

从天然产物中寻找酪氨酸蛋白激酶(PTKs)抑制剂的研究进展

北京医科大学生药理学教研室(100063) 尚明英* 马祥君[△] 蔡少青

摘 要 概述了近年来从天然产物中寻找酪氨酸蛋白激酶抑制剂的研究现状和前景。具有抑制酪氨酸蛋白激酶活性的天然产物主要包括黄酮类、萘醌类、苯乙烯类、芪类、甾醇类、生物碱、苯醌及倍半萜醌类等。

关键词 天然产物 酪氨酸蛋白激酶 天然酪氨酸蛋白激酶抑制剂

酪氨酸蛋白激酶(Protein Tyrosine Kinases, 简称 PTKs)是一组酶系,能催化 ATP 之 γ -磷酸基转移到许多重要蛋白质的酪氨酸残基上,使酚羟基磷酸化。PTKs 是在正常和异常增殖过程中起重要作用的癌蛋白和原癌蛋白家族中的成员。多种生长因子受体,包括表皮生长因子(EGF)、血小板源生长因子(PDGF)和胰岛素样生长因子的受体以及不少逆转录病毒致癌基因的编码蛋白都有 PTKs 活性。许多人癌如上皮癌、脑癌及白血病细胞等也发现有 PTKs 活性。受体酪氨酸激酶-Ras-MAPK 是将外界刺激信号传递到细胞核内的重要途径。PTKs 不但参与激素和生长因子等胞外信息的传递,还和细胞的恶变和增殖有关。PTKs 已成为细胞增殖恶变的标志之一,用以衡量某些分化诱导剂对肿瘤细胞的作用。PTKs 在细胞增殖中的作用提示,其特异性抑制剂对肿瘤会有预防及治疗价值。随着 PTKs 研究的深入,人们对探索 PTKs 抑制剂,特别是从天然产物中寻找 PTKs 抑制剂产生了广泛兴趣。笔者就这方面的工作综述如下。

1 黄酮类

黄酮类是 ATP 与 PTKs 结合的竞争性

抑制剂,黄酮和异黄酮对 PTKs 的抑制作用有不同的选择性^[1,2]。如槲皮素和染料木黄酮(genistein)都有效地抑制鼠肉瘤病毒 pp60^{src} 和 EGF 酪氨酸激酶,槲皮素还抑制牛胸腺细胞 p40 酪氨酸激酶和其它酶如 cAMP 有关的蛋白激酶、蛋白激酶 C 和磷酸化激酶,染料木黄酮不是 p40 的有效抑制剂,但抑制 pp110^{src}。天然黄酮和异黄酮对 p40 抑制作用的构效关系表明:C₇-和 C₅-位有羟基或苯环上有三个羟基的黄酮或黄酮醇与 p40 的亲合力强,是 p40 酪氨酸激酶的有效抑制剂,羟基被甲氧基取代则活性消失,提示黄酮类化合物作为氢给体和 PTKs 之间可能起重要作用。黄酮醇的 3-位羟基被取代后活性消失,因黄烷中双键被饱和,而异黄酮的 3-位被 C-环取代,故均无 p40 抑制作用。Cushman 等^[3,4]报道了一系列天然及合成黄酮对 p56^{lck} 的抑制作用,在其适宜位置有 2~3 个羟基时,活性最大,增加甲氧基或羟基被甲氧基取代则活性一般降低。黄烷通常比相应的黄酮活性低,说明 C 环的平面性对于抑制活性是必要的。

Mohamed 等^[5]从台湾栾树 *Koelreuteria henryi*、栾树 *K. paniculata* Laxm. 及 *K.*

* Address: Shang Mingying, Dept. of Pharmacognosy, Beijing Medical University, Beijing

[△]北京市丰台区医院外一科

尚明英 女,1982 年中药学专业毕业后从事临床中药学科研究及教学工作。1990~1993 年在中国药科大学攻读生药学硕士学位,研究课题《中药小叶莲及鬼臼类生药学研究》,系国家八五重点攻关课题《常用中药材品种整理与质量评价》的一个子专题,获国家医药管理局科技进步一等奖。后在北京医科大学药学院攻读生药学博士学位,毕业后留校任教。在药学核心期刊发表“鬼臼及小叶莲的本草考证”、“HPLC 法测定鬼臼类生药中木脂素类成分的含量”等多篇论文。

apiculata 中分离出对 PTKs、p56^{Rck} 有强抑制作用的山柰酚和槲皮素以及作用较弱的山柰酚-3-O-鼠李糖甙和山柰酚 3-O-阿拉伯糖甙,表明 3-位糖甙化后明显降低了山柰酚的生物活性,这与对 p40 的抑制作用研究结果一致。为了进一步探讨 B 环上羟基的重要作用,作者对 8 个已知天然黄酮类化合物即高良姜素(galangin)、茨非素(kaempferide)、橡精(datisctetin)、桑色素(morin)、杨梅黄素(myricetin)、来苏山柰黄素(resokaempferol)、芹菜甙元(apigenin)和木犀草素(luteolin)对 PTKs 的抑制活性也进行了测定,结果发现羟基取代 B 环的 4'-位将明显增加活性;而 2'-位取代则相反。

2 蒽醌类

Jayasuriya 等^[6]利用含有酪氨酸的肽血管紧张肽 I 作为底物,测定来自牛胸腺的 p56^{lck} 的 PTKs 活性的生物分析方法,从蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 根中分离出对 PTKs 具有强抑制活性的大黄素(emodin,图 1),而同时分得的大黄素甲醚和大黄素-8-O-葡萄糖几无活性,结果表明 C₆-和 C₈-位羟基对抑制 PTKs 活性起重要作用。PTKs 抑制活性的动力学分析表明,对于 ATP 来说,大黄素是一种竞争性抑制剂,对于含酪氨酸的肽底物来说,大黄素是一种非竞争性抑制剂,这一结果指出大黄素通过阻止 ATP 结合而发挥抑制 p56^{lck} 的活性。

Frank 等^[7,8]从拟青霉属 *Paecilomyces carneus* P-177 肉汤培养液中分离出一系列新的 PTKs 抑制剂——paecilquinones A~F 和 versiconol 等蒽醌类化合物,各化合物均具强的抑制 PTKs 表皮生长因子受体(EGF-R)的作用,且 paecilquinones A、C 具有选择性抑制 v-abl PTKs 的活性(图 1)。

3 苯乙烯类

erbstatin 是酪氨酸的类似物,为放线菌(链霉菌属 *Streptomyces* sp.)的次级代谢产物,是活性很强的 PTKs 抑制剂,能阻断

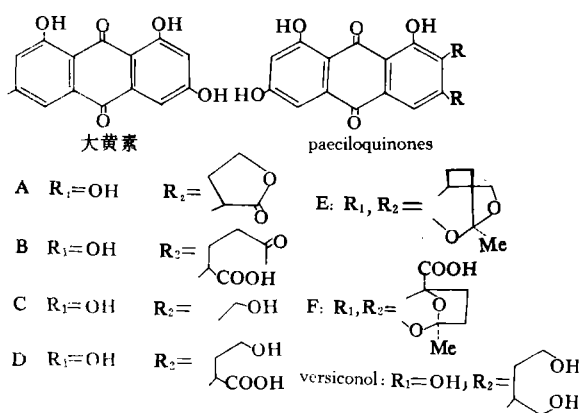


图 1 大黄素和 paecilquinones A~F 的结构

EGF 受体的肽位点和 Src-编码的 PTKs,抑制 EGF 依赖的细胞增殖。erbstatin 只有与铁螯合剂合用以防止被血清中 Fe²⁺ 或 Fe³⁺ 降解时,才表现出体内的抗癌活性^[9,10]。活性实验表明对位或邻位的二羟基苯基是必要基团,tyrphostins 是与 erbstatin 相关的一系列化合物,对 EGF 受体 PTKs 比胰岛素受体 PTKs 更特异^[11~13]。Shiraishi 等^[14,15]合成的一系列肉桂酰胺衍生物是 EGF-R 酪氨酸激酶的特异抑制剂,而香豆酸和阿魏酸对 p40 PTKs 无活性^[16](图 2)。

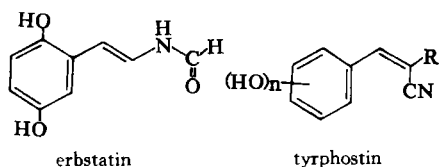


图 2 苯乙烯类 PTKs 抑制剂的结构

4 芪类

从大戟科 *Euphorbia lagascae* 的种子中分得的抗白血病成分 piceatannol 具有抑制 p40、p56^{lck} PTKs 的活性^[16]。Gamini 等^[17]从虎杖中分得 6 个芪类化合物——白藜芦醇(resveratrol)、虎杖甙(piceid)、resveratrol-4'-O-glucoside 及各自的顺式异构体。白藜芦醇具有抑制 p56^{lck} PTKs 活性,与 piceid 和 resveratrol-4'-O-glucoside 比较表明,两个苯环上的游离羟基的存在对抑制 PTKs 是必需的(图 3)。

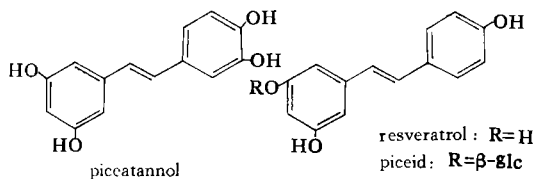


图3 芪类 PTKs 抑制剂的结构

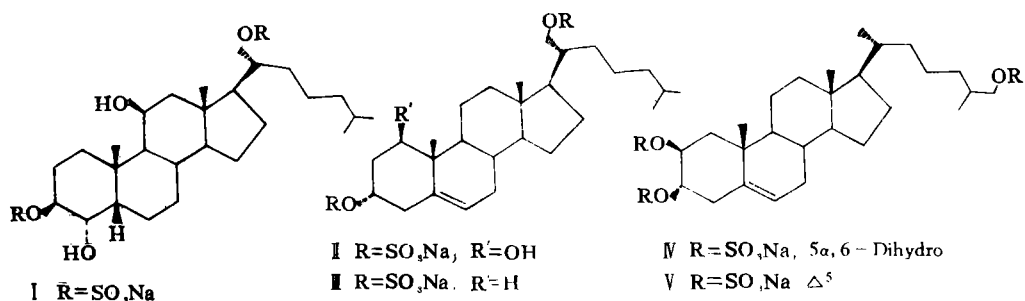


图4 甾醇硫酸盐的结构

Meledath 等^[19]从瘤枝藻 *Tydemanina expeditionis* Web. v. Bos. 中分离并鉴定了 3 个新的具有抑制 PTKs pp60^{v-src} 活性的环阿屯醇二硫酸盐(图 5)。

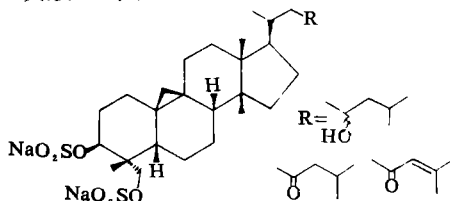


图5 环阿屯醇二硫酸盐的结构

halistanol trisulfate^[20] 是从 *Topsentia* 属两个海生海绵中分离得到的甾醇硫酸盐, 具有抑制 PTKs pp60^{v-src} 的活性(图 6)。

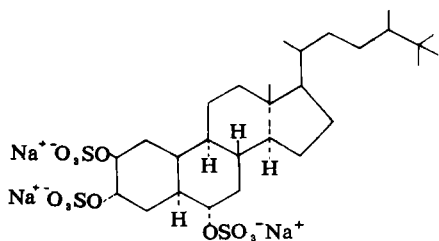


图6 halistanol trisulfate 的结构

6 生物碱类

Onoda 等^[21]从灰淡紫灰链霉菌 *Streptomyces griseolavendulae* Kuchaeva 中分离得到 PTKs 抑制剂——lavendustins A、B, 同时对其它衍生物和半合成化合物进行抗

5 甾醇类

用生物分析法从蛇尾棘皮动物 *Ophiarachna incrassata* 中分得 5 个甾醇硫酸盐, 均有抑制 PTKs pp60^{v-src} 的活性^[18] (图 4)。

EGF-R 活性比较, 结果 lavendustin A 的抑制作用最强。构效关系研究表明: 2, 5-二羟基苄胺是抑制 PTKs 的必需片段。staurosporines 为一系列微生物双吲哚生物碱, 其中 staurosporine 为首次从同属 *S. staurosporeus* 中分得的具有抑制 EGF-R PTKs 活性的该类化合物^[22, 23] (图 7)。

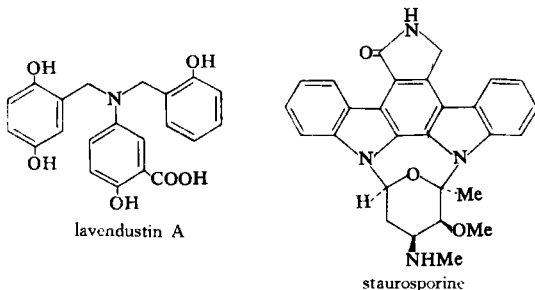


图7 生物碱类 PTKs 抑制剂的结构

7 苯醌及倍半萜醌类

herbimycin A 为从吸水链霉菌 *S. hygrosopicus* 中分得的苯醌类含氮化合物, 其抗癌及抑制 PTKs 活性已有报道^[24~26]。Alvi 等^[27]从海生海绵 *Dysidea avara* 中分得 9 个倍半萜醌类化合物, 其中 melemeleone B 具有抑制 pp60^{v-src} PTKs 活性。halenaquinone^[28] 及其衍生物为从海生海绵 *Xestospongia carbonaria* 中分得的具有抑制 pp60^{v-src} 和 EGF-R PTKs 活性的化合物(图 8)。

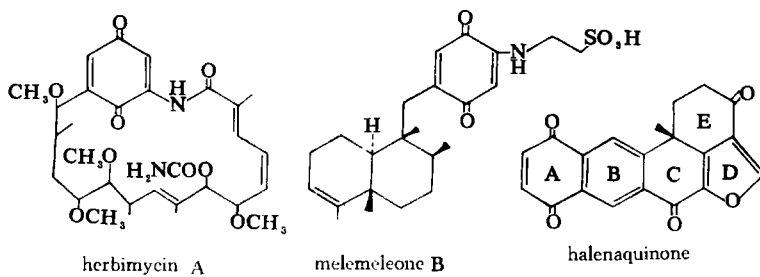


图 8 一些苯醌及倍半萜醌类 PTKs 抑制剂的结构

8 其它类

据报道, aeroplysin-1^[29] 具有选择性抑制 PTKs 的活性。从藻类植物 *Poterioochro-*

monas malhamensis 中分得的 malhamensilipin A 能抑制 pp60^{v-src} PTKs 的活性^[30] (图 9)。

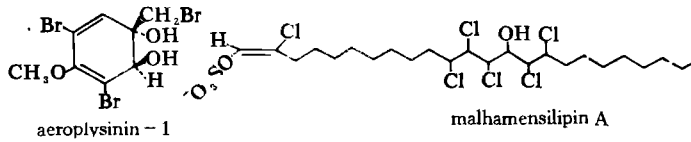


图 9 aeroplysin-1 和 malhamensilipin A 的结构

综上所述,天然 PTKs 抑制剂的结构类型很多,可以认为其中多数基本结构为含有两个或两个以上的酚羟基的芳环,连同一个共轭的可极化的侧链,侧链上存在杂原子有利于活性,这类化合物普遍存在于高等植物中;含有磺酸基的甾醇类和倍半萜醌类化合物多存在于海洋生物中。

随着一些新型天然化合物选择性 PTKs 抑制剂的不断发现,化学合成工作者已把这些有活性的化合物作为先导物设计、合成并加以优化,特别是计算机辅助分子图形研究的应用,为寻找新型有效、且具有高度选择性 PTKs 抑制剂提供了广阔前景。这些化合物为研究 PTKs 的性质和功能,尤其是加深对免疫细胞内信号传递过程的认识,对了解免疫细胞的分化发育有重要意义。同时,随着分子生物学研究的不断深入,逐步明确 PTKs 的空间结构以及酶与底物的作用部位和结合方式,必将推动快速、有效地寻找新的 PTKs 抑制剂,对于预防和治疗肿瘤具有重要价值。

参考文献

- 1 Geahlen R L, et al. J Nat Prod, 1989, 52(5): 982
- 2 Ogawara H, et al. J Antibiot, 1989, 42(2): 343
- 3 Cushman M, et al. J Med Chem, 1991, 34(?): 798

- 4 Cushman M, et al. J Nat Prod, 1991, 54(5): 1345
- 5 Mohamed A S, et al. J Nat Prod, 1993, 56(6): 967
- 6 Jayasuriya H, et al. J Nat Prod, 1992, 55(5): 696
- 7 Frank P, et al. J Antibiot, 1995, 48(3): 191
- 8 Andreas F, et al. J Antibiot, 1995, 48(3): 199
- 9 Takashi H, et al. J Antibiot, 1993, 45(2): 280
- 10 汤浅保仁, 他. ファルマシア, 1993, 29(1): 61
- 11 Yaish P, et al. Science, 1988, 242: 933
- 12 Gazit A, et al. J Med Chem, 1989, 32(10): 2344
- 13 Burke T R, et al. J Med Chem, 1993, 36(4): 425
- 14 Shiraishi T, et al. Biochem Biophys Res Commun, 1987, 147(1): 322
- 15 Shiraishi T, et al. Chem Pharm Bull, 1988, 36(3): 974
- 16 Geahlen R L, et al. Biochem Biophys Res Commun, 1989, 165(1): 241
- 17 Gamini S, et al. J Nat Prod, 1993, 56(10): 1805
- 18 Xiong F, et al. J Nat Prod, 1994, 57(11): 1591
- 19 Meledath G, et al. J Nat Prod, 1994, 57(1): 74
- 20 Doris L S, et al. Biochem Biophys Res Commun, 1994, 203(1): 260
- 21 Onoda T, et al. J Nat Prod, 1989, 52(6): 1252
- 22 Badwey J A, et al. Biochem Biophys Res Commun, 1991, 178(2): 423
- 23 Nakano H, et al. J Antibiot, 1987, 40(5): 706
- 24 Uehara Y, et al. J Antibiot, 1988, 41(6): 831
- 25 Uehara Y, et al. Biochem Biophys Res Commun, 1989, 163(2): 803
- 26 Fukuzawa H, et al. Biochem Biophys Res Commun,

27 Alvi K A, et al. J Org Chem, 1992, 57(24):6604

30 Jian L C, et al. J Nat Prod, 1994, 57(4):524

28 Rita H L, et al. Biochem Biophys Res Commun, 1992, 184(2):765

(1996-10-04 收稿)

1996-12-02 修回)

29 Kreuter M H, et al. Comp Biochem Physiol, 1990, 97B:

一种具有前景的抗癌药苦马豆素的研究进展

第一军医大学珠江医院(广州 510282) 邹恒琴* 徐峰 张忠义 孙逊

摘要 苦马豆素是一种新的抗癌药,作者对苦马豆素的资源、药理作用、药代动力学、药效学的研究进展进行了综述。

关键词 苦马豆素 抗癌药 资源 药理作用 药代动力学 药效学

在研究有关糖蛋白修饰的糖基化过程时,发现糖苷酶抑制剂具有多重作用。除了抑制糖苷酶外,还具有免疫调节作用并能抑制糖脂的合成,对癌细胞有潜在的杀伤毒性。基于上述发现,糖苷酶抑制剂正愈来愈引起人们的兴趣。苦马豆素(swainsonine)就是这一类化合物的主要代表^[1]。

苦马豆素是一种水溶性的吡啶类生物碱,长期以来一直是研究糖蛋白 N-连接寡糖合成的工具药。苦马豆素是高尔基复合体内 α -甘露糖苷酶 I 的抑制剂,近年来作为一种崭新的抗癌药物得到了极大的关注,其特点在于既具有直接杀伤肿瘤细胞的作用,又具有免疫调节的双相作用。它能抑制肿瘤的生长和转移;增强 NK 细胞和 LAK 细胞对肿瘤细胞的杀伤力;刺激骨髓细胞增殖^[2]。我们从资源、药理作用、药代动力学、药效学等几方面对苦马豆素的研究进展进行综述。

1 资源

从澳大利亚苦马豆属植物 *Swainsona canescens* 果实和北美疯草(黄芪属植物 *As-*

tragalus 和棘豆属植物 *Oxytropis* spp.) 分离到苦马豆素^[3];从澳大利亚昆士兰南部番薯属植物 *Ipomoea* sp. Q6 (*Weirvine*) 的种子中也分离出苦马豆素^[4]。牲畜采食这些植物后往往会引起神经毒性乃至死亡。

苦马豆属植物在我国有苦马豆 *Swainsona salsula* Taub. 一种,分布在河北、甘肃、陕西、宁夏、内蒙古等省区,牲畜大量食用后可发生中毒。其全草有止血清热的功能,果实有利尿的作用^[5]。但是否含有苦马豆素迄今未见文献报道。

除了从原植物分离提取苦马豆素外,Er-mayanti 等将苦马豆属植物 *S. galegifolia* 的根进行组织培养,在培养介质中通过加入硫酸铜、降低 pH 值、提供苦马豆素的前体以刺激苦马豆素的产生和释放。将 0.3 g 的根在 15 mL 的介质中培养 30 d,结果对照组苦马豆素的产量只有 79 μg ;加 1 mmol/L 硫酸铜组苦马豆素的产量为 155 μg ;pH 从 5.7 降到 2.7 组苦马豆素的产量为 159 μg ;加 2 mmol/L 苦马豆素前体丙二酸组苦马豆素的

* Address: Zou Hengqin, Zhujiang Hospital First Military Medical University, Guangzhou

邹恒琴 大学毕业,主任药师,中国人民解放军军药学专业委员会药理药化专业组委员,《中国药房》杂志编委。从事中草药有效成分及新药开发研究,参加“三九胃泰冲剂”、“正天丸”等新药的开发生研究,发表论文 30 多篇,获军队科技进步奖 3 项。参加新药“尿素清冲剂”的研究,1996 年获军队科技进步二等奖。主编《疾病的非常规药物治疗》一书。