

• 综 述 •

靛玉红及其类似物抗肿瘤和神经保护作用的研究进展

王 英^{1,2}, 沙 飞^{1,2}, 陈月华^{1,2}, 李铭源^{1,2*}

1. 中药质量研究国家重点实验室, 澳门大学, 澳门 999078

2. 澳门大学中华医药研究院, 澳门 999078

摘 要: 天然产物靛玉红广泛存在于中药大青叶、青黛、板蓝根中, 历史上主要用于治疗白血病。现代药理学研究表明靛玉红是具代表性的细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)和糖原合成酶激酶-3(GSK-3)抑制剂, 对二者的抑制作用均是通过与ATP竞争性靶点结合。研究发现很多肿瘤和神经退行性疾病会伴随CDKs和GSK-3的异常磷酸化, 靛玉红结构上的特点使其对肿瘤和神经退行性疾病具有双重药理活性。因此, 靛玉红及其类似物对于同时治疗肿瘤和神经退行性疾病的新药物开发表现出良好前景。

关键词: 靛玉红; 抗肿瘤; 神经退行性疾病; 细胞周期蛋白依赖性激酶; 糖原合成酶激酶-3

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)16-2404-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.16.024

Research progress on effects of indirubin and its structurally similar compounds on anticancer and neuroprotection

WANG Ying^{1,2}, SA Fei^{1,2}, CHAN Yuet-wa^{1,2}, LEE Ming-yuen^{1,2}

1. State Key Laboratory of Quality Research in Chinese Medicine, University of Macau, Macao 999078, China

2. Institute of Chinese Medical Sciences, University of Macau, Macao 999078, China

Abstract: Indirubin is the active ingredient in many Chinese materia medica and mainly used to treat leukemia. It has been founded as leading inhibitor of cyclin-dependent kinases (CDKs) and glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) by competing with ATP binding sites. Increasing new findings pointed out that the unique chemical structure of indirubin could contribute to the polypharmacological activities particularly against cancer and neurodegeneration therapy while these diseases shared common molecular link on abnormal phosphorylation of CDKs and GSK-3. In this review, the underlying mechanisms of dual actions of indirubin and its structurally similar compounds on therapy of cancer and neurodegenerative diseases are presented.

Key words: indirubin; anticancer; neurodegeneration disease; cyclin-dependent kinases; glycogen synthase kinase-3

目前, 肿瘤和神经退行性疾病的发病率在全球范围内呈增长趋势, 已严重影响了人类的生命和生活质量。这两种疾病在病理机制上相互关联, 单一靶点的化学药治疗顾此失彼, 亟需开发具有多重功效的药物来解决这种问题。靛玉红是一种多靶点抑制剂, 在中国古代用于治疗慢性粒细胞性白血病, 现代药理学研究表明靛玉红具有神经保护作用。靛玉红是细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)和糖原合成酶激酶-3(GSK-3)的双重抑制剂, 这两类酶

是肿瘤和神经退行性疾病中的关键靶点, 本文尝试从机制上探讨靛玉红的作用原理, 以期更好地阐述靛玉红及其类似物的药理作用。

1 靛玉红

靛玉红为吲哚类化合物, 存在于靛蓝、多种腹足纲软体动物、健康和患病人群的尿液, 以及各种野生型或重组细菌中^[1]。历史上, 靛玉红是中国著名传统药方当归龙荟丸的主要活性成分, 用于治疗慢性粒细胞性白血病^[2-3]。靛玉红及其类似物已被作

收稿日期: 2014-04-28

基金项目: 澳门科学技术发展基金(078/2011/A3, 045/2007/A3)

作者简介: 王 英(1989—), 女, 硕士在读, 研究方向为神经保护药理研究。Tel: 18063876878 E-mail: cgwy1189@sina.com

*通信作者 李铭源 Tel: +853-8822-4695 E-mail: simonlee@umac.mo

为 CDKs 和 GSK-3 的抑制剂^[4-6]。该特性归因于靛玉红是 CDKs 和 GSK-3 的 ATP 竞争性蛋白激酶抑制剂^[5,7]。此外,靛玉红及其类似物的分子靶标也包括芳香烃受体^[8]、C-Jun 氨基末端激酶 (JNK)^[9]和糖原磷酸化酶 B^[10]。最近的研究表明 GSK-3 和 CDKs 在神经退行性疾病中也发挥极为重要的作用^[11],腹腔注射靛玉红和靛玉红-3'-单肟(indirubin-3'-monoxime)后,小鼠体内多巴胺神经元得到明显保护,这表明靛玉红及其类似物能很好地透过血脑屏障并保护神经元^[12-14]。目前,具有更好药理活性的靛玉红类似物也已经被合成,这些药物的溶解度较靛玉红有较大提高,具有更佳的细胞渗透性,更有利于组织和细胞内分布,并保持高效力和选择性,已经进行了多种药理作用的研究^[1,15-16]。综上所述,靛玉红及其类似物是一类有潜力的 GSK-3 和 CDKs 的高效抑制剂,具有双重治疗癌症和神经退行性疾病的前景。

2 靛玉红及其类似物的药理特性

蛋白质磷酸化是一个基本的翻译后修饰,调节细胞寿命(分化、分裂、增殖、凋亡)的各个方面,而异常磷酸化是许多疾病如神经退行性疾病、癌症和糖尿病的病因或后果^[17-18]。磷酸化或去磷酸化会以多种方式影响蛋白质的功能,增强或抑制其活性,标记蛋白质准备降解,使蛋白质在亚细胞区间移动,或使之能够与其他蛋白质结合或离解。这种简便、灵活、可逆的翻译后修饰,随时可提供磷酸基团的 ATP,使其可以参与调节许多生物学过程^[19]。CDKs 负责一些细胞分裂蛋白质的磷酸化,因此是具有代表性的肿瘤潜在治疗靶标^[20]。GSK-3 β 的异常调节已经涉及多种人类疾病,包括癌症、非胰岛素依赖型的糖尿病、心血管疾病、一些神经退行性疾病和双相性精神障碍等^[21]。

靛玉红及其类似物是潜在的 CDKs 和 GSK-3 选择性抑制剂,通过与 ATP 结合的竞争作用,可用于治疗癌症和神经退行性疾病。靛玉红及其类似物可插入激酶的 ATP 结合口袋。不同结构的比较表明,靛玉红及其类似物结合在这种密集环境中会有一种非常相似的取向^[1]。靛玉红及其类似物不同的晶体结构有助于提高其对 CDKs 和 GSK-3 抑制效力和选择性^[4,22]。C-6 位取代对选择性至关重要,而 C-3' 位对结合亲和力非常重要。在靛玉红类似物的 C-6 位取代物中,溴取代对 GSK-3 的抑制活性最高,计算表明这主要是由于范德华力的作用。在靛玉红

C-5 位引入磺酸基团(如 indirubin-5-sulfonic acid)可显著性增强对 CDK1/cyclinB 的抑制活性($IC_{50}=5\text{ nmol/L}$)^[4];当磺酸基团被 *N,N*-二甲基磺酰胺基团替换时,对 CDK1 和 CDK2 的抑制效力会显著升高。然而,该类化合物并不能充分进入肿瘤细胞,因此对肿瘤生长抑制能力较差。与靛玉红相比,在 C-3' 位上简单地引入肟基后,靛玉红-3'-单肟对各种 CDKs 的抑制活性增加了 5~50 倍^[15]。

在靛玉红类似物中,靛玉红-3'-单肟($IC_{50}=22\text{ nmol/L}$)和 5-iodoindirubin-3'-monoxime($IC_{50}=9\text{ nmol/L}$)是 2 个最具潜力的 GSK-3 β 抑制剂。靛玉红-3'-单肟的抑制效力可能是由于其能互补地结合到 GSK-3 β 的非极性环中,但其对 CDK2/cyclinA($IC_{50}=440\text{ nmol/L}$)的抑制作用显著下降。然而,5-磺酸取代基具有相反的性质,相比于对 GSK-3 β ($IC_{50}=280\text{ nmol/L}$)的抑制活性,其对 CDK2/cyclinA 的抑制活性($IC_{50}=35\text{ nmol/L}$)更强^[23]。

3 靛玉红及其类似物在肿瘤和神经退行性疾病中的治疗作用

靛玉红及其类似物是 CDKs($IC_{50}=50\sim100\text{ nmol/L}$)^[4]和 GSK-3($IC_{50}=5\sim50\text{ nmol/L}$)的有效抑制剂^[12]。一些 CDKs(如 CDK1、CDK2、CDK4、CDK6)通过引起和协调细胞分裂周期,在抗癌中发挥至关重要的作用^[24-25]。然而 CDK5 是中枢神经系统发育过程中神经细胞迁移的重要调节器^[26]。GSK-3 参与多种细胞活动,并与几种疾病的发病机制相关,GSK-3 抑制剂可被用来治疗与 GSK-3 紧密相关的疾病,如肿瘤和阿尔茨海默病。

3.1 对肿瘤的治疗

最初,靛玉红治疗慢性粒细胞性白血病的主要机制被认为是与 DNA 结合^[27]。随后,靛玉红及其类似物被报道为 CDKs 的强效抑制剂,CDKs 在细胞分裂周期和基因转录中发挥作用^[24]。在体外和体内实验中,靛玉红及其类似物作为 GSK-3 抑制剂能够减少胶质瘤细胞和神经胶质瘤起始细胞富集的神经球的入侵,并且 β -连环蛋白信号在介导这些效应中起着重要作用^[28]。在 MCF7 细胞,7,7'-diazaindirubin 诱导的细胞周期停滞于 G_1 和 G_2/M 期,并且细胞凋亡^[29]。同样,靛玉红-3'-单肟和 6-bromoindirubin-3'-monoxime(6BIO)抑制细胞增殖,主要是通过使细胞停滞在细胞周期的 G_2/M 期^[4,18]。此外,靛玉红-3'-单肟可逆地阻滞 4 种肿瘤细胞系(RT4、RT112、T24、TCCSUP)的生长。在 RT4 细胞中,

靛玉红-3'-单肟几乎增加了4倍 Survivin 的表达,在 RT112 和 T24 细胞中也几乎翻倍;在 TCCSUP 细胞, Survivin 表达在 72 h 孵化后升高超过 7 倍^[30]。6BIO 在小鼠白血病模型中显示出治疗效果,并没有影响到放射后正常骨髓细胞的活力和造血功能的恢复^[31]。6BIO 作为一个有潜力的抗肿瘤转移剂,大大减少了 4T1 小鼠乳腺癌模型中肺部转移的几率^[32]。AGM130 (5'-OH-5-nitro-indirubin oxime) 是一个潜在的替代药物,用于治疗对伊马替尼耐药的慢性粒细胞白血病,它在水中的溶解度远大于靛玉红。数据表明, AGM130 有效地降低了慢性粒细胞白血病衍生的 K562 细胞的生存能力,也有效地降低了体外和体内的伊马替尼耐药的 K562 细胞的活性。另外, AGM130 也可抑制磷酸化视网膜母细胞瘤蛋白 (Rb), 是 CDKs 的主要底物^[33]。

靛玉红类似物还通过其他一些相关途径抑制肿瘤。MLS-2384 (一种新颖的 6-bromoindirubin 衍生物, 在一个吡啶环的 C-6 位引入了溴基团, 而在另一吡啶环上的 C-3'位置引入亲水性基团)是 JAK/Src 激酶的双效抑制剂,抑制多种组织肿瘤细胞的生长,如前列腺、乳腺、皮肤、卵巢、肺和肝脏^[34]。indirubin-3'-oxime-2, 3-dihydroxypropyl (E804) 是一种靛玉红的衍生物,能够抑制 Stat3 和 Stat5 在慢性粒细胞白血病细胞中的活化^[35]。

3.2 对神经退行性疾病的治疗

靛玉红在由人脑皮层神经干细胞分化的神经元和神经胶质细胞的体外缺氧模型中具有神经保护作用^[36]。小胶质细胞在脑的免疫和炎症反应中起着重要作用。在病理条件下,小胶质细胞的活化有助于恢复脑的动态平衡。然而,慢性胶质细胞活化会通过释放多种促炎和神经毒性因子抑制神经元的存活。因此,小胶质细胞活化的调节剂被认为是潜在的候选药物,用于神经元退化的神经退行性疾病的治疗,如阿尔茨海默病和帕金森病。靛玉红-3'-单肟能有效抑制大鼠脑胶质细胞内脂多糖 (LPS) 诱导的 NO 释放。该化合物可降低 LPS 刺激产生的肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1 β 、前列腺素 E₂ 和细胞内活性氧簇的量,也可有效地降低 LPS 引起的核转录因子- κ B (NF- κ B) 活化。在脑部海马区切片组织培养中,靛玉红-3'-单肟可阻断内毒素诱导的海马区脑细胞死亡。这些结果表明,靛玉红-3'-单肟通过减少激活的小胶质细胞中各种神经毒性分子的产生而发挥神经保护作用^[37]。此外,在小脑颗粒神经元中,

靛玉红-3'-单肟阻断了钾缺乏引起的 C-Jun 磷酸化,并且剂量依赖性地防止小脑颗粒神经元凋亡。然而,其他 CDKs 和 GSK-3 β 抑制剂在体外和体内均不能减少 C-Jun 的磷酸化,这表明靛玉红-3'-单肟阻断 C-Jun 的磷酸化与其对 CDKs 和 GSK-3 β 的抑制活性无关^[9]。靛玉红作为一种特异性 GSK-3 抑制剂,对小脑颗粒神经元的保护强于丙戊酸,并具有剂量依赖性。

在阿尔茨海默病患者脑中,微管相关蛋白 tau 会异常过度磷酸化、糖基化并聚集,降低 tau 蛋白水平是神经保护作用的机制之一。CDK5 和 GSK-3 β 可能通过促进 tau 蛋白的过度磷酸化而导致了阿尔茨海默病患者脑中神经原纤维变性^[38-39]。6BIO 可剂量依赖性地降低 tau 蛋白水平和 tau 蛋白的磷酸化。相反,CDK5 的抑制剂 Roscovitine 降低了 tau 蛋白磷酸化,但不能改变 tau 蛋白水平^[40]。

在一项研究中,1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) 通过减少 GSK-3 β 的 phospho-Ser9 的量,以及增加底物 phospho-Ser396 的 tau 蛋白水平,可引起 GSK-3 β 的快速激活。靛玉红-3'-单肟通过特异性抑制 GSK-3 β 的活性,阻断了 MPTP 诱导的多巴胺神经元细胞凋亡,恢复了 MPTP 引起的纹状体多巴胺耗竭导致的行为障碍。这些结果表明, GSK-3 β 是 MPTP 神经毒性的关键中间体,抑制 GSK-3 β 的活性可作为一种治疗帕金森病的新方法^[13]。在 MPTP 和 KA (kainic acid) 诱导的小鼠神经毒性实验中,3种靛玉红类似物 6BIO、5-bromoindirubin-3'-monoxime (5BIO) 和 5-amino-6-bromoindirubin (5A6BI) 减少了 MPTP 处理的小鼠中纹状体五羟色胺的产生量,并对 KA 诱导的纹状体损伤具有神经保护作用^[11]。

4 靛玉红及其类似物具有抗肿瘤和神经保护双重功效的机制

构效关系研究表明,靛玉红类似物结合 GSK-3 β 的 ATP 口袋的方式与它们结合 CDKs 的方式相似,其中的细节已经由晶体学分析阐明。因此,大部分已知的 CDKs 抑制剂同时是 GSK-3 β 的强效抑制剂^[12]。此外, GSK-3 β 和 CDK5 可一起作用于阿尔茨海默病中的成对螺旋丝 (PHF, 由微管结合蛋白 tau 的异常过度磷酸化引起)^[41]。某些靛玉红类似物是强有力的 CDKs 和 GSK-3 抑制剂并可以有效对抗各种癌症^[42]。这些结果表明, GSK-3/CDK5 抑制剂作为潜在的药物可同时用于神经退

行性疾病和癌症的治疗。

4.1 靛玉红及其类似物通过 CDKs 信号转导通路治疗癌症和神经退行性疾病

靛玉红及其类似物被确定为 CDKs 强效抑制剂,它们已被用来治疗各种癌症已有几千年的历史。CDK2 和 CDK5 与癌症和神经元迁移或分化相关的疾病紧密相关,可针对这些激酶设计相关的选择性抑制剂。

CDK5 是一个多功能蛋白激酶,控制多个神经元的活动,包括迁移、突触活动、神经元生存和死亡^[43],参与哺乳动物中枢神经系统的正常发育。CDK5 可被调节亚基 p35 或 p39 结合而活化,它的活性由 p35 的合成和降解之间的平衡控制^[44]。p25 是 p35 的截短形式,积聚在阿尔茨海默病患者的大脑神经元中,这种积累伴随着 CDK5 激酶活性的增加。不同于 p35, p25 不容易降解, p25 与 CDK5 结合而激活 CDK5,改变其细胞定位,并改变其底物特异性。在体内, p25/CDK5 复合物高度磷酸化 tau 蛋白,从而降低 tau 蛋白与微管相结合的能力。此外,在原代培养的神经元中, p25/CDK5 复合物的表达破坏细胞骨架,诱导细胞形态变性和细胞凋亡。这些结果表明,裂解的 p35 连同 p25 的积累,可能参与了神经退行性疾病中细胞骨架异常和神经元死亡的发病机制^[45]。tau 蛋白聚集是神经变性疾病的共同特征,tau 蛋白的过磷酸化使神经原纤维缠结(NFT)构成成对 PHF 已被认为是这一过程中的根本致病机制^[46]。为了探讨 CDK5 在 tau 蛋白聚集和缠结形成中的作用,使转基因小鼠过度表达 CDK5 的激活因子 p25,因此转基因小鼠突变体(P301L)可过度表达人类 tau 蛋白。在突变体中,tau 蛋白过度磷酸化是在几个不同的位置,在脑干和大脑皮层中有显著聚集的 tau 蛋白,这也伴随着 NFT 数量的增加^[26]。靛玉红-3'-单脲可时间依赖性地抑制癌细胞生长,并且在细胞发育过程中有许多标志性凋亡特征^[47]。此外,靛玉红-3'-单脲具有针对人神经瘤细胞的抑制活性。在 LA-N-1 细胞中,靛玉红-3'-单脲也可增加 CDKs p27Kip1 的水平,并减少 CDK2 和 cyclin E 的水平,从而导致细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期。靛玉红-3'-单脲还特异地降低线粒体调节因子雌激素相关受体(ER γ)和过氧化物酶体增殖物受体 γ 共激活因子 1 β (PGC-1 β)的表达,因此可以减少线粒体质量,并通过降低线粒体膜电位和活性氧的水平改变线粒体功能^[48]。

4.2 靛玉红类似物作为 GSK-3 β 抑制剂的神经保护及抗癌作用

GSK-3 是一种多功能的丝氨酸/苏氨酸激酶,针对大量的细胞靶点,其涉及的几条通路与许多疾病的发病机制相关,这促使 GSK-3 特异性抑制剂的研究成为热点。许多 GSK-3 的选择性小分子抑制剂对神经退行性疾病和癌症具有治疗作用。靛玉红及其类似物作为高选择性的 GSK-3 抑制剂,具有很大的开发潜力,尤其是与老龄化相关的疾病。

GSK-3 β 在不同的癌症中起着不同的作用,即肿瘤抑制基因或致癌基因。GSK-3 β 的复杂功能源于其参与不同的生理过程,具有功能多样性。一方面, GSK-3 β 下调 Wnt/ β -catenin 信号通路,使得 GSK-3 β 可作为 Wnt/ β -catenin 信号通路相关癌症的一个很好的靶标。据报道,异常的 Wnt/ β -catenin 信号和过度活化 β -连环蛋白涉及许多类型的癌症。由于 GSK-3 β 是 Wnt 基因细胞信号转导的关键负性调节因子,因此,这时 GSK-3 β 可看作肿瘤抑制基因^[49-52]。在另一方面, GSK-3 β 通过 NF- κ B 途径保持细胞的存活和增殖。一些 GSK-3 β 的小分子抑制剂通过 RNA 干扰抑制 GSK-3 β ,来降低胰腺癌细胞的增殖和存活^[53]。在结肠癌细胞系和大肠癌患者中,肿瘤细胞中的 GSK-3 β 表达水平及其活性形式均高于正常细胞^[54]。因此, GSK-3 β 到底是“致癌基因”还是“抑癌基因”取决于肿瘤的类型和通路。

同时, GSK-3 β 已报道涉及许多神经退行性疾病如阿尔茨海默病、帕金森病和亨廷顿病,其抑制剂可被用于治疗这些疾病^[55]。Wnt/ β -catenin 信号通路的许多成分都表达于发育和成熟的神经系统中。Wnt/ β -catenin 信号已被证明是调节细胞凋亡,并可能参与了导致衰老脑细胞死亡退化的过程^[56]。GSK-3 的抑制会增强异位 β -连环蛋白的稳态水平^[57]。靛玉红对人脑皮层神经干细胞的神经保护作用表明, GSK-3 β 抑制剂/ β -catenin 稳定剂可能是神经保护和体内神经再生治疗中的有效药物^[36]。

阿尔茨海默病是一种与年龄相关的神经退行性疾病,是目前为止痴呆的最常见形式^[58]。阿尔茨海默病的神经病理学特征是大量的丝状 tau 蛋白病变和纤维状 β 淀粉样蛋白(A β)积聚^[59]。根据淀粉样蛋白假说, A β 的积累是由淀粉样前体蛋白(APP)衍生的,其在大脑中主要导致阿尔茨海默病发病。其余的疾病过程,包括形成含有 tau 蛋白的 NFT,是由 A β 的产生和清除率之间的不平衡造成的^[60]。

突出的 tau 丝状包涵体和非 A β 沉积导致的脑退化也是神经变性蛋白病的标志, 出现在帕金森病等神经疾病当中^[59]。在阿尔茨海默病患者的脑中, GSK-3 β 的水平和活性异常增加, 并被证明这与发病机制和神经元死亡相关^[61]。GSK-3 β 的抑制剂阻断了 A β 的产生和积累, 通过干扰 APP 在 γ -分泌酶步骤导致其裂解^[62]。此外, GSK-3 α 和 GSK-3 β 在阿尔茨海默病中 tau 蛋白对状螺旋丝的产生中起重要作用^[63]。因此, GSK-3 β 抑制剂可用于减少 NFT 的形成和 A β 的产生, 并通过抑制 APP 和 tau 蛋白的异常磷酸化对阿尔茨海默病起治疗作用^[55]。GSK-3 β 和蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 的改变参与阿尔茨海默病的 tau 蛋白异常磷酸化和聚集。2 个新型的靛玉红衍生物 6-bromindirubin-3'-[O-(N, N-diethylcarbamyloxy)] (6-BIDECO) 和 6-bromindirubin-3'-[O-(2-morpholin-1-ylethyl)-oxime] hydrochloride (6-BIMYEO) 在 OKA (PP2A 抑制剂) 诱导的动物模型中, 相比于其他 tau 蛋白激酶, 表现出针对 GSK-3 β 更高的选择性, 即 6-BIDECO 对 GSK-3 β 的 IC₅₀ 为 0.03 μ mol/L, CDK1 的 IC₅₀ > 10 μ mol/L, CDK5 的 IC₅₀ 为 10 μ mol/L; 6-BIMYEO 对 GSK-3 β 的 IC₅₀ 为 0.11 μ mol/L, CDK1 的 IC₅₀ 为 1.8 μ mol/L, CDK5 的 IC₅₀ 为 0.9 μ mol/L。结果表明, 6-BIDECO 和 6-BIMYEO 在微摩尔浓度不会干扰细胞周期并没有神经毒性, 并且强效逆转 tau 蛋白磷酸化和 OKA 诱导的细胞凋亡^[64]。此外, 另一个靛玉红类似物 6BIO 相比于锂 (一种传统的 GSK-3 β 抑制剂) 是一个选择性更高和有效的 GSK-3 β 抑制剂 (IC₅₀ 1.5 μ mol/L)。Western 印迹分析表明, 6BIO 剂量依赖性地降低 tau 蛋白的水平和 tau 蛋白的磷酸化水平^[40]。

5 结语

靛玉红及其类似物是一个由天然和修饰合成的化合物家族, 表现出显著的多重药效, 可作为的 CDKs 和 GSK-3 的双重抑制剂。CDKs 和 GSK-3 各自或共同参与到癌症和神经退行性疾病的发病机制中。随着越来越多的具有更好溶解性和高选择性化合物的合成, 靛玉红及其类似物有望成为双重治疗癌症和神经退行性疾病的先导化合物。

参考文献

[1] Polychronopoulos P, Magiatis P, Skaltsounis A L, *et al.* Structural basis for the synthesis of indirubins as potent and selective inhibitors of glycogen synthase kinase-3 and

cyclin-dependent kinases [J]. *J Med Chem*, 2004, 47: 935-946

[2] Han R. High light on the studies of anticancer drugs derived from plants in China [J]. *Stem Cells*, 1994, 12: 53-63.

[3] Xiao Z, Hao Y, Liu B, *et al.* Indirubin and meisoindigo in the treatment of chronic myelogenous leukemia in China [J]. *Leukemia Lymphoma*, 2002, 43: 1763-1768.

[4] Hoessel R, Leclerc S, Endicott J A, *et al.* Indirubin, the active constituent of a Chinese antileukaemia medicine, inhibits cyclin-dependent kinases [J]. *Nat Cell Biol*, 1999, 1: 60-67.

[5] Damiens E, Baratte B, Marie D, *et al.* Anti-mitotic properties of indirubin-3'-monoxime, a CDK/GSK-3 inhibitor: induction of endoreplication following prophase arrest [J]. *Oncogene*, 2001, 20: 3786-3797.

[6] Vougioukianopoulou K, Ferandin Y, Bettayeb K, *et al.* Soluble 3', 6-substituted indirubins with enhanced selectivity toward glycogen synthase kinase-3 alter circadian period [J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 6421-6431.

[7] Eldar-Finkelman H. Glycogen synthase kinase 3: an emerging therapeutic target [J]. *Trends Mol Med*, 2002, 8: 126-132.

[8] Adachi J, Mori Y, Matsui S, *et al.* Indirubin and indigo are potent aryl hydrocarbon receptor ligands present in human urine [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 31475-31478.

[9] Xie Y, Liu Y, Ma C, *et al.* Indirubin-3'-oxime inhibits c-Jun NH2-terminal kinase: anti-apoptotic effect in cerebellar granule neurons [J]. *Neurosci Lett*, 2004, 367: 355-359.

[10] Kosmopoulou M N, Leonidas D D, Chrysina E D, *et al.* Binding of the potential antitumour agent indirubin-5-sulphonate at the inhibitor site of rabbit muscle glycogen phosphorylase b. Comparison with ligand binding to pCDK2-cyclin A complex [J]. *Eur J Biochem*, 2004, 271: 2280-2290.

[11] Magiatis P, Polychronopoulos P, Skaltsounis A L, *et al.* Indirubins deplete striatal monoamines in the intact and MPTP-treated mouse brain and block kainate-induced striatal astrogliosis [J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2010, 32: 212-219.

[12] Leclerc S, Garnier M, Hoessel R, *et al.* Indirubins inhibit glycogen synthase kinase-3 beta and CDK5/p25, two protein kinases involved in abnormal tau phosphorylation

- in Alzheimer's disease. A property common to most cyclin-dependent kinase inhibitors? [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 251-260.
- [13] Wang W, Yang Y, Ying C, *et al*. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 β protects dopaminergic neurons from MPTP toxicity [J]. *Neuropharmacology*, 2007, 52: 1678-1684.
- [14] Lee B D, Shin J H, Van Kampen J, *et al*. Inhibitors of leucine-rich repeat kinase-2 protect against models of Parkinson's disease [J]. *Nat Med*, 2010, 16: 998-1000.
- [15] Eisenbrand G, Hippe F, Jakobs S, *et al*. Molecular mechanisms of indirubin and its derivatives: novel anticancer molecules with their origin in traditional Chinese phytochemistry [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2004, 130: 627-635.
- [16] Vougioukianopoulou K, Skaltsounis A L. From Tyrian purple to kinase modulators: naturally halogenated indirubins and synthetic analogues [J]. *Planta Med*, 2012, 78: 1515-1528.
- [17] Cohen P. Protein kinases—the major drug targets of the twenty-first century? [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 1: 309-315.
- [18] Xing E, Smirlis D, Myrianthopoulos V, *et al*. 6-Br-5-methylindirubin-3'-oxime (5-Me-6-BIO) targeting the leishmanial glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) short form affects cell-cycle progression and induces apoptosis-like death: exploitation of GSK-3 for treating leishmaniasis [J]. *Int J Parasitol*, 2009, 39: 1289-1303.
- [19] Cohen P. The role of protein phosphorylation in human health and disease. [J]. *Eur J Biochem/FEBS*, 2001, 268: 5001-5010.
- [20] Carassou P, Meijer L, Le Moulec S, *et al*. Cell cycle and molecular targets: CDK inhibition [J]. *Bull Cancer*, 2012, 99: 163-171.
- [21] Luo J. Glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β) in tumorigenesis and cancer chemotherapy [J]. *Cancer Lett*, 2009, 273: 194-200.
- [22] Davies T G, Tunnah P, Meijer L, *et al*. Inhibitor binding to active and inactive CDK2: the crystal structure of CDK2-cyclin A/indirubin-5-sulphonate [J]. *Structure*, 2001, 9: 389-397.
- [23] Bertrand J A, Thieffine S, Vulpetti A, *et al*. Structural characterization of the GSK-3 β active site using selective and non-selective ATP-mimetic inhibitors [J]. *J Mol Biol*, 2003, 333: 393-407.
- [24] Morgan D O. Cyclin-dependent kinases: engines, clocks, and microprocessors [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1997, 13: 261-291.
- [25] Ortega S, Malumbres M, Barbacid M. Cyclin D-dependent kinases, INK4 inhibitors and cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1602: 73-87.
- [26] Noble W, Olm V, Takata K, *et al*. Cdk5 is a key factor in tau aggregation and tangle formation *in vivo* [J]. *Neuron*, 2003, 38: 555-565.
- [27] 吴冠芸, 方福德, 左 瑾, 等. 三尖杉酯碱抑制脱氧核糖核酸生物合成机制的研究——III、三尖杉酯碱抑制蛋白质合成和抑制 DNA 合成的关系 [J]. 中国医学科学院学报, 1982(2): 78-81.
- [28] Williams S P, Nowicki M O, Liu F, *et al*. Indirubins decrease glioma invasion by blocking migratory phenotypes in both the tumor and stromal endothelial cell compartments [J]. *Cancer Res*, 2011, 71: 5374-5380.
- [29] Cheng X, Merz K H, Vatter S, *et al*. 7'-Diazaindirubin—a small molecule inhibitor of casein kinase 2 *in vitro* and in cells [J]. *Bioorg Med Chem*, 2014, 22: 247-255.
- [30] Perabo F G, Frossler C, Landwehrs G, *et al*. Indirubin-3'-monoxime, a CDK inhibitor induces growth inhibition and apoptosis-independent up-regulation of survivin in transitional cell cancer [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26: 2129-2135.
- [31] Song E Y, Palladinetti P, Klammer G, *et al*. Glycogen synthase kinase-3 β inhibitors suppress leukemia cell growth [J]. *Exp Hematol*, 2010, 38: 908-921.
- [32] Braig S, Kressler C A, Liebl J, *et al*. Indirubin derivative 6BIO suppresses metastasis [J]. *Cancer Res*, 2013, 73: 6004-6012.
- [33] Kim W S, Lee M J, Kim D H, *et al*. 5'-OH-5-nitro-Indirubin oxime (AGM130), an Indirubin derivative, induces apoptosis of Imatinib-resistant chronic myeloid leukemia cells [J]. *Leukemia Res*, 2013, 37: 427-433.
- [34] Liu L, Gaboriaud N, Vougioukianopoulou K, *et al*. MLS-2384, a new 6-bromindirubin derivative with dual JAK/Src kinase inhibitory activity, suppresses growth of diverse cancer cells [J]. *Cancer Biol Ther*, 2014, 15: 178-184.
- [35] Heshmati N, Cheng X, Eisenbrand G, *et al*. Enhancement of oral bioavailability of E804 by self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) in rats [J]. *J Pharm Sci*, 2013, 102: 3792-3799.

- [36] Skardelly M, Gaber K, Schwarz J, *et al.* Neuroprotective effects of the beta-catenin stabilization in an oxygen- and glucose-deprived human neural progenitor cell culture system [J]. *Int J Dev Neurosci*, 2011, 29: 543-547.
- [37] Jung H J, Nam K N, Son M S, *et al.* Indirubin-3'-oxime inhibits inflammatory activation of rat brain microglia [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 487: 139-143.
- [38] Lee S, Hall G F, Shea T B. Potentiation of tau aggregation by cdk5 and GSK3beta [J]. *J Alzheimer's Dis: JAD*, 2011, 26: 355-364.
- [39] Liu F, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, *et al.* Involvement of aberrant glycosylation in phosphorylation of tau by cdk5 and GSK-3beta [J]. *FEBS Lett*, 2002, 530: 209-214.
- [40] Martin L, Magnaudeix A, Esclaire F, *et al.* Inhibition of glycogen synthase kinase-3beta downregulates total tau proteins in cultured neurons and its reversal by the blockade of protein phosphatase-2A [J]. *Brain Res*, 2009, 1252: 66-75.
- [41] Imahori K, Uchida T. Physiology and pathology of tau protein kinases in relation to Alzheimer's disease [J]. *J Biochem*, 1997, 121: 179-188.
- [42] Rivest P, Renaud M, Sanderson J T. Proliferative and androgenic effects of indirubin derivatives in LNCaP human prostate cancer cells at sub-apoptotic concentrations [J]. *Chemico-biological Interactions*, 2011, 189: 177-185.
- [43] Asada A, Saito T, Hisanaga S. Phosphorylation of p35 and p39 by Cdk5 determines the subcellular location of the holokinase in a phosphorylation-site-specific manner [J]. *J Cell Sci*, 2012, 125: 3421-3429.
- [44] Hisanaga S, Endo R. Regulation and role of cyclin-dependent kinase activity in neuronal survival and death [J]. *J Neurochem*, 2010, 115: 1309-1321.
- [45] Patrick G N, Zukerberg L, Nikolic M, *et al.* Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration [J]. *Nature*, 1999, 402: 615-622.
- [46] Michel G, Mercken M, Murayama M, *et al.* Characterization of tau phosphorylation in glycogen synthase kinase-3beta and cyclin dependent kinase-5 activator (p23) transfected cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1380: 177-182.
- [47] Kameswaran T R, Ramanibai R. Indirubin-3-monooxime induced cell cycle arrest and apoptosis in Hep-2 human laryngeal carcinoma cells [J]. *Biomed Pharmacol*, 2009, 63: 146-154.
- [48] Liao X M, Leung K N. Indirubin-3'-oxime induces mitochondrial dysfunction and triggers growth inhibition and cell cycle arrest in human neuroblastoma cells [J]. *Oncol Reports*, 2013, 29: 371-379.
- [49] Fung T K, Gandillet A, So C W. Selective treatment of mixed-lineage leukemia leukemic stem cells through targeting glycogen synthase kinase 3 and the canonical Wnt/beta-catenin pathway [J]. *Curr Opin Hematol*, 2012, 19: 280-286.
- [50] Guturi K K, Mandal T, Chatterjee A, *et al.* Mechanism of beta-catenin-mediated transcriptional regulation of epidermal growth factor receptor expression in glycogen synthase kinase 3 beta-inactivated prostate cancer cells [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287: 18287-18296.
- [51] Pandurangan A K, Dharmalingam P, Sadagopan S K, *et al.* Luteolin induces growth arrest in colon cancer cells through involvement of Wnt/beta-catenin/GSK-3beta signaling [J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2013, 32: 131-139.
- [52] Takahashi-Yanaga F, Sasaguri T. Drug development targeting the glycogen synthase kinase-3beta (GSK-3beta)-mediated signal transduction pathway: inhibitors of the Wnt/beta-catenin signaling pathway as novel anticancer drugs [J]. *J Pharmacol Sci*, 2009, 109: 179-183.
- [53] Ougolkov A V, Fernandez-Zapico M E, Savoy D N, *et al.* Glycogen synthase kinase-3beta participates in nuclear factor kappaB-mediated gene transcription and cell survival in pancreatic cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2005, 65: 2076-2081.
- [54] Shakoori A, Ougolkov A, Yu Z W, *et al.* Deregulated GSK3beta activity in colorectal cancer: its association with tumor cell survival and proliferation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 334: 1365-1373.
- [55] Takahashi-Yanaga F. Activator or inhibitor? GSK-3 as a new drug target [J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 86: 191-199.
- [56] Patapoutian A, Reichardt L F. Roles of Wnt proteins in neural development and maintenance [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2000, 10: 392-399.
- [57] Yost C, Torres M, Miller J R, *et al.* The axis-inducing activity, stability, and subcellular distribution of beta-catenin is regulated in *Xenopus* embryos by glycogen synthase kinase 3 [J]. *Genes Dev*, 1996, 10: 1443-1454.

- [58] Talbot K, Wang H Y. The nature, significance, and glucagon-like peptide-1 analog treatment of brain insulin resistance in Alzheimer's disease [J]. *Alzheimer's Dementia: J Alzheimer's Association*, 2014, 10: S12-S25.
- [59] Lee V M, Goedert M, Trojanowski J Q. Neurodegenerative tauopathies [J]. *Annu Rev Neurosci*, 2001, 24: 1121-1159.
- [60] Hardy J, Selkoe D J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics [J]. *Science*, 2002, 297: 353-356.
- [61] Pei J J, Tanaka T, Tung Y C, *et al.* Distribution, levels, and activity of glycogen synthase kinase-3 in the Alzheimer disease brain [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1997, 56: 70-78.
- [62] Phiel C J, Wilson C A, Lee V M, *et al.* GSK-3 α regulates production of Alzheimer's disease amyloid-beta peptides [J]. *Nature*, 2003, 423: 435-439.
- [63] Hanger D P, Hughes K, Woodgett J R, *et al.* Glycogen synthase kinase-3 induces Alzheimer's disease-like phosphorylation of tau: generation of paired helical filament epitopes and neuronal localisation of the kinase [J]. *Neurosci Lett*, 1992, 147: 58-62.
- [64] Martin L, Magnaudeix A, Wilson C M, *et al.* The new indirubin derivative inhibitors of glycogen synthase kinase-3, 6-BIDECO and 6-BIMYEO, prevent tau phosphorylation and apoptosis induced by the inhibition of protein phosphatase-2A by okadaic acid in cultured neurons [J]. *J Neurosci Res*, 2011, 89: 1802-1811.