Ca^{2+} 有较高的选择性, 对温度的敏感性较低, 与 TRPV1~4 的同源性较低^[8]。

1.1 TRPV1

TRPV1 通道又称为辣椒素受体, 辣椒素等化学成分、 $\text{pH} < 6$ 、温度 $> 42^\circ\text{C}$ 及 P 物质 (substance P, SP) 等均可激活该通道, 引起阳离子如 Ca^{2+} 内流、 K^+ 外流, 从而导致 SP 和降钙素基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP) 的释放, 引起伤害性疼痛感受^[9]。包括天然产物在内的许多 TRPV1 通道调节剂已被证明对多种动物模型的疼痛有效缓解作用, TRPV1 已成为开发镇痛药物的重要靶标^[10]。

1.1.1 辣椒素及其类似物 辣椒素 (capsaicin), 又名辣椒碱, 为茄科辣椒属植物红辣椒 (*Capsicum annuum*) 的活性成分, 有镇痛抗炎、促进食欲和抗菌杀虫等作用^[11]。辣椒素可选择性激活 TRPV1 通道, 引发持续的 Ca^{2+} 内流, 该作用可被 TRPV1 的竞争性拮抗剂辣椒平 (capsazepine) 阻断。辣椒素可使 TRPV1 受体处于脱敏状态或使神经末梢退化, 从而缓解疼痛^[12]。TRPV1 的脱敏与依赖于 PKA (protein kinase A), PKC (protein kinase C), CaMKII (Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II) 的磷酸化作用、磷酸酶催化的去磷酸化作用、PIP2 (phosphatidylinositol biphosphate), ATP (adenosine triphosphate) 及糖基化作用等因素相关^[13-15]。运用分子生物学和电生理手段确定, Y511 和 S512 位 (大鼠源 TRPV1 氨基酸序列) 是影响辣椒素与 TRPV1 通道结合的重要位点^[16]。近期也有研究认为, T551 和 Y571 (小鼠源 TRPV1 氨基酸序列) 两个位点对辣椒素与 TRPV1 的结合影响较大^[17]。Elokely 等^[18]通过电子云密度图的分析 and 功能学实验更精确地呈现了辣椒素与 TRPV1 结合的模式, Y511、E570 和 I569 形成的亚结合口袋较深, 可容纳辣椒素, 功能学实验表明 L515、L553、Y554、I573 和 F587 也是辣椒素结合口袋的重要组成。

胡椒碱 (piperine) 和丁香子酚 (eugenol) 与辣椒素结构相近, 具有相似的属性及作用。胡椒碱对大鼠 TRPV1 有强效的激活作用, 最大效应为辣椒素的 2 倍, 该作用可被辣椒平及 TRPV1 的非竞争性拮抗剂钌红 (ruthenium red) 阻断。相较于辣椒素, 胡椒碱使 TRPV1 通道脱敏的效果更为明显^[19]。

辣椒素酯 (capsiate) 属于类辣椒素类物质, 存在于甜椒中, 无辛辣味。体外研究表明, 辣椒素酯可激活

表达在人胚肾 (human embryonic kidney, HEK)-293 细胞中的 TRPV1 通道, 且与辣椒素的效力非常相似。辣椒素酯亦有减肥作用, 有研究表明辣椒素酯可增加野生型 TRPV1 小鼠的能量代谢, 而 TRPV1 基因敲除的小鼠不会有此表现^[20]。在美国和日本等国家, 已有关于辣椒素酯制成的控制体重的产品在市场销售^[21]。

1.1.2 植物毒素类物质 树脂毒素 (resiniferatoxin, RTX) 和亭牙毒素 (tinyatoxin, TNX) 为该类物质的代表性成分, 是目前已知的、活性最强的 TRPV1 通道激动剂^[1]。RTX 存在于植物树脂大戟 (又称胶大戟, *Euphorbia resinifera*) 中。树脂大戟在民间常用于医治牙痛及慢性疼痛^[22]。RTX 通过激活 TRPV1 受体, 引发持续的 Ca^{2+} 内流, 导致神经末梢退化并阻断痛感的传递, 从而减轻疼痛^[23]。对 TRPV1 结构中 S4 上的 M547 进行点突变, 电生理实验表明该位点对于 RTX 与 TRPV1 的结合至关重要。在 RTX 的头部引入卤素原子碘, 会使改造后的 RTX 变成 TRPV1 竞争性的抑制剂碘代树脂毒素 (iodoresiniferatoxin, I-RTX)。此外, RTX 还可影响体温调节、缓解神经源性炎症^[24], 鞘内应用 RTX 可缓解持续性疼痛 (如晚期癌痛)^[25]。因其与 TRPV1 高度的亲和性, 氙代 RTX ($[^3\text{H}]$ -RTX) 常用于配体结合实验, 用于体外检测其他配体与 TRPV1 受体的亲和力^[26]。

1.1.3 动物毒液 千里达老虎尾蜘蛛 (*Psalmopoeus cambridgei*) 中的毒液 VaTx1、VaTx2 和 VaTx3^[27], 对 TRPV1 的激活能力为 $\text{VaTx3} > \text{VaTx2} > \text{VaTx1}$ 。VaTx3 对 TRPV1 有很强的选择性, 对 TRPV2、TRPV3 和 TRPV4 无激活作用。塔兰图拉毒蛛 (*Tarantula*) 中的毒液 DkTx 为 TRPV1 受体激动剂^[28], DkTx 和 TRPV1 的结合具有很高的亲和力及不可逆性, 和其他毒素相比, 洗脱 1~2 min 之后激活电流才会减小, 洗脱 15 min 后, 电流减小 20% 左右; DkTx 激活的电流可被钉红抑制。通过构建嵌合体研究发现, DkTx 主要与 TM5 和 TM6 之间的胞外区结合, 作用于外孔区, 且每个 DkTx 都与独立的亚基相互作用。漏斗网蜘蛛 (*Agelenopsis aperta*) 中的毒液 agatoxin 489 和 agatoxin 505 可抑制 TRPV1 受体^[29]。最近有研究者从中国红头蜈蚣 (Chinese red-headed centipede) 中发现了一种新型毒素 RhTx, 为 27 个氨基酸组成的多肽, 可强效激活 TRPV1 受体, 引发剧烈疼痛。RhTx 在正常体温下, 通过降低 TRPV1 的热激活温度阈值引发通道的巨大激活效应。RhTx 与 TRPV1 的相互作用是通过其富集电荷的 C 端发挥作用, 并且毒素紧密结合 TRPV1 的孔区螺旋 (pore helix) 和转角结构 (turret), 导致

通道的激活, 不同于辣椒素激活 TRPV1 的途径^[30]。

1.1.4 姜属植物成分 生姜 (*Zingiber officinale*) 中存在一些可激活 TRPV1 及 A1 通道的活性成分, 如姜辣素 (6-, 8-, 10-gingerols)、姜烯酚 (6-, 8-, 10-shogaols) 及姜油酮 (zingiberone)。它们与辣椒素类化合物结构相近, 均含香草基, 羟基对位被长链的脂肪酰基取代。它们在 TRPV1 表达的细胞中可引起内向电流及胞内 Ca^{2+} 浓度升高^[31]。姜油酮在生姜中含量较少, 加热后可由姜辣素转化而来; 姜烯酚由姜辣素脱水而来, 脱水后对 TRPV1 激活能力更强^[32]。

1.1.5 吴茱萸属植物成分 吴茱萸 (*Evodia rutaecarpa*) 为常用中药, 有散寒止痛、降逆止呕之效^[33]。通过 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 摄取实验研究表明, 吴茱萸碱 (evodiamine) 是 TRPV1 的完全激动剂, 能被辣椒平抑制。在 TRPV1 转染的中国仓鼠卵巢 (Chinese hamster ovary, CHO) 细胞中, 吴茱萸碱可抑制 $[^3\text{H}]$ -RTX 与受体的结合, 还可促进细胞对 Ca^{2+} 的摄取^[34]。在一定剂量范围内, 给小鼠皮下注射吴茱萸碱会导致剂量依赖性的疼痛反应 (舔爪行为), 而高剂量的吴茱萸碱可使感觉神经元脱敏, 从而产生持续性的抗伤害性疼痛作用^[35]。吴茱萸碱味道并不辛辣, 因而有学者认为吴茱萸碱的镇痛活性可能还与除 TRPV1 通道外的其他靶点有关^[36]。

1.1.6 大麻素类成分 大麻素类化合物 (cannabinoids) 是植物大麻 (*Cannabis sativa*) 中特有的含有烷基和单萜分子结构的一类次生代谢产物, 目前已分离鉴定出 70 余种^[37]。大麻二酚 (cannabidiol) 是较明确的 TRPV1 受体激动剂, 在 TRPV1 表达的 HEK-293 细胞中, 可抑制 $[^3\text{H}]$ -RTX 与受体的结合, 其镇痛作用可能与 TRPV1 通道有关^[38]。

1.1.7 人参皂苷类成分 动物实验表明人参总皂苷 (ginsenosides) 可抑制由辣椒素诱发的疼痛反应。体外研究表明, 人参总皂苷可抑制背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 中由辣椒素诱导的电流, 而在表达 TRPV1 的爪蟾卵母细胞中, 人参总皂苷可增强该电流。这提示人参总皂苷对 TRPV1 受体有激动剂和抑制剂的双向调节作用^[39]。其中, 人参皂苷 Rg1 为 TRPV1 受体阻断剂, 具有与辣椒平相似的作用。在 TRPV1 基因转染的细胞中, 人参皂苷 Rg1 可阻断由辣椒素及氢质子诱导的 Ca^{2+} 内流。在角质形成细胞中, 人参皂苷 Rg1 可抑制由辣椒素诱导的环氧合酶-2 (COX-2) 和核转录因子 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 的表达, 以及前列腺素 E_2 (PGE_2) 和白介素 (IL-8) 的释放^[40], 这可能为人参皂苷 Rg1 发挥抗炎镇痛作用的基础。

1.1.8 香豆素类化合物 植物白芷 (*Angelica dahurica*)

中的欧前胡素 (imperatorin) 为 TRPV1 通道的部分激动剂。欧前胡素激动的电流可被 TRPV1 的特异性抑制剂 JNJ-17203212 所阻断。点突变研究表明, 其激活作用与 Y511A/S512A 位点相关。欧前胡素能够加速 TRPV1 的脱敏, 并且延长 TRPV1 从脱敏中恢复, 从而抑制辣椒素及福尔马林诱导的伤害性疼痛反应。此外, 欧前胡素还可增强酸对 TRPV1 的激活作用^[41]。欧前胡素作为活性先导化合物, 提示呋喃香豆素类成分可能为一类新型的 TRPV 通道调节剂, 具潜在的镇痛治疗效果。

本课题组从翼叶九里香 (*Murraya alata*) 中分离得到了一种新型香豆素 muralatin L, 可选择性激活过表达于 HEK-293 细胞的 TRPV1 受体并激活 DRG 神经元中内源性表达的 TRPV1 通道。对 Y511 (人源) 做定点突变确认, muralatin L 与 Y511 形成的氢键对于该化合物和 TRPV1 的结合起着关键性作用。动物实验表明, muralatin L 可改善由福尔马林和醋酸诱导的小鼠疼痛模型, 而对 TRPV1 基因敲除的小鼠模型无效^[42]。

1.1.9 不饱和二萜萜烯类物质 该类成分大多为结构中含有 α, β -二萜官能团的萜烯类成分。目前已发现水蓼 (*Polygonum hydropiper*) 中的水蓼二醛 (polygodial)、绒白乳菇 (*Lactarius vellereus*) 中的异绒白乳菇醛 (isovelleral)、囊荷 (*Zingiber mioga*) 中的 miogodial 及 miogatrial 等 16 种天然产物可激活 TRPV1 通道^[43-46]。

1.1.10 三异戊二烯基酚类物质 该类化合物具有共同的结构特点, 即 3 个异戊二烯基首尾相连成链状结构 (或成环), 取代 (多羟基) 苯酚上的一个氢原子。目前已知 4 种该类化合物可选择性作用于 TRPV1 通道: 绵地花菌 (*Albatrellus ovinus*) 中的 scutigeral 为 TRPV1 受体的激动剂^[47], 而地花菌 (*Albatrellus confluens*) 中的奇果菌素 (grifolin)、盖多孔菌提取物 (neogrifolin) 及地花菌素 (albaconol) 可阻断 TRPV1 受体^[48]。

1.1.11 其他 香草醛 (vanillin)^[49]、香芹酚 (thymol)、愈创木酚 (guaiacol)、樟脑 (camphor) 及百里香酚 (carvacrol) 等都激活 TRPV1 通道^[50], 而 α -菠菜甾醇 (α -spinasterol)^[51]、毒胡萝卜素 (thapsigargin)^[52] 及育亨宾 (yohimbine)^[53] 等则为 TRPV1 受体的阻断剂。

1.2 TRPV2

TRPV2 通道对温度敏感性不高, 能被高温 (>52 °C) 激活。近期报道的全长 TRPV2 冷冻电镜结构显示, TRPV2 的孔区上方和下方各有一个门, 与关闭的 TRPV1 通道相比, TRPV2 的高门和低门更宽^[54]。大麻素类化合物可以激活 TRPV2 通道。令人至幻成瘾

的四氢大麻酚 (Δ^9 -tetrahydrocannabinol) 是首个被发现的 TRPV2 的天然激活剂, 其存在于植物中可防止植物受到病原体及食草动物的伤害, 还可有效地保护紫外线的过度辐射。其对 TRPV2 通道的激活作用可被钌红阻断^[55]。大麻二酚和四氢次大麻酚 (tetrahydrocannabivarin) 也是较强的 TRPV2 受体激动剂, 大麻酚酸 (cannabinolic acid) 可激活 TRPV2 受体, 但活性较低^[56]。最近有研究表明大麻素类化合物激活 TRPV2, 促进 Ca^{2+} 内流及药物的吸收, 与卡莫司汀 (carmustine) 协同发挥细胞毒作用, 诱导胶质瘤细胞凋亡^[57]。

1.3 TRPV3

TRPV3 亚族与 TRPV1 的同源性较高, 在 32~39 °C 的温度刺激中被激活, 在皮肤、舌和鼻等处高度表达^[58]。许多单萜类成分为 TRPV3 通道激动剂, 具有环状结构和羟基的单环单萜类成分对 TRPV3 通道的激活能力最强^[59]。薄荷脑、樟脑和柠檬醛 (citral) 等可激活 TRPV3 受体^[60, 61], 其中, 樟脑对人源的 TRPV3 点突变 C169S 几乎没有激活作用。

丁香子酚为辣椒素近似物, 可抑制环氧合酶, 具有明显的镇痛抗炎活性。它可激活 TRPV1 及 TRPV3 通道, 在 HEK-293 细胞 TG 神经元中诱导内向电流及持续 Ca^{2+} 内流, 促进白介素-1 α 的释放, 其抗炎镇痛作用可能与此相关^[50]。

大麻二酚、四氢次大麻酚^[62]、因香酚 (incensole)^[63] 以及其他小分子酚类物质, 如香草醛、香芹酚和百里香酚等^[60] 也可激活 TRPV3 受体。

1.4 TRPV4

TRPV4 通道可被细胞肿胀及舒适温度 (>27 °C) 激活, 人体对机械性刺激的感受可能与 TRPV4 有关^[64]。紫杉醇 (paclitaxel) 对癌症有确切的疗效, 其对 TRPV4 及 A1 有激活作用, 可诱发接触性及寒冷性疼痛, 促使 CGRP 释放, 从而引发神经病变^[65], 成为紫杉醇的潜在不良反应。次大麻二酚 (cannabidivarin)、四氢次大麻酚^[62] 及双穿心莲内脂 A (bisandrographolide A)^[66] 也可激活 TRPV4 通道。

2 TRPC 通道

TRPC 通道为渗透压与机械力的生物感受器。根据结构与功能可将其分为 3 类: TRPC1 和 TRPC2 为一类, TRPC3、TRPC6 和 TRPC7 为一类, TRPC4 和 TRPC5 为一类^[67]。贯叶金丝桃素 (hyperforin) 为 TRPC6 通道的激动剂, 作用于中枢神经系统, 引起 Ca^{2+} 内流, 诱导 5-羟色胺和去肾上腺素等神经递质的释放, 从而起到抗抑郁的作用^[68]。贯叶金丝桃素在

TRPC6 过表达的神经元中可诱导树突增长及突触形成, 具有一定的神经保护作用, 可增强学习记忆能力^[69]。毒叶下珠 (*Phyllanthus engleri*) 中的一种氧桥愈创木烷型倍半萜 englerin A 是一种具有高度选择性的肾癌细胞抑制剂, 可强效激活 TRPC4 及与其同源性较高的 TRPC5 受体, 在 TRPC4 及 C5 表达的细胞中引发 Ca^{2+} 内流及细胞膜去极化。Englerin A 对 TRPA1、V3、V4 及 M8 通道亦有较弱的抑制作用^[70]。黄酮醇类成分高良姜黄素 (galangin) 能抑制由镧系元素激活的过表达于 HEK-293 细胞的 TRPC5 通道^[71]。

3 TRPP 通道

TRPP 通道亚家族包含 3 个成员, TRPP1、TRPP2 和 TRPP3, 该通道与常染色体显性遗传性多囊肾病 (autosomal dominant polycystic kidney disease, ADPKD) 关系密切。ADPKD 的主要病因是人体缺少了 PKD (polycystic kidney disease)-1 或 PKD-2 基因, 导致肾小管上皮细胞中钙信号缺失, 而 PKD2 基因编码 TRPP2 通道^[72]。雷公藤内酯或雷公藤甲素 (triptolide), 一种环氧二萜内酯, 具有免疫抑制、抗炎及抗增殖作用^[73]。它可与 TRPP2 受体结合, 促使肾小管上皮细胞内钙浓度升高, 抑制细胞增殖, 从而抑制囊肿的形成, 减轻多囊性肾病的症状^[74]。

4 TRPA 通道

TRPA1 是在 TRPA 亚家族中发现的唯一成员, 与感觉生理学的领域相关。TRPA1 具有 Ca^{2+} 通透性, 可被低温 ($< 17\text{ }^{\circ}\text{C}$) 激活, 常被视为伤害性刺激的感受器^[75], 在小直径的 TG 和 DRG 神经元中表达^[76]。TRPA1 的冷冻电镜结构显示, 它的胞内有较大的 N 末端和 C 末端, 占通道总分子量的 80%, N 末端具 14~18 个锚定蛋白重复序列, 四聚化的卷曲结构 (coiled-coil) 位于离子透过孔的下方靠近 C 末端。天然产物对 TRPA1 通道的激活机制主要有两种: 一是对 TRPA1 氨基末端的半胱氨酸残基进行共价修饰, 该激活方式与配体跟受体之间的亲和力无关; 二是配体可与受体特定的结合位点发生结合, 从而激活受体^[77]。

4.1 亲电子性调节剂

该类化合物亲电性较强, 或具有一定的氧化性, 以上述第一种机制激活 TRPA1 通道。肉桂醛和异硫氰酸丙烯酯 (allyl isothiocyanate, AITC) 等亲电子调节剂能够激活 TRPA1 通道, 是由于化合物与半胱氨酸中的巯基 (亲核基团) 形成了共价键或氧化形成分子内二硫键。C415S、C422S 和 C622S 位点突变后, 影响 TRPA1 通道的基本功能, 证实在 AITC 等化合物激活 TRPA1 通道的过程中, 这 3 个氨基酸位点起着

重要的作用^[78]。

肉桂醛 (cinnamaldehyde) 可激活在神经末梢中表达的 TRPA1, 促进 CGRP 及 SP 等血管活性物质的释放, 有益于心血管功能^[79]; 还可促进胰岛素及肠促胰岛素的释放, 从而降低血糖水平, 对 II 型糖尿病的治疗有一定帮助^[80]。

大蒜素 (allicin) 及二硫化二丙烯 (diallyl disulphide) 可激活在 HEK-293 细胞及爪蟾卵母细胞中表达的 TRPA1 通道, 且大蒜素激活效果更佳^[81]。大蒜具有一定的抗肿瘤活性, 在民间用于治疗皮肤癌。其抗癌作用可能由于其中的活性成分激活 TRPA1 通道, 引起过量的 Ca^{2+} 内流, 诱导癌细胞死亡^[82]。

AITC 存在于十字花科的多种植物中, 可激活 TRPA1 通道, 促使 Ca^{2+} 内流及神经递质的释放, 调节由胞内 Ca^{2+} 诱导的细胞功能。AITC 具有一定的抗肿瘤活性, 口服生物利用度较高^[83]。

藁本内酯 (ligustilide) 可选择性激活表达于 CHO 细胞上的 TRPA1 通道。随着植物生长, 藁本内酯逐渐氧化产生去氢藁本内酯 (dehydroligustilide), 该物质低浓度时抑制、高浓度时激活 TRPA1 通道^[84]。

4.2 单萜类化合物

单萜类化合物伞形酮 (umbellulone) 可与半胱氨酸残基结合, 选择性激活 HEK-293 细胞及大鼠三叉神经元中表达的 TRPA1 受体。加州月桂的气味可引发头痛, 故在民间又被称为“头疼树”, 这可能由于 TRPA1 受体被激活后会促进 CGRP 的释放, 引起脑膜血管扩张, 从而引发偏头痛^[85]。

桉树 (*eucalyptus*) 中的桉树脑为 TRPA1 通道的天然调节剂。1,4-桉树脑 (1,4-cineole) 可激活 TRPA1 受体, 1,8-桉树脑 (1,8-cineole/eucalyptol) 则阻断 TRPA1 受体^[86]。可见取代基的不同位置会带来活性的逆转。

龙脑 (borneol), 俗称冰片, 为 TRPA1 受体抑制剂。在爪蟾卵母细胞及三叉神经节中, 龙脑会阻断 TRPA1 介导的阳离子电流, 还可抑制尼古丁对 TRPA1 受体的激活作用。龙脑作为一种潜在的活性物质, 有望治疗 TRPA1 相关的离子通道疾病, 如三叉神经痛和尼古丁戒断症状等^[87]。

紫苏醛 (perillaldehyde) 和紫苏酮 (perillaketone)^[88]等单萜类化合物也可激活 TRPA1 受体。樟脑^[89]和薄荷脑^[90]则低浓度时激活、高浓度时阻断 TRPA1 受体。由樟脑诱发的 TRPV1 受体脱敏及 TRPA1 受体的阻断可能为其镇痛作用的基础。

4.3 大麻素类成分

大麻素类成分不仅对 TRPV1 有良好的激动作用,

对 TRPA1 通道也有激动作用^[56, 91], 该类化合物的镇痛抗炎活性可能与这两个通道相关。其中四氢大麻酚可通过共价修饰和与结合位点结合两种方式激活 TRPA1 受体^[92]。

4.4 芪类化合物

欧洲葡萄 (*Vitis vinifera*) 中的两种芪类化合物 (stilbenoids), 白藜芦醇 (resveratrol) 及赤松素甲醚 (pinosylvin methyl ether) 为 TRPA1 通道抑制剂, 在 TRPA1 转染的 HEK-293 细胞中, 可抑制由 AITC 引起的内向电流。另外, 二者均可抑制 TRPV1 受体, 在 TRPV1 转染的 HEK-293 细胞及 DRG 神经元中, 抑制由辣椒素诱导的内向电流, 并可减轻由辣椒素引发的疼痛反应^[93]。

4.5 鞘氨醇类物质

有学者从海绵 *Leucetta sp.* 中分离得到 2 种鞘氨醇类物质 (leucettamol A 和 B), 并合成出了 4 种类似物。它们可双向调节 TRPA1 受体, 并对 TRPM8 受体有强效抑制作用。该类物质是目前发现的第一类可作用于 TRPA1 通道并抑制 TRPM8 通道的海洋来源的天然产物^[94]。

4.6 其他

姜黄素 (curcumin) 是 TRPA1 受体的激动剂^[95], 它作用于在支气管黏膜细胞中表达的 TRPA1 受体, 可缓解囊性纤维化症状^[96]。荷包牡丹碱 (dicentrine) 可抑制由肉桂醛诱发的急性疼痛, 而对辣椒素引发的急性疼痛无效^[97]。尼古丁低浓度时激活、高浓度时抑制 TRPA1 受体^[98]。鼠尾草酚 (carnosol) 为 TRPA1 受体激动剂, 具有一定的镇痛抗炎活性, TRPA1 可能为其作用靶标^[99]。香芹酚能激活 TRPA1 通道并使 TRPA1 迅速脱敏, 重复多次给予相同浓度的香芹酚, TRPA1 的电流逐渐减小^[100]。

5 TRPM 通道

TRPM 家族共有 8 个成员, 为通透 Ca^{2+} 及 Mg^{2+} 的离子通道。TRPM6 及 TRPM7 对 Ca^{2+} 通透性较高, TRPM4 及 TRPM5 对 Ca^{2+} 的通透性较差^[2]。TRPM 家族许多成员具有参与细胞增殖和变异的特性, 常被视为细胞生长和死亡的调节器^[101]。

5.1 TRPM2

TRPM2 基因高表达于大脑, 其基因突变与精神疾病如双相情感障碍相关^[102]。TRPM2 通道的生理作用可能与胰岛素分泌和免疫细胞对肿瘤坏死因子 (TNF- α) 的作用有关^[103, 104]。最新的研究表明, TRPM2 是下丘脑视前区的神经元亚群中的温度感受器, 可检测到体温上升并防止过度发热^[105]。TRPM2 还可能

参与脑卒中的病理生理学机制^[106]。虽然目前尚未发现靶向 TRPM2 通道的天然调节剂, 但鉴于其丰富的病理生理学功能, TRPM2 通道作为潜在的作用靶标可能为天然活性物质的发现及新药的研发提供帮助。

5.2 TRPM3

与 TRPM6 和 TRPM7 通道相似, TRPM3 通道受胞内 Mg^{2+} 水平的调控, 可在低渗状态下被高温及一些内源性物质激活^[107]。最近有研究发现, 芒果柄花酚 (ononetin)、柚皮素 (naringenin) 及橙皮素 (hesperetin) 可选择性抑制 TRPM3 受体, 柚皮素及橙皮素的代谢产物圣草酚 (eriodictyol) 也为 TRPM3 受体的抑制剂^[108]。

5.3 TRPM7

TRPM7 为 2 价阳离子通道, 调节细胞内 Mg^{2+} 平衡, 以维持细胞生长繁殖及生理功能^[109]。奎宁 (quinine), 一种具有抗疟活性的生物碱, 是 TRPM7 受体的抑制剂^[110]。Waixenicin A 为二萜类成分, 从一种夏威夷软珊瑚 *Sarcothelia edmondsoni* 中分离得到, 选择性阻断 TRPM7 受体, 可有效地抑制细胞的生长和繁殖^[111], 对于某些癌症具有一定治疗潜力。此外, 香芹酚也可阻断 TRPM7 受体^[112]。

5.4 TRPM8

TRPM8 是一种非选择性的阳离子通道, 为低温信号的感受器, 可被低温 ($< 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) 和一些“寒凉”的化合物 (如薄荷脑等) 激活^[113]。许多单萜类成分可作用于 TRPM8 通道, 薄荷脑是研究最为深入的 TRPM8 激动剂。在 TRPM8 表达的 CHO 及 HEK-293 细胞中, 薄荷脑可引起剂量依赖性的胞内 Ca^{2+} 浓度升高^[114]。其镇痛、抗炎和抗肿瘤等活性可能与此相关。其他单萜类化合物, 如伞形酮^[115]等对 TRPM8 通道有激活作用, 紫苏醛和紫苏酮^[88]等为该通道的抑制剂。

目前, 在自然界发现了 5 种大麻素类物质可作用于 TRPM8 通道: 大麻二酚、大麻二酚酸、四氢大麻酚、四氢大麻酚酸及大麻萜酚均为 TRPM8 受体的强效抑制剂^[91]。

红景天苷 (salidroside) 可抑制 TRPM8 受体, 减少 TRPM8 受体在细胞中的表达。在低温环境 ($18\text{ }^{\circ}\text{C}$) 下, 红景天苷能抑制人类支气管上皮细胞中由 TRPM8 受体介导的 Ca^{2+} 内流^[116], 从而缓解寒冷刺激对支气管上皮细胞的伤害。

6 结语与展望

到目前为止, 从自然界中已发现靶向 TRP 通道的天然调节剂 100 余种, 主要包括生物碱类、萜类、酚类、多肽和黄酮类等成分, 涉及到动植物等 70 余

种 (表 1)^[1, 12, 17, 32, 34, 36, 38, 41-43, 47, 48, 52, 53, 60, 62, 63, 66, 70, 71, 81, 83, 85-88, 90, 91, 93, 98-100, 108, 111, 112, 114, 117-121]。大部分调节

剂通过激活或抑制 TRP 通道, 提高或降低胞内 Ca^{2+} 水平, 致使神经末梢脱敏、诱导内源性物质释放等;

Table 1 Action information of natural modulators targeting transient receptor potential (TRP) channels (“+”, activation; “-”, inhibition; “+/-”, dual regulation)

Name	Action ^[Ref.]	EC ₅₀ /IC ₅₀ / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Name	Action ^[Ref.]	EC ₅₀ /IC ₅₀ / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
Capsaicin	(+) TRPV1 ^[112]	0.71	Umbellulone	(+) TRPA1 ^[85]	11.6
Piperine	(+) TRPV1 ^[112]	37.9	1, 4-Cineole	(+) TRPA1 ^[86]	5.0
Evodiamine	(+) TRPV1 ^[34]	0.86	1, 8-Cineole	(-) TRPA1 ^[86]	3.4
Nicotine	(+/-) TRPA1 ^[98]	~10 (+)	(+) TRPM8 ^[86]		~7 700
Yohimbine	(-) TRPV1 ^[53]	25.6	Perillaldehyde	(+) TRPA1 ^[88]	4.39
α -Sanshool	(+) TRPA1 ^[117]	69	Perillaketone	(+) TRPA1 ^[88]	4.71
	(+) TRPV1 ^[117]	1.1	Borneol	(-) TRPA1 ^[87]	~300
Loureirin B	(-) TRPV1 ^[118]	4.13	Linalool	(+) TRPA1 ^[117]	117
Cochinchinenin A	(-) TRPV1 ^[118]	46.64	(+) TRPM8 ^[117]		~6 700
Cochinchinenin B	(-) TRPV1 ^[118]	718.32	Thapsigargin	(-) TRPV1 ^[52]	6.4
Naringenin	(-) TRPM3 ^[108]	0.5	Incensole	(+) TRPV3 ^[63]	16
Hesperitin	(-) TRPM3 ^[108]	2.0	Waixenicin A	(-) TRPM7 ^[111]	7.0
Eriodictyol	(-) TRPM3 ^[108]	1.0	Carnosol	(+) TRPA1 ^[99]	12.46
Ononetin	(-) TRPM3 ^[108]	0.3	Bisandrographolide A	(+) TRPV4 ^[66]	0.95
Galangin	(-) TRPC5 ^[71]	0.45	Englerin A	(+) TRPC4/C5 ^[70]	~0.02
Scutigeral	(+) TRPV1 ^[47]	19	Allicin	(+) TRPA1 ^[81]	7.5
Grifolin	(-) TRPV1 ^[48]	26	Diallyl disulphide	(+) TRPA1 ^[81]	192
Neogrifolin	(-) TRPV1 ^[48]	7.0	Allyl isothiocyanate	(+) TRPA1 ^[83]	6.2
Albaconol	(-) TRPV1 ^[117]	17	Cannabidiol	(+) TRPV1 ^[38]	3.2
Eugenol	(+) TRPA1 ^[11]	262	(+) TRPV3 ^[62]		3.7
Capsiate	(+) TRPV1 ^[36]	0.29	(+) TRPA1 ^[90]		0.096
Shogaol	(+) TRPV1 ^[32]	0.2	(-) TRPM8 ^[91]		0.1
	(+) TRPA1 ^[32]	11.2	Cannabidivarin	(+) TRPV4 ^[62]	0.9
Gingerol	(+) TRPV1 ^[32]	0.5	Cannabidiolic acid	(+) TRPA1 ^[60]	12
Zingerone	(+) TRPV1 ^[32]	0.5	Cannabidivarin	(+) TRPA1 ^[60]	12
Paradol	(+) TRPA1 ^[117]	71	(-) TRPM8 ^[91]		0.1
	(+) TRPV1 ^[117]	1.8	Tetrahydrocannabinolic acid	(+) TRPA1 ^[60]	0.24
Thymol	(+) TRPA1 ^[100]	~6	Tetrahydrocannabivarin	(+) TRPV3 ^[62]	3.7
Carvacrol	(+) TRPA1 ^[100]	~7	(+) TRPV4 ^[62]		6.4
	(-) TRPM7 ^[112]	306	Cannabichromene	(+) TRPA1 ^[60]	0.06
Artepillin C	(+) TRPA1 ^[60]	1.8	Cannabigerol	(+) TRPA1 ^[60]	3.4
Resveratrol	(-) TRPA1 ^[93]	0.75	(-) TRPM8 ^[91]		0.1
Polygodial	(+) TRPV1 ^[43]	5.0	Imperatorin	(+) TRPV1 ^[41]	12.6
	(+) TRPA1 ^[119]	0.07	Muralatin L	(+) TRPV1 ^[42]	205.6
Isovelleral	(+) TRPV1 ^[44]	0.1	Rutamarin	(-) TRPM8 ^[121]	124
	(+) TRPA1 ^[119]	0.5	Resiniferatoxin	(+) TRPV1 ^[11]	0.039
Cinnamodial	(+) TRPV1 ^[45]	0.6	Tinyatoxin	(+) TRPV1 ^[11]	~0.03
Cinnamosmolide	(+) TRPV1 ^[45]	1.5	VaTx1	(+) TRPV1 ^[27]	9.90
Cinnamolide	(+) TRPV1 ^[45]	0.6	VaTx2	(+) TRPV1 ^[27]	1.35
Miogadial	(+) TRPV1 ^[46]	2.0	VaTx3	(+) TRPV1 ^[27]	0.45
Miogatrial	(+) TRPV1 ^[46]	6.0	Agatoxin 489	(+) TRPV1 ^[29]	0.3
Aframodial	(+) TRPV1 ^[45]	12	Agatoxin 505	(+) TRPV1 ^[29]	0.3
Warburganal	(+) TRPV1 ^[44]	2.0	DkTx	(+) TRPV1 ^[28]	0.23
Merulidial	(+) TRPV1 ^[44]	1.2	RhTx	(+) TRPV1 ^[28]	0.52
Scalaradial	(+) TRPV1 ^[45]	3.2	α -Spinasterol	(-) TRPV1 ^[51]	~40
Drimenol	(+) TRPV1 ^[45]	13.2	Hyperforin	(+) TRPC6 ^[69]	0.7 (Na), 1.2 (Ca)
Hebelomic acid F	(+) TRPV1 ^[45]	19	Cinnamaldehyde	(+) TRPA1 ^[79]	6.1
Isocopalendial	(+) TRPV1 ^[45]	4.4	Ligustilide	(+) TRPA1 ^[84]	44
Camphor	(+) TRPV1 ^[120]	~4 500	Dehydroligustilide	(+/-) TRPA1 ^[84]	539 (+), 23 (-)
	(+) TRPV3 ^[60]	~6 000	Leucettamols	(+) TRPA1 ^[94]	2.6-9.7
	(+/-) TRPA1 ^[90]	660 (-)	(-) TRPA1 ^[94]		4.7-32.6
Menthol	(+/-) TRPA1 ^[90]	68 (-)	(-) TRPM8 ^[94]		6.4-65.7
	(+) TRPM8 ^[114]	66.7			

在体内动物实验中表现为镇痛、抗炎、抗抑郁、抗肿瘤、抑制细胞增殖、降血糖和保护神经系统等活性。

据统计, 在 1981~2014 年间上市的小分子新药中, 有 33% 直接来源于天然产物及其衍生物, 另外还有 32% 的新药是以天然产物作为药效团的合成或仿生药物^[122]。这些数据毫无疑问地证明了天然产物是新药发现的一个重要来源。TRP 通道的发现及功能的阐明为新药的研发提供了新的靶点和视角, 而诸多靶向 TRP 通道天然调节剂的发现也增强了人们开发该类创新药物的信心。我国天然药物的资源丰富并有长期的积累, 如何利用这些丰富的资源, 去发现更多、活性更强的 TRP 通道的天然调节剂是一项长期而艰苦的工作。结合我国的传统中医药理论及现代生物学技术, 运用先进的分离纯化方法, 以生物活性为导向进行靶向的分离、纯化, 并结合体内外药理学验证实验, 将有助于对 TRP 通道天然调节剂的快速和高效发现。目前, 针对天然来源的 TRP 通道小分子调节剂的研究还比较浅显, 除了缺乏功能明确的分子靶标, 亦缺少对调节剂构效关系的系统分析与研究, 因此开展对活性先导化合物的结构修饰与优化等方面的研究, 阐明其构效关系及主要药效团, 对于靶向 TRP 通道的创新药物研发具有重要的指导意义。另外, 很多 TRP 通道亚型的精细结构、生物学功能及其与疾病的相关性也有待于研究, 利用不断发现的天然调节剂对 TRP 通道蛋白的结构和功能进行深入研究, 也是一项具有创新性的科学研究活动。

References

- [1] Premkumar LS. Transient receptor potential channels as targets for phytochemicals [J]. ACS Chem Neurosci, 2014, 5: 1117–1130.
- [2] Nilius B, Owsianik G. The transient receptor potential family of ion channels [J]. Genome Biol, 2011, 12: 218.
- [3] Nilius B, Owsianik G. Transient receptor potential channelopathies [J]. Pfluegers Arch, 2010, 460: 437–450.
- [4] Nilius B, Szallasi A. Transient receptor potential channels as drug targets: from the science of basic research to the art of medicine [J]. Pharmacol Rev, 2014, 66: 676–814.
- [5] Liao M, Cao E, Julius D, et al. Structure of the TRPV1 ion channel determined by electron cryo-microscopy [J]. Nature, 2013, 504: 107–112.
- [6] Cao E, Liao M, Cheng Y, et al. TRPV1 structures in distinct conformations reveal activation mechanisms [J]. Nature, 2013, 504: 113–118.
- [7] Mou J, Paillard F, Turnbull B, et al. Efficacy of Qutenza® (capsaicin) 8% patch for neuropathic pain: a meta-analysis of the Qutenza Clinical Trials Database [J]. Pain, 2013, 154: 1632–1639.
- [8] Hellwig N, Albrecht N, Harteneck C, et al. Homo- and heteromeric assembly of TRPV channel subunits [J]. J Cell Sci, 2005, 118: 917–928.
- [9] Deng YL, Jiang YS, Zeng HT. TRP supergene family and pain [J]. J Clin Exp Med (临床和实验医学杂志), 2009, 9: 116–118.
- [10] Szallasi A, Cortright DN, Blum CA, et al. The vanilloid receptor TRPV1: 10 years from channel cloning to antagonist proof-of-concept [J]. Nat Rev Drug Discov, 2007, 6: 357–372.
- [11] Dong XR, Liu ZH, Yang JK, et al. Progress in the chemical research of capsaicinoids in *Capsicum Frutescens* L [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2004, 16: 486–488.
- [12] Bishnoi M, Bosgraaf CA, Abooj M, et al. Streptozotocin-induced early thermal hyperalgesia is independent of glycemic state of rats: role of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) and inflammatory mediators [J]. Mol Pain, 2011, 7: 52.
- [13] Jung J, Shin JS, Lee SY, et al. Phosphorylation of vanilloid receptor 1 by Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II regulates its vanilloid binding [J]. J Biol Chem, 2004, 279: 7048–7054.
- [14] Lishko PV, Procko E, Jin X, et al. The ankyrin repeats of TRPV1 bind multiple ligands and modulate channel sensitivity [J]. Neuron, 2007, 54: 905–918.
- [15] Veldhuis NA, Lew MJ, Abogadie FC, et al. N-Glycosylation determines ionic permeability and desensitization of the TRPV1 capsaicin receptor [J]. J Biol Chem, 2012, 287: 21765–21772.
- [16] Jordt SE, Julius D. Molecular basis for species-specific sensitivity to "hot" chili peppers [J]. Cell, 2002, 108: 421–430.
- [17] Yang F, Xiao X, Cheng W, et al. Structural mechanism underlying capsaicin binding and activation of the TRPV1 ion channel [J]. Nat Chem Biol, 2015, 11: 518–524.
- [18] Elokely K, Velisetty P, Delemotte L, et al. Understanding TRPV1 activation by ligands: insights from the binding modes of capsaicin and resiniferatoxin [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113: E137–E145.
- [19] McNamara FN, Randall A, Gunthorpe MJ. Effects of piperine, the pungent component of black pepper, at the human vanilloid receptor (TRPV1) [J]. Br J Pharmacol, 2005, 144: 781–790.
- [20] Kawabata F, Inoue N, Masamoto Y, et al. Non-pungent

- capsaicin analogs (capsinoids) increase metabolic rate and enhance thermogenesis *via* gastrointestinal TRPV1 in mice [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2009, 73: 2690–2697.
- [21] Luo Z, Ma L, Zhao Z, et al. TRPV1 activation improves exercise endurance and energy metabolism through PGC-1 α upregulation in mice [J]. *Cell Res*, 2012, 22: 551–564.
- [22] Appendino G, Szallasi A. Euphorbium: modern research on its active principle, resiniferatoxin, revives an ancient medicine [J]. *Life Sci*, 1997, 60: 681–696.
- [23] Iadarola MJ, Mannes AJ. The vanilloid agonist resiniferatoxin for interventional-based pain control [J]. *Curr Top Med Chem*, 2011, 11: 2171–2179.
- [24] Szallasi A, Blumberg PM. Resiniferatoxin, a phorbol-related diterpene, acts as an ultrapotent analog of capsaicin, the irritant constituent in red pepper [J]. *Neuroscience*, 1989, 30: 515–520.
- [25] Jeffrey JA, Yu SQ, Sikand P, et al. Selective targeting of TRPV1 expressing sensory nerve terminals in the spinal cord for long lasting analgesia [J]. *PLoS One*, 2009, 4: e7021.
- [26] Roberts JC, Davis JB, Benham CD. [³H]-Resiniferatoxin autoradiography in the CNS of wild-type and TRPV1 null mice defines TRPV1 (VR-1) protein distribution [J]. *Brain Res*, 2004, 995: 176–183.
- [27] Siemens J, Zhou S, Piskrowski R, et al. Spider toxins activate the capsaicin receptor to produce inflammatory pain [J]. *Nature*, 2006, 444: 208–212.
- [28] Bohlen CJ, Priel A, Zhou S, et al. A bivalent tarantula toxin activates the capsaicin receptor, TRPV1, by targeting the outer pore domain [J]. *Cell*, 2010, 141: 834–845.
- [29] Kitaguchi T, Swartz KJ. An inhibitor of TRPV1 channels isolated from funnel web spider venom [J]. *Biochemistry*, 2005, 44: 15544–15549.
- [30] Yang S, Yang F, Wei N, et al. A pain-inducing centipede toxin targets the heat activation machinery of nociceptor TRPV1 [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8297.
- [31] Iwasaki Y, Morita A, Iwasawa T, et al. Nonpungent component of steamed ginger-[10]-shogaol-increases adrenaline secretion *via* the activation of TRPV1 [J]. *Nutr Neurosci*, 2006, 9: 169–178.
- [32] Morera E, De Petrocellis L, Morera L, et al. Synthesis and biological evaluation of [6]-gingerol analogues as transient receptor potential channel TRPV1 and TRPA1 modulators [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 1674–1677.
- [33] Wang QZ, Liang JY. Studies on the chemical constituents of *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2004, 39: 605–608.
- [34] Pearce LV, Petukhov PA, Szabo T, et al. Evodiamine functions as an agonist for the vanilloid receptor TRPV1 [J]. *Org Biomol Chem*, 2004, 2: 2281–2286.
- [35] Kobayashi Y. The nociceptive and anti-nociceptive effects of evodiamine from fruits of *Evodia rutaecarpa* in mice [J]. *Planta Med*, 2003, 69: 425–428.
- [36] Vriens J, Nilius B, Vennekens R. Herbal compounds and toxins modulating TRP channels [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2008, 6: 79–96.
- [37] Chen X, Yang M, Guo HY. Research advances in cannabinoids of *Cannabis Sativa* [J]. *Chin Bull Bot (植物学报)*, 2011, 46: 197–205.
- [38] Bisogno T, Hanus L, De Petrocellis L, et al. Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide [J]. *Br J Pharmacol*, 2001, 134: 845–852.
- [39] Hahn J, Nah SY, Nah JJ, et al. Ginsenosides inhibit capsaicin-activated channel in rat sensory neurons [J]. *Neurosci Lett*, 2000, 287: 45–48.
- [40] Jung SY, Choi S, Ko YS, et al. Effects of ginsenosides on vanilloid receptor (VR1) channels expressed in *Xenopus* oocytes [J]. *Mol Cells*, 2001, 12: 342–346.
- [41] Chen X, Sun W, Gianaris NG, et al. Furanocoumarins are a novel class of modulators for the transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) channel [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289: 9600–9610.
- [42] Wei NN, Lv HN, Wu Y, et al. Selective activation of nociceptor TRPV1 channel and reversal of inflammatory pain in mice by a novel coumarin derivative muralatin L from *Murraya alata* [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291: 640–651.
- [43] Andre E, Campi B, Trevisani M, et al. Pharmacological characterisation of the plant sesquiterpenes polygodial and drimaniol as vanilloid receptor agonists [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 71: 1248–1254.
- [44] Szallasi A, Jonassohn M, Acs G, et al. The stimulation of capsaicin-sensitive neurones in a vanilloid receptor-mediated fashion by pungent terpenoids possessing an unsaturated 1,4-dialdehyde moiety [J]. *Br J Pharmacol*, 1996, 119: 283–290.
- [45] Szallasi A, B r  T, Modarres S, et al. Dialdehyde sesquiterpenes and other terpenoids as vanilloids [J]. *Eur J Pharmacol*, 1998, 356: 81–89.
- [46] Iwasaki Y, Tanabe M, Kayama Y, et al. Miogadial and miogatrial with alpha, beta-unsaturated 1,4-dialdehyde moieties—novel and potent TRPA1 agonists [J]. *Life Sci*, 2009, 85: 60–69.
- [47] Szallasi A, B r  T, Szabó T, et al. A non-pungent triprenyl phenol of fungal origin, scutigeral, stimulates rat dorsal root

- ganglion neurons *via* interaction at vanilloid receptors [J]. *Br J Pharmacol*, 1999, 126: 1351–1358.
- [48] Hellwig V, Nopper R, Mauler F, et al. Activities of prenylphenol derivatives from fruitbodies of *Albatrellus* spp. on the human and rat vanilloid receptor 1 (VR1) and characterisation of the novel natural product, confluentin [J]. *Arch Pharm*, 2003, 336: 119–126.
- [49] Lübbert M, Kyereme J, Schöbel N, et al. Transient receptor potential channels encode volatile chemicals sensed by rat trigeminal ganglion neurons [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e77998.
- [50] Xu H, Dellling M, Jun JC, et al. Oregano, thyme and clove-derived flavors and skin sensitizers activate specific TRP channels [J]. *Nat Neurosci*, 2006, 9: 628–635.
- [51] Trevisan G, Rossato MF, Walker CI, et al. Identification of the plant steroid alpha-spinasterol as a novel transient receptor potential vanilloid 1 antagonist with antinociceptive properties [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, 343: 258–269.
- [52] Tóth A, Kedei N, Szabó T, et al. Thapsigargin binds to and inhibits the cloned vanilloid receptor-1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 293: 777–782.
- [53] Dessaint J, Yu W, Kraus JE, et al. Yohimbine inhibits firing activities of rat dorsal root ganglion neurons by blocking Na⁺ channels and vanilloid VR1 receptors [J]. *Eur J Pharmacol*, 2004, 485: 11–20.
- [54] Huynh KW, Cohen MR, Jiang J, et al. Structure of the full-length TRPV2 channel by cryo-EM [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11130.
- [55] Nepper MP, Liu Y, Hutchinson TL, et al. Activation properties of heterologously expressed mammalian TRPV2: evidence for species dependence [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 15894–15902.
- [56] De Petrocellis L, Ligresti A, Moriello AS, et al. Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched Cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes [J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 163: 1479–1494.
- [57] Nabissi M, Morelli MB, Santoni M, et al. Triggering of the TRPV2 channel by cannabidiol sensitizes glioblastoma cells to cytotoxic chemotherapeutic agents [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34: 48–57.
- [58] Duan B, Xu TL. Transient receptor potential channels and signal transduction [J]. *Acta Biophysica Sin (生物物理学报)*, 2005, 21: 245–260.
- [59] Vogt-Eisele AK, Weber K, Sherkheli MA, et al. Monoterpenoid agonists of TRPV3 [J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 151: 530–540.
- [60] Meotti FC, Andrade EL, Calixto JB. TRP modulation by natural compounds [M] // Nilius B, Flockerzi V. *Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels (Volume II)*. Switzerland: Springer International Publishing, 2014: 1179–1216.
- [61] Stotz SC, Vriens J, Martyn D, et al. Citral sensing by transient receptor potential channels in dorsal root ganglion neurons [J]. *PLoS One*, 2008, 3: e2082.
- [62] De Petrocellis L, Orlando P, Moriello AS, et al. Cannabinoid actions at TRPV channels: effects on TRPV3 and TRPV4 and their potential relevance to gastrointestinal inflammation [J]. *Acta Physiol*, 2012, 204: 255–266.
- [63] Moussaieff A, Rimmerman N, Bregman T, et al. Incensole acetate, an incense component, elicits psychoactivity by activating TRPV3 channels in the brain [J]. *FASEB J*, 2008, 22: 3024–3034.
- [64] Matthews BD, Thodeti CK, Tytell JD, et al. Ultra-rapid activation of TRPV4 ion channels by mechanical forces applied to cell surface beta1 integrins [J]. *Integr Biol*, 2010, 2: 435–442.
- [65] Materazzi S, Fusi C, Benemei S, et al. TRPA1 and TRPV4 mediate paclitaxel-induced peripheral neuropathy in mice *via* a glutathione-sensitive mechanism [J]. *Pfluegers Arch*, 2012, 463: 561–569.
- [66] Smith PL, Maloney KN, Pothen RG, et al. Bisandrographolide from *Andrographis paniculata* activates TRPV4 channels [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281: 29897–29904.
- [67] Clapham DE, Montell C, Schultz G, et al. International Union of Pharmacology. XLIII. Compendium of voltage-gated ion channels: transient receptor potential channels [J]. *Pharmacol Rev*, 2003, 55: 591–596.
- [68] Muller WE, Singer A, Wonnemann M. Hyperforin-antidepressant activity by a novel mechanism of action [J]. *Pharmacopsychiatry*, 2001, 34 Suppl 1: S98–S102.
- [69] Zhou J, Du W, Zhou K, et al. Critical role of TRPC6 channels in the formation of excitatory synapses [J]. *Nat Neurosci*, 2008, 11: 741–743.
- [70] Carson C, Raman P, Tullai J, et al. Englerin A agonizes the TRPC4/C5 cation channels to inhibit tumor cell line proliferation [J]. *PLoS One*, 2015, 10: e0127498.
- [71] Naylor J, Minard A, Gaunt HJ, et al. Natural and synthetic flavonoid modulation of TRPC5 channels [J]. *Br J Pharmacol*, 2016, 173: 562–574.
- [72] Qamar S, Vadivelu M, Sandford R. TRP channels and kidney disease: lessons from polycystic kidney disease [J]. *Biochem Soc Trans*, 2007, 35: 124–128.
- [73] Zhang D, Ling X, Pu SB. Recent research advances on triptolide [J]. *Chin Wild Plant Resour (中国野生植物资源)*, 2014, 33: 27–31.

- [74] Leuenroth SJ, Okuhara D, Shotwell JD, et al. Triptolide is a traditional Chinese medicine-derived inhibitor of polycystic kidney disease [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104: 4389–4394.
- [75] Jaquemar D, Schenker T, Trueb B. An ankyrin-like protein with transmembrane domains is specifically lost after oncogenic transformation of human fibroblasts [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 7325–7333.
- [76] Jordt SE, Bautista DM, Chuang HH, et al. Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1 [J]. *Nature*, 2004, 427: 260–265.
- [77] Hinman A, Chuang HH, Bautista DM, et al. TRP channel activation by reversible covalent modification [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103: 19564–19568.
- [78] Macpherson LJ, Dubin AE, Evans MJ, et al. Noxious compounds activate TRPA1 ion channels through covalent modification of cysteines [J]. *Nature*, 2007, 445: 541–545.
- [79] Premkumar LS, Raisinghani M. Nociceptors in cardiovascular functions: complex interplay as a result of cyclooxygenase inhibition [J]. *Mol Pain*, 2006, 2: 26.
- [80] Cao DS, Zhong L, Hsieh TH, et al. Expression of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) and its role in insulin release from rat pancreatic beta cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e38005.
- [81] Bautista DM, Movahed P, Hinman A, et al. Pungent products from garlic activate the sensory ion channel TRPA1 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102: 12248–12252.
- [82] Shenoy NR, Choughuley AS. Inhibitory effect of diet related sulphhydryl compounds on the formation of carcinogenic nitrosamines [J]. *Cancer Lett*, 1992, 65: 227–232.
- [83] Koizumi K, Iwasaki Y, Narukawa M, et al. Diallyl sulfides in garlic activate both TRPA1 and TRPV1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 382: 545–548.
- [84] Zhong J, Pollastro F, Prenen J, et al. Ligustilide: a novel TRPA1 modulator [J]. *Pfluegers Arch*, 2011, 462: 841–849.
- [85] Nassini R, Materazzi S, Vriens J, et al. The ‘headache tree’ *via* umbellulone and TRPA1 activates the trigeminovascular system [J]. *Brain*, 2012, 135: 376–390.
- [86] Takaishi M, Fujita F, Uchida K, et al. 1,8-Cineole, a TRPM8 agonist, is a novel natural antagonist of human TRPA1 [J]. *Mol Pain*, 2012, 8: 86.
- [87] Sherkheli MA, Schreiner B, Haq R, et al. Borneol inhibits TRPA1, a proinflammatory and noxious pain-sensing cation channel [J]. *Pak J Pharm Sci*, 2015, 28: 1357–1363.
- [88] Bassoli A, Borgonovo G, Caimi S, et al. Taste-guided identification of high potency TRPA1 agonists from *Perilla frutescens* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17: 1636–1639.
- [89] Alpizar YA, Gees M, Sanchez A, et al. Bimodal effects of cinnamaldehyde and camphor on mouse TRPA1 [J]. *Pfluegers Arch*, 2012, 465: 853–864.
- [90] Karashima Y, Damann N, Prenen J, et al. Bimodal action of menthol on the transient receptor potential channel TRPA1 [J]. *J Neurosci*, 2007, 27: 9874–9884.
- [91] De Petrocellis L, Vellani V, Schiano-Moriello A, et al. Plant-derived cannabinoids modulate the activity of transient receptor potential channels of ankyrin type-1 and melastatin type-8 [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, 325: 1007–1015.
- [92] Obata K, Katsura H, Mizushima T, et al. TRPA1 induced in sensory neurons contributes to cold hyperalgesia after inflammation and nerve injury [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115: 2393–2401.
- [93] Yu L, Wang S, Kogure Y, et al. Modulation of TRP channels by resveratrol and other stilbenoids [J]. *Mol Pain*, 2013, 9: 3.
- [94] Chianese G, Fattorusso E, Putra MY, et al. Leucettamols, bifunctionalized marine sphingoids, act as modulators of TRPA1 and TRPM8 channels [J]. *Mar Drugs*, 2012, 10: 2435–2447.
- [95] Leamy AW, Shukla P, McAlexander MA, et al. Curcumin ((*E,E*)-1,7-*bis*(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione) activates and desensitizes the nociceptor ion channel TRPA1 [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 503: 157–162.
- [96] Sohma Y, Yu YC, Hwang TC. Curcumin and genistein: the combined effects on disease-associated CFTR mutants and their clinical implications [J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19: 3521–3528.
- [97] Montrucchio DP, Córdova MM, Santos AR. Plant derived aporphinic alkaloid *S*-(+)-dicentrine induces antinociceptive effect in both acute and chronic inflammatory pain models: evidence for a role of TRPA1 channels [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e67730.
- [98] Talavera K, Gees M, Karashima Y, et al. Nicotine activates the chemosensory cation channel TRPA1 [J]. *Nat Neurosci*, 2009, 12: 1293–1299.
- [99] Zhai C, Liu Q, Zhang Y, et al. Identification of natural compound carnosol as a novel TRPA1 receptor agonist [J]. *Molecules*, 2014, 19: 18733–18746.
- [100] Lee SP, Buber MT, Yang Q, et al. Thymol and related alkyl phenols activate the hTRPA1 channel [J]. *Br J Pharmacol*, 2008, 153: 1739–1749.
- [101] Shi J, Li JS. Transient receptor potential ion channels [J]. *Chin J Neuroanat (神经解剖学杂志)*, 2004, 20: 197–204.
- [102] McQuillin A, Bass NJ, Kalsi G, et al. Fine mapping of a susceptibility locus for bipolar and genetically related unipolar affective disorders, to a region containing the C21ORF29 and

- TRPM2 genes on chromosome 21q22.3 [J]. *Mol Psychiatry*, 2006, 11: 134–142.
- [103] Togashi K, Hara Y, Tominaga T, et al. TRPM2 activation by cyclic ADP-ribose at body temperature is involved in insulin secretion [J]. *EMBO J*, 2006, 25: 1804–1815.
- [104] Yamamoto S, Shimizu S, Kiyonaka S, et al. TRPM2-mediated Ca^{2+} influx induces chemokine production in monocytes that aggravates inflammatory neutrophil infiltration [J]. *Nat Med*, 2008, 14: 738–747.
- [105] Song K, Wang H, Kamm GB, et al. The TRPM2 channel is a hypothalamic heat sensor that limits fever and can drive hypothermia [J]. *Science*, 2016, 353: 1393–1398.
- [106] Xie YF, Macdonald JF, Jackson MF. TRPM2, calcium and neurodegenerative diseases [J]. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 2010, 2: 95–103.
- [107] Grimm C, Kraft R, Sauerbruch S, et al. Molecular and functional characterization of the melastatin-related cation channel TRPM3 [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 21493–21501.
- [108] Straub I, Mohr F, Stab J, et al. Citrus fruit and fabacea secondary metabolites potentially and selectively block TRPM3 [J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 168: 1835–1850.
- [109] Schmitz C, Perraud AL, Johnson CO, et al. Regulation of vertebrate cellular Mg^{2+} homeostasis by TRPM7 [J]. *Cell*, 2003, 114: 191–200.
- [110] Chubanov V, Schnitzler MMY, Meissner M, et al. Natural and synthetic modulators of SK ($\text{K}_{\text{ca}2}$) potassium channels inhibit magnesium-dependent activity of the kinase-coupled cation channel TRPM7 [J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 166: 1357–1376.
- [111] Zierler S, Yao G, Zhang Z, et al. Waixenicin A inhibits cell proliferation through magnesium-dependent block of transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) channels [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286: 39328–39335.
- [112] Parnas M, Peters M, Dadon D, et al. Carvacrol is a novel inhibitor of drosophila TRPL and mammalian TRPM7 channels [J]. *Cell Calcium*, 2009, 45: 300–309.
- [113] Peier AM, Moqrich A, Hergarden AC, et al. A TRP channel that senses cold stimuli and menthol [J]. *Cell*, 2002, 108: 705–715.
- [114] McKemy DD, Neuhauser WM, Julius D. Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation [J]. *Nature*, 2002, 416: 52–58.
- [115] Zhong J, Minassi A, Prenen J, et al. Umbellulone modulates TRP channels [J]. *Pflugers Arch*, 2011, 462: 861–870.
- [116] Li Q, Zhou XD, Kolosov VP, et al. Salidroside reduces cold-induced mucin production by inhibiting TRPM8 activation [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32: 637–646.
- [117] Riera CE, Menozzi-Smarrito C, Affolter M, et al. Compounds from Sichuan and Melegueta peppers activate, covalently and non-covalently, TRPA1 and TRPV1 channels [J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 157: 1398–1409.
- [118] Wei LS, Chen S, Huang XJ, et al. Material basis for inhibition of dragon's blood on capsaicin-induced TRPV1 receptor currents in rat dorsal root ganglion neurons [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 702: 275–284.
- [119] Escalera J, von Hehn CA, Bessac BF, et al. TRPA1 mediates the noxious effects of natural sesquiterpene deterrents [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 24136–24144.
- [120] Xu H, Blair NT, Clapham DE. Camphor activates and strongly desensitizes the transient receptor potential vanilloid subtype 1 channel in a vanilloid-independent mechanism [J]. *J Neurosci*, 2005, 25: 8924–8937.
- [121] Mancuso G, Borgonovo G, Scaglioni L, et al. Phytochemicals from *Ruta graveolens* activate TAS2R bitter taste receptors and TRP channels involved in gustation and nociception [J]. *Molecules*, 2015, 20: 18907–18922.
- [122] Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014 [J]. *J Nat Prod*, 2016, 79: 629–661.