

雷公藤红素的抗肿瘤作用及结构改造研究进展

王红敏¹ 刘玉玉² 李晓静¹ 柳仁民¹

(1. 聊城大学 药学院, 山东 聊城 252059; 2. 山东齐都药业有限公司, 山东 淄博 255400)

摘要 雷公藤红素是从中药雷公藤中分离得到的五环三萜类化合物, 具有广泛的生物学活性, 特别是抗肿瘤作用比较显著, 但因其毒副作用大、水溶性差, 受限用于临床应用. 笔者查阅了2009年-2018年以来国内外文献, 对雷公藤红素抗肿瘤作用及其结构改造工作进行综述, 旨在为进一步开展结构改造工作和抗肿瘤新药研发奠定基础.

关键词 雷公藤红素; 抗肿瘤作用; 结构改造

中图分类号 R285

文献标识码 A

0 引言

癌症的发生和发展是一个多步骤多阶段的复杂过程, 严重威胁人类的健康和生命. 虽然目前临床上有多种抗癌药物供使用, 但是癌症病因复杂、易产生耐药性, 而且由于抗癌药物的毒副作用等原因使得现有药物不能满足妥善治疗或个体化治疗的需要^[1]. 天然产物一直是抗肿瘤药物发现的重要来源, 萜类化合物是一类骨架庞杂、种类繁多、数量巨大、结构千变万化又具有广泛生物学活性的一类重要的天然药物化学成分^[2,3].

雷公藤红素(Celastrol), 又称为南蛇藤素, 来源于传统中药卫矛科植物雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook f), 为红色针状晶体, 是醌甲基型五环三萜类化合物^[4,5]. 雷公藤红素具有抗炎, 抗病毒, 免疫调节, 抗肿瘤等多种药理活性, 其中抗肿瘤作用尤为显著. 雷公藤红素对肺癌、卵巢癌、肝癌、胃癌、白血病、结肠癌、乳腺癌等多种癌细胞具有抑制作用. 自2006年Yang HJ等^[6]首次报道了雷公藤红素可以诱导前列腺癌细胞凋亡, 引发了对雷公藤红素抗癌机制的研究. 尽管雷公藤红素具有显著的抗肿瘤作用, 但因其水溶性较差, 生物利用度较低, 且毒副作用大^[7], 目前仍未有单体药物上市的报道. 通过对雷公藤红素进行结构改造, 提高其溶解度和生物利用度, 降低其毒副作用, 成为雷公藤红素结构修饰工作的一个重要方向. 笔者查阅国内外相关文献, 对雷公藤红素的抗肿瘤作用及其结构改造工作展开论述, 旨在为进一步开展雷公藤红素结构改造工作及其药理活性研究提供参考.

1 雷公藤红素的结构分析

分析雷公藤红素的结构(结构见图1)可以看出, 其A/B环的醌甲基、C-3位羟基和C-29位羧基为主要药效基团. 国内外所做的改造工作主要集中在这三个部位, 使其成酯、成酰胺、成盐等, 以期能够合成高效低毒的雷公藤红素衍生物.

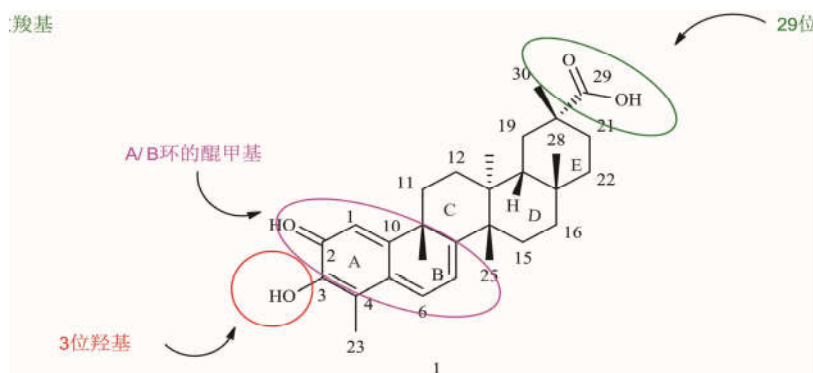


图1 雷公藤红素的结构

收稿日期: 2018-08-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(21675071); 山东省自然科学基金项目(ZR2016HB05) 资助

通讯作者: 柳仁民, 男, 汉族, 博士, 教授, 研究方向: 药物化学, E-mail: liurenmin@lcu.edu.cn.

2 雷公藤红素的抗肿瘤作用研究

2.1 诱导肿瘤细胞凋亡

细胞凋亡是在生理或病理条件下,由细胞内基因及细胞外一些因子调控所引起的细胞主动死亡的过程.雷公藤红素可以通过多种途径,诱导多种肿瘤细胞凋亡(诱导途径如图2所示).Mou HB等^[8]研究发现雷公藤红素通过激活线粒体和 Fas/FasL 介导的信号通路,诱导非小细胞肺癌 A549 凋亡.Zhang HY等^[9]研究发现雷公藤红素通过下调 microRNA-21,阻滞 PI3K/Akt-NF- κ B 信号通路,从而诱导人卵巢癌细胞(OVCaR3)发生凋亡.Chadalapaka G等^[10]研究发现雷公藤红素通过下调表面活性蛋白(Sp蛋白)和成纤维细胞生长因子受体3(FGFR3)的表达,诱导膀胱癌(KU7、253JB-V)细胞凋亡.Lu WZ等^[11]研究发现雷公藤红素通过激活 WNT/ β -catenin 通路介导的 β -链蛋白(β -catenin)的表达诱导人结肠腺癌(HT29)细胞凋亡,雷公藤红素可维持经典 WNT/ β -catenin 途径家族的表达水平以诱导 HT29 细胞凋亡.

ROS是活性氧簇,是需氧细胞在代谢过程中产生的,在肿瘤细胞中,高浓度的ROS会对其产生很大的损伤作用^[12].ROS可以通过激活下游的一些信号通路,诱导肿瘤细胞发生凋亡^[13].黄志平等^[14]研究表明雷公藤红素通过 ROS/JNK 途径激活半胱氨酸蛋白酶-9(caspase-9)和半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)诱导人骨肉瘤细胞 Saos-2 发生凋亡.而丁成国^[15]研究也指出雷公藤红素可以通过激活 ROS/JNK 信号通路诱导人胶质母细胞瘤(T98G)细胞发生细胞凋亡.Han XX等^[16]研究发现雷公藤红素通过激活 ROS/Akt/p70S6K 信号通路,增强缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)蛋白的表达,提高肝癌(HepG2)细胞和肺癌(H1299)细胞中 HIF-1 因子的活性,从而促进细胞凋亡.

NF- κ B 信号通路在癌细胞的增殖和凋亡过程中发挥着重要的作用^[17].徐佳等^[18]研究表明雷公藤红素在 mRNA 和蛋白质水平上均可上调人抑癌基因 p53 的表达以及抑制 NF- κ B 信号通路,且在 mRNA 和蛋白质水平上都抑制 X 连锁凋亡抑制蛋白(XIAP)的表达,从而诱导非小细胞肺癌 H1299 细胞发生凋亡.而张乙川等^[19]研究也表明雷公藤红素能通过激活 Caspase-3 及抑制 NF- κ B 通路诱导人肝癌(SMMC-7721)细胞凋亡.细胞凋亡通路有线粒体通路、死亡受体通路和内质网应激通路^[20].研究发现,细胞受到刺激后会生长时间和高强度的内质网应激,继而发生凋亡^[21,22].陈艳阳等^[22]研究表明雷公藤红素通过激活内质网应激相关通路,使内质网应激介导凋亡相关蛋白 CHOP、c-caspase-12 和 c-caspase-3 的表达水平升高,从而诱导人骨肉瘤(HOS)细胞发生凋亡.Shrivastava S等^[23]首次报道了雷公藤红素通过调节 PI3K/Akt 通路,促进细胞凋亡相关基因的表达以及通过线粒体通路诱导人类乳腺癌(TNBC)细胞的凋亡.Kim JH等^[24]研究指出雷公藤红素通过激活 AMPK/p53/PLK-2 途径抑制人乳腺癌细胞 MCF-7 的生长.Lu C等^[25]研究发现 miR-223 基因可参与肿瘤的细胞调控,雷公藤红素可以下调 miR-223,从而诱导人乳腺癌细胞 MCF-7 和人胰腺癌细胞 PC3 发生凋亡.

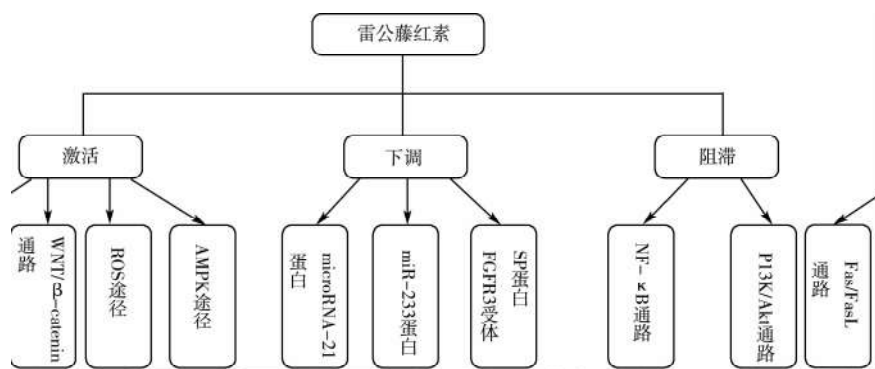


图2 雷公藤红素诱导癌细胞凋亡的途径

2.2 阻滞细胞周期

癌细胞的细胞周期调控处于失控状态,这是癌细胞可以无限增殖的原因之一,因此可通过阻滞细胞周期,将癌细胞阻滞于某一细胞周期,可达到治疗癌症的目的.雷公藤红素通过调节多种信号通路和靶蛋白,阻滞癌细胞于某一周期(如图3所示).Ji N等^[26]研究发现,雷公藤红素可以下调与 hERG 通路相关蛋白和基

因,从而使前列腺癌(DU145)细胞周期阻滞于 G_0/G_1 期. Sha M等^[37]研究发现,雷公藤红素通过阻滞miR-21-mTOR信号通路,上调P2蛋白的表达水平,将胃癌(BGC-823和MGC-803)细胞阻滞于 G_2/M 期. cyclin B-cdc2复合物能促进 G_2/M 转化,从而促进细胞分裂^[28]. 许阳贤等^[29]研究发现雷公藤红素作用于肝癌(SMMC-7721)细胞,使失活的cdc2增加,cyclinB积聚,cyclin B-cdc2复合物不能正常活化分裂中期各种相关下游分子,细胞阻滞在 G_2/M 期. 闫燕艳等^[30]研究表明雷公藤红素通过上调P27,下调p-Rb、Cyclin D1,使人乳腺癌(MDA-MB-453)细胞周期阻滞于 G_0/G_1 期. 倪海雯等^[31]研究发现雷公藤红素可将人多发性骨髓瘤LP-1细胞周期阻滞于 G_1 期,从而抑制其后续的DNA合成及有丝分裂. 张志强等^[32]研究表明雷公藤红素通过下调人卵巢癌SW620细胞内的p-Akt、NF- κ B、Survivin蛋白表达,激活caspase-7、caspase-3和PARP信号,阻滞细胞周期于 G_2/M 期,从而抑制细胞增殖. 此外,雷公藤红素可以将人卵巢癌(SKOV-3)^[33]、人急性髓性白血病(HL-60)^[34]、急性T淋巴细胞白血病(Jurkat)^[34]等细胞周期阻滞于 G_0/G_1 期.

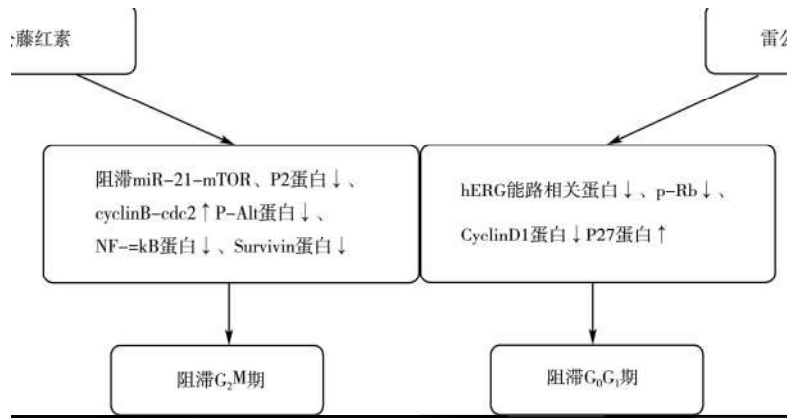


图3 雷公藤红素阻滞癌细胞周期的途径

2.3 抑制肿瘤细胞侵袭和转移

肿瘤细胞的侵袭指的是恶性肿瘤从原发瘤或继发瘤向邻近的宿主组织侵犯或占领,而肿瘤的转移是肿瘤细胞由其原发部位侵入淋巴管、血管或体腔部位,肿瘤细胞被血流、淋巴流带到另一部位或器官继续生长,形成与原发瘤同样类型的肿瘤. 侵袭是转移的一个重要部分,二者都属于肿瘤细胞恶性行为. 上皮-间质转化是癌细胞发生侵袭和转移的关键阶段.

Kang H等^[35]研究指出雷公藤红素通过抑制转录因子(Snail)和调节E-钙粘蛋白表达来抑制TGF- β 1诱导的上皮-间充质转化,从而抑制肺癌A579细胞的侵袭和转移. Yu XL等^[36]雷公藤红素通过下调PI3K/Akt/NF- κ B信号通路,降低金属基质蛋白酶(MMP-2和MMP-9)的表达,从而抑制人成骨肉瘤(U-2OS)细胞的侵袭和转移. 杜娜等^[37,38]研究表明高浓度的雷公藤红素可以抑制胃癌(AGS)细胞和人肝癌(HepG2)细胞的迁移,但具体作用机制需要进一步研究. 目前有关雷公藤红素抑制肿瘤细胞侵袭和迁移的作用机制报道较少,但我们不可否定雷公藤红素在抑制侵袭和迁移方面的影响,因此对于这方面的研究还需进一步深入探讨.

2.4 抑制血管新生

血管生成是恶性实体肿瘤突破上皮基底膜后进一步生长所必须的,血管新生后可以为肿瘤细胞提高充足的营养供给,因此通过抑制血管新生可以切断肿瘤细胞的营养供给,从而达到治疗的目的. 缺氧性诱导因子(HIF-1 α)是肿瘤细胞生长过程中重要的调控因子,肿瘤细胞在缺氧状态下,血管新生较快.

Huang LL等^[39]研究发现,在肝癌(HepG2)细胞和肺癌(A549)细胞中,雷公藤红素通过抑制HIF-1 α 蛋白及靶基因的表达,抑制缺氧介导的血管生成和转移. Huang S等^[40]研究表明雷公藤红素通过抑制骨髓衍生的内皮祖细胞中血管内皮生长因子(VEGF)的分泌,从而抑制VEGF诱导的功能活性来抑制血管再生. 王淑静等^[41]研究指出雷公藤红素通过降低人胃癌(SGC-7901)细胞和人脐静脉内皮(ECV304)细胞中HIF-1 α 和单羧酸转运体(MCT-4)蛋白表达水平,抑制细胞增殖,从而达到抑制胃癌细胞生长和肿瘤血管生成的双重抗肿瘤作用.

3 雷公藤红素的化学改造

3.1 A/B 环的结构改造及其抗癌活性

雷公藤红素的生物活性与 A/B 环有关, Sreeramulu S 等^[42] 研究表明, A/B 环含有迈克尔受体, A/B 环上的 C-6 位极易发生亲核加成反应, 形成迈克尔加成产物, 同时 A/B 环发生结构变化, 醌甲基结构变成芳香环结构(以半胱氨酸残基作为亲电基团, 进行迈克尔加成反应, 机理见图 4)。此外 C-3 位的羟基, 通过酯化反应, 可以与酸酐或酰氯反应, 合成一些酯类衍生物。

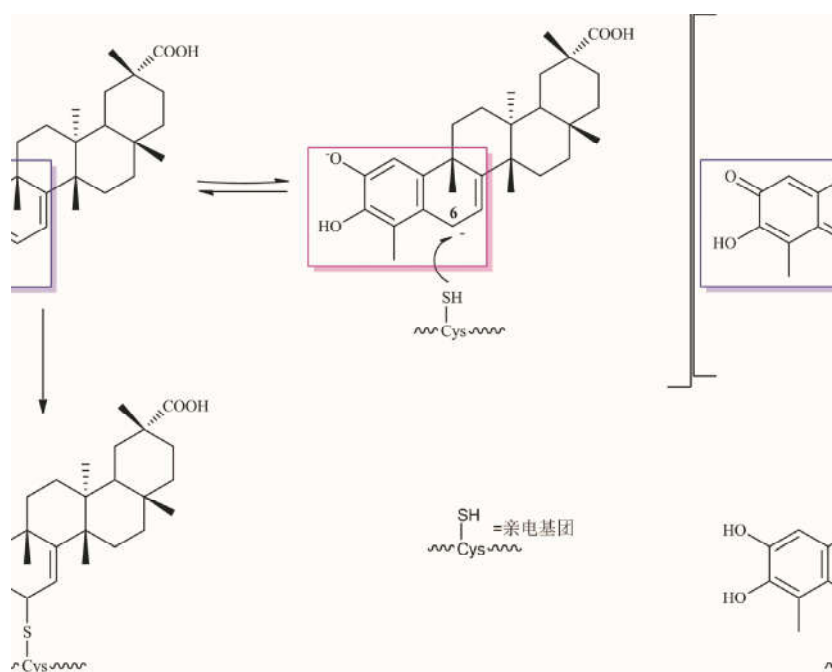


图 4 迈克尔加成反应机理^[42]

3.1.1 A/B 环骨架改造. Figueiredo SAC 等^[43] 对 A/B 环、C-29 位羧基进行改造, 合成了衍生物 1-4 (结构及 IC₅₀ 见图表 1), 并初步阐明了衍生物在人肺癌细胞 (A549) 和胰腺癌细胞 (MIA PaCa-2) 中的构效关系, C-29 位羧基变成氨基甲酸酯后 (化合物 1) 抗癌活性与雷公藤红素相当 (雷公藤红素 IC₅₀ = 0.46-1.56 μmol/L). C-6 位烯丙基发生氧化重排后 (化合物 2) 抗癌活性下降, 但是化合物 2 对肿瘤细胞和正常细胞之间的选择性显著增加. C-3 位羟基甲基化后 (化合物 3) 抗癌活性大幅度降低. 在 C-2 位、C-3 位引入乙酰基, 合成的二乙酸酯类化合物 4, 抗癌活性最佳, 且对肿瘤细胞和正常细胞之间的选择性最佳。

表 1 雷公藤红素衍生物 1-4 的结构及 IC₅₀ 值

Compounds	A/B 环	IC ₅₀			Selectivity
		A549	MIA PaCa-2	Normal cell	
1		1.74 ± 0.05	—	—	—
		0.58 ± 0.05	—	—	
2		6.53 ± 0.43	—	—	↑ ↑ ↑ Tumour-to-non-tumour selectivity
		6.50 ± 0.49	> 30	—	
3		> 10	—	—	—
		> 10	—	—	
4		0.88 ± 0.04	—	—	↑ ↑ ↑ Tumour-to-non-tumour selectivity
		0.33 ± 0.02	3.68 ± 0.20	—	

3.1.2 C-6 位结构改造. Tang KY 等^[7] 通过碳酸化、磺化、硫化反应,对雷公藤红素的 A 环和 C-6 位进行了结构改造,设计合成了一系列雷公藤红素衍生物 5-10(结构见图 5,活性见表 2),抗癌活性测试表明,与先导化合物雷公藤红素相比,C-6 位磺化(化合物 8)和 C-6 位硫化(化合物 9-10)的衍生物对于人胃癌细胞系(BGC823, H4, Bel7401)抗癌活性提高 5-8 倍,且 2,3 位乙酰化比丙酰化活性好,其中化合物 10 活性最好,而 C-6 位碳酸化时失去抗癌活性。

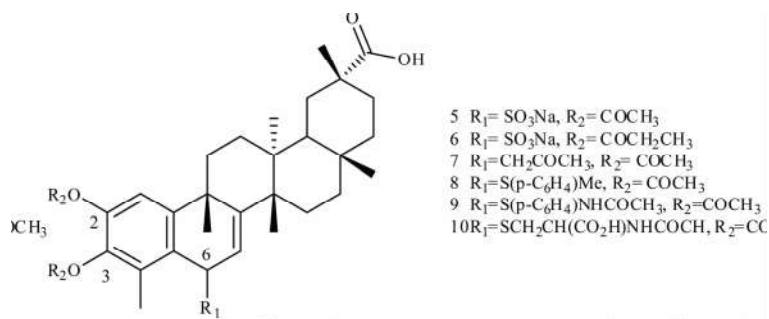


图 5 雷公藤红素衍生物 5-10

为了进一步探索 A/B 环结构变化对抗肿瘤作用的影响, Tang KY 等^[44] 在 C-6 位引入了吡啶类似物合成了 10 种衍生物 11-20(结构见图 6,主要衍生物活性见表 2),并测定其对人恶性胶质瘤细胞(H4) 和人肝癌细胞(Bel7402)的抗癌活性,与雷公藤红素相比,6 位引入吡啶,抗癌活性较差;引入 6 取代吡啶基团比 5 取代抗癌活性更好;引入氟取代吡啶基团抗癌活性降低。

由于仅在 C-6 位引入不同取代的吡啶基团,衍生物的抗癌活性降低, Tang KY 等又在 29 位和 3 位分别引入甲氧基,合成了衍生物 21-29(结构见图 6),抗癌活性指出,化合物 23、26、28 对肝癌细胞(Bel-7402)抑制作用优于雷公藤红素,化合物 28 对人恶性胶质瘤细胞(H4) 和肝癌细胞(Bel7402) 的抗癌活性最好。

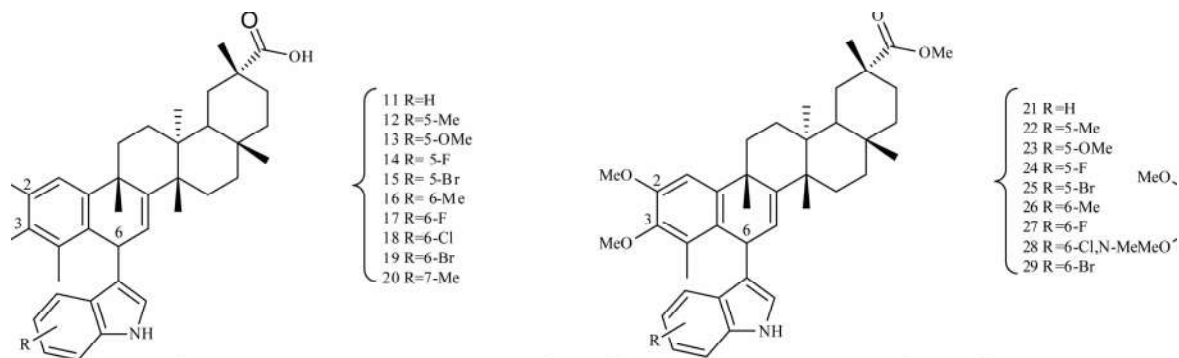


图 6 雷公藤红素衍生物 11-29

表 2 雷公藤红素衍生物的 5-28 的 IC_{50} 值

Compounds	细胞系 IC_{50} (μM)		
	BGC823	H4	Bel7402
Celastrol	3.73	2.09	1.55
5	0.49	1.37	1.73
6	0.74	1.12	2.39
7	> 150	> 150	> 150
8	0.47	0.37	0.45
9	0.42	0.35	0.46
10	0.50	0.46	0.54
11	—	56.22	> 100
14	—	31.75	34.3
17	—	60.90	11.88
23	—	4.59	0.51
26	—	7.88	0.02
28	—	2.03	0.01

3.1.3 C-3 位羟基结构改造. 孙红莉^[45] 等以酯化反应为主,通过 C-3 位羟基与酰氯或酸酐反应,引入水溶性基团,合成了一系列雷公藤红素衍生物 30-35(结构见图 7),并通过大鼠肾上腺髓质嗜铬瘤细胞 PC12 和大鼠

神经胶质瘤细胞 C6 测试体外抗癌活性,化合物 31-34 失去了抗癌活性(化合物 31-34 对两种癌细胞的 IC_{50} 值均大于 $50 \mu\text{mol/L}$),化合物 35 对 P12 细胞的 IC_{50} 值小于雷公藤红素,(35 对 P12 的 $IC_{50} = 2.37 \mu\text{mol/L}$,雷公藤红素对 P12 的 $IC_{50} = 3.15 \mu\text{mol/L}$).

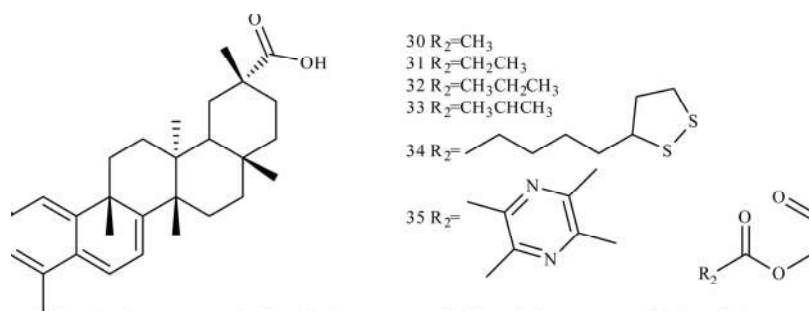


图 7 雷公藤红素衍生物 30-35

3.2 C-29 羧基的结构改造及其抗癌活性

雷公藤红素的 C-29 位是酸性基团,C-29 位可以通过酰化、酯化反应引入不同基团,合成一系列具有生物活性的酰胺类、酯类、脲类衍生物.

3.2.1 酰胺类. 为了提高雷公藤红素的水溶性,进一步阐明抗肿瘤方面的构效关系,Tang WJ 等^[46] 在保持醌甲基结构的基础上,在 29 位羧基上进行结构改造,合成了一系列雷公藤红素酰胺类衍生物,并且进行了抗肿瘤抑制活性评价,合成的衍生物 36-40(结构见图 8) 对人胃癌(SGC-7901),肝癌(SMMC-7721),胃癌(MGC-803 和 MGC-801) 细胞系表现出较好的抗癌活性. 化合物 36 是在 C-29 位引入亲水性片段,对 SGC-7901、SMMC-7721、MGC-803、MGC-801 细胞均表现出较高的抗癌活性, IC_{50} 分别为 0.16 、 0.30 、 0.39 、 $0.61 \mu\text{mol/L}$.

在过去的十年里,热休克蛋白作为分子靶标被广泛用于肿瘤治疗.Fen J 等^[47] 合成了一系列雷公藤红素酰胺类衍生物 41-45(结构见图 8),部分目标化合物抑制乳腺癌细胞 MCF-7、胰腺癌细胞 Panc-1、肺癌细胞 A549 的半数抑制浓度(IC_{50} 值) 小于 $1 \mu\text{mol/L}$,抗癌活性优于雷公藤红素($IC_{50} = 2.02$ - $2.88 \mu\text{mol/L}$),研究指出这类衍生物能干扰热休克蛋白 90- 辅助伴侣分子 37(Hsp90-Cdc37) 相互作用,导致致癌激酶的降解,从而抑制肿瘤细胞的生长和繁殖.C-29 位引入含氮极性基团,对 Hsp90-Cdc37 具有很强的抑制活性,这些化合物提高了水溶性和渗透性.在这些衍生物中,化合物 42(对 MCF-7、Panc-1、A579 的 IC_{50} 值为 1.02 、 1.12 、 $1.01 \mu\text{mol/L}$) 抗癌活性最佳,对 Hsp90-Cdc37 具有较强的抑制作用,可用作研究 Hsp90-Cdc37 相互作用的新型探针分子.

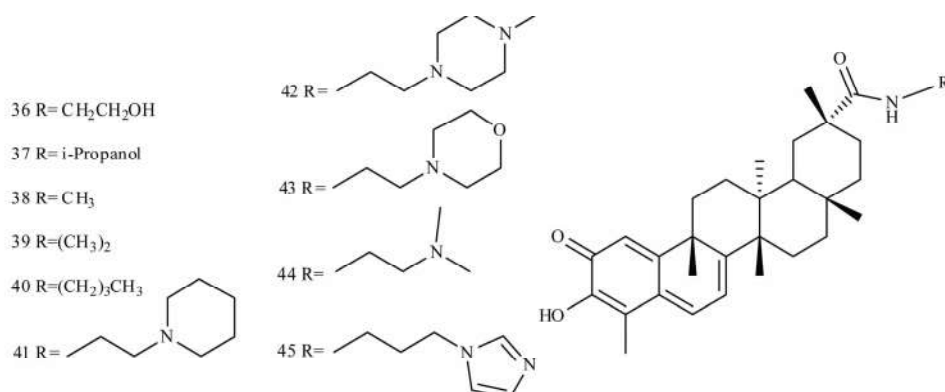


图 8 雷公藤红素衍生物 36-45

氨基酸具有较好的生物相容性和较低的毒性,一些氨基酸可参与基因表达、蛋白质合成和信号通路,因此将氨基酸引入天然小分子化合物中,可以提高生物活性^[48]. Pang CH 等^[49] 在 C-29 位羧基引入氨基酸取代物,设计合成了一系列雷公藤氨基酸酯类衍生物 46-53(结构见图 9, IC_{50} 见表 3). 衍生物 46-51 对人宫颈癌细胞(HeLa) 和肺癌细胞 A549 的半数抑制浓度(IC_{50} 值) 为 0.109 - $0.895 \mu\text{mol/L}$,优于雷公藤红素($IC_{50} = 0.947$ - $1.069 \mu\text{mol/L}$). 衍生物对 HeLa 和 A549 的抗癌活性明显强于肝癌细胞(HepG2). 研究表明,芳香族氨

基酸取代物不是维持雷公藤红素抗癌活性的必须结构片段,引入芳香族氨基酸合成的衍生物 52 和 53($IC_{50} > 1 \mu\text{mol/L}$) 抗癌活性明显降低. 通过比较 47 和 48、49 和 50、52 和 53 的 IC_{50} 值,发现具有乙酯基团的衍生物比甲酯基团的衍生物活性更好.

Zhang HJ 等^[50] 设计合成了一系列氨基酸酯类衍生物 54-58(结构见图 9, IC_{50} 见表 3),并测试其在胃癌细胞(AGS, MGC-803, SGC-7901),人结肠癌(HCT-116),肺癌(A549),宫颈癌(HeLa),肝癌细胞(Bel-7402 和 HepG-2)中的抗癌活性. 研究表明,化合物 54, 56, 57, 58, 对 AGS, HCT-116, HeLa 和 HepG-2 抗癌活性优于雷公藤红素,抗癌活性与手性有一定的关系, L 型化合物 55 抗癌活性显著降低,而 D 型化合物 57 则表现出良好的抗癌活性. 化合物 58 的抗癌活性最佳,研究者进行了分子对接,结合细胞凋亡和分子对接结果推测化合物 58 可能是通过激活半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3) 诱导肿瘤细胞发生凋亡.

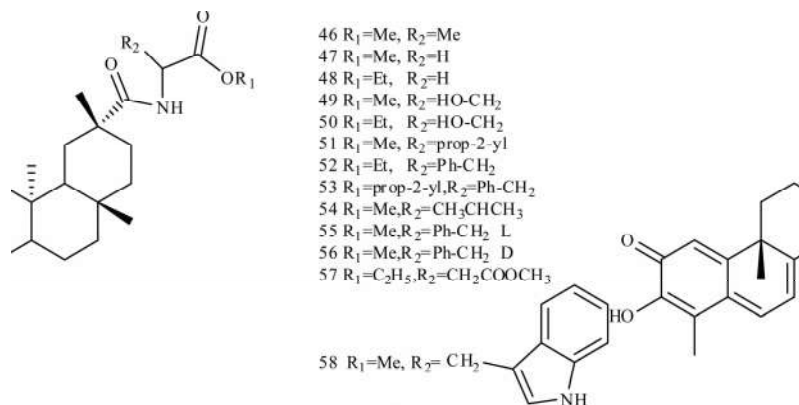


图 9 雷公藤红素衍生物 46-58

表 3 雷公藤红素衍生物 46-58 的 IC_{50} 值

Compounds	细胞系 $IC_{50}/\mu\text{M}$				
	Hela	A549	HepG-2	AGS	HCT-116
Celastrol	0.947-1.51	1.069-3.02	1.31-4.121	1.46	3.43
46	0.371 ± 0.16	0.235 ± 0.06	2.077 ± 0.1	—	—
47	0.27 ± 0.09	0.895 ± 0.1	2.119 ± 0.15	—	—
48	0.229 ± 0.1	0.545 ± 0.1	1.184 ± 0.11	—	—
49	0.29 ± 0.03	0.451 ± 0.06	2.086 ± 0.06	—	—
50	0.237 ± 0.09	0.109 ± 0.05	1.598 ± 0.09	—	—
51	0.569 ± 0.17	0.668 ± 0.19	2.099 ± 0.05	—	—
52	2.148 ± 0.19	2.134 ± 0.60	2.652 ± 0.81	—	—
53	1.464 ± 0.08	2.512 ± 0.07	1.275 ± 0.05	—	—
54	0.73	1.99	0.66	1.01	2.83
55	21.47	6.81	7.37	28.04	3.52
56	1.27	0.96	0.97	0.74	0.90
57	1.26	2.02	1.39	0.72	1.30
58	2.63	1.22	0.76	0.44	0.78

3.2.2 酯类. 孙红莉^[45] 以酯化反应为主对 C-29 位进行修饰,合成了一系列雷公藤红素酯类衍生物 59-64(结构见图 10),化合物 59、61、64 对大鼠肾上腺髓质嗜铬瘤细胞 PC12 和大鼠神经胶质瘤细胞 C6 的抑制活性优于雷公藤红素(化合物对两种细胞的 IC_{50} 为雷公藤红素: $IC_{50} = 1.48-3.15 \mu\text{mol/L}$, 59: $IC_{50} = 0.59-1.56 \mu\text{mol/L}$, 61: $IC_{50} = 1.14-2.17 \mu\text{mol/L}$, 64: $IC_{50} = 1.32-1.68 \mu\text{mol/L}$),化合物 60 对 PC12 细胞的抑制活性降低($60:IC_{50} > 10 \mu\text{mol/L}$),化合物 62、63 对两种细胞的抗癌活性与雷公藤红素基本相当($62:IC_{50} = 2.02-3.04 \mu\text{mol/L}$, $63:IC_{50} = 3.01-3.04 \mu\text{mol/L}$).

Zhang HJ 等^[50] 通过用胺和三唑衍生物修饰 C-29 位羧酸,设计并合成一系列新型雷公藤酰胺类衍生物 65-76(结构见图 11, 活性见表 4),选择胃癌细胞(AGS, MGC-803, SGC-7901),人结肠癌(HCT-116),肺癌(A549),宫颈癌(HeLa),肝癌细胞(Bel-7402 和 HepG-2),筛选衍生物的抗癌活性,研究表明,部分化合物具

有很好的抗癌活性($IC_{50} < 1 \mu\text{mol/L}$).

化合物 65-68 引入酰胺基团,有效提高了抗癌活性,但随着氯原子,氟原子,甲氧基的引入,抗癌活性呈下降趋势. 化合物 69-71, R 位引入不同取代的哌嗪衍生物,当哌嗪上的氮原子和苯环直接相连时合成的化合物 70,抗癌活性最好. 氮原子对发挥抗癌活性具有很重要的作用,化合物 72-74 引入含氮杂环,抗癌活性显著增强($IC_{50} < 1 \mu\text{mol/L}$). 化合物 73、74 在 SGC-7901, HCT-116, Bel-7402 细胞中抗癌活性比雷公藤红素提高 3 倍. 三唑类衍生物 75-76 对抗癌活性影响较小.

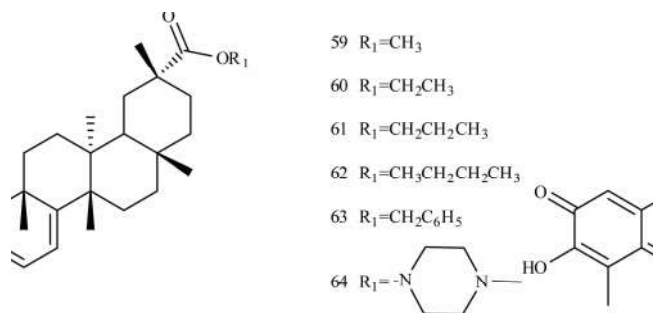


图 10 雷公藤红素衍生物 59-64

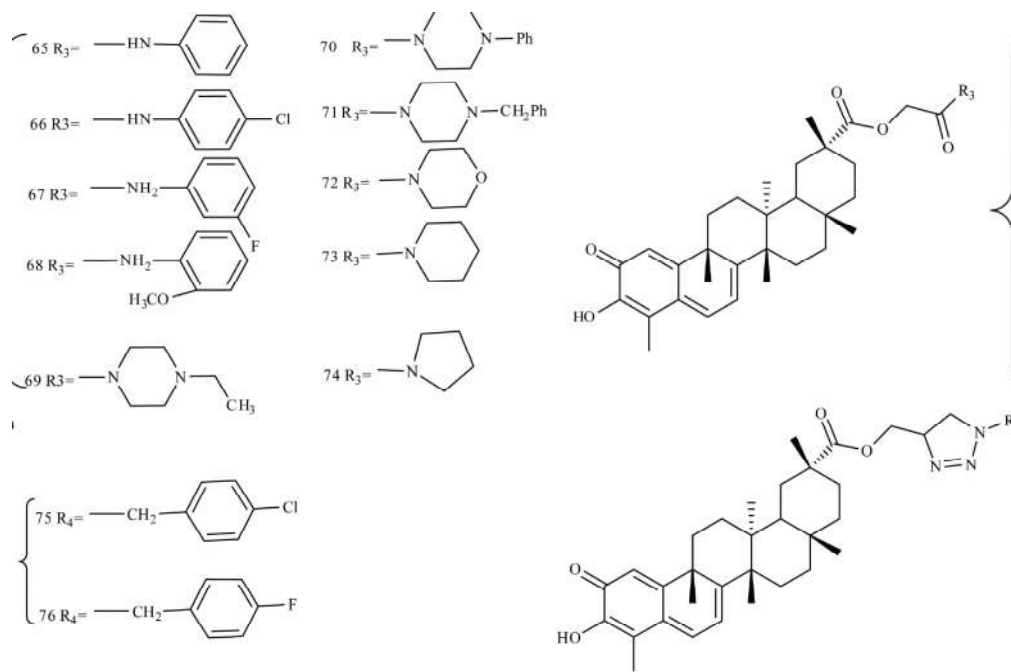


图 11 雷公藤红素衍生物 65-76

表 4 雷公藤红素衍生物 65-76 的 IC_{50} 值

Compounds	细胞系 $IC_{50}/\mu\text{M}$							
	AGS	MGC-803	HCT-116	SGC-7901	BEL-7402	A549	HELA	HEPG-2
Celastrol	1.46	4.55	3.43	5.71	4.05	3.02	1.51	1.31
65	0.49	0.78	0.85	1.52	0.98	2.06	0.62	1.02
66	1.93	1.30	2.7	1.57	3.5	2.15	2.83	1.82
67	1.42	1.07	0.93	1.95	1.61	3.81	1.67	4.65
68	2.28	1.57	1.68	2.15	1.91	5.23	3.61	5.83
69	1.09	1.70	1.33	4.14	1.98	1.72	1.08	1.19
70	0.75	1.19	0.88	1.81	1.14	0.91	0.815	0.91
71	1.35	1.69	2.00	4.19	2.35	1.77	1.31	1.18
72	0.68	1.81	1.38	2.54	1.18	2.23	2.25	1.00
73	0.85	1.18	0.84	2.14	1.19	1.71	0.75	0.84
74	0.88	2.34	1.76	1.94	2.27	2.26	2.22	1.43
75	0.97	2.95	5.23	4.81	4.89	3.52	2.66	2.19
76	5.66	5.77	12.25	61.71	-	54.94	23.47	-

3.2.3 脲类, Figueiredo SAC 等^[51] 通过对 C-29 位进行修饰改造, 合成了一系列新型的雷公藤红素含脲衍生物, 并分析了它们对人肺癌细胞(A549) 和胰腺癌细胞(MIA PaCa-2) 的抗癌活性, 在研究的细胞系中, 几种衍生物比雷公藤红素具有更强的生长抑制作用, 其中, 衍生物 77, 78, 79(结构见图 12) 表现出显著的抗癌活性(化合物对两种细胞的 IC_{50} 为 77: $IC_{50} = 0.31-1.44 \mu\text{mol/L}$, 78: $IC_{50} = 0.41-1.45 \mu\text{mol/L}$, 79: $IC_{50} = 0.$

35-1.27 $\mu\text{mol/L}$, 雷公藤红素: $\text{IC}_{50} = 0.46-1.56 \mu\text{mol/L}$, 且提高了肿瘤与非肿瘤细胞之间的选择性. 研究发现, 衍生物 79 通过下调 p53, 激活外源性死亡受体途径, 诱导人卵巢癌 SKOV-3 细胞发生凋亡, 其有望成为新型的 Hsp90 抑制剂.

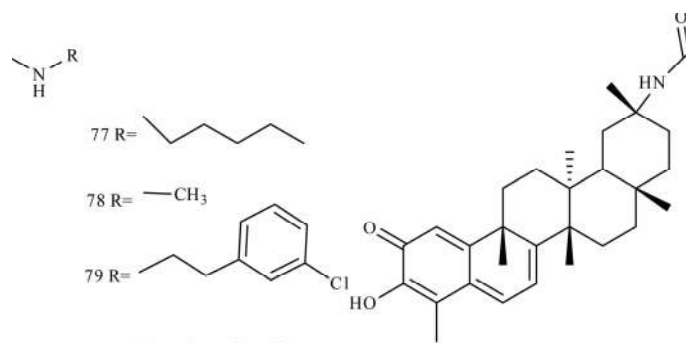


图 12 雷公藤红素衍生物 77-79

3.3 雷公藤红素多位点同时改造及其抗癌活性

为了提高抗癌活性和选择性, Figueiredo SAC 课题组^[43]合成了一系列新型的雷公藤红素 C-29 位氨基甲酸酯衍生物 80-83(结构见图 13), 研究指出氨基甲酸酯基团是一个关键的结构单元, 可作为氢键供体和水发生相互作用, 从而有助于提高化合物整体水溶性和生物利用度. 衍生物通过肺癌细胞(A549)和胰腺癌细胞(MIA PaCa-2)进行活性评价, 化合物 80(对两种细胞的 $\text{IC}_{50} = 0.33-0.88 \mu\text{mol/L}$)具有较高的抗癌活性, 且在恶性肿瘤细胞和非恶性成纤维细胞之间具有很好的选择性.

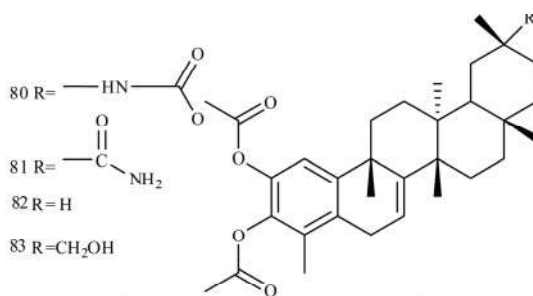


图 13 雷公藤红素衍生物 80-83

Shan WG 等^[52]对 C-29 位和 C-3 进行了结构改造, 合成了一系列雷公藤红素酯类衍生物化合物 84-92(结构见图 14), 衍生物 84-88($\text{IC}_{50} = 0.24-0.78 \mu\text{mol/L}$)对肝癌细胞(HepG2)、胃癌细胞(SGC7901)、宫颈癌细胞(Hela)的抗癌活性优于雷公藤红素($\text{IC}_{50} = 0.58-0.87 \mu\text{mol/L}$). A 环的 C-3 位羟基对抗癌活性具有重要影响, 当 C-3 位通过酯化反应引入含氮杂环化合物后, 合成的衍生物 90-92($\text{IC}_{50} = 2.82-18.01 \mu\text{mol/L}$)抗癌活性明显降低.

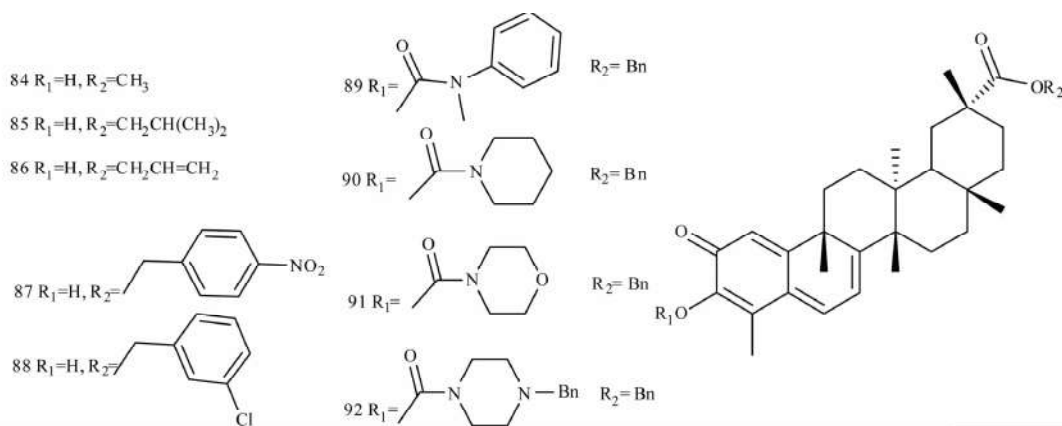


图 14 雷公藤红素衍生物 84-92

4 结语

雷公藤红素作为雷公藤根皮中提取的第一个单体成分,抗癌活性广泛而显著,具有良好的开发前景.近年来国内外学者对其抗癌机制进行了深入的研究,研究表明,雷公藤红素可通过诱导肿瘤细胞凋亡、影响血管生成、调节肿瘤相关蛋白的表达、抑制蛋白酶体等多种机制抑制肿瘤细胞活性.雷公藤红素的结构改造工作已取得一些进展,大多数衍生物表现出显著的抗癌活性,但是,先导化合物雷公藤红素水溶性差、生物利用度低、毒副作用大等缺点亟待解决,目前国内外研究者针对其缺点进行结构改造的研究较少,有待进一步研究.

现阶段,雷公藤红素衍生物的抗癌活性研究仅限于细胞水平,对癌细胞内具体的信号通路调节机制和作用靶点尚未阐明.为了更加深入的开展雷公藤红素结构修饰改造工作,保留其抗癌活性,克服自身缺点,今后的研究将集中于以下几个方面:(1)对雷公藤红素进行特定的结构改造,合成新的高效低毒的衍生物,从而克服先导化合物的缺点.(2)测试衍生物对肿瘤细胞的生长抑制活性,阐明构效关系.(3)阐明雷公藤红素衍生物的抗肿瘤作用机制,开发结构新颖的、作用机制明确的、靶向特定靶点的小分子药物.随着雷公藤红素结构改造工作及其衍生物抗肿瘤作用机制的深入研究,为其临床应用奠定基础,有望成为新型抗癌药物.

参 考 文 献

- [1] Kolch W, Halasz M, Granovskaya M. The dynamic control of signal transduction networks in cancer cells[J]. *Nature Review Cancer*, 2015, 15: 515-527.
- [2] David J N, Gordon M C. Natural products as new drugs form 1981 to 2014[J]. *Jornal of Natural Products*, 2016(1): 80-86.
- [3] 徐任生, 赵维民. 天然产物活性成分分离[M]. 北京: 科学出版社, 2012.
- [4] Kannalyan R, Shanmugan M K, Sethi G. Molecular targets of celastrol derived from thunder of god vine; potential role in the treatment of inflammatory disorders and cancer[J]. *Cancer Letters*, 2011, 303(2): 9-20.
- [5] Huang Y, Zhou Y, Fan Y, et al. Celastrol inhibits the growth of human glioma xenografts in nude mice through suppressing VEGFR expression[J]. *Cancer Letters*, 2008, 264(1): 101-106.
- [6] Yang H J, Chwn D, Cui Q C, et al. Celastrol, a triterpene extracted from the Chinese 'thunder of god vine' is a potent proteasome inhibitor and suppresses human prostate cancer growth in nude mice[J]. *Cancer Research*, 2006, 66(9): 4758-4765.
- [7] Tang K Y, Huang Q Q, Zeng J F, et al. Design, synthesis and biological evaluation of C(6)-modified celastrol derivatives as potential antitumor agents[J]. *Molecules*, 2014, 19: 10177-10188.
- [8] Mou H B, Yi Zheng Y, Zhao P, et al. Celastrol induces apoptosis in non-small-cell lung cancer A549 cells through activation of mitochondria-and Fas/FasL-mediated pathways[J]. *Toxicology in Vitro*, 2011, 25: 1027-1032.
- [9] Zhang H Y, Li J H, Li G, et al. Effects of celastrol on enhancing apoptosis of ovarian cancer cells via the downregulation of microRNA-21 and the suppression of the PI3K/Akt-NF- κ B signaling pathway in an in vitro model of ovarian carcinoma[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2016, 14: 5363-5368.
- [10] Chadalapaka G, Jutooru I, Safe S. Celastrol decreases specificity proteins (Sp) and fibroblast growth factor receptor-3 (FGFR3) in bladder cancer cells[J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(4): 886-894.
- [11] Lu W Z, Jia G F, Meng X Y, et al. Beta-catenin mediates the apoptosis induction effect of celastrol in HT29 cells[J]. *Life Sciences*, 2012, 91, 279-283.
- [12] Anavi S, Ni Z, Tirosh O, et al. Steatosis-induced proteins adducts with lipid peroxidation products and nuclear elec-trophilic stress in hepatocytes[J]. *Redox Biol*, 2015, 4: 158-168.
- [13] Krajarng A, Imoto M, Tashiro E, et al. Apoptosis induction associated with the ER stress response through up-regulation of JNK in HeLa cells by gambogic acid[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 15: 26.
- [14] 黄志平, 邵立龙, 阮阳平. 雷公藤红素通过 ROS/JNK 途径诱导 Saos-2 细胞发生 caspase 依赖的凋亡[J]. *中国病理生理杂志*, 2015, 31(8): 1457-1461.
- [15] 丁成国. 雷公藤红素通过 ROS/JNK 信号通路诱导 T98G 细胞发生凋亡[J]. *浙江实用医学*, 2015, 20(5): 325-328.
- [16] Han X X, Sun S K, Zhao M, et al. Celastrol stimulates hypoxia-inducible factor-1 activity in tumor cells by initiating the ROS/Akt/p70S6K signaling pathway and enhancing hypoxia-inducible factor-1 α protein synthesis[J]. *PLOS ONE*, 2014, 9(11): 1-15.

- [17] Nabekura T, Hiroi T, Kawasaki T, et al. Effects of natural nuclear factor-kappa B inhibitors on anticancer drug efflux transporter human P-glycoprotein[J]. *Biomed Pharmacother*, 2015, 70: 140-145.
- [18] 徐佳, 伍春莲, 雷公藤红素诱导非小细胞肺癌 H1299 细胞凋亡及其机制研究[J]. *中药材*, 2015, 38(9): 1925-1928.
- [19] 张乙川, 刘峰, 王俊, 等. 雷公藤红素诱导人肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡研究[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2016, 23(1): 48-51.
- [20] Chiang C K, Wang C C, Lu T F, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress, autophagy, and apoptosis in advanced glycation end products induced glomerular mesangial cell injury[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 34167.
- [21] Sidhu A, Miller J R, Tripathi A, et al. Borrelidin induces the unfolded protein response in oral cancer cells and chop-dependent apoptosis[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2015, 6(11): 1122-1127.
- [22] 陈艳阳, 欧云生, 陶勇, 等. 雷公藤红素通过内质网应激相关通路促进人骨肉瘤 HOS 细胞凋亡[J]. *肿瘤*, 2017, 37: 901-908.
- [23] Shrivastava S, Jeengar M K, Reddy V S, et al. Anticancer effect of celastrol on human triple negative breast cancer: possible involvement of oxidative stress, mitochondrial dysfunction, apoptosis and PI3K/Akt pathways[J]. *Experimental and Molecular Pathology*, 2015, 98: 313-327.
- [24] Kim J H, Lee J O, Lee S K, et al. Celastrol suppresses breast cancer MCF-7 cell viability via the AMP-activated protein kinase (AMPK)-induced p53-polo like kinase 2 (PLK-2) pathway[J]. *Cellular Signalling*, 2013, 25: 805-813.
- [25] Cao L, Zhang X, Cao F F, et al. Inhibiting inducible miR-223 further reduces viable cells in human cancer cell lines MCF-7 and PC3 treated by celastrol[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 873.
- [26] Ji N, Li J J, Wei Z X, et al. Effect of celastrol on growth inhibition of prostate cancer cells through the regulation of hERG channel in vitro[J]. *BioMed Research International*, 2015, 308475.
- [27] Sha M, Ye J, Luan ZY, et al. Celastrol induces cell cycle arrest by MicroRNA-21-mTOR-mediated inhibition p27 protein degradation in gastric cancer[J]. *Cancer Cell Int*, 2015, 15: 101.
- [28] Hara M, Abe Y, Tanaka T, et al. Greatwall kinase and cyclin B-Cdk1 are both critical constituents of M-phase-promoting factor[J]. *Nat Commun*, 2012, 1059(3): 1-9.
- [29] 许阳贤, 宋海燕, 季光. 雷公藤红素对肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡和周期的调控作用及机制[J]. *中成药*, 2015, 37(6): 1153-1157.
- [30] 闫燕艳, 马存根, 白建平. 雷公藤红素诱导 HER2/neu 过表达人类乳腺癌 MDA-MB-453 细胞周期阻滞及其机制[J]. *中药药理与临床*, 2012, 28(6): 39-41.
- [31] 倪海雯, 孔祥图, 孙雪梅. 雷公藤红素阻断 LP-1 人多发性骨髓瘤细胞周期及抑制血管生成的实验研究[J]. *安徽医药*, 2012, 16(12): 1754-1756.
- [32] 张志强, 高体云, 李晔, 等. 雷公藤红素通过活性氧诱导结肠癌 SW620 细胞凋亡[J]. *中国医院药学杂志*, 2015, 35(7): 1558-1563.
- [33] 安申, 王丹丹, 赵玉杰, 等. 雷公藤红素对卵巢癌 SKOV3/DDP 细胞的抑制作用及其机制[J]. *中国生物制品学杂志*, 2015, 28(11): 1157-1162.
- [34] 张晓玲, 李爱萍, 环飞, 等. 雷公藤红素对白血病 HL-60 和 Jurkat 细胞增殖及凋亡的影响[J]. *中国药科大学学报*, 2015, 46(1): 89-93.
- [35] Kang H, Lee M, Jang S W, et al. Celastrol inhibits TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition by inhibiting Snail and regulating E-cadherin expression[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2013, (437): 550-556.
- [36] Yu X L, Wang Q, Zhou X, et al. Celastrol negatively regulates cell invasion and migration ability of human osteosarcoma via downregulation of the PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway in vitro[J]. *Oncology Letters*, 2016, 12: 3423-3428.
- [37] 杜娜, 付建华, 李健, 等. 雷公藤红素对 HepG2 细胞迁移的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2015, 22(7): 51-57.
- [38] 杜娜, 李健, 刘福生, 等. 雷公藤红素对 AGS 细胞迁移的影响[J]. *世界中西医结合杂志*, 2015, 10(5): 623-626.
- [39] Huang L L, Zhang Z F, Zhang S, et al. Inhibitory action of Celastrol on hypoxia-mediated angiogenesis and metastasis via the HIF-1 α pathway[J]. *International journal of molecular medicine*, 2011, 27: 407-415.
- [40] Huang S, Tang Y B, Cai X D. Celastrol inhibits vasculogenesis by suppressing the VEGF-induced functional activity of bone marrow-derived endothelial progenitor cells[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2012 (423): 467-472.
- [41] 王淑静, 董立强, 刘欢, 等. 雷公藤红素对 SGC-7901 细胞和 ECV304 细胞增殖及能量代谢的影响[J]. *中草药*, 2016, 47(21): 3854-3860.
- [42] Sreeramulu S, Gande S L, Gobel M, et al. Molecular mechanism of inhibition of the human protein complex Hsp90-Cdc37, a kinome Chaperone-Cochaperone, by triterpene celastrol[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48, 5853-5855.
- [43] Figueiredo SAC, Salvador JAR, Cortes R, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel C-29 carbamate celastrol derivatives as potent and selective cytotoxic compounds[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, 139: 836-848.
- [44] Tang K Y, Huang J W, Pan J F, et al. Design, synthesis and biological evaluation of C(6)-indole celastrol derivatives as potential antitumor agents[J]. *RSC Adv*, 2015, 5: 19620-19623.

- [45] 孙红莉. 雷公藤红素衍生物的化学合成及其活性研究[D]. 广州:暨南大学,2010.
- [46] Tang W J, Wang J, Tong X, et al. Design and synthesis of celastrol derivatives as anticancer agents[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 95:166-173.
- [47] Jiang F, Wang H, Bao Q, et al. Optimization and biological evaluation of celastrol derivatives as Hsp90-Cdc37 interaction disruptors with improved druglike properties[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2016, 24:5431-5439.
- [48] Li F J, Maag H, Alfredson T. Prodrugs of nucleoside analogues for improved oral absorption and tissue targeting[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2008, 97(3):1109-1134.
- [49] Pang C H, Luo J H, Liu C H, et al. Synthesis and biological evaluation of a series of novel celastrol derivatives with amino acid chain[J]. *Chemistry Biodiversity*, 2018, 15(5):1-11.
- [50] Zhang H J, Zhang G R, Piao H R, et al. Synthesis and characterisation of celastrol derivatives as potential anticancer agents[J]. *Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2017, 33(1):190-198.
- [51] Figueiredo S A C, Salvador J A R, Cortes R, et al. Novel celastrol derivatives with improved selectivity and enhanced antitumour activity: design, synthesis and biological evaluation[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, 138: 422-437.
- [52] Shan W G, Wang H G, Chen Y, et al. Synthesis of 3-and 29-substituted celastrol derivatives and structure-activity relationship studies of their cytotoxic activities[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2017, 27 (15): 3450-3453.

Progress on Anti-tumor Effects and Structural Modification of Celastrol

WANG Hong-min¹ LIU Yu-yu² LI Xiao-jing¹ LIU Ren-min¹

(1. School of Pharmacy, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China;

2. Shandong Qidu Pharmaceutical Co. Ltd, Zibo 255400, China)

Abstract Celastrol is a pentacyclic triterpenoid isolated from the traditional Chinese medicine *Tripterygium wilfordii*. It has a wide range of biological activities, especially the Anticancer effect. Although celastrol has important pharmacological activity, its poor water solubility and high toxicity restricts its application. After reviewing the domestic and foreign literatures from 2009 to 2018, the author reviewed the anti-tumor effect of Celastrol and its structural modification work. The purpose of this paper is to lay a foundation for further structural modification and the development of new anticancer drugs.

Key words celastrol; anticancer activity; structural modification