

文章编号:1001-6880(2016)11-1830-08

喜树碱衍生物的抗肿瘤研究进展

张 磊, 张泽国, 王 京*

遵义医学院药学院, 遵义 563003

摘要: 喜树碱是一种重要的天然抗肿瘤药物,但是水溶性差、毒副作用较强及容易代谢失活等缺点限制了其作为临床抗肿瘤药物的应用。为了克服喜树碱的缺点,研究人员对其进行了数十年的结构修饰和改造工作,得到了许多活性更为优良的喜树碱类衍生物,如拓扑替康和伊立替康等。本文对 2013-2016 年间喜树碱衍生物的抗肿瘤研究进行了综述。

关键词: 喜树碱; 衍生物; 抗肿瘤

中图分类号:R979.1

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.11.026

Review on Development of New Camptothecin Derivatives as Antitumor Agents

ZHANG Lei, ZHANG Ze-guo, WANG Jing*

School of Pharmacy, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China

Abstract: Camptothecin is an important antitumor product from *Camptotheca acuminata*, however, the disadvantages, such as poor solubility, toxicity and metabolic inactivation, block its application as antineoplastic agent. Over the past few decades, the modifications of camptothecin have been carried out by numerous researchers to conquer its drawbacks, and many excellent camptothecin derivatives were developed, including topotecan and irinotecan. This review will highlight recent advances (2013-2016) in the development of new camptothecin derivatives as potential anticancer agents.

Key words: camptothecin; derivatives; anticancer

喜树碱(Camptothecin, 1)是一种重要的天然生物碱^[1],在1966年,由Wall等人从珙桐科植物喜树的根皮中分离得到,具有显著的抗肿瘤活性,对白血病和一些实体瘤有很好的治疗作用。喜树碱的结构中含有一个手性中心,其中20S异构体的抗肿瘤活性较强。进一步研究发现,喜树碱的毒副作用也十分强烈,如骨髓抑制和膀胱毒性等,此外,水溶性差的缺点也严重制约了喜树碱的临床抗肿瘤治疗,这导致喜树碱的研究受到了人们的忽视。直到1980s,研究发现喜树碱能够抑制拓扑异构酶I(Topo I)^[2],这才重新引起了人们对喜树碱研究的重视。Topo I是一种存在于细胞核中的酶,能够催化DNA单链的断裂和结合。喜树碱能够与Topo I和DNA形成的共价物结合^[3],形成三元复合物,抑制DNA的复制,最终导致细胞死亡。此后,为了克服喜树碱的缺点,人们对其结构进行了众多修饰和改造,合成了大量的喜树碱衍生物^[4]。目前,在临幊上使用的

喜树碱类抗肿瘤药物有四个,分别是10-羟基喜树碱(10-Hydroxycamptothecin, 2)、拓扑替康(Topotecan, 3)、伊立替康(Irinotecan, 4)和贝洛替康(Belotecan, 5),主要用于治疗结肠癌、小细胞肺癌和卵巢癌等^[5]。近年来,还有一些喜树碱衍生物处在不同的临幊研究阶段,如exatecan、lurtotecan和sinotecan等。本文主要对2013~2016年间喜树碱衍生物的抗肿瘤研究进展进行综述。

1 A环结构修饰

喜树碱A环的结构改造是目前研究的重点之一,主要修饰的位点是9、10和11位。研究显示,A环引入适当的取代基能够增加化合物的抗肿瘤活性,并降低毒副作用。

为了降低单靶点药物带来的毒副作用,基于喜树碱结构,Guerrant等人设计并合成了新颖的喜树碱类组蛋白去乙酰化酶和拓朴异构酶I双重抑制剂^[6]。构效关系显示,杂合物分子中连接臂的长度直接影响分子的活性,随着连接臂的增长(1~4个碳原子),化合物对HeLa的细胞毒活性和HDAC 1、HDAC 6、HDAC 8的抑制活性逐渐增强。进一步研

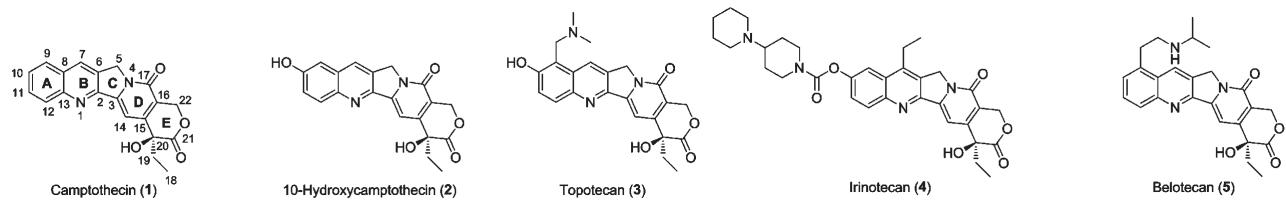


图 1 喜树碱及其衍生物的结构

Fig. 1 Chemical structures of camptothecin and its derivatives

究显示,目标分子能够抑制 Topo I 的活性。对 Du-145 细胞株进行测试时发现,这些双功能分子的 IC_{50} 值随着分子中连接臂的长度增长而降低,其中化合物 6 的 IC_{50} 值为 $1.95 \mu\text{M}$ 。研究还显示,6 能够浓度依赖地上调 p21waf1 的表达,与阳性药 SN-38 相当。

Chevalier 等人^[7]合成了新颖的喜树碱-荧光素缀合物(7),实验表明,化合物 7 能够显著抑制 Topo I 的活性,较喜树碱活性强。细胞毒活性结果显示,7 能够时间和剂量依赖性地抑制 U87 和 T98 细胞的增殖,但与喜树碱相比,7 对 T98 细胞的细胞毒降低了 10 倍,而对 U87 细胞抑制活性与喜树碱相当。此外,与喜树碱类似,7 能够显著阻滞 T98 细胞的周期停滞在 G2/M 期,但是作用较喜树碱显著降低。上述结果表明,虽然化合物 7 显示出比喜树碱强的 Topo I 抑制活性,但 7 表现出较低的细胞毒活性,可能与其在生理条件下较低的溶解性、降低了穿透细胞膜的能力有关。U87 移植裸鼠静脉注射化合物 7,荧光实验显示,其能够在肿瘤组织细胞显示出绿色的荧光,说明 7 具有较强的组织渗透性,能够分布在裸鼠体内肿瘤组织,未来有希望应用于肿瘤的诊断。

以 10-羟基喜树碱为起始物,Rodriguez-Berna 等人通过 Tscherriac-Einhorn 反应合成了脂溶性较强的 9 位氨基衍生物^[8],但是该系列衍生物(除了化合物 8)对 HeLa 的活性都显著弱于 Topotecan。化合物 8 的 IC_{50} 值为 214 nM ,强于 topotecan ($IC_{50} = 376 \text{ nM}$)。此外,他们还合成了脂溶性进一步增强的 10-羟基甲基化的衍生物 9,化合物 9 与 8 相比,对多种肿瘤细胞株的活性都显著提高,同时,对 HeLa、K562 和 A549 三种细胞株的抑制活性强于 topotecan。分子机制表明,化合物 8 和 9 能够抑制 Topo I。基于 Caco-2 渗透转运实验结果表明,化合物 9 更有利于口服给药。初步的构效关系显示,在 10-羟基喜树碱结构中,9 位甲酰胺修饰的活性低于氨基

基,但是,当 10 位是甲氧基时,体积较大的甲酰胺基团能够显著增加分子的脂溶性,因而更有利于口服给药。2014 年,该课题组又深入研究了 9,10-[1,3]-二噁喜树碱的抗肿瘤活性^[9]。通过 MTT 研究其细胞毒活性发现,化合物 10 对五种肿瘤细胞株 (HeLa、Caco-2、A375、Jurkat 和 MDA-MB231) 具有显著的抗增殖活性,其 IC_{50} 值分别为 0.345 ± 0.013 、 0.104 ± 0.004 、 0.186 ± 0.007 、 0.124 ± 0.010 和 $0.476 \pm 0.018 \mu\text{M}$,与阳性药喜树碱、拓扑替康和鲁比替康相当,并且对 Caco-2 细胞的抑制活性强于其它细胞株。进一步研究发现,10 能够显著诱导 Caco-2 细胞的凋亡。此外,10 还能够抑制四种肿瘤细胞株中 DNA 的合成,尤其对 HeLa 和 Caco-2 细胞的抑制尤为明显。在对凋亡通路研究时发现,10 能够上调 MDA-MB-231 和 A375 细胞中 p-P53 的表达。体外渗透实验证明,10 是一个适合通过口服给药的化合物,具有进一步研究的价值。

为了增加喜树碱的水溶性,Zhang 等人通过醚键将 10-羟基喜树碱和不同种类的氨基酸片段进行了连接,合成了一系列新颖的喜树碱氨基酸衍生物^[10]。体外细胞毒活性结果显示,部分目标化合物对 KB、HepG2 和 C26 细胞显示出较强的抗增殖活性,其中喜树碱-缬氨酸衍生物 11 对三种细胞株的抑制活性与 10-羟基喜树碱相当,同时,其 Log P 值为 0.74,低于 10-羟基喜树碱 (1.53),说明 11 的水溶性显著提高。构效关系显示,9 位硝基不利于衍生物的抗肿瘤活性。最近,该研究团队通过硫醇和烷基乙烯基醚与盐酸拓扑替康的反应,合成了 9-烷基甲硫基-10-羟基喜树碱衍生物和吡喃酮杂合的喜树碱衍生物^[11]。在对 HepG2, KB, HCT-8 和 SGC7901 细胞株的细胞毒活性研究表明,化合物 12 和 13 显示了广泛的抗肿瘤活性, IC_{50} 值都在 nM 级别。进一步研究显示,化合物 12 和 13 对 Topo I 的抑制活性强于 10-羟基喜树碱。分子对接证明,化合物 12 和 13 的平面骨架能够结合到 DNA 切割位

点,与 DA113 碱基对形成碱基堆积力。与拓扑替康类似,化合物 **12** 和 **13** 结构中的 20(S)-羟基能够与 Asp533 形成氢键,同时,内酰胺 D 环中的氧原子能够与 Asn722 形成水分子介导的氢键。此外,化合物 **12** 结构中 E 环的氧原子能够与 Thr718 和 Arg488 形成两根氢键和一根水分子介导的氢键,而 9 位的异丙硫甲基侧链直接延伸到 DNA 的大沟中。

Westover 等人发现^[12],化合物 **14** 是一个结构新颖的喜树碱衍生物,其对 ABC 转运蛋白 ABCG2 的表达不敏感。研究结果表明,抑制 HCT116-A2 等细胞中 ABCG2 的表达能够显著增强 SN-38 和拓扑替康的抗肿瘤活性,证明 SN-38 和拓扑替康是 ABC 转运蛋白 ABCG2 的底物。相反,抑制 ABCG2 的表达对 **14** 的细胞毒活性没有显著影响,说明 **14** 不是 ABCG2 的底物,其抗肿瘤活性不受 ABCG2 的影响。例如,SN-38 对 HCT116-SN50 细胞的 IC_{50} 值为 135.1 nM,但是与 Ko143 (BCRP 抑制剂)共同孵化后,其 IC_{50} 值降为 12.3 nM。对同一细胞株, **14** 的 IC_{50} 值为 4.0 nM,而在 Ko143 存在下,其 IC_{50} 值变为 3.0 nM。而在 HCT116、HCT116-G7 或 EKX 三种不表达 ABCG2 的细胞株中,Ko143 不改变 SN-38 和 **14** 的抗肿瘤活性。此外,在动物体内实验中, **14** 也显示出强

于依立替康的抗肿瘤活性。在化合物 **14** 的 7 位引入电性不同的取代基,体外肿瘤细胞抑制实验证实,上述具有强电负性的基团,如溴甲基、氯甲基和羟甲基能够增加分子与 ABCG2 的亲和能力,而弱电负性的基团没有产生该现象,表明 **14** 结构中 7 位的非极性取代基将有利于化合物躲避 ABCG2 介导的多药耐药。

研究显示,恶性肿瘤细胞能够产生高水平的活性氧自由基,例如过氧化氢等。基于该机理,Wang 等人合成了 SN-38 的前药 7-乙基-10-硼酸取代的喜树碱(**15**)^[13],其结构中的 C-B 键能够被过肿瘤细胞中过量产生的过氧化氢选择性活化而释放出药物分子 SN-38。细胞毒活性结果显示,化合物 **15** 对六种肿瘤细胞均有较强的抑制活性,其对 MCF-7 和 U251 的 IC_{50} 值为 0.628 和 0.036 μM ,与 SN-38 相当,对 HT-29 的 IC_{50} 值为 0.047 μM ,强于 SN-38。分子机制研究表明,前药 **15** 显示出强于 SN-38 的 Topo I 抑制活性,说明 **15** 不仅仅是 SN-38 的前药,同时也是一个 Topo I 抑制剂。体内研究表明,腹腔注射 **15** (2.0 mg/kg)能够显著抑制 U87MG 异体移植瘤的生长,同时没有显著的毒副作用。

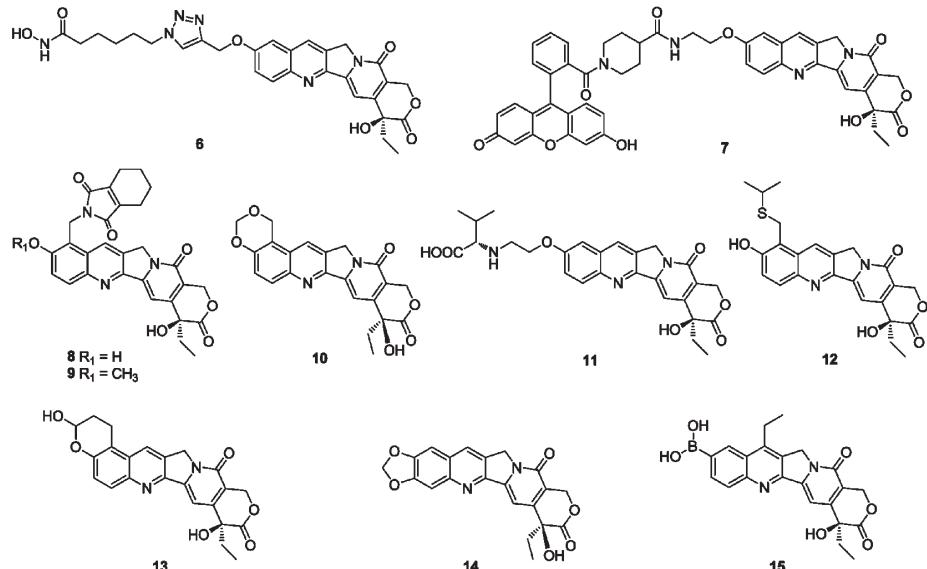


图 2 喜树碱 A 环修饰物结构

Fig. 2 Chemical structures of A ring modified camptothecin analogs

2 B 环结构修饰

喜树碱 B 环的改造主要集中在 7 位,引入合适的取代基到 7 位能够提高衍生物的抗肿瘤活性,以

及改变药代动力学等性质。

根据药效团拼合的原理以及前期分子对接研究,Cincinelli 等人设计并合成了结构新颖的喜树碱-铂缀合物^[14]。细胞抑制活性结果表明,化合物 **16**

和 17 对多种敏感细胞株及耐药细胞株均有较强的抗增殖作用,其中 17 的活性更为显著,其对 U2OS 和 U2OS/Pt 的 IC_{50} 值分别为 1.09 ± 0.54 和 $0.82 \pm 0.25 \mu\text{M}$,说明其能够逆转 U2OS/Pt 细胞的耐药性。构效关系显示,杂合分子之间连接臂的长度直接影响了化合物的抗肿瘤活性,当连接臂为 6 个碳原子时,化合物的活性强于连接臂为 2 个碳原子的缀合物。分子机制显示,杂合物能够形成铂-DNA 加合物,同时,与 SN-38 类似,其还能引发 Topo I 介导的 DNA 损伤。此外,静脉注射 17(25 mg/kg)能够显示出与依立替康相当,并强于顺铂的体内抗肿瘤活性,同时没有表现出显著的毒副作用。

为了进一步丰富喜树碱衍生物的种类多样性,通过微波促进的 Suzuki 偶联反应,Huang 等人在喜树碱的 7 位连接了多种不同类型的芳香杂环取代基,得到了结构新颖的喜树碱衍生物^[15]。细胞毒活性显示,该系列衍生物对 A549、HCT-116 和 HT-29 细胞均有不同程度的增殖抑制活性,其中 1-甲基吡唑-4-基衍生物 18 的活性最强,对上述三种肿瘤细胞株的 IC_{50} 值分别为 2.85 ± 3.51 和 21.79 nM ,其对 HCT-116 和 HT-29 细胞的活性强于阳性药 SN-38。构效关系显示,喜树碱 7 位偶联芳香杂环基团能够增加分子的细胞毒活性。酶抑制实验显示,与喜树碱类似,化合物 18 能够显著抑制 TOPO I 的活性。为了发现抗肿瘤活性更为优良的药物,通过铜离子催化的叠氮-炔基环加成反应,该研究团队又在喜树

碱的 7 位引入了多种基团,得到了结构新颖的喜树碱-7-三氮唑衍生物^[16]。对多种肿瘤细胞株(A549、HCT-116、HT-29、LoVo 和 MDA-MB-231)的体外抑制实验结果表明:7 位连接羟肟酸取代基时,化合物的抗肿瘤活性较低;而其它取代基的衍生物显示出较强的细胞毒活性,强于阳性药 SN-38 或与其相当,其中 7-正丁基取代喜树碱衍生物 19 的抗肿瘤活性最强,其 IC_{50} 值范围是 $0.081 \sim < 0.01 \mu\text{M}$ 。构效关系研究显示,喜树碱 7 位引入极性较小的基团,如烃基和芳香基团,有利于提高抗肿瘤活性。进一步研究显示,该系列喜树碱衍生物基本保持了 Topo I 的抑制活性。其中,体外细胞毒活性最强的化合物 19 并未显示出最强的 Topo I 抑制活性,表明化合物 19 的抗肿瘤活性不仅与 Topo I 有关,可能还有其它的分子机制。

Lee 等人合成了一系列新颖的 7-(N-取代-甲基)-喜树碱衍生物^[17]。体外细胞毒测试表明,该系列化合物对三种人肿瘤细胞株(A-549、MDA-MB-231 和 KB)和耐药细胞株 KBvin 均有极强的抑制活性, IC_{50} 值范围是 $0.0023 \sim 1.11 \mu\text{M}$ 。其中化合物 20 和 21 的活性最为显著,强于阳性药拓扑替康。化合物 20 对 A-549、MDA-MB-231 和 KB 细胞株的 IC_{50} 值分别为 0.0023 ± 0.0024 、 0.264 ± 0.0125 和 $0.0046 \pm 0.0032 \mu\text{M}$;21 对 KBin 细胞株的 IC_{50} 值为 $0.0132 \pm 0.0055 \mu\text{M}$ 。构效关系显示,喜树碱 7 位 N-芳香基和 N-烷基均有利于分子的抗肿瘤活性。

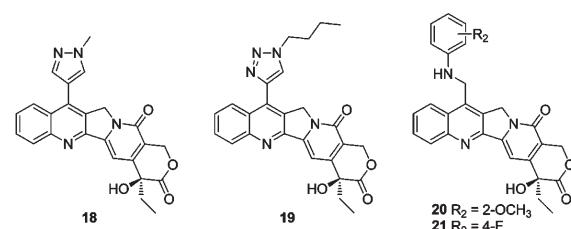
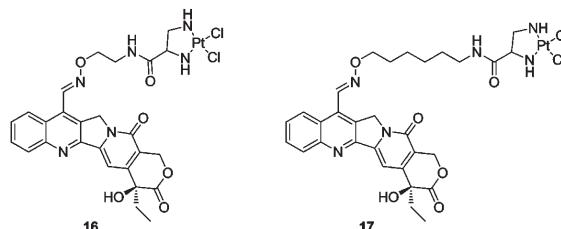


图 3 喜树碱 B 环修饰物结构

Fig. 3 Chemical structures of B ring modified camptothecin analogs

3 E 环结构修饰

喜树碱的结构中,E 环含有一个内酯结构,研究表明内酯结构是喜树碱的 Topo I 抑制活性和抗肿瘤活性的重要药效团,而该结构在生理条件下很容易被水解而降低分子的活性。因此,喜树碱 E 环的修饰主要目的是抑制内酯的水解,从而提高 E 环的稳定性,例如将 20S-羟基酯化、缩环成五元酮或扩环

成高喜树碱等。

Xu 等人将透明质酸(HA)连接到喜树碱分子中,合成了两个不同分子量的聚合前药(HA-CPT)^[18]。将透明质酸与喜树碱缀合,成功地将溶解度从 $2.08 \mu\text{g}/\text{mL}$ 增加到 $420 \sim 620 \mu\text{g}/\text{mL}$,改善了喜树碱的水溶性。同时,增加了对肿瘤细胞的靶向性,例如肿瘤细胞对药物的摄取增加,并且细胞毒活性也增强。此外,研究还发现高分子量的缀合物

显示出更高的载药能力和药物稳定性,但是,与低分子缀合物相比,其溶解度变低。两种透明质酸-喜树碱缀合物显示出了相似的药物摄取能力和抗肿瘤活性。上述研究表明,透明质酸能够显著改善喜树碱的水溶性,并提高喜树碱的靶向性。

基于小分子药物组合物的设计思路,利用传输系统的专一性和靶向性,将药物分子输送至特定的细胞,Henne 等人设计并合成了以叶酸为受体的小分子药物组合物^[19],利用二硫键、酰胺键和碳酸酯键将叶酸、单分散 PEG 和喜树碱连接到一个分子中,制备了化合物 22。研究显示,前药 22 的活化能够被过量的叶酸阻滞,说明化合物 22 的细胞摄取是基于叶酸受体。体外细胞毒活性结果显示,化合物 22 能够显著抑制 KB 细胞株的增殖,IC₅₀ 值为 6 nM,同样地,与 0.1 mM 叶酸共同孵化,能够极大地降低化合物 22 的细胞毒活性,进一步表明叶酸受体在化合物 22 的抗肿瘤活性中发挥了重要作用。

为了克服喜树碱的毒副作用和低水溶性,Borrelli 等人^[20]通过二硫键将角鲨烯连接到喜树碱分子结构中,合成了在水溶液中能够形成自主装纳米粒,进入细胞后能够释放出药物的喜树碱前药分子(23 和 24)。化合物 23 和 24 对 MCF-7 细胞有一定的体外抑制活性,IC₅₀ 值分别为 8.6 ± 0.1 和 10.5 ± 1.3 μM,抗肿瘤活性相当。不过,当孵化过程中加入二硫苏糖醇(还原二硫键)时,含有二硫键的化合物 23 的抗肿瘤活性增强约 10 倍,IC₅₀ 值为 0.8 ± 0.07 μM,而不含二硫键的化合物 24 的抗肿瘤活性显著降低,表明,化合物 23 的二硫键被还原后释放出喜树碱而提高抗肿瘤活性。

为了降低喜树碱的毒性,同时增加喜树碱对肝癌和肠癌细胞的选择性,Li 等人将胆汁酸连接到喜树碱的 10 位和 20 位,得到了结构新颖的喜树碱-胆汁酸杂合物^[21]。体外抗肿瘤活性显示,将胆汁酸连接到喜树碱 20 位能够增加杂合分子对 SMMC7721 和 HCT-116 细胞的抑制活性。荧光显微镜证明,相对于人乳腺癌细胞 MCF-7,化合物 25 进入人肝癌细胞 SMMC7721 的能力更强。体内实验表明,腹腔注射 26(57.63 μmol/kg)的抑瘤率为 71.12%,而且未造成小鼠体重减轻,说明其毒性较低。同时,值得注意的是,通过酰胺键连接的化合物 25 的体内抗肿瘤活性低于酯键连接的化合物 26,这可能与酯键容易被酶水解有关。近来,根据药效团拼合原理,该团队又将具有抗肿瘤活性的青蒿琥酯与喜树碱通过酯键

进行连接^[22],得到了新颖的喜树碱-青蒿琥酯缀合物(27)。在 MTT 法细胞增殖实验中,与喜树碱和青蒿琥酯单体相比,缀合物 27 显示出更强的抗 MCF-7 和 SMMC-7721 细胞增殖的活性。体内实验结果证实,与喜树碱和青蒿琥酯相比,腹腔注射 27(0.023 mmol/kg)具有更高的抗肿瘤活性(50.19 ± 1.31%),同时其具有较低的毒性。上述结果表明,27 能够发挥喜树碱和青蒿琥酯协同的抗肿瘤活性,并且对正常组织的毒副作用较低。

Liu 等人通过铜催化的“一锅煮”反应合成了新型的喜树碱自旋标记衍生物^[23],并采用磺酰罗丹明 B 法,考察目标产物对四种肿瘤细胞株的细胞毒活性。实验结果显示,大部分化合物具有显著的抗肿瘤活性,IC₅₀ 值在 nM 级别,强于或相当于阳性药拓扑替康。其中,化合物 28 和 29 对耐药 KBvin 的 IC₅₀ 值分别为 0.057 ± 0.014 和 0.072 ± 0.014 μM,显著强于拓扑替康(IC₅₀ = 0.40 ± 0.021 μM),说明喜树碱 20 位的自旋标记衍生物具有一定的抗多药耐药的能力。初步的构效关系研究显示:连接臂氨基酸的支链越大,分子的抗肿瘤活性越低;磺酰肽侧链的长度也是影响活性的重要因素。

脒是一种具有广泛生物学活性的药效团,此外,磺酰基团也广泛应用在药物分子结构中。根据药效团拼合的设计原理,Lee 等人^[24]通过三组分反应将磺酰脒结构引入到喜树碱的 20 位,以期能够得到抗肿瘤活性增强、毒副作用减弱的新型喜树碱衍生物。12 个目标产物对四种肿瘤细胞株(A-549、DU-145、KB 和 KBvin)有很强的抑制活性,优于阳性药伊立替康,但与喜树碱相比,目标分子的抗肿瘤活性均有一定程度的降低。其中,化合物 30 是抗肿瘤活性最强的分子,其对四种细胞株均有显著的抑制作用,IC₅₀ 值分别为 0.031 ± 0.0035、0.050 ± 0.0038、0.14 ± 0.018 和 0.026 ± 0.013 μM。其中,化合物 30 对耐药 KBvin 细胞的抑制活性较为突出。分子机制研究表明,在无细胞系统中,30 能够剂量依赖性地抑制 Topo I 的活性,与喜树碱类似,并阻滞 A549 细胞在 S 期。此外,30 还能活化 caspase-3、8 和 9,进而剪切 PARP,导致 A549 细胞凋亡。在 A549 细胞中,30 能够抑制 Topo I 的活性,并且能够显著抑制 Topo Iα 和 β 的表达,但不影响 Topo II 的活性,从而诱导 DNA 损伤,同时活化 DNA 损伤检验点 ATM-chk2 通路而激活凋亡通路。体内实验表明,30 能够显著抑制肿瘤的生长,但没有表现出毒

副作用。急毒性实验证明,腹腔注射 300 mg/kg **30** 没有显示出明显的毒性,而喜树碱与伊立替康的半数致死量 LD₅₀ 分别为 56.2 mg/kg 和 177.5 mg/kg。上述研究表明,化合物 **30** 具有进一步深入研究的价值。通过铜催化的多组分反应,该团队最近又合成了新颖的 PEG 连接的喜树碱磺酰胺类衍生物^[25],其对四种肿瘤细胞株(A-549、MDA-MB-231、KB 和 KBvin)均有显著的抑制活性,IC₅₀ 值在 nM 级别,强于阳性药伊立替康。其中,化合物 **31** 的活性最为显

著,其对四种细胞株均有较强的抗肿瘤活性,IC₅₀ 值分别为 0.0623 ± 0.0195、0.1143 ± 0.0215、0.0803 ± 0.0281 和 0.0862 ± 0.0279 μM。此外,目标化合物对 A549 细胞的抑制活性强于另外三种细胞。值得关注的是,目标分子对 KB 和耐药 KB 均有较强的抗增殖活性,而伊立替康没有显示出抗肿瘤活性,表明目标产物可能具有抗耐药肿瘤细胞的作用。

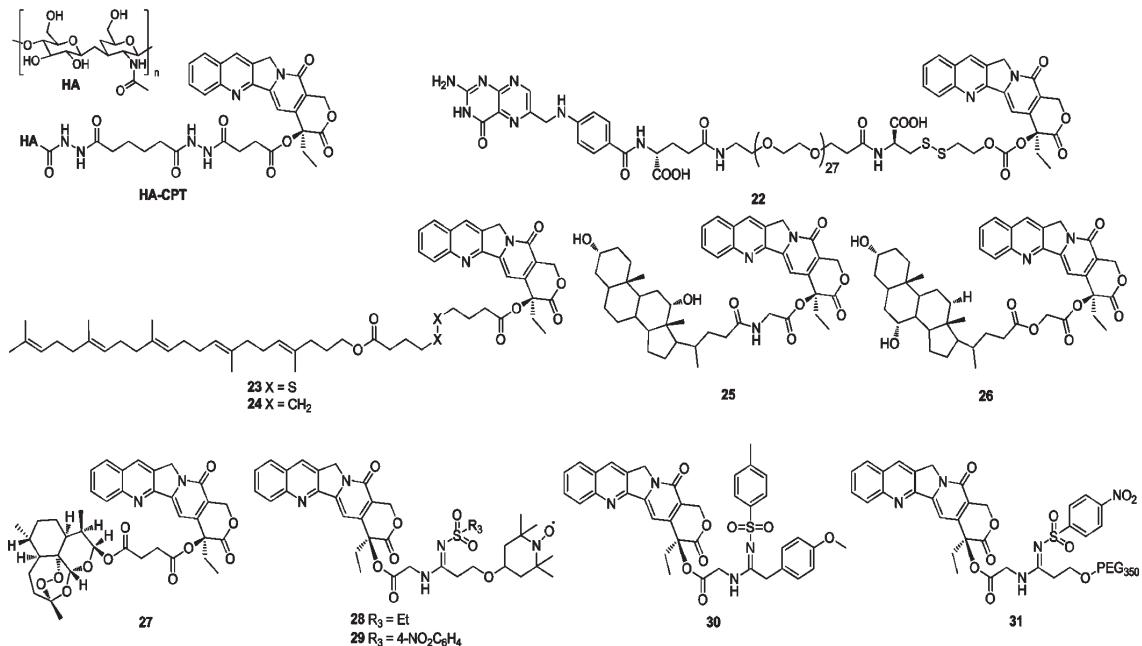


图 4 喜树碱 E 环修饰物结构

Fig. 4 Chemical structures of E ring modified camptothecin analogs

4 多环结构修饰

为了提高内酯环的代谢稳定性,Miao 等人引入了一个新的策略^[26]:将内酯结构用生物电子等排体 α-氟醚置换,设计并合成了一系列(20S,21S)-21-氟喜树碱衍生物。研究显示,该系列化合物仍具有显著的 Topo I 抑制活性,其中 21R 异构体的活性低于 21S 异构体,这与体外细胞毒活性结果一致。进一步研究发现,7 位用环己基取代的衍生物 **32** 具有非常优良的水解稳定性,说明 21-S 氟的引入能够显著改善喜树碱 E 环的代谢稳定性。此外,**32** 对 A549、MDA-MB-435 和 HCT116 三种细胞株也具有较强的抗增殖活性,IC₅₀ 值分别是 0.71、0.41 和 0.07 μM,其中对 A549 和 HCT116 的细胞毒活性强于喜树碱。分子机制研究证明,**32** 能够显著抑制 Topo I 的活

性,而对 Topo II 的活性没有影响,这也与分子对接结果一致,**32** 能够与 DNA 断裂位点相互作用,同时 B 环中的氮原子和 E 环中的羟基能分别与 Topo I 的 Arg364 和 Asp533 形成氢键,此外,C-7 位的环己基能够深入到空穴中与 Ala351 残基形成疏水相互作用。进一步研究显示,**32** 能够诱导 A549 细胞凋亡和 S 期阻滞。小鼠体内研究表明,腹腔注射 2 mg/kg 和 4 mg/kg **32** 的抑瘤率分别为 34% 和 63%,其中 4 mg/kg **32** 的抑瘤率与最大耐受剂量(0.5 mg/kg)的拓扑替康相当。同时,**32** 给药组的小鼠体重没有显著的降低,也表明其毒副作用较低。

Wang 等人合成了一系列结构新颖的高喜树碱衍生物^[27],其 E 环结构中引入了 α-OMe 或 α-OAc 基团。体外活性显示,目标产物对 HCT-116 和 HT-29 细胞株有极强的抑制活性,IC₅₀ 值范围在 0.2 ~

63.7 nM, 与 SN-38 相当或强于 SN-38, 说明七元的内酯 E 环有利于提高抗肿瘤活性。其中, 化合物 **33** 的活性尤为显著, 对上述两种细胞株的 IC_{50} 值分别为 0.2 和 0.3 nM。初步构效关系显示, 内酯环中引入 α -OMe 时, 化合物的抗肿瘤活性优于 α -OAc。同时, 喜树碱 7 位用环状脂肪烃基团取代时, 抗肿瘤活性显著降低, 当用芳香基团取代时, 分子的抗肿瘤活性能够保持。分子机制研究表明, 在 10 μ M 浓度下, 大部分目标化合物能够显示出强于 SN-38 的 Topo I 抑制活性。虽然化合物 **33** 在体外展示出了较为突出的细胞毒活性, 但是研究发现其水溶性较低, 这妨碍了它的体内抗肿瘤研究。该研究小组注意到, 体外细胞毒活性结果显示, 7 位引入吡啶结构后, 化合物的抗肿瘤活性没有显著的降低, 而吡啶结构中的氮原子能够制备成水溶性盐的形式, 因此, 该团队进一步合成了盐酸盐 **34**。体外抗肿瘤活性显示, **34** 的活性与 **33** 相当, 强于 SN-38, 同时, **34** 也是一个典型的 Topo I 抑制剂, 还能抑制 survivin 的活性, 并显示出较强的代谢稳定性。静脉注射 **34** (0.5 mg/kg) 的体内抗肿瘤活性与伊立替康 (15 mg/kg)

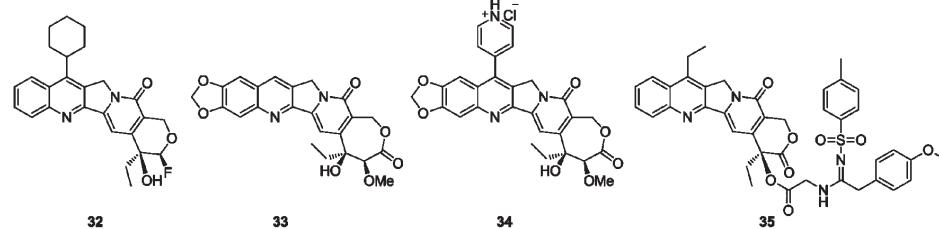


图 5 喜树碱多环修饰物结构

Fig. 5 Chemical structures of multiple rings modified camptothecin analogs

5 结语

目前, 肿瘤是人类健康面临的严峻挑战, 因此, 新颖、低毒、高效抗肿瘤药物的研发刻不容缓。喜树碱作为一种重要的天然产物, 以其作为先导物, 先后有多种喜树碱类抗肿瘤药物已在临床使用。但是, 这些药物仍然存在毒副作用较强、易代谢、易产生耐药等问题, 为了解决上述问题, 喜树碱的结构修饰改造仍然是国内外抗肿瘤药物研究领域的热点。目前, 研究的位点主要集中在喜树碱的 A、B 和 E 环, 通过药效团拼合、前药、引入极性基团等原理, 重点研究喜树碱的靶向释放、增强抗肿瘤活性、提高 E 环内酯结构的代谢稳定性以及增加水溶性等方面内容, 通过研究也发现了一些活性较为优良、有进一步

相当, 并且没有显示出毒副作用。

为了进一步研究喜树碱衍生物 **30** 的抗肿瘤活性, Liu 等人^[28] 又将磺酰胺药效团连接到分子结构中, 制备了一系列新颖的喜树碱衍生物。对 A549、KB 和耐药 KB 细胞株进行筛选时发现, 部分衍生物展现出了与阳性药喜树碱或伊立替康相当或更强的细胞毒活性。尤其是该系列化合物对耐药 KB 细胞的抑制活性显著, 而喜树碱和伊立替康则较低。在目标分子中, 化合物 **35** 的抗肿瘤活性最为明显, 对 A-549、KB 和 KBvin 三种细胞株的 IC_{50} 值分别为 0.0068 ± 0.0001 、 0.0094 ± 0.0015 和 $0.0101 \pm 0.0026 \mu$ M, 强于喜树碱、伊立替康和 **30**。分子对接研究显示, 化合物 **35** 和 **30** 与 Topo I-DNA 的作用方式与喜树碱和伊立替康不同, **35** 和 **30** 的磺酰胺结构直接与 Topo I 形成氢键作用力, 而 Topo I 与双链 DNA 之间的 $\pi-\pi$ 堆积等疏水相互作用也被证实是结合驱动力。分子对接研究与构效关系研究结果一致, 体积较大的基团引入喜树碱的 20 位将改变分子与 Topo I 的结合方式。

研究价值的衍生物, 并对其抗肿瘤分子机制进行了探索, 为喜树碱类抗肿瘤药物的深入研究提供了有益的帮助。

参考文献

- Wall ME, et al. Plant antitumor agents. I. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *camptotheca acuminata*. *J Am Chem Soc*, 1966, 88:3888-3890.
- Verma RP, et al. Camptothecins: A SAR/QSAR Study. *Chem Rev*, 2009, 109:213-235.
- Hsiang YH, et al. Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *J Biol Chem*, 1985, 260:14873-14878.
- de Lucas Chazin E, et al. An overview on the development of

- new potentially active camptothecin analogs against cancer. *Mini-Rev Med Chem*, 2014, 14:953-962.
- 5 Liu YQ, et al. Perspectives on biologically active camptothecin derivatives. *Med Res Rev*, 2015, 35:753-789.
- 6 Guerrant W, et al. Dual-acting histone deacetylase-topoisomerase I inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23:3283-3287.
- 7 Chevalier A, et al. Synthesis, biological evaluation, and *in vivo* imaging of the first Camptothecin-Fluorescein conjugate. *Bioconjugate Chem*, 2013, 24:1119-1133.
- 8 Rodriguez-Berna G, et al. Semisynthesis, cytotoxic activity, and oral availability of new lipophilic 9-substituted camptothecin derivatives. *ACS Med Chem Lett*, 2013, 4:651-655.
- 9 Rodriguez-Berna G, et al. A promising camptothecin derivative: Semisynthesis, antitumor activity and intestinal permeability. *Eur J Med Chem*, 2014, 83:366-373.
- 10 Meng G, et al. Synthesis and cytotoxic activities of the amino acid-conjugates of 10-hydroxycamptothecin. *Chin J Org Chem*, 2014, 34:155-160.
- 11 Tan H, et al. Synthesis of novel 10-hydroxycamptothecin derivatives utilizing topotecan hydrochloride as ortho-quinonemethide precursor. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23:118-125.
- 12 Westover D, et al. FL118, a novel camptothecin derivative, is insensitive to ABCG2 expression and shows improved efficacy in comparison with irinotecan in colon and lung cancer models with ABCG2-induced resistance. *Mol Cancer*, 2015, 14:92.
- 13 Wang L, et al. 10-Boronic acid substituted camptothecin as prodrug of SN-38. *Eur J Med Chem*, 2016, 116:84-89.
- 14 Cincinelli R, et al. Design, modeling, synthesis and biological activity evaluation of camptothecin-linked platinum anticancer agents. *Eur J Med Chem*, 2013, 63:387-400.
- 15 Wang L, et al. Suzuki coupling based synthesis and *in vitro* cytotoxic evaluation of 7-heteroaryl-substituted camptothecin analogs. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24:1597-1599.
- 16 Wang L, et al. Synthesis of 7-triazole-substituted camptothecin via click chemistry and evaluation of *in vitro* antitumor activity. *Chin J Chem*, 2014, 32:157-162.
- 17 Zhao XB, et al. Design and synthesis of new 7-(N-substituted-methyl)-camptothecin derivatives as potent cytotoxic agents. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24:3850-3853.
- 18 Xu Z, et al. Synthesis and optimization of a bifunctional hyaluronan-based camptothecin prodrug. *Arch Pharm Chem Life Sci*, 2013, 347:240-246.
- 19 Henne WA, et al. Synthesis and activity of a folate targeted monodisperse PEG camptothecin conjugate. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23:5810-5813.
- 20 Borrelli S, et al. New class of squalene-based releasable nanoassemblies of paclitaxel, podophyllotoxin, camptothecin and epothilone A. *Eur J Med Chem*, 2014, 85:179-190.
- 21 Li X, et al. Synthesis and biological activity of some bile acid-based camptothecin analogues. *Molecules*, 2014, 19: 3761-3776.
- 22 Li Q, et al. The biological characteristics of a novel camptothecin-artesunate conjugate. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25: 148-152.
- 23 Zhao XB, et al. Design and synthesis of novel spin-labeled camptothecin derivatives as potent cytotoxic agents. *Bioorg Med Chem*, 2014, 22:6453-6458.
- 24 Wang MJ, et al. Design, synthesis, mechanisms of action, and toxicity of novel 20(s)-sulfonylamidine derivatives of camptothecin as potent antitumor agents. *J Med Chem*, 2014, 57: 6008-6018.
- 25 Song ZL, et al. Design and synthesis of novel PEG-conjugated 20(S)-camptothecin sulfonylamidine derivatives with potent *in vitro* antitumor activity via Cu-catalyzed three-component reaction. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25:2690-2693.
- 26 Miao Z, et al. A new strategy to improve the metabolic stability of lactone: Discovery of (20S, 21S)-21-fluorocamptothecins as novel, hydrolytically stable topoisomerase I inhibitors. *J Med Chem*, 2013, 56:7902-7910.
- 27 Wang L, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel homocamptothecin analogues as potent antitumor agents. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23:1950-1962.
- 28 Song ZL, et al. Design, synthesis, cytotoxic activity and molecular docking studies of new 20(S)-sulfonylamidine camptothecin derivatives. *Eur J Med Chem*, 2016, 115:109-120.

(上接第 1815 页)

- 17 Chen Y(陈雨), Wang QZ(王奇志), Feng X(冯煦). Research progress in triterpenoid saponins in plants of *Lonicera L.*. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2013, 12:1679-1686.
- 18 Shi JZ(时京珍), Liu GT(刘耕陶). Protective effect of the fulvotomentosones on paracetamol-induced hepatotoxicity in mice. *Acta Pharm Sin*(药学学报), 1995, 30:311-314.

- 19 Shi JZ, Liu GT. Effect of alpha-hederin and sapindoside B on hepatic microsomal cytochrome P-450 in mice. *Acta Pharm Sin*, 1996, 17:264-266.
- 20 Wang TZ(王天志), Li YM(李永梅). Research progress of honeysuckle. *West China J Pharm Sci*(华西药学杂志), 2000, 4:292-294.