

喜树碱结构修饰与构效关系研究进展

张晓彤^{*}, 李淑琪^{*}, 贾鹏昊^{*}

天津中医药大学 中药学院, 天津 301617

摘要: 喜树碱是从喜树提取物中分离出的能够抗细胞增殖的天然生物碱。由于其溶解性低、稳定性差和显著的不良反应用限制了其临床应用, 所以在过去的十余年里合成了许多喜树碱衍生物。通过引入极性基团、靶向剂或药效团拼合、前药等在喹啉环、5位和20位进行结构修饰, 其中大多数与喜树碱相比显示出更强的效力, 对不同的肿瘤细胞具有活性, 其中许多对多药耐药肿瘤细胞具有活性。综述了近年来47个新的喜树碱衍生物的合成方法和生物活性, 并总结了构效关系, 发现在喹啉环和内酯环的羟基上修饰通常可以增强体外抗肿瘤活性, 药物递送系统、计算机高通量筛选等新技术的应用为改善喜树碱的溶解性、稳定性, 寻找活性较好的先导化合物拓展了新思路。

关键词: 喜树碱; 衍生物; 结构修饰; 生物活性; 构效关系

中图分类号: R284.3; R979.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)06-1345-15

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.06.023

Research progress on camptothecin structural modification and structure-activity relationship

ZHANG Xiaotong, LI Shuqi, JIA Penghao

School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Camptothecin (CPT) is an effective cytotoxic natural alkaloid isolated from *camptotheca acantha* extract with broad-spectrum antiproliferative activity. Its low solubility, instability, and significant toxicity limit its clinical application, therefore, intensive medicinal chemistry efforts have generated numerous CPT derivatives over the last decade. Most of the CPT analogues which introduced polar groups, targeting agents, pharmacophore splice and prodrugs at quinoline rings, C-5 and C-20 displayed greater potency compared to the parent CPT and are active against different cancers and many of them were active against multidrug resistant tumors. This review will focus on structural modification, bioactivity and structure-activity relationship of 47 new camptothecin derivatives in recent years. It was found that modification of quinoline ring and hydroxyls of lactone ring can generally enhance the antitumor activity *in vitro*. The application of new technologies such as drug delivery system and computer high-throughput screening expand new ideas to improve the solubility and stability of camptothecin and search for lead compounds with good bioactivity.

Key words: camptothecin; derivatives; structural modification; bioactivity; structure-activity relationship

20(S)-喜树碱(CPT, **1**)最初从中国喜树的树皮和茎中分离出来的五环喹啉生物碱, 是抗癌药物开发中的重要先导化合物之一^[1]。其结构是1个平面五环系统, 包括喹啉环AB、吡咯环C、吡啶酮环D和 α -羟基内酯环E(图1), 其中20位手性碳为S构型, 是喜树碱的活性中心^[2]。

喜树碱与拓扑异构酶I(Topo I)-DNA复合体结合, 导致复制时DNA链断裂积累, 最终导致细胞在细胞周期S期死亡。该复合体通常是瞬时中间体,

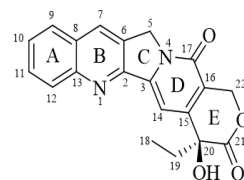


图1 20(S)-喜树碱的结构

Fig. 1 Structure of 20(S)-camptothecin

参与了许多细胞关键过程中的DNA松弛, 包括复制、转录、重组、修复、染色质组装和染色体分离, 并

收稿日期: 2023-02-09

基金项目: 天津市教委科研计划项目(2021KJ125)

^{*}共同第一作者: 张晓彤(1998—), 女, 研究方向为药物化学。E-mail: sddyzt1998@163.com

李淑琪(2003—), 女, 研究方向为药物化学。E-mail: xi17752911103@163.com

^{*}通信作者: 贾鹏昊(1991—), 女, 博士, 讲师, 研究方向为有机合成方法学。E-mail: luck.jia@126.com

且通常在没有CPT的情况下快速可逆^[3]。

20世纪70年代,研究者发现喜树碱在体外对宫颈癌HeLa细胞系^[4]、小鼠淋巴细胞白血病L1210细胞系^[5]及啮齿类动物显示出较强的抗肿瘤活性^[6],同时还对胃癌、直肠癌和白血病^[7]等多种恶性肿瘤有一定的疗效。尽管喜树碱在治疗上应用广泛,但由于水溶性差、内酯环在体内迅速降解以及对动物细胞毒性高等缺点,其临床使用受到限制,也引发了对其合成和半合成衍生物的研究热潮。早期的研究将喜树碱的内酯环打开,在美国进行的I期^[8-9]和II期^[10]临床试验表明,水溶性羧酸盐形式的喜树碱的抗肿瘤活性远低于水不溶性内酯形式的。此外,它还产生了高毒性,例如骨髓抑制、胃肠道毒性和出血性膀胱炎^[11]。之后,拓扑替康(TPT, **2**)和伊立替康(CPT-11, **3**)获得了美国食品药品监督管理局(FDA)的批准^[12],目前正在临床中使用。拓扑替康用于治疗卵巢癌、宫颈癌和小细胞肺癌^[13],还在与克利夫兰多端口导管配合下进行对神经胶质瘤作用的研究^[14]。伊立替康用于治疗转移性结直肠癌^[15],被列入世界卫生组织的基本药物清单^[16]。2005年,贝洛替康(CKD-602, **4**)在韩国被批准用于临床治疗前列腺癌^[17]。中国自主研发的10-羟基喜树碱(HCPT, **5**)也已进入临床,用于胃癌、肝癌、头颈部癌及白血病的治疗^[18]。

根据水溶性的不同,目前处于临床研究阶段的喜树碱衍生物可分为2大类。一类是水溶性喜树碱衍生物,包括依沙替康(DX-8951f, **6**)^[19]、卢托替康(GG-211, **7**)^[20]、CZ48(**8**)^[21]、HM910(**9**)^[22]、西尼替康(sinotecan, **10**)和利泊替康(TLC388, **11**)^[23],见图2。另一类是水不溶性喜树碱衍生物,如9-硝基喜树碱(9-NC, **12**)^[24]、9-氨基喜树碱(9-AC, **13**)、卡尼替康(BNP-1350, **14**)^[25]、吉马替康(ST1481, **15**)、二氟替康(BN-80915, **16**)和7-叔丁基二甲基硅基-10-羟基喜树碱(AR-67, **17**)^[26],见图3。

本文综述近年来新的喜树碱衍生物的合成方法和生物活性,并总结其构效关系,以期喜树碱类新药研发提供参考。

1 半合成喜树碱衍生物

1.1 以SN-38、HCPT为原料进行结构修饰

SN-38(**18**,图4)是CPT-11的活性代谢产物,是喜树碱类药物中最有效的抗肿瘤类似物之一,但其水溶性差、血浆稳定性低、毒性大等问题严重阻碍了其临床应用。而且CPT-11和SN-38的体内转化率非常低(仅为CPT-11注射剂量的8%),患者之间

存在很大的差异性,由于毒性限制了剂量范围,给予更高剂量的CPT-11不可行^[27]。为了充分发挥其治疗潜力,很多研究小组合成了结构多样的以SN-38为原料的新的喜树碱衍生物。

Zhou等^[28]通过氨基甲酸酯键将氨基酸或二肽连接到SN-38的10-羟基上,制备了系列新型水溶性SN-38前药(化合物**20**,图5)。首先将氨基酸的苄基酯转化为相应的异氰酸酯;然后,异氰酸酯与SN-38反应生成化合物**19**;19经催化氢化脱保护,得到化合物**20a~h**。在细胞生长抑制试验中发现**20e**在宫颈癌HeLa和胃癌SGC-7901细胞系中具有更强的抗肿瘤活性,半数抑制浓度(IC₅₀)值在0.000 9~2.567 1 μmol·L⁻¹,低于卵巢癌SK-OV-3/DPP等细胞系中CPT-11和SN-38的IC₅₀值^[29]。分子模拟研究发现**20e**可以稳定Topo I-DNA复合体。

为了改善SN-38的水溶性,该研究小组^[30]用相似的手段合成了ZBH-ZM-06(**21**)(图6),将氨基酸中的氨基与SN-38的10-羟基通过氨基甲酸酯键连接,通过催化加氢去除苄基保护基团,释放出羧基。在这个步骤,他们选择了具有良好的生物相容性的N-甲基哌嗪通过酰胺键与氨基酸的游离羧基偶联。N-甲基哌嗪的碱性氮原子可以与羧基形成盐,从而改善化合物的水溶性。此外,化合物**21**在生理条件下(pH 7.4)可以快速、完全释放SN-38,在酸性条件下(pH 5.0)保持稳定。化合物**21**比CPT-11和SN-38具有更强的抑制广谱人类肿瘤细胞的活性,且对正常细胞的影响较小。这种抗肿瘤活性可能是通过抑制Topo-I和内在的细胞凋亡激活来实现的。

Fan等^[31]则试图在SN-38的10-羟基上连接饱和碳链或叔胺,以改变CPT的平面性并改善其溶解性(图7)。其中F10(**24**)展现出最好的细胞毒活性。以SN-38为原料,通过与溴乙酸乙酯发生亲核取代反应生成化合物**22**,随后**22**水解为**23**,然后使用HATU活化**23**的羧基与哌啶反应合成了化合物F10。对人结肠癌HCT16细胞株进行测试时,F10的IC₅₀值为0.003 μmol·L⁻¹,而SN-38的IC₅₀值为0.01 μmol·L⁻¹,F10具有更强的抗癌作用。分子模拟研究表明,哌啶环的额外疏水相互作用在稳定Topo I-DNA复合体方面起至关重要的作用。F10是新的具有潜在应用价值的口服生物利用度高、高效、低毒的抗肿瘤药。

Yang等^[32]用类似的途径合成了系列化合物。体外细胞试验表明化合物B7(**25**,图8)对肺癌A549和结肠癌HCT-116细胞系的细胞毒活性最大,IC₅₀

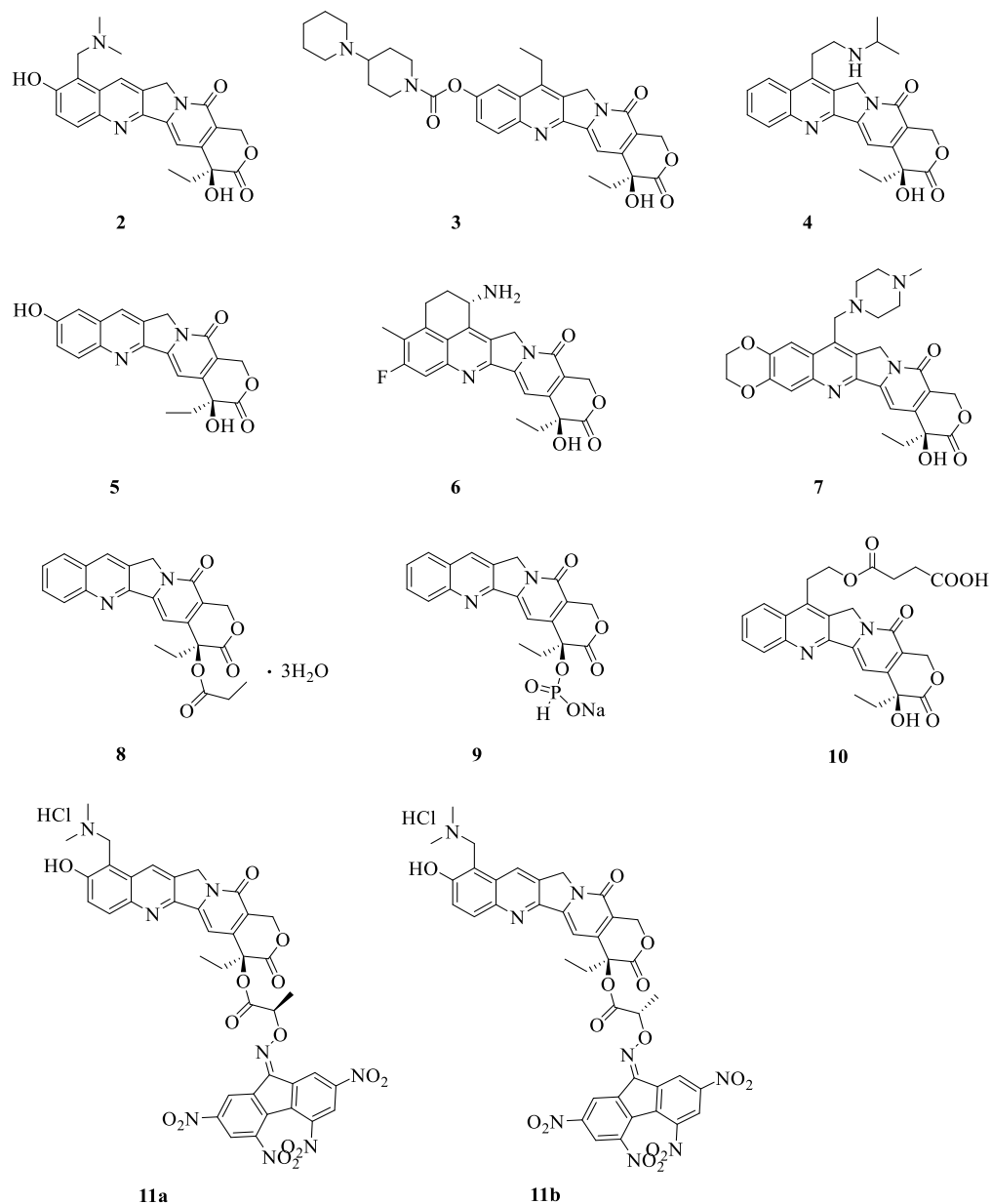


图2 已批准用于临床和处于临床研究阶段的水溶性喜树碱衍生物
Fig. 2 Water-soluble CPT analogs in clinical practice or clinical trials

值分别为0.006、0.004 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。B7在体外具有比SN-38更强的抗肿瘤活性,在水中的溶解度达到5.73 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,0.4、2.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时对A549移植瘤模型肿瘤生长有明显的抑制作用。与F10类似,B7能与Topo I-DNA 复合物相互作用。

研究发现恶性肿瘤有高水平的活性氧,因此提出了假设:前药可以被细胞内的活性氧激活生成具有抗肿瘤活性的代谢产物。Wang等^[33]以SN-38为原料,首先将其转化为三氟甲磺酸酯,然后在钨催化剂的存在下通过偶联反应得到硼酸酯,最后将硼酸酯氧化合成了具有可裂解芳基碳硼键的7-乙基-10-硼酸喜树碱(**26**,图9)。

化合物**26**在进入癌细胞后进行简单的氧化反应,释放出能杀死癌细胞的SN-38。细胞存活试验表明,与SN-38相比,化合物**26**对6种癌细胞生长具有同等或更强的抑制作用,并显示出比SN-38更强的Topo I抑制活性,表明其不仅是SN-38的前药,也是典型的Topo I抑制剂。在使用人脑星状胶质母细胞瘤细胞系U87MG的异种移植模型中,化合物**26**在2.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时也表现出明显的抗肿瘤活性。

Okuno等^[34]将支链甘油三聚体(BGL003)偶联到SN-38上,得到高亲水性喜树碱衍生物SN38-BGL(图10)。研究发现,疏水性最强的药物之一fenofibrate仅结合了1个BGL003^[35],其水溶性就提

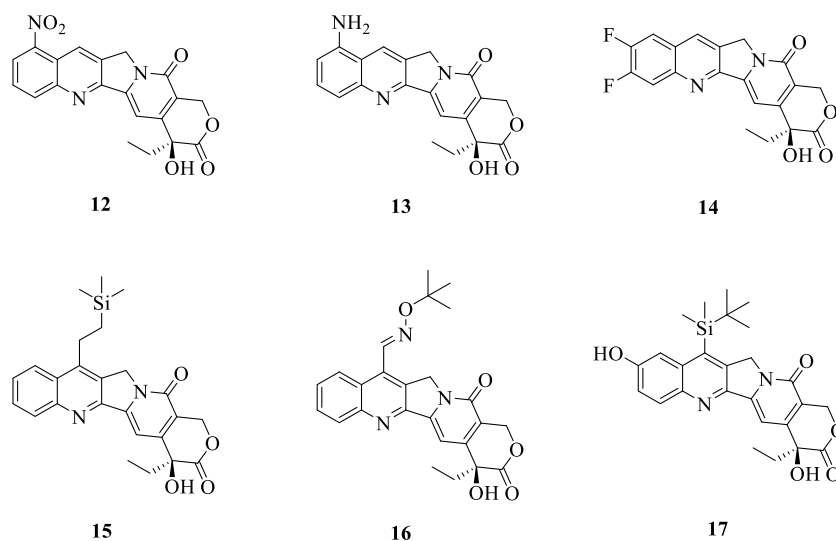


图3 已批准用于临床和处于临床研究阶段的水不溶性喜树碱衍生物
Fig. 3 Water insoluble CPT analogs in clinical practice or clinical trials

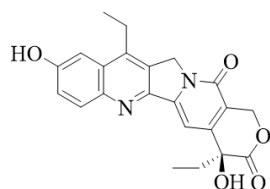


图4 喜树碱类似物SN-38的结构
Fig. 4 Structure of CPT analog SN-38

高了2 000倍以上。其中化合物27对非小细胞肺癌和小细胞肺癌的抑制作用与CPT-11相当或略强,且不引起严重的腹泻。

聚乙二醇(PEGs)也是具有高度水溶性和生物

相容性的聚合物,在医药工业中被广泛用于改善药物的溶解性和稳定性,减少给药次数和免疫原性,延长体内半衰期。Deng等^[36]使用低相对分子质量线性单分散聚乙二醇(M-PEG)将HCPT和SN-38修饰成相应的前药,想通过控制M-PEGs长度(4~24个乙二醇基)和连接方式(乙醚和碳酸酯),来调节前药的理化和生物学性质。首先,含有多个乙二醇单元的M-PEG(29a~i)与氯化亚砷环化成大环后,在碳酸钾存在下,M-PEGs大环硫酸酯(30a~i)与HCPT顺利反应,得到9个羟基喜树碱醚衍生物(31a~i)。其次,通过大环硫酸酯30a与甲醇32a

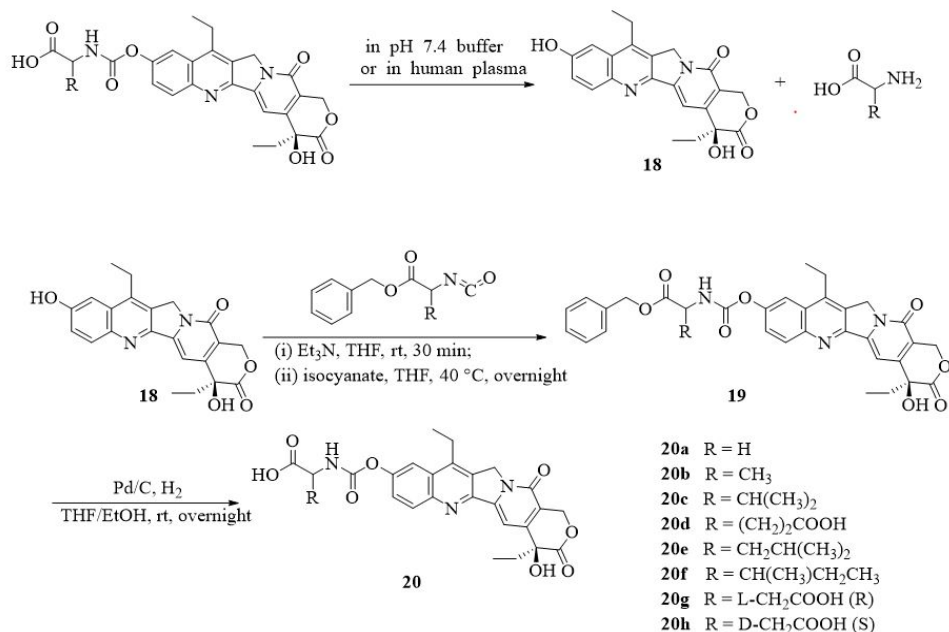


图5 水溶性SN-38前药化合物20的合成路线
Fig. 5 Synthetic route of SN-38 prodrug compound 20

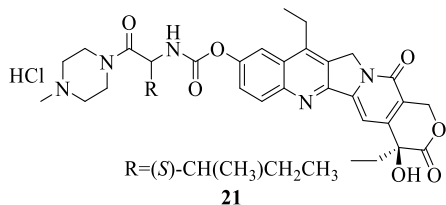


图6 化合物ZBH-ZM-06的结构

Fig. 6 Structure of compound ZBH-ZM-06

和其他可以直接买到的醇**32b~c**的迭代开环反应,制备了单甲基化 M-PEGs 修饰的化合物**32g~p**。**32l**和**32p**先通过亲核取代转化为相应的4-硝基苯碳酸酯**33f**和**33j**,然后与SN38进行酯交换反应生成碳酸酯类衍生物**34a**和**34b**(图11)。应用噻唑蓝(MTT)法进行的细胞毒试验发现**31a~i**的细胞毒活性远低于HCPT,而短M-PEGs修饰的HCPT比长M-PEGs修饰的HCPT具有相对更高的细胞毒活性。**34a**和**34b**也均表现出良好的溶解性和细胞毒活性。

除了将SN-38修饰成水溶性更强的前药,还可以通过脂质体将包裹的药物与周围环境隔离来保护它们免受结构变化或化学降解,对肿瘤细胞提供

靶向治疗,并且持续缓慢的释放SN-38。Cheng等^[37]结合前药和纳米技术的优势,获得了长循环脂质体给药系统,其中加入了SN-38的亲脂前药7-乙基-10-羟基喜树碱-10-棕榈酸酯(SN38-PA,**35**)。选择棕榈酸作为合适的脂肪酸,通过酯键与SN-38在C10位反应,生成化合物**35**(图12)。由于SN-38的低溶解性和对脂膜的低亲和力,很难制备出具有高包封率(EE)的SN-38脂质体。亲脂性前药可以改善脂基制剂的载药量,稳定内酯形式能防止其水解,改善母药对细胞膜的通透性。此外,将亲脂性前药装载在脂基载体系统中可导致药物缓慢和持续释放,从而降低其高毒性。结果表明,SN38-PA脂质体具有较高的载药量、较高的转化率、良好的抗肿瘤活性和肿瘤靶向性,且具有较好的稳定性,有望成为有效的抗癌药。

研究发现,生物素(维生素B7)也可以被用作合适的靶向剂,生物素修饰的药物分子能够增加肿瘤细胞对抗癌药物的摄取。Ding等^[38]合成了一系列生物素修饰的喜树碱衍生物,在二异丙基碳二亚胺(DIC)和4-二甲氨基吡啶(DMAP)存在下,化合

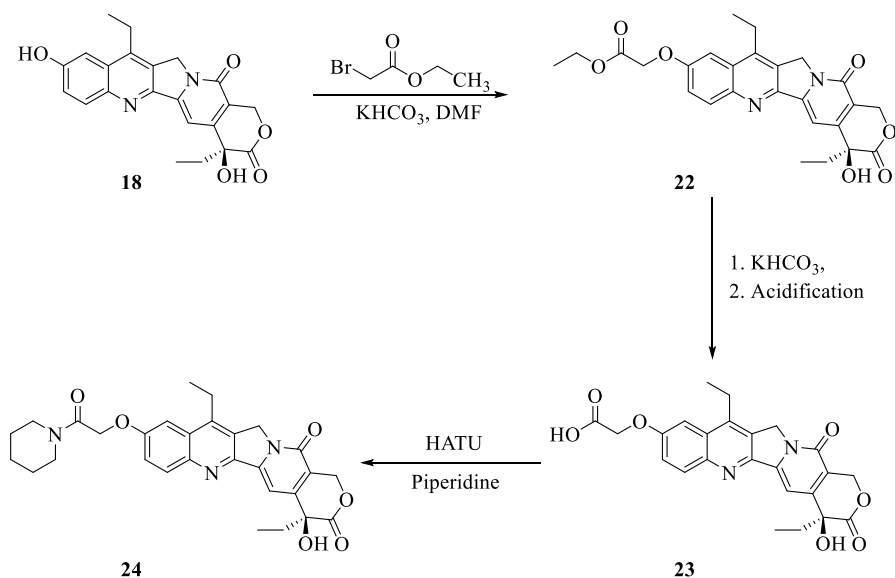


图7 化合物F10的合成路线

Fig. 7 Synthetic route of compound F10

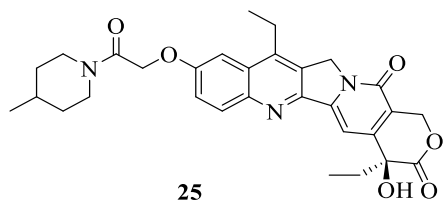


图8 化合物B7的结构

Fig. 8 Structure of compound B7

物**36、37**与SN-38在室温下发生酯化反应生成化合物**38、39**(图13)。并以细胞毒试验评价了它们对白血病 HL-60、肝癌 SMMC-7721、肺癌 A-549、乳腺癌 MCF-7 和结肠癌 SW480 等 5 种人癌细胞系的抗癌活性,化合物**38**的 IC_{50} 为 $0.13\sim 3.31\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、化合物**39**的 IC_{50} 为 $0.23\sim 1.48\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,都比喜树碱活性高。

因为对C5位取代基的作用知之甚少,过去很长

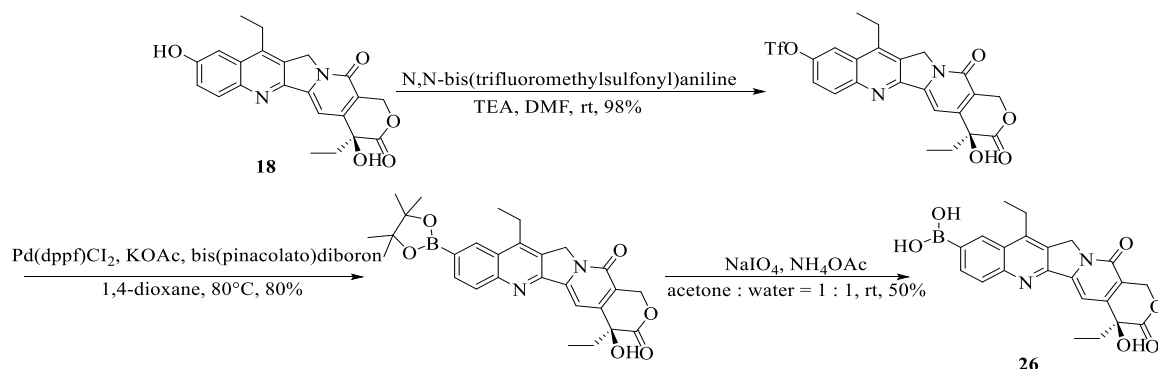


图9 7-乙基-10-硼酸喜树碱(26)的合成路线
Fig. 9 Synthetic route of 7-ethyl-10-borate camptothecin (26)

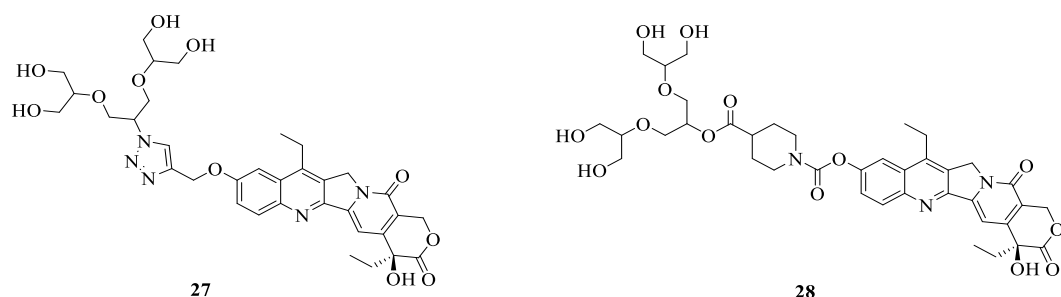


图10 高亲水性喜树碱衍生物 SN38-BGL
Fig. 10 Highly hydrophilic CPT analog SN38-BGL

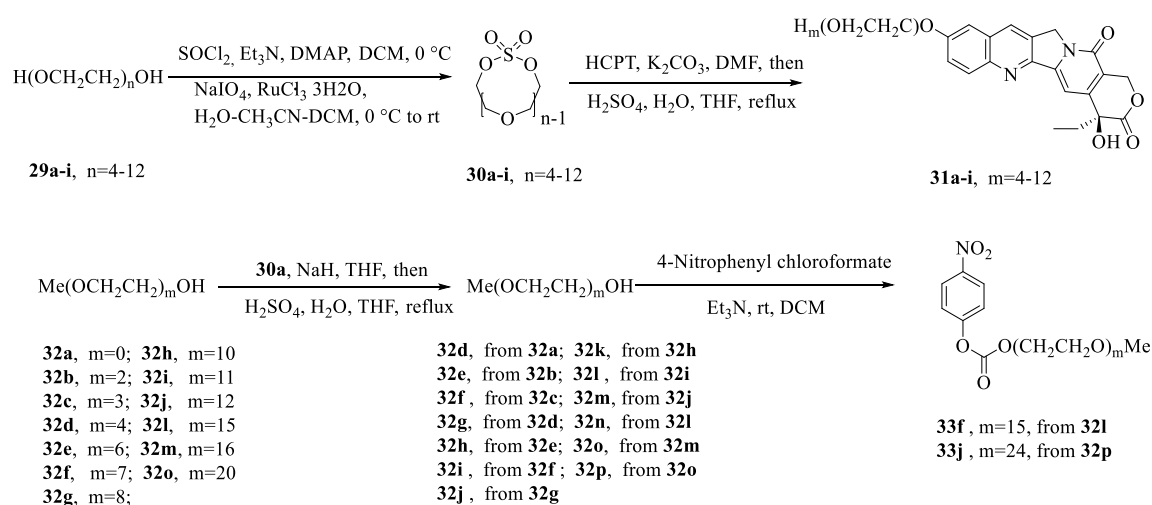


图11 单分散聚乙二醇修饰的 SN-38 前药化合物的合成
Fig. 11 Synthesis of M-PEGs modified SN-38 prodrugs

一段时间认为在 C5 位取代会使化合物降低或失去活性。然而近期研究发现如果 C5 上有氢键供体或受体取代基可能有助于插入天然的或裸露的 DNA 寡聚体中。Naumczuk 等^[39]发现甲醇溶液中 C5 可以

形成烯胺型碳原子,提供了烯胺片段中双键 C5 处的 2 个对映面,因此,他们在 SN-38 上应用 Mannich 反应条件在 C5 或 C9 位上引入烷基氨基或烷基基得到非对映异构体的 C5 取代衍生物 40a~h(图 14)。除极

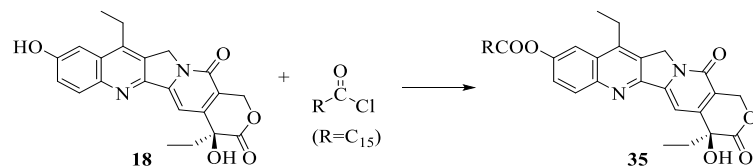


图 12 SN38-PA(35)的合成路线

Fig. 12 Synthetic route of SN38-PA (35)

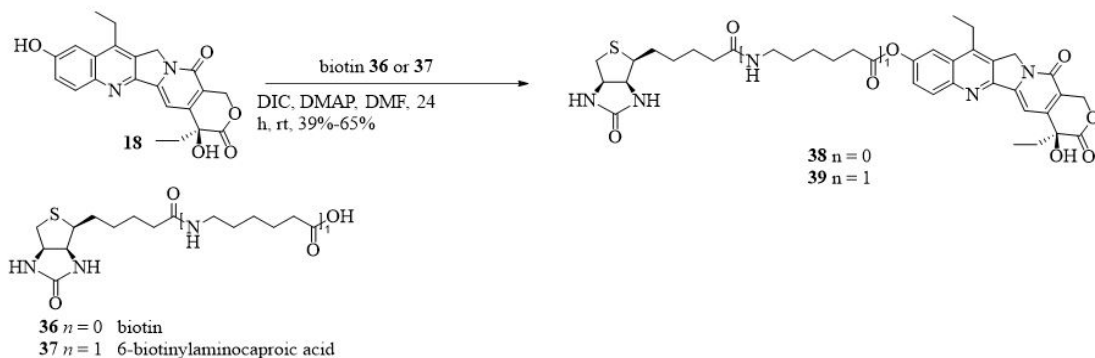


图 13 生物素喜树碱化合物 38~39 的合成

Fig. 13 Synthesis of biotinylcamptothecins compound 38 – 39

少数例外,新化合物的 IC_{50} 比伊立替康高出几个数量级。与其他5,9-二取代和5-单取代衍生物相比,*N*-吡咯烷甲基取代的C5位的非对映异构体40g~h对癌细胞具有最高的抗肿瘤活性。与SN-38对正常

细胞的毒活性($IC_{50}=4.98 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)相比,新化合物对正常细胞的毒性低。

化合物41是Zhou等^[40]通过HCPT和氯乙酸丁酯发生亲核取代反应生成的低毒、高可溶性、体外

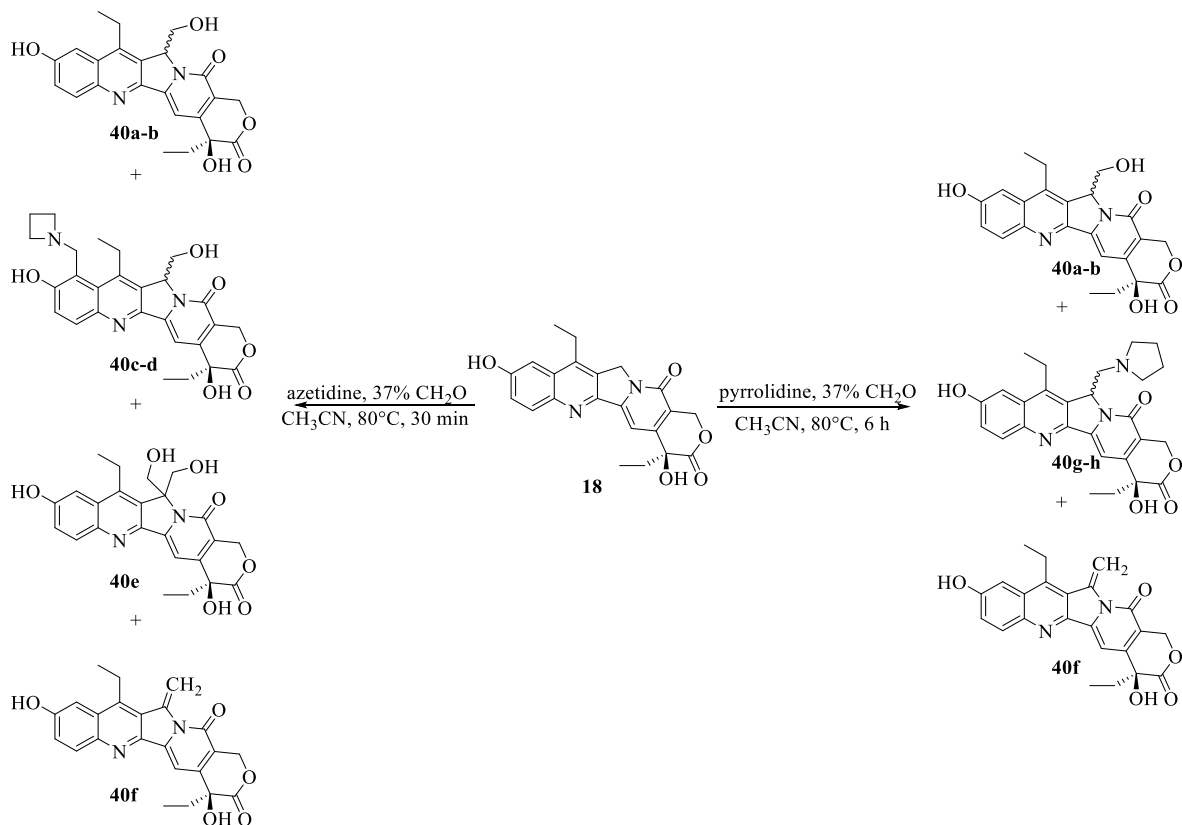


图 14 化合物 40a~h 的合成路线

Fig. 14 Synthetic route of compound 40a-h

能有效诱导肿瘤细胞凋亡的喜树碱衍生物(图15)。通过MTT比色法研究化合物**41**对多种肿瘤细胞株的毒性,发现其有广谱的抗癌活性,对白血病细胞Jurkat的抑制作用最强,IC₅₀值低至0.04 μmol·L⁻¹,远低于HCPT的0.1 μmol·L⁻¹。流式细胞仪分析表明化合物**41**的抗肿瘤作用是通过诱导细胞凋亡来实现的。此外,化合物**41**对正常细胞表现出较低的毒性,在低极性溶剂中的溶解度稍好,在丙酮和CHCl₃中的溶解度分别是10-羟基喜树碱的23倍和130倍。

研究发现六环体系的喜树碱衍生物中活性被保留。Hou等^[41]首先构建了1个虚拟化合物库,里面包含将五元或六元环片段融合到HCPT的9,10位的喜树碱衍生物。然后,通过Schrödinger 9.0软件中的Glide模块对接所有生成的化合物并对其进行排序,基于合成简便性和潜在的类药物性质选择排名靠前的化合物进行合成(图16)。同时为了增强E环的稳定性,提高化合物的溶解性和生物利用度,对内酯环进行了修饰,在化合物**42**~**44a**和**45b**的20-OH基团中引入了亲水链结构,生成了水溶低毒的六环衍生物**42**~**45**。与拓扑替康相比,化合物**43**和**45**具有更好的体内抗肿瘤活性,毒性更低,还可以抑制几种炎性细胞因子的表达。

1.2 以CPT为原料进行结构修饰

研究表明在CPT的7位引入亲脂取代基提供了良好的分子相互作用并改善了药理活性。Lee等^[42]以CPT为原料,通过Minisci反应一步合成了新的7-酰基喜树碱衍生物**46a**~**46i**(图17),并对4种人肿瘤细胞株(非小细胞肺癌细胞A-549、前列腺癌细胞DU-145、鼻咽癌细胞KB和多重耐药鼻咽癌细胞KB-vin)进行了细胞毒实验。所有的新化合物对人肿瘤细胞生长均有明显抑制作用,IC₅₀值在0.015 38~13.342 μmol·L⁻¹。其中化合物**46a**和**46b**对所测试的肿瘤细胞株显示出最高的细胞毒活性。

胺类和磺酰胺类化合物是公认的重要的药效团,因此他们继续以CPT为原料,在甲醇-硫酸水溶液中与过氧化氢和硫酸亚铁发生小分子自由基反

应,生成的7-羟甲基喜树碱经过溴化反应,然后与各种取代胺^[43]、取代磺酰基哌嗪^[44]发生取代反应,得到了一系列7-(N-甲基)-喜树碱衍生物和7-取代磺酰基哌嗪-喜树碱衍生物(图18)。此外还评估了它们对人肿瘤细胞系(非小细胞肺癌细胞A-549、乳腺癌细胞MDA-MB-231、鼻咽癌细胞KB、多重耐药鼻咽癌细胞KB-vin和乳腺癌细胞MCF-7)的细胞毒活性。与阳性对照CPT-11和TPT相比,大多数衍生物显示了更好的体外抗肿瘤活性,其中化合物**48a**和**48b**的IC₅₀值分别为1.2、20.2 nmol·L⁻¹,显示出最强的抗癌活性。

该研究小组继续开发C-7修饰,合成了一系列新的7-哌嗪-磺酰肼-CPT衍生物^[45]和7-哌嗪-硫脲-CPT衍生物^[46](图19)。在酸性介质中,CPT与氯乙醛在硫酸亚铁作用下发生自由基反应。然后,7-氯甲基-CPT用叔丁氧羰基(N-Boc)保护的哌嗪处理,进一步脱保护,得到关键中间体**49**的三氟乙酸盐形式。随后,**49**与磺酰叠氮化合物和末端炔进行铜催化的3组分反应,得到相应CPT的7-哌嗪基磺酰肼衍生物**51**。化合物**49**与合适的异硫氰酸酯在干燥的CH₂Cl₂中反应生成化合物**50**。结果表明,所有合成的化合物对所测试的5种人肿瘤细胞(A-549、MDA-MB-231、MCF-7、KB和KB-vin)具有良好的体外杀伤活性,且比伊立替康更有效。

多组分反应(MCRs)由于能够在简单的一锅反应中步骤经济性地产生复杂分子而在药物化学中受到极大关注。与传统的基于2个组分反应的分步反应相比,MCRs提供了简单的制备功能聚合物的方法,并极大地丰富了功能聚合物的种类(主链和侧基)。由于内酯环E在生理条件下会迅速水解成非生物活性的羧酸盐形式与血清白蛋白结合,而游离的20-羟基通过形成分子内氢键而有利于内酯开环,因此Lee等^[47]通过催化3组分反应对20-羟基进行酯化合成了系列20-磺酰肼类化合物来防止E环开环。首先通过使用N,N'-二异丙基碳二亚胺(DIPC)和4-二甲氨基吡啶(DMAP),将CPT的20-羟基酯化成N-Boc-氨基酸衍生物**52**。之后用三

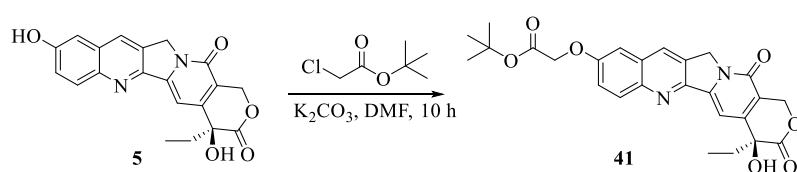


图15 化合物41的合成路线

Fig. 15 Synthetic route of compound 41

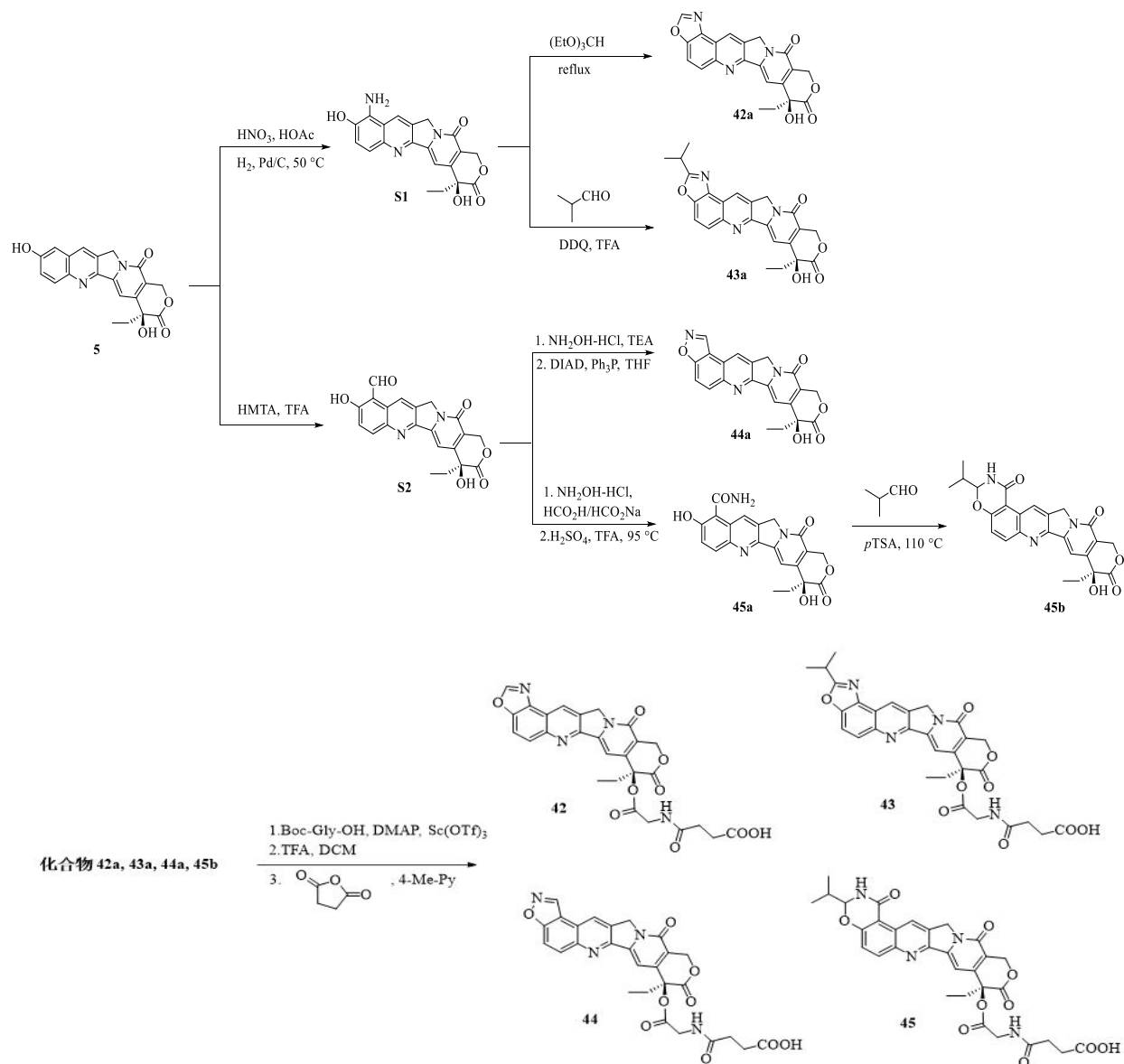


图 16 化合物 42~45 的合成路线
Fig. 16 Synthetic route of compound 42 – 45

氟乙酸(TFA)去除 N-Boc 基团,形成关键的 TFA 中间体盐 **53**。最后在铜催化下,**53** 与对甲苯磺酰叠氮和广泛的炔烃反应生成目标化合物 **54a~l**(图 20)。其中 **54a** 对耐多药 KB-vin 细胞的作用远高于化合物 **3**,显示出较好的体外细胞毒活性,IC₅₀ 值为 0.026 μmol·L⁻¹。在异种移植模型中,**54a** 在 5、10 mg·kg⁻¹ 表现出显著的抗肿瘤活性,没有明显的不良反应。

Song 等^[48]继续通过铜催化的 MCRs 合成了系列基于 PEGs 基的 20(*S*)-CPT-磺酰肼衍生物并测试了它们的细胞毒活性。由 CPT 反应生成 TFA 中间体盐 **53** 的前 2 步与之前相同,随后 **53** 在铜催化下与磺酰叠氮化合物和聚乙二醇炔反应生成目标化合

物 **55a~j**, **56a~f**, **57a~f**(图 20)。用磺胺 B 比色法评价了它们对 4 种人肿瘤细胞株(A549、MDA-MB-231、KB 和 KB-vin)的抗增殖活性,发现所有新化合物都比化合物 **3** 更有效。

CPT 作为潜在的植物保护农药越来越受到重视。Jiang 等^[49]根据 Topo I-DNA 复合体与 CPT 的结合方式设计合成了系列衍生物,并对其进行了体外活性评价。首先通过两步氧化在醋酸-水混合液中回流制得 7-甲酰基喜树碱(**59**),随后在过氧化氢-甲酸体系被氧化生成 7-羧基喜树碱(**60**),然后加入各种胺进行亲核取代生成目标化合物 **61a~d**(图 21)。化合物 **61a~d** 对斜纹夜蛾幼虫的生长有很强抑制

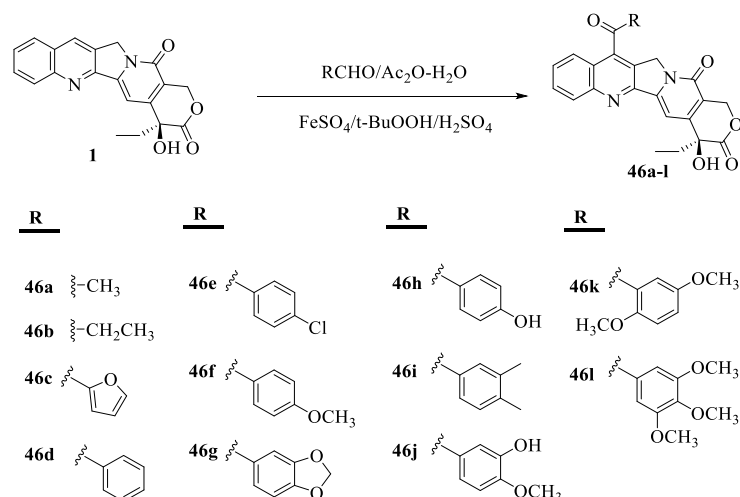


图 17 7-酰基喜树碱衍生物的合成路线
Fig. 17 Synthesis of 7-acyl camptothecin derivatives

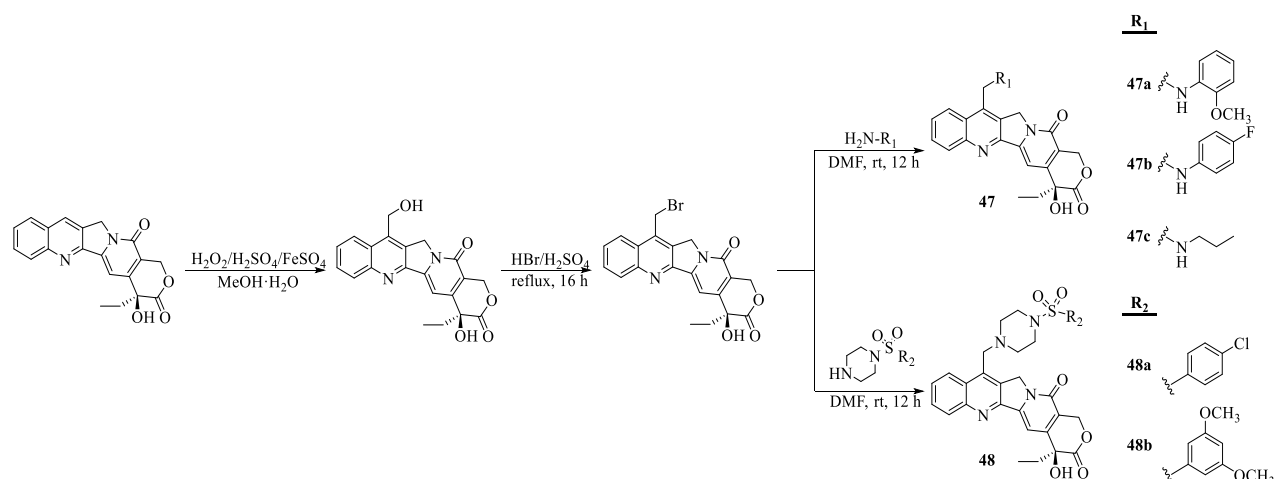


图 18 7-(N-甲基)-喜树碱衍生物和7-取代磺酰基哌嗪-喜树碱衍生物的合成
Fig. 18 Synthesis of 7-(N-methyl)- and 7-sulfonyl-piperazinyl-CPT analogues

作用,有望成为潜在的生物农药。分子模拟表明,衍生物的酰胺键很可能是通过与DNA碱基的氢键作用形成的,一些负电基团的引入也有可能通过有益的非共价相互作用来稳定三元配合物。

2 全合成喜树碱衍生物

10, 11-亚甲二氧基-20(S)-喜树碱, 又称FL118(**62**), 是美国Roswell Park癌症研究所在以生存蛋白(Survivin)基因作为目标的基因工程癌症细胞模型中, 通过计算机高通量筛选得到的抗肿瘤活性化合物^[50]。化合物**62**是以6-硝基胡椒醛为原料, 通过还原反应、Friedlander缩合反应合成的喜树碱衍生物(图22)^[51]。

Westover等^[52]证明尽管FL118的抗肿瘤活性与Topo-I的表达无关, 但其能够选择性地抑制凋亡抑制因子家族的几个成员(Survivin、XIAP和cIAP2)

和Bcl-2家族(Mcl-1)的表达, 有助于FL118的功效发挥和抗癌活性。临床研究表明化合物**2**和**3**的失效往往与药物外排泵人腺苷三磷酸结合盒转运体G2(ABCG2)表达增加相关。而**2**、SN-38和**3**都是ABCG2的底物, ABCG2的高表达与这些化合物在细胞内的积累减少相关, 从而降低药物效力。由于FL118不是外排泵底物, 其胞内浓度高于化合物**2**和**3**。在非小细胞肺癌和结肠癌细胞系研究中比较了FL118和SN-38的活性, FL118的活性是SN-38的5~10倍, 半数效应浓度(EC₅₀)值始终低于1 nmol·L⁻¹。

研究发现极性基团的引入可以增加化合物的水溶性, 促进溶解的热力学过程。Lai等^[53]希望在喜树碱的10位上引入极性基团吗啉环, 来考察CPT衍生物的水溶性大小和对抗癌活性的影响。首先取代苯胺酰化生成了取代邻氨基苯乙酮类化合物,

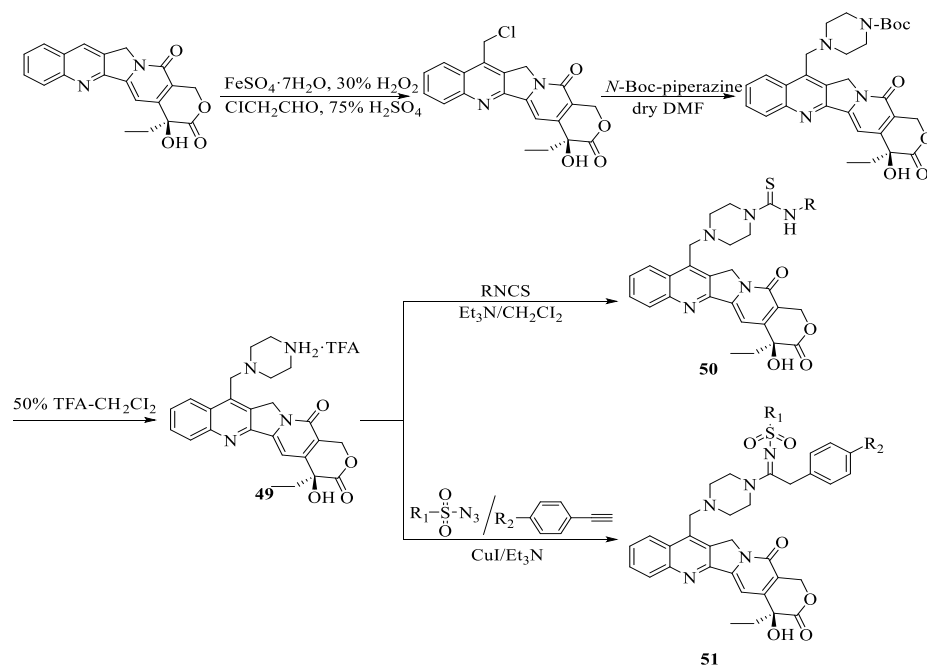


图 19 7-哌嗪基喜树碱衍生物的合成

Fig. 19 Synthesis of 7-piperazinyl-camptothecins

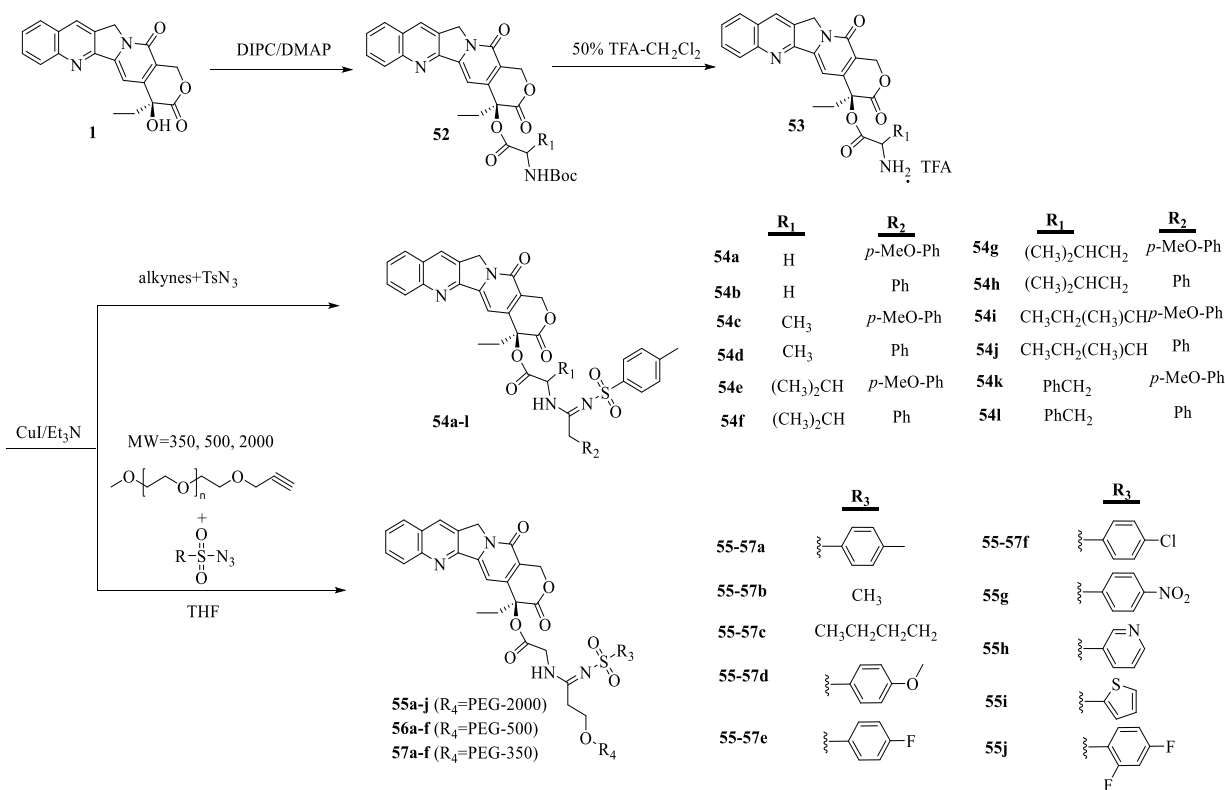


图 20 化合物 54a—l, 55a—j, 56a—f, 57a—f 的合成路线

Fig. 20 Synthetic route of compound 54a—l, 55a—j, 56a—f, 57a—f

然后与 α -亚甲基酮类化合物发生 Friedlander 缩合, 生成化合物 P210 (63) 和 P211 (64, 图 23)。由于吗啉环上的 N 和 O 原子都提供了可以与水分子相互作用的额外位置, 化合物 P211 有望增加在水中的

溶解度, 改善药物的稳定性, 并具有更好的治疗效果。该研究小组还提供了化合物 64 作为潜在的乳腺癌细胞拮抗剂的第 1 个具体实验证据 [54]。

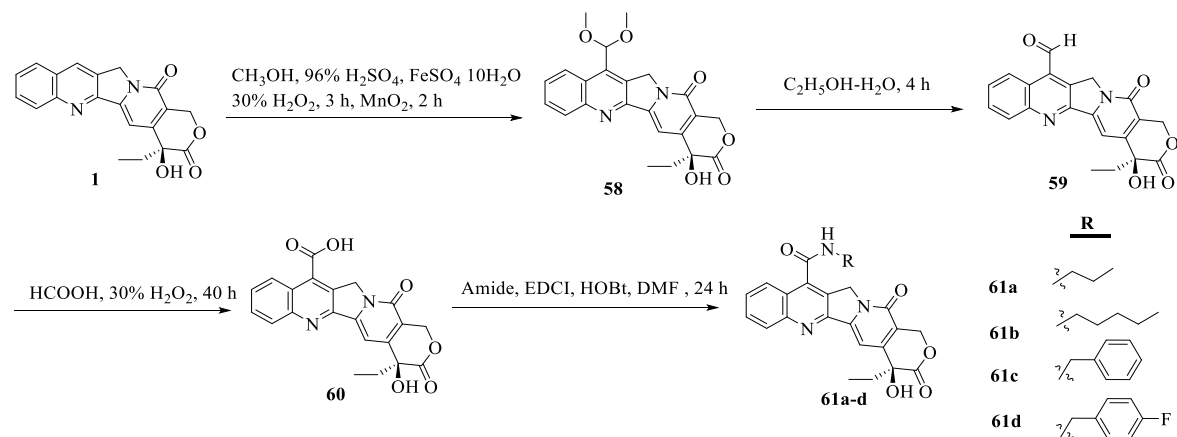


图 21 化合物 61a~d 的合成路线

Fig. 21 Synthetic route of compound 61a-d

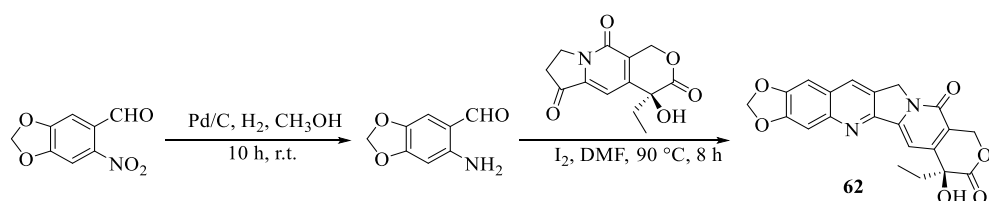


图 22 化合物 62 的合成路线

Fig. 22 Synthetic route of compound 62

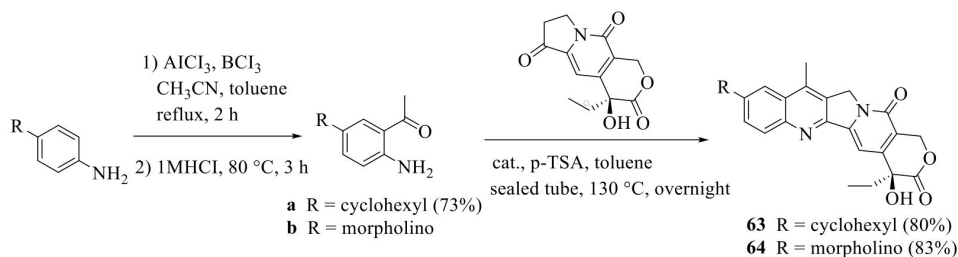


图 23 化合物 63, 64 的合成路线

Fig. 23 Synthetic route of compound 63, 64

Li等^[55]用类似方法合成了系列喜树碱衍生物并对其抗癌活性进行筛选,发现并开发了具有自主知识产权的抗癌药物 RJT-101 (65, 图 24)。发现 RJT-101 在体外能有效抑制黑色素瘤细胞的增殖,在体内能抑制肿瘤的生长和转移。此外, RJT-101 可以克服耐药性,对耐 BRAFi (BRA FV600E 基因突变抑制剂) 的黑色素瘤细胞有效。RJT-101 通过调节 Topo-I 的活性和蛋白的稳定性,诱导细胞凋亡、DNA 损伤和 G₂/M 期停滞。因此, RJT-101 有望成为治疗黑色素瘤的有效药物^[56]。

3 喜树碱的构效关系

构效关系 (SAR) 研究使人们认识到不同取代对药物分子生物活性的影响。喜树碱衍生物活性的基本结构特征是 20(S)-羟基、内酯环部分 (E 环) 和五环 (A、B、C、D 和 E) 体系的平面性。

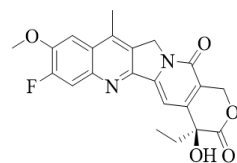


图 24 化合物 65 的化学结构

Fig. 24 Structure of compound 65

3.1 修饰喹啉环 AB

研究者对在 CPT 的喹啉环上修饰一直表现出很高的热情,获准临床使用的喜树碱衍生物都是喹啉环上具有取代基的衍生物。(1) 在 A 环的 10 位连接氨基酸、叔胺、饱和碳链、支链甘油三聚体 (BGL003) 或聚乙二醇 (PEGs) 可增强水溶性,提高抗肿瘤活性。在 A 环的 10 位也可以连接脂肪酸或生物素来提高肿瘤靶向性。(2) 在 A 环的 9、10 位修饰二氢噻唑等或在 10、11 位修饰亚甲基、亚乙二

氧基均能提高其抗肿瘤活性,而通过选择性地删除A、B和C环而形成的四环、三环或双环系统则无活性,表明CPT对Topo I的抑制作用至少需要5个环。(3)B环7位的取代更有效,结构多样性的7位取代衍生物可以稳定CPT衍生物与Topo I-DNA络合物,还能增加内酯E环在人血浆中的稳定性。

3.2 修饰CD环

CD环修饰的报道非常有限,一般认为CD环上的取代都会降低活性。然而近期有研究发现,如果C环的5位上引入烷氧基或烷氨基得到的非对映异构体可以增强抗肿瘤活性,可能因为取代基有助于稳定CPT衍生物与Topo I-DNA络合物。

3.3 修饰内酯环E

E环的任何变化,例如内酯还原、去掉羰基氧或20-羟基被酯基取代都会使分子失活。 α -OH基团(20-S构型)的存在有利于平衡偏向非活性羧酸盐而不是活性的闭环内酯。20-OH基团的酯化反应可以消除E环上的分子内氢键或增加内酯环上的空间位阻,从而提高内酯环在体内的稳定性,并且具有较低的体外细胞毒性和较好的体内抗肿瘤活性。

4 结语

喜树碱抗肿瘤活性的发现是癌症治疗的突破,在临床中用于多种肿瘤的治疗^[57]。但由于基于喜树碱的化疗存在许多缺点,研究人员仍然对喜树碱的结构修饰表现出强烈的兴趣,合成了结构多样的喜树碱衍生物作为潜在的化疗药物。通过引入极性基团、靶向剂、药效团拼合、前药等结构修饰,增强了喜树碱的水溶性和抗肿瘤活性,提高了E环内酯结构的代谢稳定性,降低了不良反应等。此外,药物递送系统与喜树碱相结合可以实现高效的抑瘤活性,如纳米技术为解决与抗癌药物有关的缺点(毒性、低水溶性和肿瘤细胞吸收不良等)提供了新的可能性。计算机高通量筛选的应用也能提高先导化合物发现效率,得到活性较高的化合物。本文综述的大多数喜树碱衍生物与喜树碱、拓扑替康、SN-38相比显示出更强的抗癌效力,对不同肿瘤细胞具有活性,有的化合物对多药耐药肿瘤有活性。在众多的喜树碱衍生物中,化合物F10对人结肠癌HCT116细胞株的 IC_{50} 值为 $0.003 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,还表现出显著的水溶性和较低的毒性,是最有希望开发成新药的先导化合物。本文总结了近年来对喜树碱结构修饰和生物活性研究的最新进展,希望为喜树碱类抗癌药物的结构优化提供依据与参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wall M E, Wani M C, Cook C E, et al. Plant antitumor agents I. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata* [J]. J Am Chem Soc, 1966, 88 (16): 3888-3890.
- [2] Martino E, Della Volpe S, Terribile E, et al. The long story of camptothecin: From traditional medicine to drugs [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2017, 27(4): 701-707.
- [3] Hsiang Y, Hertzberg R, Hecht S, et al. Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I [J]. J Biol Chem, 1985, 260(27): 14873-14878.
- [4] Marshall S H, Susan S H. Intracellular degradation of HeLa and adenovirus type 2 DNA induced by camptothecin [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1971, 45(3): 723-727.
- [5] David K. Some determinants of camptothecin responsiveness in leukemia L1210 Cells [J]. Cancer Res, 1971, 31(12): 1883-1887.
- [6] Gallo R C, Whang P J, Adamson R H. Studies on the antitumor activity, mechanism of action, and cell cycle effects of camptothecin [J]. J Natl Cancer Inst, 1971, 46 (4): 789-795.
- [7] Drewinko B, Freireich E J, Gottlieb J A. Lethal activity of camptothecin sodium on human lymphoma cells [J]. Cancer Res, 1974, 34 (4): 747-750.
- [8] Gottlieb J A, Luce J K. Treatment of malignant melanoma with camptothecin (NSC-100880) [J]. Cancer Chemother Rep, 1972, 56(1): 103-105.
- [9] Muggia F M, Creaven P J, Hansen H H, et al. Phase I clinical trial of weekly and daily treatment with camptothecin (NSC-100880): Correlation with preclinical studies [J]. Cancer Chemother Rep, 1972, 56(4): 515-521.
- [10] Moertel C G, Schutt A J, Reitemeier R J, et al. Phase II study of camptothecin (NSC-100880) in the treatment of advanced gastrointestinal cancer [J]. Cancer Chemother Rep, 1972, 56(1): 95-101.
- [11] Carter S K, Slavik M, Muggia F M, et al. Overview of early and investigational chemotherapeutic agents in solid tumors [J]. Med Pediatr Oncol, 1976, 2(4): 417-432.
- [12] Khaiwa N, Maarouf N R, Darwish M H, et al. Camptothecin's journey from discovery to WHO essential medicine: Fifty years of promise [J]. Eur J Med Chem, 2021, 223: 113639.
- [13] Thomas A, Redon C E, Sciuto L, et al. Phase I study of ATR inhibitor M6620 in combination with topotecan in patients with advanced solid tumors [J]. J Clin Oncol, 2018, 36(16): 1594-1602.
- [14] Vogelbaum M A, Brewer C, Barnett G H, et al. First-in-human evaluation of the Cleveland multiport catheter for convection-enhanced delivery of topotecan in recurrent high-grade glioma: Results of pilot trial 1 [J]. J

- Neurosurg, 2018, doi: 10.3171/2017.10.JNS171845.
- [15] Chiara S, Nobile M T, Tomasello L, et al. Phase II trial of irinotecan and raltitrexed in chemotherapy-naive advanced colorectal cancer [J]. *Anticancer Res*, 2005, 25 (2B): 1391-1396.
- [16] Venditto V J, Simanek E E. Cancer therapies utilizing the camptothecins: A review of *in vivo* literature [J]. *Mol Pharm*, 2010, 7(2): 307-349.
- [17] Lee D H, Kim S W, Bae K S, et al. A phase I and pharmacologic study of belotecan in combination with cisplatin in patients with previously untreated extensive-stage disease small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(20): 6182-6186.
- [18] 郭晓鹏, 冯思良, 王金辉, 等. 拓扑异构酶 I 及其喜树碱类抑制剂的临床研究进展 [J]. *国际药学研究杂志*, 2013, 40(4): 405-414.
- Guo X P, Feng S L, Wang J H, et al. Topoisomerase I and its camptothecin inhibitors in clinic: Research advances [J]. *J Int Pharm Res*, 2013, 40(4): 405-414.
- [19] Royce M E, Rowinsky E K, Hoff P M, et al. A phase II study of intravenous exatecan mesylate (DX-8951f) administered daily for five days every three weeks to patients with metastatic adenocarcinoma of the colon or rectum [J]. *Invest New Drugs*, 2004, 22(1): 53-61.
- [20] Giles F J, Tallman M S, Guillermo G M, et al. Phase I and pharmacokinetic study of a low clearance, unilamellar liposomal formulation of lurtotecan, a topoisomerase I inhibitor, in patients with advanced leukemia [J]. *Cancer*, 2004, 100(7):1449-1458.
- [21] Liu X, Cao Z, Mendoza J, et al. Correlation between the sensitivity of tumors to treatment with CZ48 and local concentrations of the active metabolite CPT within the tumors [J]. *Biomed Rep*, 2013, 1(2): 202-206.
- [22] Li J, Ouyang Y, Zhang X, et al. Effect of HM910, a novel camptothecin derivative, on the inhibition of multiple myeloma cell growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(3): 1000-1016.
- [23] Wu K M, Chi C W, Lai J C, et al. TLC388 induces DNA damage and G2 phase cell cycle arrest in human non-small cell lung cancer cells [J]. *Cancer Control*, 2020, doi: 10.1177/1073274819897975.
- [24] Liu Y Q, Li W Q, Morris-Natschke S L, et al. Perspectives on biologically active camptothecin derivatives [J]. *Med Res Rev*, 2015, 35(4): 753-789.
- [25] Penco S, Zunino F, Merlini L, et al. Camptothecin derivatives having antitumor activity: US, 6242457 [P]. 2001-05-06.
- [26] Susanne M A, John J R, Eleftheria T, et al. A phase I study of 7-*t*-butyldimethylsilyl-10-hydroxycamptothecin in adult patients with refractory or metastatic solid malignancies [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(2): 673-680.
- [27] Slatter J G, Schaaf L J, Sams J P, et al. Pharmacokinetics, metabolism, and excretion of irinotecan (CPT-11) following I. V. infusion of [¹⁴C] CPT-11 in cancer patients [J]. *Drug Metab Dispos*, 2000, 28(4): 423-433.
- [28] Zhou M, Shi W, Zhong B, et al. Synthesis and biological evaluation of novel 10-substituted-7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN-38) prodrugs [J]. *Molecules*, 2014, 19(12): 19718-19731.
- [29] Wu D, Shi W, Zhao J, et al. Assessment of the chemotherapeutic potential of a new camptothecin derivative, ZBH-1205 [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2016, 60(4): 74-85.
- [30] Wu D, Zhao D W, Li Y Q, et al. Antitumor potential of a novel camptothecin derivative, ZBH-ZM-06 [J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(2): 871-879.
- [31] Fan S, Zhang G M, Zhang S Q, et al. F10, a new camptothecin derivative, was identified as a new orally-bioavailable, potent antitumor agent [J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 202: 112528.
- [32] Yang X Y, Zhao H Y, Zhang S Q, et al. Synthesis and biological evaluation of 10-substituted camptothecin derivatives with improved water solubility and activity [J]. *Chem Med Chem*, 2021, 16(6): 1000-1010.
- [33] Wang L, Xie S, Lu W, et al. 10-Boronic acid substituted camptothecin as prodrug of SN-38 [J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 116: 84-89.
- [34] Okuno H, Abe S, Tsuchihashi Y, et al. Novel hydrophilic camptothecin derivatives conjugated to branched glycerol trimer suppress tumor growth without causing diarrhea in murine xenograft models of human lung cancer [J]. *Mol Pharm*, 2020, 17(4): 1049-1058.
- [35] Nemoto H, Katagiri A, Kamiya M, et al. Synthesis and evaluation of water-soluble resveratrol and 594 piceatannol via BGLation [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22(15): 5051-5054.
- [36] Deng T, Mao X, Xiao Y, et al. Monodisperse oligoethylene glycols modified camptothecin, 10-hydroxycamptothecin and SN38 prodrugs [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019, 29(4): 581-584.
- [37] Cheng D, Chen J, Deng L, et al. Novel SN38 derivative-based liposome as anticancer prodrug: an *in vitro* and *in vivo* study [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 14: 75-85.
- [38] Ding Z T, Jiang Z H, Hu J M, et al. Synthesis and antitumor activity of biotinylated camptothecin derivatives as potent cytotoxic agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019, 29(2): 234-237.
- [39] Naumczuk B, Górecki M, Kozerski L, et al. New

- camptothecin derivatives for generalized oncological chemotherapy: Synthesis, stereochemistry and biology [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2021, 46: 128146.
- [40] Zhou Y, Teng Y O, Yu P, et al. Low toxic and high soluble camptothecin derivative 2-47 effectively induces apoptosis of tumor cells *in vitro* [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 472(3): 477-481.
- [41] Pan P, Chen J, Hou T J, et al. Structure-based drug design and identification of H₂O-soluble and low toxic hexacyclic camptothecin derivatives with improved efficacy in cancer and lethal inflammation models *in vivo* [J]. J Med Chem, 2018, 61(19): 8613-8624.
- [42] Liu Y Q, Dai W, Lee K H, et al. Design and one-pot synthesis of new 7-acyl camptothecin derivatives as potent cytotoxic agents [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2012, 22(24): 7659-7661.
- [43] Wu D, Wu X B, Lee K H, et al. Design and synthesis of new 7- (N-substituted-methyl) -camptothecin derivatives as potent cytotoxic agents [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2014, 24(16): 3850-3853.
- [44] Zhu G X, Zhang X S, Lee K H, et al. Design, synthesis and potent cytotoxic activity of novel 7-(N-[(substituted-sulfonyl)piperazinyl] -methyl) -camptothecin derivatives [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2017, 27(8): 1750-1753.
- [45] Yang C J, Zhang J X, Lee K H, et al. Design, synthesis, and cytotoxic activity of novel 7-substituted camptothecin derivatives incorporating piperazinylsulfonylamidine moieties [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2017, 27(17): 3959-3962.
- [46] Song Z L, Liu H, Lee K H, et al. Design and synthesis of novel 7- [(N-substituted-thioureidopiperazinyl) -methyl] -camptothecin derivatives as potential cytotoxic agents [J]. Nat Prod Res, 2020, 34(14): 2022-2029.
- [47] Wang M J, Liu Y Q, Lee K H, et al. Design, synthesis, mechanisms of action, and toxicity of novel 20(S) -sulfonylamidine derivatives of camptothecin as potent antitumor agents [J]. J Med Chem, 2014, 57(14): 6008-6018.
- [48] Song Z L, Chen H L, Lee K H, 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 [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2015, 25(13): 2690-2693.
- [49] Jiang Z, Zhang Z, Zhong G H, et al. DNA topoisomerase 1 structure-BASED design, synthesis, activity evaluation and molecular simulations study of new 7-amide camptothecin derivatives against *Spodoptera frugiperda* [J]. Front Chem, 2018, 6: 456.
- [50] Ling X, Cao S, Cheng Q, et al. A novel small molecule FL118 that selectively inhibits survivin, Mcl-1XIAP and cIAP2 in a p53-independent manner shows superior antitumor activity [J]. Plos One, 2012, 7(9): 45571.
- [51] Liew S T, Yang L X. Design, synthesis and development of novel camptothecin drugs [J]. Curr Pharm Des, 2008, 14(11): 1078-1097.
- [52] Westover D, Ling X, Li F, 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 [J]. Mol Cancer, 2015, 14: 92.
- [53] Lai C H, Chang C C, Chuang T H, et al. Synthesis, experimental and density functional theory (DFT) studies on solubility of camptothecin derivatives [J]. Molecules, 2018, 23(12): 3170.
- [54] Chiu C F, Chiu C C, Chang C F, et al. The novel camptothecin derivative, CPT211, induces cell cycle arrest and apoptosis in models of human breast cancer [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 128: 110309.
- [55] Li Y, Wang H, Zhu Y, et al. Compound of camptothecin and preparation and use: US, 9458170 B2 [P]. 2016-10-04.
- [56] Lian C, Chen X, Peng C, et al. RJT-101, a novel camptothecin derivative, is highly effective in the treatment of melanoma through DNA damage by targeting topoisomerase 1 [J]. Biochem Pharmacol, 2020, 171: 113716.
- [57] 刘月, 李鑫, 庞文倩, 等. 黑树莓花青素联合奥沙利铂或喜树碱通过 Akt 信号通路协同增强结肠癌化疗药物的治疗效果及作用机制研究 [J]. 中草药, 2022, 53(16): 5044-5051.
- Liu Y, Li X, Pang W Q, et al. Black raspberry anthocyanins combined with oxaliplatin or camptothecin synergistically enhance therapeutic effect of colorectal cancer chemotherapy drugs and mechanism through Akt signaling pathway [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53 (16): 5044-5051.

[责任编辑 李红珠]