

蛋白酪氨酸磷酸酶 1B 与 II 型糖尿病的中药治疗

韩凤梅, 梁智军, 陈 勇*

(湖北大学生命科学学院 中药生物技术省重点实验室, 湖北 武汉 430062)

摘 要: 蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B) 是 II 型糖尿病相关蛋白, 是治疗 II 型糖尿病一个重要的潜在靶点。II 型糖尿病的治疗关键是要寻到对 PTP1B 具有高度选择性的有效抑制剂。目前, 有一些关于 PTP1B 抑制剂的文献报道, 但这些抑制剂对 PTP1B 的选择力不够强。中药中有很多单味中药和复方制剂有降血糖作用, 但其治疗糖尿病的作用机制还不很清楚, 可能是中药制剂中的某个或某些成分与机体中 PTP1B 或其他糖尿病相关蛋白发生了作用等。开展药效学和基因芯片研究有利于深入探讨中药治疗 II 型糖尿病的作用机制。

关键词: 蛋白酪氨酸磷酸酶 1B; II 型糖尿病; 抑制剂; 中医药

中图分类号: R 286.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2005)01-0138-03

Protein tyrosine phosphatase 1B and type II diabetes treated with Chinese materia medica

HAN Fengmei, LIANG Zhi-jun, CHEN Yong

(Hubei Province Key Laboratory of Bio-Technology of Traditional Chinese Medicine,

School of Life Science, Hubei University, Wuhan 430062, China)

Key words: protein tyrosine phosphatase 1B; type II diabetes; inhibitor; traditional Chinese medicine

糖尿病是由以高血糖为主要特征的一组疾病组成, 其亚型 II 型糖尿病占糖尿病发病总数的 80% ~ 90%, 病因主要是组织胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞胰岛素分泌相对不足。近年来发现某些蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTPase) 与 II 型糖尿病有关^[1-3], 其中蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B) 是负调控胰岛素信号^[4], 且 PTP1B 基因敲除小鼠中的特定组织对胰岛素的敏感性增加^[2,3]。因此, PTP1B 被认为是治疗 II 型糖尿病胰岛素抵抗的一个重要的潜在靶点^[5]。目前, 有关 PTP1B 抑制剂的研究报道很多, 其中有些成分有抗血糖升高作用^[6,7]。

1 与 II 型糖尿病相关的 PTP1B 及 PTP1B 抑制剂

1.1 PTP1B 特征: PTP1B 是一种胞内蛋白, 通过含有 35 个氨基酸残基的 C-末端定位于细胞内质网上, 其分子结构中含有 PTP 域及内质网锚状物^[8]。PTP1B 含有 3 个高度保守的环状结构, 即 PTP 环 (也叫 PTP 信号基元, 由 11 个氨基酸残基组成。对 PTP1B 的催化作用而言, 残基中的 Cys²¹⁵ 和 Arg²²¹ 是必需的)、识别环 (有识别底物的功能, Val⁴⁹ 和 Tyr⁴⁶ 残基协助底物进入催化位点^[9]。PTP1B 中的 Ser²¹⁶ 和该环形成氢键, 可加强 PTP1B 和底物的结合力度) 和 WPD 环^[9] (在催化反应中起关键作用)。

1.2 PTP1B 与胰岛素抵抗: Elchebly^[12] 和 Klamann^[3] 发现蛋白 PTP1B 与 II 型糖尿病的胰岛素抵抗有关。在胰岛素信号通路中, 蛋白酪氨酸激酶 (PTKase) 和 PTPase 在机体中共同协调控制蛋白的磷酸化水平, PTKase 的磷酸化作用和 PTPase 的去磷酸化作用使蛋白的磷酸化水平在细胞内处于动态平衡状态。一旦打破这种平衡态, 机体则会产生病变^[8]。

在目前已知的胰岛素信号转导通路中, PTP1B 控制通路中信号蛋白 (包括胰岛素受体) 的去磷酸化^[4], 最终对生物体产生影响。

PTP1B 在特定组织细胞中的表达量及活性变化与机体组织是否胰岛素抵抗有关。Kusari^[10] 等的研究表明, 经胰岛素刺激后, II 型糖尿病模型 Goto-Kakizaki 大鼠骨骼肌中的 PTP1B 活性较对照组要高出 1 倍。Ahmad^[11] 等发现, 在 STZ 糖尿病大鼠的肌肉和肝脏组织中, 颗粒 PTPase 和胞浆 PTPase 中 PTP1B 的量分别比正常组中要高出 49% 和 61%、32% 和 51%。胰岛素抵抗糖尿病病人骨骼肌 PTPase 胞浆部分中, II 型糖尿病肥胖者的 PTP1B 表达量比正常组减少了 66%; 而在颗粒部分中, PTP1B 是正常组的 3.1 倍, 且活性降至正常组的 37%^[12]。所以, 不能简单地说胰岛素抵抗与 PTP1B 的活性和表达量的升高或降低有关, 而视特定组织、特定部位而定。

研究还发现, PTP1B 基因敲除小鼠表现出特定组织对胰岛素敏感性的增加^[2,3]。Elchebly^[12] 等报道, PTP1B^{-/-} 小鼠比野生型小鼠任意时刻的血糖浓度均低, 但其胰岛素受体的磷酸化程度却比 PTP1B^{+/+} 小鼠要高出 1 倍, 这种基因敲除小鼠表现出特定组织对胰岛素敏感性的增加。Klamann^[3] 对小鼠基因 ATG 编码的外显子进行突变处理 (EX1^{-/-}), 产生了 PTP1B^{-/-} 型小鼠。经食物喂养 15 周后, 雄性 PTP1B^{-/-} 小鼠体重与对照组相比减轻了 16%; 该 PTP1B^{-/-} 小鼠经高脂肪食物喂养后, 其骨骼肌对葡萄糖的吸收较对照组高出 75%^[3]。从上可以看出, PTP1B^{-/-} 小鼠

* 收稿日期: 2004-06-14

基金项目: 国家重大基础前期研究专项基金资助项目 (2002ccc00300); 湖北省人事厅 111 人才基金资助项目

对胰岛素的敏感性增加。

1.3 PTP1B 抑制剂: 在复杂的信号系统中, 单一 PTPase 可调控多条信号通路, 一个通路可能由多个 PTPase 来控制, 抑制剂的不专一性可能引起信号系统不必要的负面效应^[8]。所以, II 型糖尿病的治疗关键是要寻到对 PTP1B 具有高选择性的有效抑制剂。目前, 已有一些关于 PTP1B 抑制剂的文献报道^[13, 14]。

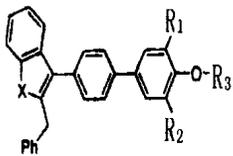
Iversen^[13]利用各种 PTPase 的第 259 位氨基酸残基侧链大小不同的特点提出了“空间阻碍”的设计原理, 并发现其中 7-(1, 1-dioxo-1H-benzo[d]isothiazol-3-ylloxymethyl)-2-(oxalylamino)-4, 7-dihydro-5H-thieno[2, 3-c]pyran-3-carboxylic acid 在 pH 7.0 时对 PTP1B 和 TC-PTP (与 PTP1B 高度同源的一种 PTPase 蛋白) 的选择力相当, 且该成分对 PTP1B 和 TC-PTP 的选择力较其他 PTPase 强 20 倍。PTP1B 和 TC-PTP 的第 259 位是 Gln, Gln 没有侧链原子, 而其他 PTPase 的第 259 位残基有较大侧链, 这种侧链结构阻止了这些抑制剂对 PTPase 的空间识别。Malamas^[17]

研究了一系列二唑啉二酮(azolidinedione)对小鼠肝细胞膜合成 PTPase 活性的影响, 通过在二唑啉二酮部分与中心芳环间引入不同臂长的连接桥, 他们还进一步研究了二唑啉二酮作为 PTP1B 抑制剂的定量构效关系, 发现有些氧杂二唑啉二酮类化合物(oxadiazolinethione)及其羧酸能使 II 型糖尿病小鼠血糖与胰岛素水平恢复正常。Malamas^[14]发现 N-末端三肽(N-acetylAsp-Tyr(SO₃H)-Nle-)对 PTP1B 的抑制必不可少, 并通过对该三肽的修饰, 制备了一系列磷酸化酪氨酸生物等排体(表 1), 该类等排体对 PTP1B 的选择力较 2 种 PTPase (LAR, SHP-2) 强 10 多倍。用 N-acetylAsp-Tyr(SO₃H)-Nle-作为模板来设计 PTP1B 抑制剂也是一种很好的方法, 但该文中提及的抑制剂对 PTP1B 和 TC-PTP 的抑制效果近乎相同, 没有选择性。后来, Xin 等^[15]发现了一种高效 PTP1B 抑制剂(图 1), 这种抑制剂对 PTP1B 的选择力是对 TC-PTP 的 5 倍多, 很可能成为药用 PTP1B 抑制剂的前体药物。

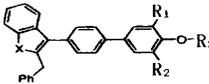
表 1 磷酸化酪氨酸生物等排体及其对 PTP1B 的抑制活性

Table 1 Phosphotyrosine biphenyls bioisosteres and related inhibitory activity to PTP1B

R ₁	R ₂	R ₃	X	IC ₅₀ /(μmol · L ⁻¹)
Br	H	H	S	1.07
Br	Br	H	S	0.45
I	I	H	S	0.52
Br	H	H	O	-59(1)
Br	Br	H	O	-43(1)
Br	H	CH(CH ₂ Ph)CO ₂ H(R)	S	0.058
Br	Br	CH(CH ₂ Ph)CO ₂ H(R)	S	0.025
4-OCH ₃ -Ph	H	CH(CH ₂ Ph)CO ₂ H(R)	S	0.053
4-Cl-Ph	H	CH(CH ₂ Ph)CO ₂ H(R)	S	0.052
Br	Br	CH(CH ₂ CH ₂ Ph)CO ₂ H(S)	S	0.29
Br	Br	CH(CH ₂ CH ₂ N ⁻ phthalimide)CO ₂ H	S	0.044
Br	Br	CH(CH ₂ CH ₂ NHCOPh-2-CO ₂ H)CO ₂ H	S	0.18
Br	Br	CH(CH ₂ CH ₂ NHCOPh-2-CO ₂ H)CO ₂ CH ₃)	S	0.054
Br	H	CH ₂ CO ₂ H	S	0.36
Br	Br	CH ₂ CO ₂ H	S	0.10
Ph	H	CH ₂ CO ₂ H	S	0.10
4-OCH ₃ -Ph	H	CH ₂ CO ₂ H	S	0.080
4-OC ₂ H ₅ -Ph	H	CH ₂ CO ₂ H	S	0.052
2, 3-di-OCH ₃ -Ph	H	CH ₂ CO ₂ H	S	0.071
3, 4, 5-tri-OCH ₃ -Ph	H	CH ₂ CO ₂ H	S	0.100
4-OCH ₃ -Ph	Br	CH ₂ CO ₂ H	S	0.029
3-OCH ₃ -Ph	Br	CH ₂ CO ₂ H	S	0.028
2, 4-di-OCH ₃ -Ph	Br	CH ₂ CO ₂ H	S	0.047
4-OCH ₃ -Ph	4-OCH ₃ -Ph	CH ₂ CO ₂ H	S	0.025
3-OCH ₃ -Ph	3-OCH ₃ -Ph	CH ₂ CO ₂ H	S	0.025
Br	H	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CO ₂ H	S	0.17
Br	H	CH(CH ₂ Ph)CO ₂ H(S)	O	0.056
Br	Br	CH(CH ₂ Ph)CO ₂ H(S)	O	0.038
4-OCH ₃ -Ph	H	CH(CH ₂ Ph)CO ₂ H(S)	O	0.043
NO ₂	H	CH(CH ₂ Ph)CO ₂ H(R)	O	0.23
Br	Br	CH(CH ₂ CH ₃)CO ₂ H(S)	O	0.13
Br	Br	CH[CH ₂ CH(CH ₃) ₂]CO ₂ H(R)	O	0.054
Br	Br	CH[(CH ₂) ₃ CH ₃]CO ₂ H	O	0.052
Br	Br	CH[(CH ₂) ₅ CH ₃]CO ₂ H	O	0.023
CH ₃	CH ₃	CH(CH ₂ Ph)CO ₂ H(R)	O	0.074
cyclopentyl	H	CH(CH ₂ Ph)CO ₂ H(S)	O	0.055



续表 1

	R ₁	R ₂	R ₃	X	IC ₅₀ /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
	cyclopentyl	H	CH ₂ CO ₂ H	O	0.17
	propyl	H	CH(CH ₂ Ph)CO ₂ H (S)	O	59(0.1)
	NHCH ₂ CO ₂ H	H	CH ₂ CH ₂ Ph	O	0.082
	NHCH ₂ CH ₂ CO ₂ H	H	CH ₂ CH ₂ Ph	O	0.14
	NHCOCH ₂ CH ₂ CO ₂ H	H	H	O	0.92
	NHCOCH=CHCO ₂ H	H	H	O	0.46
	NHCO-C ₆ H ₄ -2-CO ₂ H	H	H	O	0.16

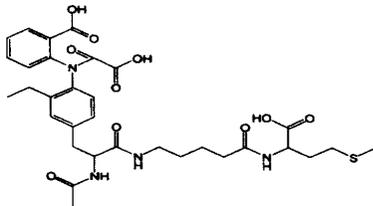


图 1 PTP1B 高效抑制剂

Fig 1 PTP1B inhibitors with high efficiency

2 防治 II 型糖尿病的中药

有很多单味中药和复方对 II 型糖尿病有防治作用。单味中药中, 黄精甲醇提取物灌喂 II 型糖尿病大鼠^[16]、芍药苷静注对 STZ 诱发的糖尿病小鼠^[17]均有降低血糖作用。一些复方中药制剂, 如降糖散^[18]、消渴饮^[19]、二地降糖汤^[20]等制剂对 II 型糖尿病均有一定疗效。但这些药物对糖尿病的作用机制还不清楚, 对 PTP1B 是否有抑制作用还有待进一步研究。

3 展望

治疗 II 型糖尿病的关键是要消弱或消除机体胰岛素抵抗。尽管中药对糖尿病有较好防治效果, 但其治疗糖尿病的作用机制还不很清楚, 可能是中药制剂中的某个或某些成分与机体中 PTP1B 或其他糖尿病相关蛋白发生了作用等。笔者认为, 要弄清中药治疗 II 型糖尿病的作用机制问题, 应从以下几个方面展开深入研究。

3.1 深入开展药效学研究, 从胰岛素信号系统中的跨膜或胞浆蛋白分子(如胰岛素受体 LAR, PTP1B 等)入手, 阐明中药或其有效部位对糖尿病模型胰岛素信号转录系统的影响机制。

3.2 利用基因芯片技术筛选糖尿病相关基因, 在基因水平探讨中药对 II 型糖尿病进程的影响。

3.3 人群中肥胖患者占有一定比例, 他(她)们可能产生机体中特定组织的胰岛素抵抗, 导致 II 型糖尿病的发生。因此, 探讨肥胖基因与 II 型糖尿病关联基因间的内在联系以及中药对肥胖基因调控网络的影响, 亦是探讨中药治疗 II 型糖尿病作用靶点的一种有益尝试。

References

- [1] Goldstein B J, Li P M, Dong W, *et al.* Regulation of insulin action and protein tyrosine phosphatases [J]. *Vitam Horm*, 1998, 54: 67-96.
- [2] Elchebly M, Payette P, Michaliszyn E, *et al.* Increased insulin sensitivity and obesity resistances in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene [J]. *Science*, 1999, 283: 1544-1548.
- [3] Klamon L D, Doss O, Peroni O D, *et al.* Increased energy expenditure, decreased adiposity and tissue-specific insulin sensitivity in protein-tyrosine phosphatase 1B-deficient mice [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20: 5479-5489.
- [4] Kathleen A K, Anyanwu E, O'lefsky J M, *et al.* Protein-tyrosine phosphatase 1B is a negative regulator of insulin- and insulin-like growth factor-1-stimulated Signaling [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(33): 19810-19816.
- [5] Li W L, Dixon J E. Form, function and regulation of protein tyrosine phosphatases and their involvement in human diseases [J]. *Immunology*, 2000, 12: 75-84.
- [6] Malamas M S, Sredy J, Moxham C, *et al.* Novel benzofuran and benzothiophene biphenyls as inhibitor of protein tyrosine phosphatase 1B with antihyperglycemic properties [J]. *J Med Chem*, 2000, 43: 1293-1310.
- [7] Malamas M S, Sredy J, Gunawan I, *et al.* New azolidinones as inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B with antihyperglycemic properties [J]. *J Med Chem*, 2000, 43: 995-1010.
- [8] Frangioni J V, Bdahm P H, Shifrin V, *et al.* The nontransmembrane tyrosine phosphatase PTP1B localizes to the endoplasmic reticulum via its 35 amino acid C-terminal sequence [J]. *EMBO J*, 1992, 12: 4843-4856.
- [9] Zhang Z Y. Protein tyrosine phosphatase: prospect for therapeutics [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2001, 5: 416-423.
- [10] Kusari J, Dadkess, Li H C, *et al.* Elevated expression and activity of protein-tyrosine phosphatase 1B in skeletal muscle of insulin-resistant type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 274(3): 583-589.
- [11] Ahmad F, Goldstein B J. Alterations in specific protein-tyrosine phosphatases accompany insulin resistance of streptozotocin diabetes [J]. *Am J Physiol*, 1995, 268: E932-E940.
- [12] Ahmad F, Azevedo J L, Cortright R, *et al.* Alterations in skeletal muscle protein-tyrosine phosphatase activity and expression in insulin-resistant Human Obesity and diabetes [J]. *J Clin Invest*, 1997, 100(2): 449-458.
- [13] Iversen L F, Andersen H S, Moller K B, *et al.* Steric hindrance as a basis for structure-based design of selective inhibitors of protein tyrosine phosphatases [J]. *Biochemistry*, 2001, 40(49): 14812-14820.
- [14] Malamas M S, Sredy J, Moxham C, *et al.* Novel benzofuran and benzothiophene biphenyls as inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B with antihyperglycemic properties [J]. *J Med Chem*, 2002, 43: 1293-1310.
- [15] Xin Z, Oost T K, Abad-Zapatero C, *et al.* Potent, selective inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, 13(11): 1887-1890.
- [16] Li T Q. Study on Chinese medicines therapy for diabetes and its syndrome [J]. *Foreign Med Sci—Tradit Chin Med (国外医学·中医中药分册)*, 1997, 19(6): 3-7.
- [17] Lu S F. Antihyperglycemic activity of paeoniflorin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 1998, 29(3): 212.
- [18] Sun S Z. 37 Cases of treatment by Jiangtang San to NDDM [J]. *Res Inf Tradit Chin Med (中医药研究与信息)*, 1998, 2: 21.
- [19] Lu J S. Clinical observations on 60 cases of type 2 diabetes with XIAOKEYIN [J]. *New J Tradit Chin Med (新中医)*, 1998, 30(8): 20-21.
- [20] Di J. 60 Cases of treatment by Erdjiangtang Decoction to NDDM [J]. *J Pract Tradit Chin Med (实用中医药杂志)*, 1998, 14(6): 5.