

斑蝥素衍生化活性及毒性规律研究进展

李济森, 刘石涛[#], 王平, 刘文星, 黄超^{*}

云南民族大学化学与环境学院, 云南 昆明 650503

摘要: 斑蝥素为传统中药斑蝥 *Mylabris* 的主要活性成分, 因其具有抗癌、抗炎、升高白细胞等生物活性被广泛关注, 基于斑蝥素类化合物的活性、结构改造、合成方法等研究亦有较多报道。综述近年来斑蝥素经结构修饰后对其活性、毒性的影响, 为后续斑蝥素类化合物的研究及斑蝥的现代化开发提供参考。

关键词: 斑蝥; 斑蝥素; 衍生化; 毒性; 中药现代化

中图分类号: R284 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)07-1734-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.07.036

Research progress on derivative cantharidin bioactivities and toxic regulations

LI Ji-sen, LIU Shi-tao, WANG Ping, LIU Wen-xing, HUANG Chao

School of Chemistry and Environment, Yunnan Minzu University, Kunming 650503, China

Abstract: Cantharidin is the main active component of traditional Chinese medicine *Mylabris*. Cantharidins received increasing attentions for having bioactivities such as anticancer, anti-inflammatory and enhancing leukocytes, meanwhile, many researches were reported about cantharidin bioactivities, structure modifications, and synthesis methods. In this review, structures of derivative cantharidins were summarized and bioactivity and toxic regulations were developed, which can provide reference for cantharidin compound researches and modernizations of *Mylabris*.

Key words: *Mylabris*; cantharidin; derivative; toxicity; modernization of Chinese materia medica

传统中药有效化学成分的衍生化改造是药物化学研究及中药现代化开发的重要方式^[1-2]。斑蝥素作为传统中药斑蝥 *Mylabris* 的主要活性成分, 因其具有抗癌、抗炎、升高白细胞等生物活性被有机及药学家广泛关注^[3-6], 其相关药物已被广泛应用于临床^[7-8], 基于斑蝥素类化合物的活性、结构改造、合成方法等研究亦有较多报道^[9-11]。Chattopadhyay 等^[9]通过研究不同斑蝥素与蛋白磷酸酶晶体结构的结合模型, 总结了斑蝥素类化合物的选择性构效关系。Deng 等^[10]从天然产物中提取并分离了 13 种衍生化斑蝥素结构并评价其抗癌活性。近年, 斑蝥素类化合物生物活性及衍生化结构相关研究已较为系统。然而, 斑蝥素衍生化分子的毒性、毒理研究及衍生化后分子结构对其毒副作用的影响规律尚未明确。

本文基于本课题组对斑蝥素(图 1)结构修饰改造的有关成果^[5,12-13], 汇总近年来斑蝥素类化合物的相关研究, 以斑蝥素 2、3 位, 5、6 位, 7 位氧桥和酸酐键的修饰为分类, 讨论斑蝥素结构修饰对活性的影响, 并发掘其可能的毒性规律, 以期斑蝥素类药物的开发及斑蝥的现代化研究提供新思路。

1 斑蝥素 2、3 位衍生化

基于斑蝥素 2、3 位的结构改造是该类分子最常见的修饰方法。其代表药物去甲斑蝥素(1, 图 2)

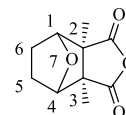


图 1 斑蝥素结构

Fig. 1 Structure of cantharidin

收稿日期: 2018-10-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21662046); 国家自然科学基金资助项目(21202142); 云南省万人计划青年拔尖人才项目; 第十六批昆明市中青年学术和技术带头人后备人选项目

作者简介: 李济森(1994—), 男, 硕士研究生, 主要从事药物合成研究。E-mail: 1159485216@qq.com

*通信作者 黄超(1979—), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事有机合成、药物化学研究。E-mail: huangchao@ynu.edu.cn

[#]并列第一作者, 刘石涛

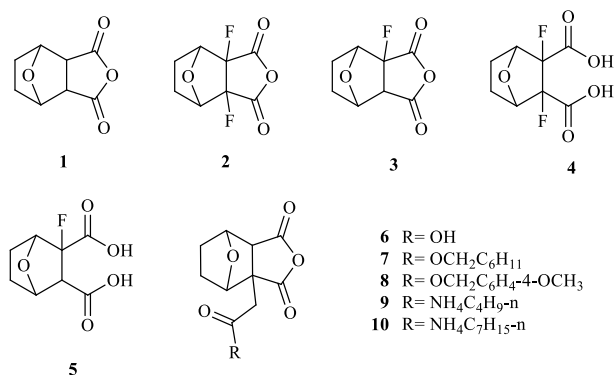


图 2 斑蝥素的 2、3 位衍生化合物结构

Fig. 2 Derivative cantharidins of 2, 3-modifications

与包括斑蝥素在内的化疗药物相比毒性显著降低，基本消除了传统斑蝥素类药物对泌尿系统的刺激性，对肝肾也未见明显的损害，现临床用于治疗肝癌、食管癌、胃癌、贲门癌、白细胞低下症、肝炎及肝硬化等^[12,14]。

经研究发现^[1,15]，应用氟原子取代斑蝥素 2、3

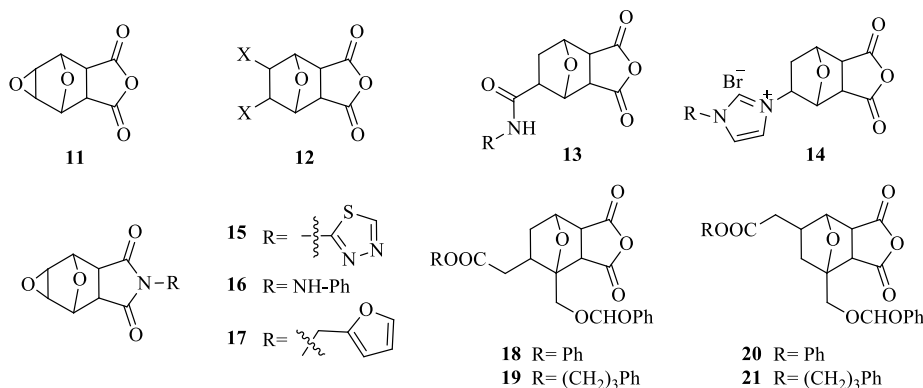


图 3 斑蝥素的 5、6 位衍生化合物结构

Fig. 3 Derivative cantharidins of 5, 6-modifications

3 斑蝥素 7 位衍生化

应用 S 原子取代斑蝥素 7 位氧桥得到的化合物 22 对体外蛋白磷酸酶 1 (PP1)、PP2A 无明显抑制作用，药用价值较低^[21-22]。应用 C 原子修饰得到的近似斑蝥素结构 (23、24) 细胞毒性明显增加，由此可以推测保留 7 位氧桥可对斑蝥素毒性起到降低作用^[10,23-24]。斑蝥素 7 位衍生化的化合物结构见图 4。

4 斑蝥素酸酐环衍生化

应用 NH 组及氨基酸取代去甲斑蝥素的酸酐 O 原子，可得到一系列新的斑蝥素类似物 (25~35，图 5)。其中甲基斑蝥胺 (34、35) 作为代表药物临床用于

位甲基得到斑蝥素衍生物 (2~5)，其中化合物 2 对白血病 L1210 细胞的半数抑制浓度 (IC₅₀) 为 6.19 μmol/L，在相同给药条件下，去甲斑蝥素 IC₅₀ 为 2.71 μmol/L，顺铂 IC₅₀ 为 0.51 μmol/L。

此外，于斑蝥素 2、3 位引入羧基、酯基、酰胺基得到的衍生物 (6~10) 在 pH 7.25 条件下对斑蝥酸放射性配体 IC₅₀ 值分别为 45、42、48、251、206 μmol/L^[16]，化合物结构见图 2。

2 斑蝥素 5、6 位衍生化

通过简便的化学合成方法可实现斑蝥素 5、6 位的衍生化，其修饰方法包括连接环氧结构、卤素、酯基，连接芳香杂环成盐等 (11~14)^[5,12-13,17-18]。在斑蝥素的 5、6 位引入环氧结构 (15~17)，其氧原子能与蛋白受体形成氢键，如化合物 15 对肝癌 HepG2 细胞 IC₅₀ 值为 31.5 μmol/L^[13,16]。应用疏水基团酯基进行修饰 (18~21)，有利于提升活性分子和受体间的适应程度，从而起到降低斑蝥素毒性的作用^[19-20]。斑蝥素 5、6 位衍生化的化合物结构见图 3。

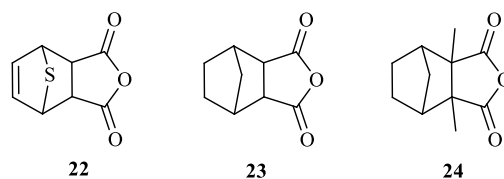


图 4 斑蝥素的 7 位衍生化合物结构

Fig. 4 Derivative cantharidins of 7-modifications

治疗原发性肝癌^[10-13]。体外活性测试显示^[25]化合物 30 对 PP2A 的 IC₅₀ 为 1.35 μmol/L，相同条件下斑蝥素与去甲斑蝥素对 PP2A 的 IC₅₀ 分别为 0.36、2.9 μmol/L。

研究发现该类斑蝥素结构中，甲基斑蝥胺、去

甲斑蝥亚胺 (25~33) 的细胞毒性明显减弱, 且能够保留其原有生物活性^[26-28]。由此提出当去甲斑蝥素的酸酐 O 原子被 1 个 NH 组或氨基酸取代后可降低斑蝥素的细胞毒性。

通过比较发现^[17,26,28-29], 具有较长碳链的酰亚胺环斑蝥素衍生物具有毒性大、易进入细胞的特点。当 1 个羟基基团作取代基时, 线性链具有比支链更强的细胞毒性。值得说明的是, 与斑蝥素和去甲斑蝥素相比, 当酸酐上的 O 原子被氨基酸取代时, 斑蝥素的毒性得到显著改善, 且当氨基酸上的 N 原子连接的碳链短时选择性更好; 由酸酐开环形成单羧酸酯类似物可

明显提高该类化合物的抗癌活性; 疏水结构域可以增加其对癌细胞抑制作用的特异性^[23,30-31]。

5 结合斑蝥素

结合斑蝥素为自然界及人工合成类药物中应用较广的一类斑蝥素衍生物 (36~40, 图 6), 具有较好的水溶性, 应用于临床的有斑蝥酸钠注射液、去甲斑蝥酸钠注射液、斑蝥酸钠维生素 B6 注射液等。研究表明斑蝥酸镁 (37) 和斑蝥酸钠 (36) 对人胃癌 MKN28 细胞均有抑制作用, IC₅₀ 分别为 4.77、14.22 μmol/L, 相同条件下斑蝥素 IC₅₀ 值为 12.11 μmol/L^[32-34], 且抑制率随药物浓度的增加而升高。

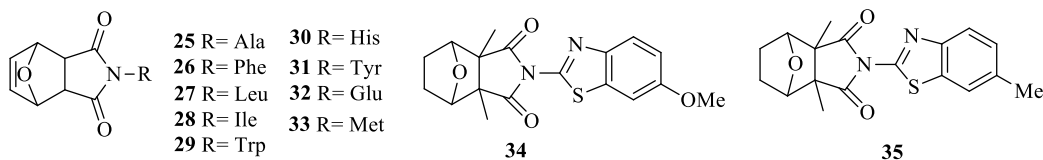


图 5 斑蝥素的酸酐环衍生化合物结构

Fig. 5 Derivative cantharidins of anhydrides

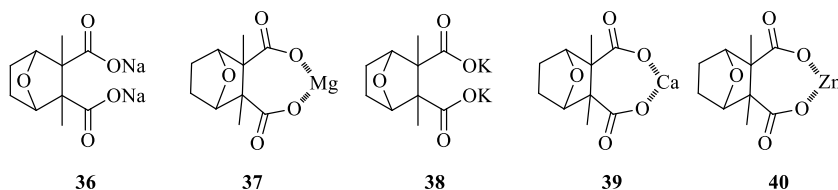


图 6 结合斑蝥素

Fig. 6 Bound cantharidins

6 斑蝥素的毒性规律

根据斑蝥素的构效关系^[1-2,8,12-13], 结合不同类型斑蝥素衍生化结构的生物活性进展, 整理并推测了以下斑蝥素的毒性规律 (图 7)。

将斑蝥素的 2 和 3 位的甲基消去, 毒性大大降低, 并且具有更好的选择性; 在去甲斑蝥素的 2 和 3 位引入氟, 不仅毒性显著减弱, 且药性更加温和;

在斑蝥素的 5 和 6 位引入疏水基团, 毒性能得到较大改善; 将斑蝥素氧桥的氧用硫原子替代, 则毒性会较大增加; 将酸酐上的氧换成氮原子, 毒性降低, 同时引入噻唑基团毒性亦减弱, 或引入疏水基团也将导致毒性减弱; 用氨基酸取代酸酐的氧, 毒性相比斑蝥素显著降低, 氮原子连接的碳链越短, 则毒性相比长碳链会更小。

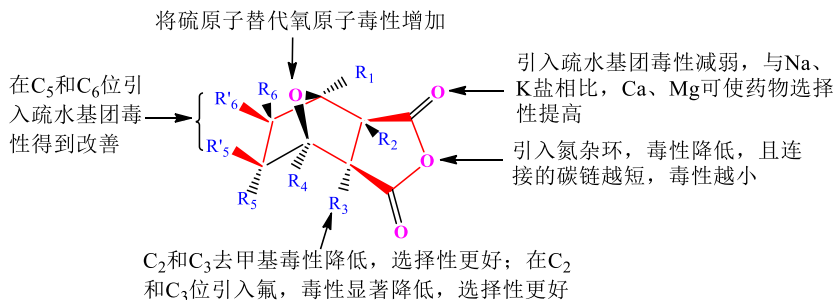


图 7 斑蝥素毒性规律

Fig. 7 Toxic regulation of cantharidin

7 结语与展望

作为传统中药的主要成分,斑蝥素的降毒改造一直被寄予厚望,提高其活性选择性的相关研究为斑蝥和斑蝥素的临床应用提供了广阔前景。本文综述了近年来斑蝥素的衍生化产物和活性研究进展,以斑蝥素 2、3 位, 5、6 位, 7 位氧桥和酸酐键的修饰为分类,讨论了斑蝥素结构修饰对活性的影响,发掘了其可能的毒性规律,以期对斑蝥素有关的结构修饰及改造、药物合成、药理学研究等领域提供新的参考。斑蝥素在不同部位的衍生化可实现毒性和活性的变化,斑蝥素多位点结合衍生、母环简化改造可能成为未来的突破点,斑蝥素与超分子化学结合的新剂型研究也将会有重要地位。此外,斑蝥素活性改造及可能的毒性构效关系将对斑蝥类相关药物的研究有重要意义。

参考文献

- [1] Deng L P, Dong J, Cai H, *et al.* Cantharidin as an antitumor agent: A retrospective review [J]. *Curr Med Chem*, 2013, 20(2): 159-166.
- [2] Wang X H, Yang F H, Zhao C K, *et al.* Sealed tube promoted coupling of camptothecin and norcantharidin acid ester and their preliminary biological activity evaluation *in vitro* [J]. *Med Chem Res*, 2018, 27(2): 406-411.
- [3] Hsia T C, Yu C C, Hsu S C, *et al.* Cantharidin induces apoptosis of H460 human lung cancer cells through mitochondria-dependent pathways [J]. *Inter J Oncol*, 2014, 45(1): 245-254.
- [4] Bajsa J, McCluskey A, Gordon C P, *et al.* The antiplasmodial activity of norcantharidin analogs [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(22): 6688-6695.
- [5] Sun R R, Guo J H, Yang C, *et al.* Synthesis and antitumor evaluation of novel *N*-substituted norcantharidin imidazolium derivatives [J]. *Curr Org Synth*, 2018, 15(2): 237-245.
- [6] Zang G H, Li R, Zhou R S, *et al.* Effects of disodium cantharidinate on dendritic cells of patients with bladder carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(2): 2273-2277.
- [7] Liu Y P, Li L, Xu L, *et al.* Cantharidin suppresses cell growth and migration, and activates autophagy in human non-small cell lung cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(5): 6527-6532.
- [8] Zhang D, Wu J, Wang K, *et al.* Which are the best Chinese herbal injections combined with XELOX regimen for gastric cancer?: A PRISMA-compliant network meta-analysis [J]. *Medicine*, 2018, 97(12): e0127.
- [9] Chattopadhyay D, Swingle M R, Salter E A, *et al.* Crystal structures and mutagenesis of PPP-family ser/thr protein phosphatases elucidate the selectivity of cantharidin and novel norcantharidin-based inhibitors of PP5C [J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, doi: 10.1016/j.bcp.2016.03.011.
- [10] Deng Y Y, Zhang W, Li N P, *et al.* Cantharidin derivatives from the medicinal insect *Mylabris phalerata* [J]. *Tetrahedron*, 2017, doi: 10.1016/j.tet.2017.08.034.
- [11] Wang G, Dong J, Deng L. Overview of cantharidin and its analogues [J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25(17): 2034-2044.
- [12] 王平, 王晓晶, 杨淬, 等. 去甲斑蝥素酰胺类衍生物的合成及抗肝癌活性评价 [J]. 中国药物化学杂志, 2018, 28(4): 261-266.
- [13] 王平, 王晓晶, 潘小霞, 等. 斑蝥素衍生物的合成、抗肝癌活性及构效关系研究 [J]. 化学通报, 2018, 81(4): 355-360.
- [14] Moed L, Shwayder T A, Chang M W. Cantharidin revisited: A blistering defense of an ancient medicine [J]. *Arch Dermatol*, 2001, 137(10): 1357-1360.
- [15] Filler R, Kobayashi Y, Yagupolskii L M. Organofluorine compounds in medicinal chemistry and biomedical applications [J]. *Inter J Biochem Vol*, 1994, 26(4): 449-605.
- [16] Laidley C W, Dauben W G, Guo Z R, *et al.* 2-Carboxymethylendothal analogues as affinity probes for stabilized protein phosphatase 2A [J]. *Bioorgan Med Chem*, 1999, 7(12): 2937-2944.
- [17] 陈农, 李贺敏, 彭国平, 等. 斑蝥素衍生物的设计合成及体外抗肿瘤活性与刺激性毒性研究 [J]. 长春中医药大学学报, 2013, 29(1): 25-28.
- [18] 张建强, 徐阳荣, 孟庆国. 去甲去氢斑蝥素衍生物的合成及细胞毒活性 [J]. 烟台大学学报: 自然科学与工程版, 2016, 29(4): 265-270.
- [19] Baba Y, Hirukawa N, Tanohira N, *et al.* Structure-based design of a highly selective catalytic site-directed inhibitor of Ser/Thr protein phosphatase 2B (calcineurin) [J]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125(32): 9740-9749.
- [20] Sodeoka M, Baba Y, Kobayashi S, *et al.* Structure-activity relationship of cantharidin derivatives to protein phosphatases 1, 2A 1, and 2B [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1997, 7(14): 1833-1836.
- [21] McCluskey A, Bowyer M C, Collins E, *et al.* Anhydride modified cantharidin analogues: Synthesis, inhibition of protein phosphatases 1 and 2A and anticancer activity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2000, 10(15): 1687-1690.
- [22] Kumamoto K, Fukada I, Kotsuki H. Diels-Alder reaction of thiophene: Dramatic effects of high-pressure/solvent-free conditions [J]. *Angew Chem*, 2010, 43(15):

- 2015-2017.
- [23] Deng L, Dong J, Wang W. Exploiting protein phosphatase inhibitors based on cantharidin analogues for cancer drug discovery [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2013, 13(8): 1166-1176.
- [24] 孙文博, 刘中一, 张雅林. 去甲斑蝥素酰胺类生物的合成及杀虫活性 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2013, 41(7): 79-84.
- [25] McCluskey A, Walkom C, Bowyer M, *et al.* Cantharimides: A new class of modified cantharidin analogues inhibiting protein phosphatases 1 and 2A [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, 11(22): 2941-2946.
- [26] Hill T A, Stewart S G, Ackland S P, *et al.* Norcantharimides, synthesis and anticancer activity: Synthesis of new norcantharidin analogues and their anticancer evaluation [J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15(18): 6126-6134.
- [27] Kok S H L, Chui C H, Lam W S, *et al.* Synthesis and structure evaluation of a novel cantharimide and its cytotoxicity on SK-Hep-1 hepatoma cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(5): 1155-1159.
- [28] 贾佳, 赵长阔, 李晓飞. 溴代去甲斑蝥素酰胺生物的合成和抗癌活性研究 [J]. 现代医药卫生, 2017, 33(15): 2241-2244.
- [29] Thaqi A, Scott J L, Gilbert J, *et al.* Synthesis and biological activity of 5, 6-norcantharimides: Importance of the 5, 6-bridge [J]. *Eur J Med Chem*, 2010, 45(5): 1717-1723.
- [30] McCluskey A, Sim A T R, Sakoff J A. Serine-threonine protein phosphatase inhibitors: Development of potential therapeutic strategies [J]. *J Med Chem*, 2002, 45(6): 1151-1175.
- [31] 曾造, 李金海, 舒群威, 等. 去甲去氢斑蝥素酰亚胺衍生物的合成及抑菌活性 [J]. 化学试剂, 2017, 39(11): 1155-1158.
- [32] 晏容, 刘云, 朱欣婷, 等. 不同斑蝥素类物质对人肝癌细胞 HepG2 增殖作用的研究 [J]. 现代医药卫生, 2015, 31(21): 3209-3211.
- [33] 李晓飞, 娄方明, 晏容, 等. 芫菁体内斑蝥素和结合斑蝥素抗肿瘤活性的比较研究 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(3): 535-538.
- [34] 刘振兴, 谢铭, 梁金龙, 等. 斑蝥酸镁与斑蝥素, 斑蝥酸钠抗癌活性的比较 [J]. 贵州医药, 2017, 41(10): 1028-1030.