

抗肿瘤天然拓扑异构酶抑制剂的研究进展

戴一^{1,2}, 宋祖荣¹

1. 安徽新华学院药学院, 安徽 合肥 230088
2. 中国科学技术大学化学系, 安徽 合肥 230026

摘要: 拓扑异构酶 (topoisomerase, topo) 是解决 DNA 复制、转录等过程中出现拓扑问题的关键酶, 是抗肿瘤药物作用的重要靶点之一。天然产物是 topo 抑制剂的重要来源, 从天然产物中发现开发 topo 抑制剂是抗肿瘤药物研究的热点。以天然产物结构类型, 分类综述了天然存在的具有 topo 抑制活性的天然产物及以它们为基础改造获得的衍生物, 以期能为抗肿瘤天然 topo 抑制剂的研发提供参考。

关键词: 抗肿瘤; 天然产物; 拓扑异构酶抑制剂; 结构改造; 萜类; 生物碱类; 酚类; 醌类

中图分类号: R282.71 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)06-1785-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.06.029

Research progress on antineoplastic topoisomerase inhibitors from natural products

DAI Yi^{1,2}, SONG Zu-rong¹

1. College of Pharmacy, Anhui Xinhua University, Hefei 230088, China
2. Department of Chemistry, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China

Abstract: Topoisomerase (topo) plays the vital role in solving all of the topological problems of DNA in replication, transcription and other cellular transactions, which is one of the important targets of antitumor drugs. Natural products are an important source of development of topo inhibitors. Exploring topo inhibitors from natural products is one of the hot spots in the development of antitumor drugs. In this paper, the natural topo inhibitors and many derivatives based on natural products are reviewed, in order to provide reference for the development of antineoplastic topo inhibitors.

Key words: antitumor; natural products; topoisomerase inhibitors; structure modification; terpene; alkaloids; phenols; quinones

拓扑异构酶 (topoisomerase, topo) 广泛存在于生物体中, 是细胞 DNA 复制或转录不可或缺的一类关键酶。由于 DNA 在复制过程中反向旋转会产生缠结、正负超螺旋等, 为保证复制正常进行, 必须依赖 topo 的参与进行 DNA 的切割、回旋、再连接, 使 DNA 顺利解旋、复制、转录等^[1]。根据 topo 诱导 DNA 断裂方式的不同, topo 分为 topo I 和 topo II 2 种。人 topo I 为单体酶, 主要催化 DNA 复制过程中单链的断裂和重新链接; topo II 又称解旋酶, 结构为二聚体, 在三磷酸腺苷供能, Mg²⁺ 存在条件下, 催化双链的断裂和链接^[2]。相比于正常细胞, 肿瘤细胞中 topo 的含量及活性均显著提高^[3], 因此 topo 是抗肿瘤药物优良的作用靶点, 如喜树碱类、

鬼臼毒素类、阿霉素等都是以 topo 为靶点, 干扰 DNA 复制而发挥抗肿瘤作用的。

以 topo 为靶点的抑制剂是抗肿瘤药物研究的热点, 这些 topo 抑制剂按照作用机制主要分为 2 大类: topo 毒剂和 topo 催化抑制剂, 前者通过形成 DNA-topo I 抑制剂三元复合物, 达到抑制 topo I 催化作用的目的, 如喜树碱类药物, 或通过稳定 topo II-DNA 可裂解复合物而发挥作用, 如鬼臼毒素类; 后者主要通过嵌入 DNA 或直接作用于 topo 功能域而阻止 topo 与 DNA 的结合而发挥抗肿瘤作用, 如阿霉素等^[4]。通过文献报道发现天然产物是 topo 抑制剂的重要来源^[5], 多种天然来源的药物已广泛用于临床的肿瘤治疗, 如羟喜树碱、拓扑替康、依托

收稿日期: 2020-06-04

基金项目: 安徽省教育厅自然科学研究重点项目 (KJ2019A0873)

作者简介: 戴一 (1979—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为活性天然产物研究。E-mail: daiyiii@163.com

泊昔等。近年来基于 topo 为靶点的天然药物研究亦取得了积极进展,本文主要对 2016 年以来的成果进行综述,以期新的 topo 抑制剂开发提供参考。

1 天然成分

1.1 萜类

天然产物中萜类化合物具有多种活性,尤其是抗肿瘤活性,受到广泛的关注,由于萜的骨架类型多样,为抗肿瘤药物的开发提供了丰富多样的先导化合物或候选药物^[6]。萜类化合物作用的靶点多样,较成熟的如微管蛋白、topo 等。近年来从植物获得的 topo 抑制剂主要为二倍半萜和二萜。如从 *Salvia lachnocalyx* Hedge 的嫩芽中分离出线性的二倍半萜金合欢醇 (1),从该植物根部分离出重排松香烷型二萜 sahandinone (2) 和 4-脱氢沙维林醇 (3),通过分子对接及分子动力学模拟研究,发现它们均能很好地与 topo I 结合,说明对 topo I 的抑制可能是其发挥抗肿瘤作用的机制^[7]。

heteronemin (4) 则是分自于海洋海绵 *Hyrtios* sp. 中的 1 个二倍半萜,通过消除 topo II 的主要酶活性,对 topo II 起到催化抑制的作用。该成分对前列腺癌 LNCap 和 PC3 细胞增殖具有显著的抑制活性,24 h 结果显示半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值分别为 1.4、2.7 μmol/L。在动物实验中也表现出显著的肿瘤抑制活性,而且对小鼠体质量几乎没有影响^[8],体现了高效低毒的特点,具有进一步开发的潜力。从另一种海绵 *Carteriospongia* sp. 中也获得二倍半萜 12β-(3'β-hydroxybutanoyloxy)-20,24-dimethyl-24-oxo-scalar-16-en-25-al (5) 和 12β-(3'β-hydroxypentanoyloxy)-20,24-dimethyl-24-oxo-scalar-16-en-25-al (6),这 2

个成分为 scalarane 型二倍半萜,另外还分离得到 1 个已知 tetraprenyltoluquinol 型化合物 (7),这些产物通过抑制热休克蛋白 (heat shock protein 90, Hsp90) 和 topo IIα 的活性而发挥双重作用,促进凋亡^[9]。可见,从海洋植物中寻找新型 topo 抑制剂具有一定潜力,尤其是寻找新的骨架成分。

真菌中亦常含有萜类成分,如从真菌壳囊孢属 *Cytospora* sp. 中分离出 1 个杂萜类天然成分壳孢内酯 C (8)。MTT 实验发现其对入肺癌 A549 细胞、人结肠癌 HCT-116 细胞和人乳腺癌 MCF-7 细胞的 IC₅₀ 值在 5.98~8.88 μmol/L,显示出了较好的抗增殖作用。合成该植物中另 1 个杂萜成分壳孢内酯 A (9) 的模型化合物四去氧壳孢内酯 A (10) 对这 3 种肿瘤增殖也表现出较强的活性,IC₅₀ 为 3.91~7.28 μmol/L,对其作用靶点研究发现在体外化合物 8 和 10 均具有类似喜树碱的 topo I 抑制活性,另外化合物 10 还对 topo II 表现出了抑制作用,效果与已知的 topo II 抑制剂 ICRF-193 相当^[10]。对 topo I 和 topo II 同时抑制可以提高疗效,降低不良反应,属于多靶点抗肿瘤^[11]。

2016 年以来萜类 topo 抑制剂的化学结构见图 1。

1.2 生物碱类

生物碱类成分也是天然产物中结构类型多样的一大类成分,具有的生物活性促使很多天然成分已直接应用于临床,如作用于 M 受体的阿托品,作用于微管蛋白的长春新碱以及众所周知的 topo I 抑制剂羟喜树碱^[12]。近年来海洋植物成分研究是天然药物研究的热点。奇西卡马碱 A (11) 和它的类似物 16,17-去氢奇西卡马碱 A (12) 是从南极深海海绵 *Latrunculia biformis* Kirkpatrick 中分离的 2 个吡咯亚

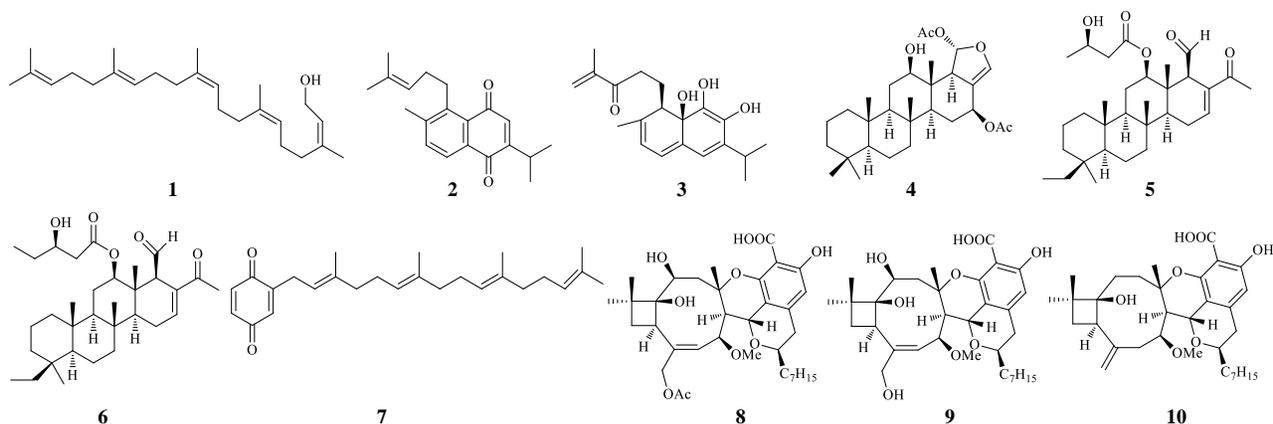


图 1 2016 年以来萜类 topo 抑制剂的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of terpene topo inhibitors since 2016

胺醌类生物碱, 通过分子对接发现这 2 个化合物对 topo I 和 topo II 具有较好的结合, 表现出双重抑制潜力^[13], 为抗癌药物先导化合物的开发提供了一个新的选择。另外从温带海洋一种海绵 *Tsitsikamma favus* Samaai & Kelly 中分离出来 5 个吡咯亚胺醌类生物碱 makaluvamine Q (**13**)、makaluvamine A (**14**)、makaluvamine I (**15**)、tsitsikammamine B (**18**)、14-bromo-7,8-dehydro-3-dihydro-disorhabdin C (**19**)、2 个吡咯邻醌类 makaluvamine O (**16**)和 makaluvone (**17**)。所有的化合物对 topo I 均显示了抑制作用及 DNA 嵌入功能, 其中化合物 **16**、**17** 活性最强, 对宫颈癌 HeLa 细胞增殖具有中等抑制作用^[14]。此外, 2019 年从地中海萍蓬草 *Nuphar lutea* (L.) Sm. ssp. *pumila* (Timm) E. O. Beal 中分离出 1 个活性天然成分 6,6'-二羟基硫双萍蓬草碱 (**20**), 该结构为含硫

的二聚倍半萜形成的萍蓬草生物碱, 是 topo II 毒剂, 通过与 topo II 共价键结合发挥抑制作用, 而且体现出一定选择性, 抑制 topo II α 的作用强于 topo II β ^[15]。海洋植物受到的环境胁迫不同于陆生植物, 从海洋植物中常可获得结构新颖的成分, 再次说明海洋植物对 topo 抑制剂的开发具有巨大潜力。

对陆生植物, 近年来主要从抗炎植物两面针 *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. 中获得 1 个生物碱氯化两面针碱 (**21**), 该生物碱通过抑制 topo I 而促进白细胞介素-10 的产生, 抑制了炎症反应, 在体内、体外表现出显著的抗炎作用^[16]。近年来的研究发现, 炎症和癌症的发生发展密切相关^[17], 而该成分又是通过抑制 topo 来发挥作用的, 值得进一步深入研究。

2016 年以来生物碱类 topo 抑制剂的化学结构见图 2。

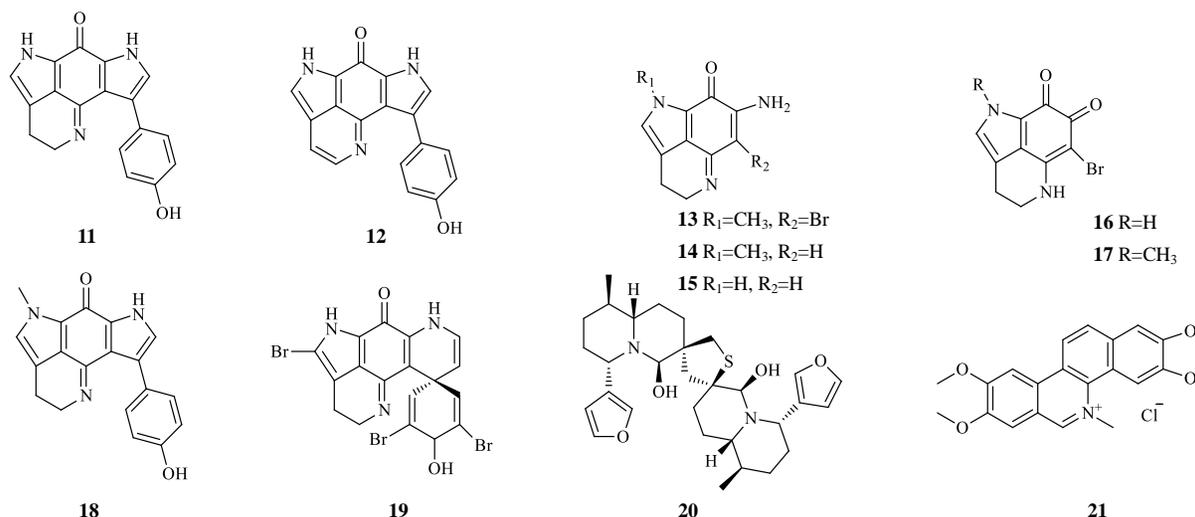


图 2 2016 年以来生物碱类 topo 抑制剂的化学结构

Fig. 2 Chemical structures of alkaloid topo inhibitors since 2016

1.3 酚类

酚类化合物广泛存在于自然界, 是个庞大的复合家族, 包括黄酮类和非黄酮类的酚性物质等, 近年来在抗肿瘤方面的研究备受关注^[18]。乔松酮 (**22**) 即为天然黄酮类成分, 可以结合 topo I 和 DNA 的表面形成四元复合物, 而对 topo I 产生别构抑制^[19]。对来自珊瑚上的真菌和植物进行分离获得 (-)-表没食子酰儿茶精-3-O-反式-对-香豆酸酯 (**23**)、(-)-表没食子酰儿茶精-3-O-顺式-对-香豆酸酯 (**24**)、(-)-表棓儿茶素 (**25**)、槲皮素 (**26**)、(-)-没食子酰儿茶素 (**27**)、交链孢毒素 I (**28**)、6-*epi*-stemphytriol (**29**) 和多黏菌素 C (**30**)。这些成分在 5~100 $\mu\text{mol/L}$

显示出抑制 topo I 诱导的 DNA 超螺旋松弛活性, 尤其是, 黄酮类成分比其他成分的抑制 topo I 能力更强。这些新发现的 topo I 抑制剂显示了结构的多样性, 是抗癌先导化合物开发的一个新选择。考察更低浓度时这些成分对 topo 的抑制活性时发现, 4 个化合物 **23**~**26** 显示在 25 $\mu\text{mol/L}$ 有效, 其中化合物 **23**、**24** 显示在更低的浓度 (5 $\mu\text{mol/L}$) 也有效。化合物 **23**、**24** 相比于表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechin gallate, EGCG, 10 $\mu\text{mol/L}$) 显示出了更高的抑制活性^[20]。

3 个五角型多酚 amexanthomycins A~C (**31**~**33**) 是从地中海拟无枝菌酸菌 *Amycolatopsis mediterranei*

S699ΔrifA 中分离出来的, 该菌株敲除了与利福霉素合成相关的聚酮合成酶基因。化合物 **31**~**33** 显示了对 DNA topo 的抑制作用。采用 DNA 松弛实验研究化合物 **31**~**33** 对 Topo IIα 的抑制活性, 500 μmol/L 时显示有效。剂量相关的活性测定显示化合

物 **31** 和 **32** 相比于化合物 **33** 对 topo IIα 抑制活性更强。这些结果说明在 amexanthomycins 上取代基去氧糖对 topo 的抑制作用有重要影响, 对于开发新型 topo 抑制剂具有参考价值^[21]。

2016 年以来酚类 topo 抑制剂的化学结构见图 3。

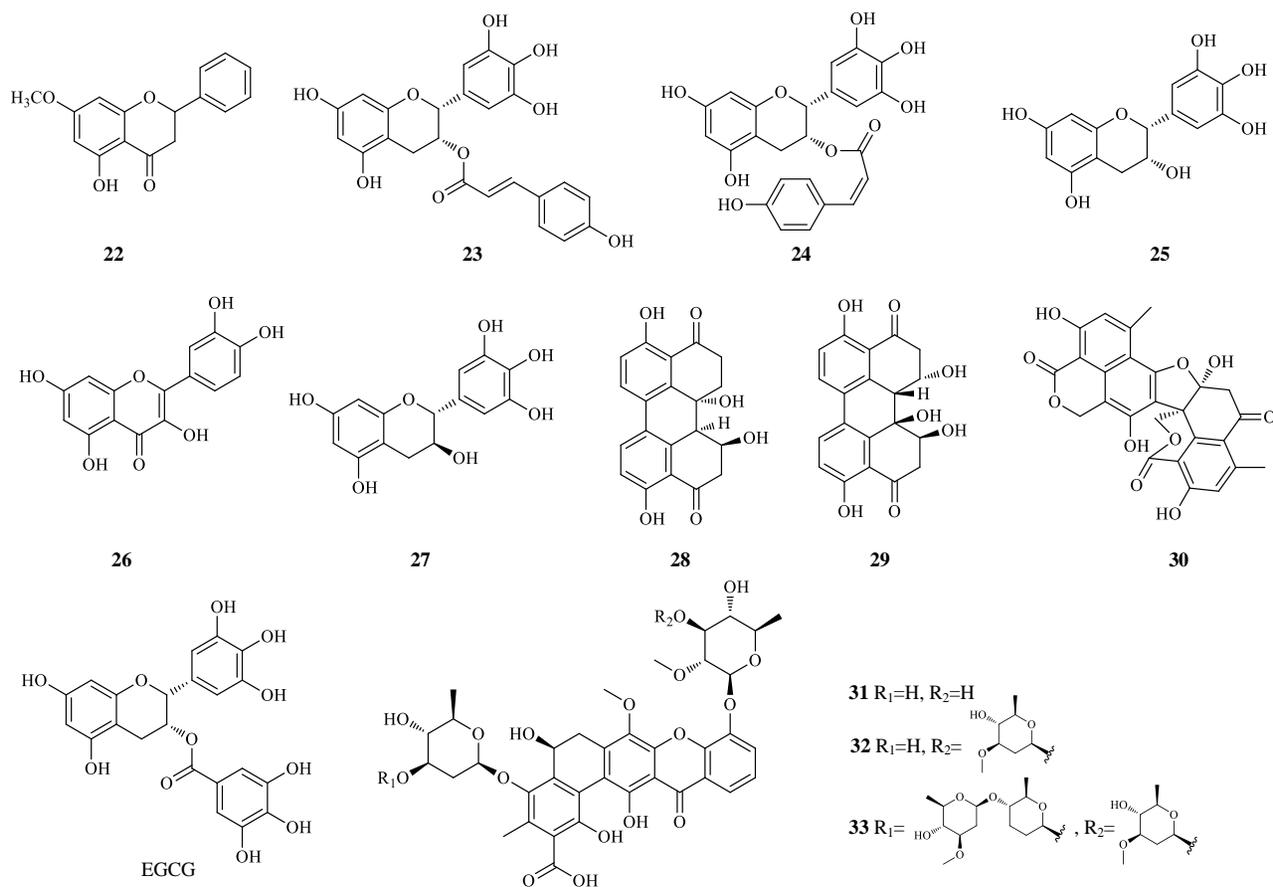


图 3 2016 年以来酚类 topo 抑制剂的化学结构

Fig. 3 Chemical structures of phenolic topo inhibitors since 2016

1.4 醌类

醌类化合物是中药中一类具有醌式结构的化学成分, 临床上使用的 topo 抑制剂阿霉素属于该类。同阿霉素来源类似, 该类成分多来源于微生物。pyxidicycline A (**34**) 和 pyxidicycline B (**35**) 是利用自身抗性导向的基因组挖掘策略从匣状粘球菌 *Pyxidicoccus fallax* An d48 分离出来的 2 个聚酮型天然产物, 对人结肠癌 HCT-116 细胞最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 分别为 0.06、0.03 μg/mL, 对人 topo I 的 IC₅₀ 为 0.4~1.6、0.05~0.2 μg/mL, 与喜树碱相当^[22]。另一类聚酮天然产物为 jadomycin, 来自于土壤委内瑞拉链霉菌 *Streptomyces venezuelae* ISP5230, jadomycin B (**36**)、

jadomycin S (**37**) 和 jadomycin F (**38**) 对药物敏感型人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞和紫杉醇耐药性 MDA-MB-231 细胞增殖表现出同样的抑制作用, 进一步的研究发现它们能抑制 topo IIα 和 topo IIβ 的基因和蛋白的表达, 同时也是 topo II 的催化抑制剂, 在某些情况下也表现为 topo II 的毒剂。化合物 **36** 和 **38** 还表现出对 topo IIβ 更高的选择性^[23]。

GE-1 (**39**) 和 GE-2 (**40**) 来自于子囊菌 *Septofusidium berolinense*, 具有抗肿瘤活性, 化合物 **40** 是 **39** 的氧化型。像依托泊苷一样, 在 1 个专一的位点诱导 DNA 断裂, 化合物 **40** 显著提高 DNA 断裂程度。与其他醌类 topo II 毒剂类似, 化合物 **40** 通过共价键与 topo II 结合。与化合物 **40** 相比, 化

合物 39 要想达到相似的效果需要较高的浓度才能实现, 可见氧化态结构能使活性得到提高^[24]。从现有的成果可见微生物来源的 topo 抑制剂表现出结

构上的共性, 多为醌类, 是天然 topo 抑制剂的另一种展现。

2016 年以来醌类 topo 抑制剂的化学结构见图 4。

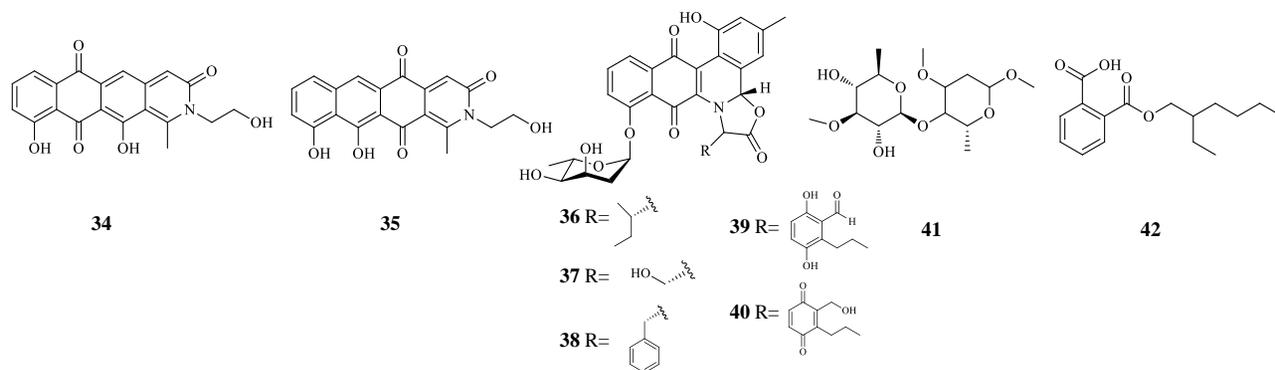


图 4 2016 年以来醌类 topo 抑制剂的化学结构

Fig. 4 Chemical structures of quinone topo inhibitors since 2016

1.5 其他

其他具有 topo 抑制活性的天然成分类型较少, 近年来主要发现 1 个苷类成分和 1 个芳香酸酯。methyl β -lilacinobioside (41) 为从沙特阿拉伯南部植物巨棱阁 *Caralluma retropiciens* N. E. Br. 分离出来的 1 个苷类新成分, 对 MCF-7 细胞的增殖具有较强的抑制作用, 通过分子对接实验发现其与 topo II 氢键和离子键结合, 与 topo II 的亲合力达 -36.975 kJ/mol, 说明对 topo II 的抑制应是其发挥抗肿瘤活性的重要因素^[25]。另 1 个为芳香酸酯即邻苯二甲酸单(2-乙基)己酯(42), 来自于海洋菌株 *Streptomyces* sp. VITJS4, 对人肝癌 HepG2 细胞增殖有显著的抑制活性, 也通过分子对接及分子动力学模拟研究发现, 其作用的靶点是 topo II α 的 ATPase 结构域^[26]。

2 天然成分结构改造

2.1 生物碱类成分改造

从生物碱改造获得先导化合物持续受到关注^[27], 近年来对生物碱类成分的结构改造以喜树碱衍生物 7-乙基-10-羟基喜树碱 (7-ethyl-10-hydroxycamptothecin, SN-38) 修饰较多。SN-38 通过抑制 topo I 阻滞 DNA 的复制而发挥抗肿瘤作用^[28]。伊立替康即为 SN-38 的水溶性前药, 但体外活性比 SN-38 低 100~1000 倍^[29]。体内仅有使用剂量的 2%~8% 能转化成 SN-38^[30]。因此, SN-38 依然受到很大的关注。对 SN-38 改造的位点主要为 9 位和 10 位。9 位的改造主要是引入不同的氨基, 获得化合物 43a~43d, 这些氨基衍生物对人白血病 HL-60 细胞、MCF-7

和 MDA-MB-231 细胞、结直肠腺癌 Caco-2 和 HT-29 细胞及 A549 细胞的增殖抑制作用与 SN-38 相当, 和拓扑替康一样, 通过共价键结合天然 DNA 八聚体 d(GCGATCGC)₂duplex 的边缘 GC 碱基产生 topo I 抑制作用, 即使在 10 °C 也能在一定时间后共价键结合寡聚核苷酸^[31]; 对于 10 位的修饰, 分别以醚键或酯键在 10 位引入硝基咪唑基团 (1-甲基-2-硝基-1*H*-咪唑-5-基) 甲醇, 获得化合物 44 和 45, 这 2 个化合物为低氧激活型 SN-38 的前药。化合物 45 的低氧选择性及细胞毒性均弱于化合物 44, 在低氧条件下化合物 44 对人大细胞肺癌 H460 细胞增殖的抑制活性是 evofosfamide 的 10 倍以上, 与 SN-38 相当^[32]。另 1 个 10 位修饰的化合物 46, 为 SN-38 与氨基酸以酯键相连, 该化合物对 A549 细胞和人肺癌 SPC-A-1 细胞、人白血病 K562 细胞、MCF-7 细胞、人小细胞肺癌 NCI-H446 细胞、人卵巢癌 SK-OV-3 细胞、人肝癌 SMMC-7721 细胞、人结肠腺癌 SW1116 细胞和胶质瘤 U251 细胞 9 种人肿瘤细胞增殖的 IC₅₀ 值为 0.000 9~2.567 1 μ mol/L, 均低于伊立替康或 SN-38, 表现出更强的肿瘤抑制作用, 在稳定 topo-1-DNA 复合物方面比伊立替康及 SN-38 更强^[33]。

2016 年以来 SN-38 衍生物的化学结构见图 5。

除了对 SN-38 修饰外, 2018 年还报道了在喜树碱或羟喜树碱的 7 位引入醛基, 通过亚胺和沙丙素 A 进行组合获得杂合体 47a~47c, 这 3 个化合物具有 topo I 抑制及 HDAC 抑制双重作用, 分子模拟证实了这种

功能, 该杂合体对人肺癌 NCI-H460 细胞、人胰腺癌 CAPAN1 细胞、表皮癌 A431 细胞、HeLa 细胞、人结肠癌 HT29 细胞、前列腺癌 DU45 细胞、HepG2 细胞、人卵巢癌 A2780 细胞及耐阿霉素 A2780-Dox 细胞等多种肿瘤细胞均具有显著的抑制活性, IC_{50} 为

0.05~0.8 $\mu\text{mol/L}$, 而对照沙丙素 A 的 IC_{50} 值约为 0.9 $\mu\text{mol/L}$, 伊立替康则大于 1.5 $\mu\text{mol/L}$ ^[34]。可见杂合体发挥多靶点功效, 实现了协同作用。

2016 年以来喜树碱和羟喜树碱衍生物的化学结构见图 6。

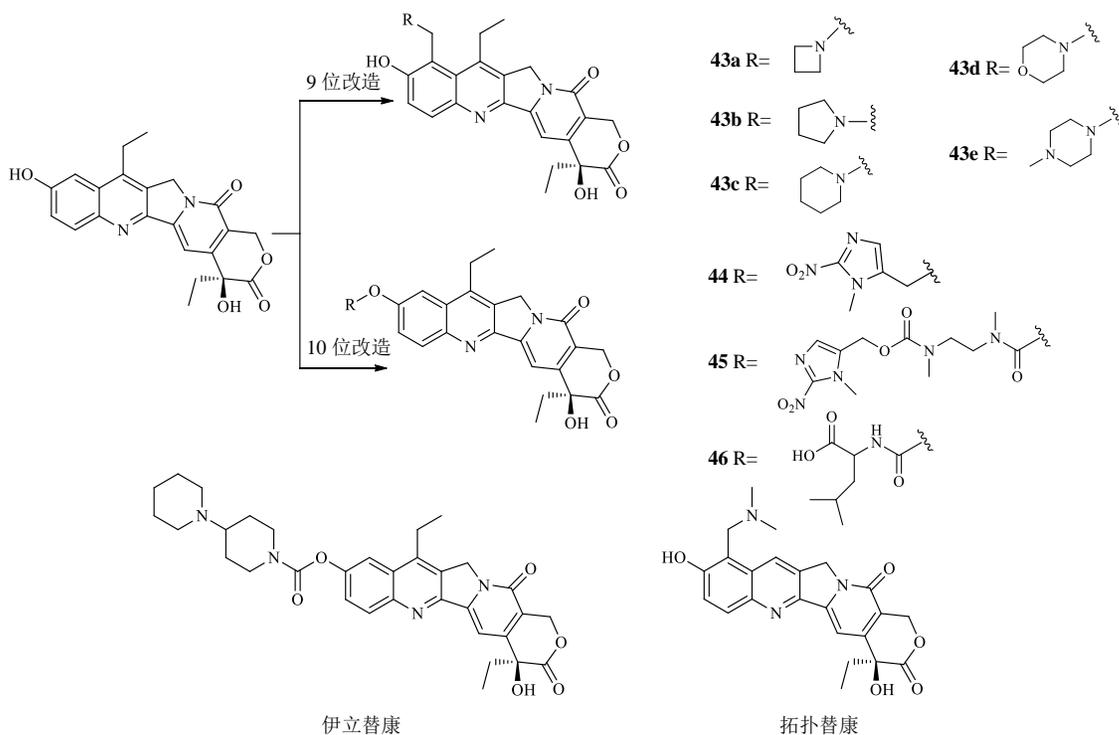


图 5 2016 年以来 SN-38 衍生物的化学结构

Fig. 5 Chemical structures of SN-38 derivatives since 2016

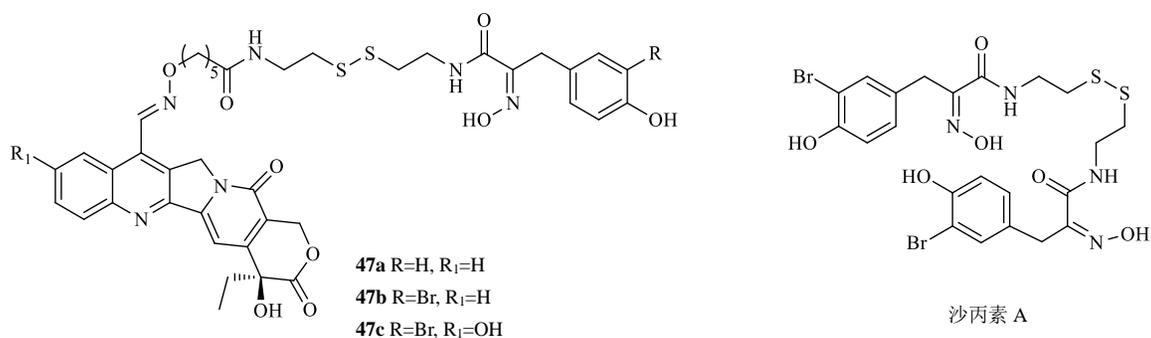


图 6 2016 年以来喜树碱和羟喜树碱衍生物的化学结构

Fig. 6 Chemical structures of camptothecin and hydroxycamptothecin derivatives since 2016

此外, 通过点击化学的合成手段在 7-甲基-10-羟基高喜树碱 10 位引入芳烃、饱和烃或糖等合成化合物 48a~48u, 除了 48h、48r 和 48u, 这些衍生物对 A549 细胞、人乳腺癌 MDA-MB-435 细胞及人结肠癌 HCT116 细胞表现出较强的抗增殖作用, 尤其对 A549 细胞, 有 12 个化合物 IC_{50} 值小于 1

$\mu\text{mol/L}$, 对其中 4 个化合物 48e、48j、48o 和 48t 进行 topo I 毒性测定, 化合物 48j 的活性高于喜树碱, 其他 3 个化合物的活性类似于喜树碱或略低于喜树碱^[35]。

2016 年以来 7-甲基-10-羟基喜树碱衍生物的化学结构见图 7。

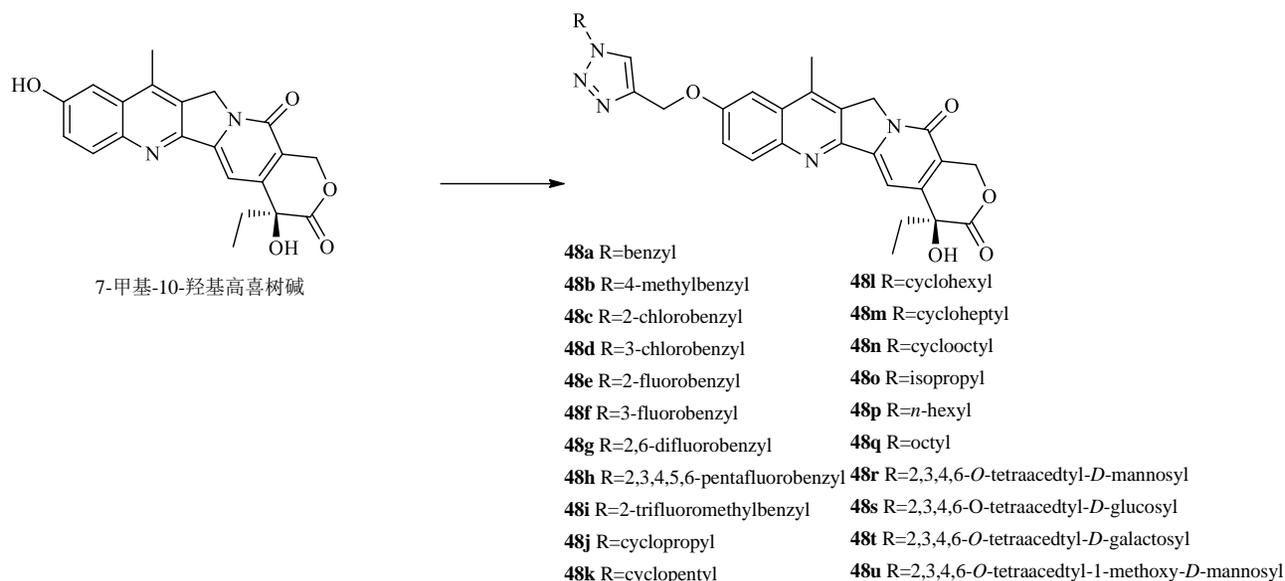


图7 2016年以来7-甲基-10-羟基喜树碱衍生物的化学结构

Fig. 7 Chemical structures of 7-methyl-10-hydroxyhomocamptothecin derivatives since 2016

近年来另1个受关注的生物碱为来自于苦豆子 *Sophora alopecuroides* L.的喹诺里西啉类生物碱槐定碱，用于治疗滋养细胞肿瘤。对其改造的方式有：一是D环打开与磷酸胺氮芥通过酰胺键而形成杂合体，获得化合物49a~49e。因topo I是槐定碱的作用靶点，氮芥也能作用于DNA，通过分子对接实验发现49a~49e通过与topo I活性口袋中的氨基酸残基及DNA碱基双重作用与DNA-topo I共价复合物进行很好结合，具有topo I抑制作用^[36]；第2种改造是D环打开后羧基还原为羟基，氨基烷基化得化

合物50，该化合物相对于母体化合物，抗肿瘤谱及活性均有了显著的提高，其机制是通过稳定DNA-topo I复合物而抑制topo I的活性，通过促进topo I介导的DNA单链和双链的断裂而诱导线粒体途径的凋亡^[37]。

2016年以来槐定碱衍生物的化学结构见图8。

此外2019年还报道了1个结构类似于喜树碱的天然产物luotonin A，在此结构母体1~4不同位置引入氨基获得化合物51a~51d，化合物51d水溶性太差，其他3个均进行了MTT实验，对人白血病

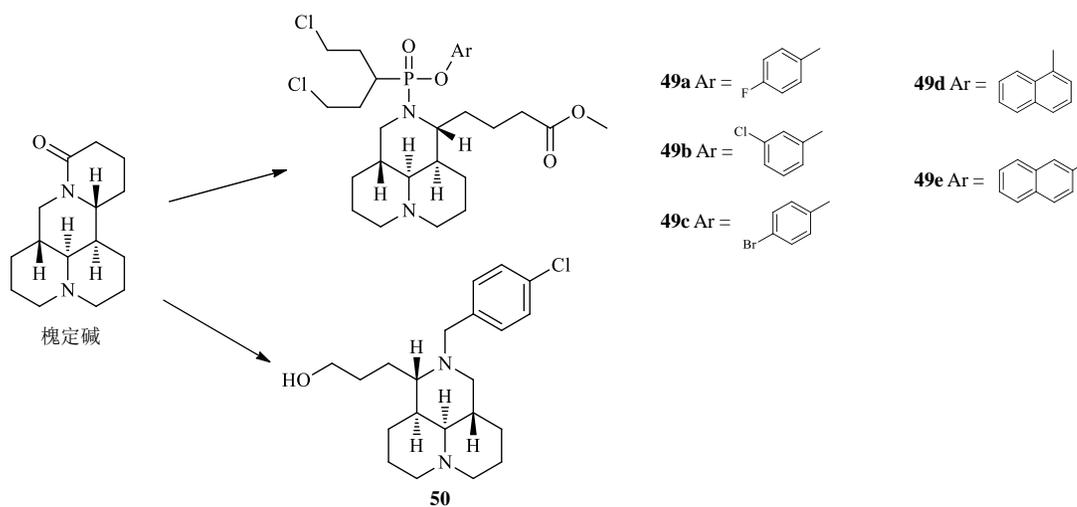


图8 2016年来槐定碱衍生物的化学结构

Fig. 8 Chemical structures of sophoridine derivatives since 2016

HL60 细胞, 化合物 **51b** 的抑制作用显著强于母体化合物 luotonin A, 而化合物 **51a**、**51c** 活性与 luotonin A 相当; 对于人结肠癌 SW480 细胞, 化合物 **51a** 和 **51b** 的活性均强于母体 luotonin A, 化合物 **51c** 则与 luotonin A 相当。对于 DNA topo I 的抑制作用实验发现化合物 **51a**、**51b**、**51d** 均表现出比喜树碱更强的抑制活性, 而化合物 **51c** 则没有抑制作用^[38]。

玫瑰树碱是来自于热带一种常绿小树古城玫瑰树 *Ochrosia elliptica* Labill. 的生物碱, 由于其独特的平面四环结构成为了抗癌药物研发热点, 多个衍生

物已进入临床实验^[39-40]。鉴于该化合物对 topo II 的抑制作用, 进行 11 位的取代修饰, 获得 3 个化合物 **52~54**, 且均表现出对 topo II 有较好地抑制作用。化合物 **52~54** 在 DNA 松弛实验中 100 μmol/L 对 topo II 显示出良好的抑制活性, 尤其是 11 位连有 α, β-不饱和羰基的化合物 **53** 和 9 位连有亚胺, 11 位为甲酰的化合物 **54** 具有更大的潜力, 体现着一种新的开发角度, 为今后该类化合物活性的提高提供了参考^[41]。

2016 年以来 luotonin A 和玫瑰树碱衍生物的化学结构见图 9。

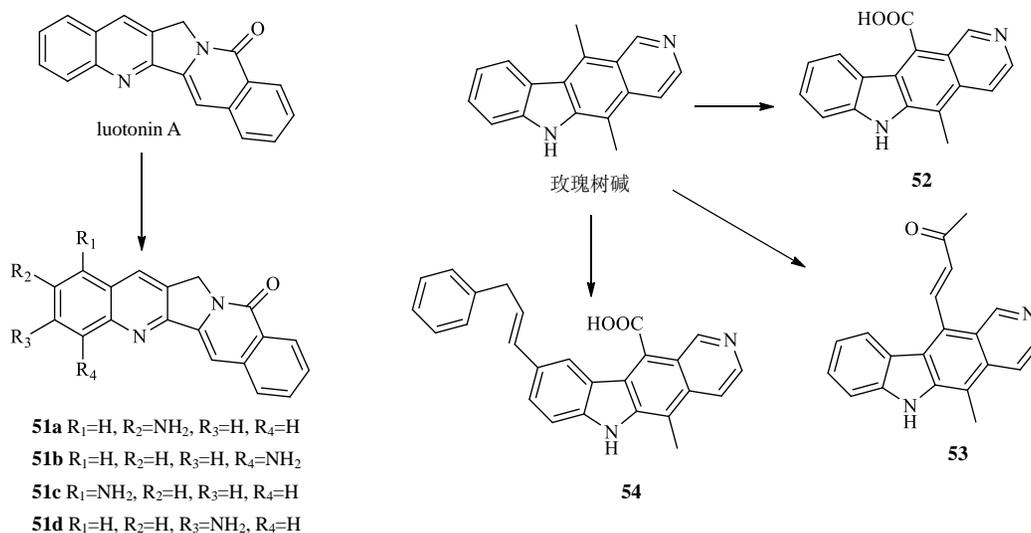


图 9 2016 年以来 luotonin A 和玫瑰树碱衍生物的化学结构

Fig. 9 Chemical structures of luotonin A and ellipticine derivatives since 2016

吴茱萸碱是来自于吴茱萸的 1 个吲哚吡嗪啉酮生物碱, 为 topo I、II 双抑制剂, 通过稳定 topo I、II-DNA 复合物导致 DNA 断裂而诱导细胞凋亡。对吴茱萸碱的结构分析, 通过骨架跃迁合成了化合物 **55a~55d**。这些化合物在 100 μmol/L 时可以抑制 topo I 介导的 DNA 超螺旋松弛, 但对 topo II 没有作用, 进一步的研究发现同喜树碱一样, 化合物 **55b** 作为 topo I 的毒物而起到作用, 另外化合物 **55b** 也

可以浓度相关性地抑制微管蛋白的聚合, IC₅₀ 为 26.3 μmol/L, 表现出对 topo I 和微管蛋白具有明显的选择性^[42]。

2016 年以来吴茱萸碱衍生物的化学结构见图 10。

2.2 木脂素类衍生物

木脂素类成分修饰主要围绕鬼臼毒素展开^[43], 且常以 4 位修饰为主, 如以鬼臼毒素为起始物在其 4 位引入 4β 羧基三唑, 合成出了化合物 **56a~56i** 和

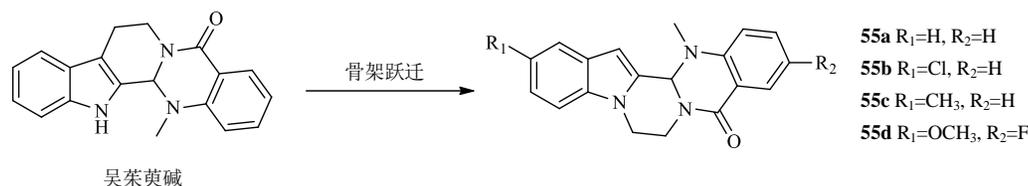


图 10 2016 年以来吴茱萸碱衍生物的化学结构

Fig. 10 Chemical structures of evodiamine derivatives since 2016

57a~57k 等多个鬼臼毒素的衍生物, 这些衍生物显示了很高抗增殖作用, 对 HeLa 细胞、MCF-7 细胞、人前列腺癌 DU-145 细胞、A549 细胞、HepG2 细胞和 HT-29 细胞等增殖的 IC₅₀ 值在 1~10 μmol/L, 尤其是化合物 56b、56g 和 56i, IC₅₀ 值低于 1 μmol/L, 比依托泊苷还强。topo 介导的 DNA 松弛实验显示这些代表性衍生物 56b、56g、56i 均能有效抑制 topo II 的活性, 与依托泊苷相当^[44]。另一种鬼臼毒素的 4 位引入 4β-N-乙酰胺获得化合物 58a~58t 等 20 个鬼臼毒素衍生物, 通过对 4 个肿瘤细胞 (人食管癌 EC-9706 细胞、HeLa 细胞、人膀胱癌 T-24 细胞和 H460 细胞) 和 1 个正常细胞 (人正常皮肤 HaCaT 细胞) 的 MTT 实验发现化合物 58f 的活性最好, 对这些肿瘤细胞增殖的 IC₅₀ 值在 1.2~22.8 μmol/L, 低于对照依托泊苷 (8.4~78.2 μmol/L)。化合物 58e

对 HeLa 细胞、T-24 细胞有着更高的细胞毒性, 鉴于鬼臼毒素作用 topo, 对所得衍生物以化合物 58e 为代表进行了分子对接实验显示化合物 58e 可以与 topo IIα 很好的结合, 说明还保留鬼臼毒素作用的靶点^[45]。

2016 年以来鬼臼毒素类衍生物的化学结构见图 11。

叶下珠素类是另一类含内酯类的芳基萘类木脂素, 主要来源于植物叶下珠 *Phyllanthus urinaria* L., 该类成分主要是以山荷叶素为苷元与多种糖基形成的苷, 在结构上与鬼臼毒素类相似, 具有良好的抗肿瘤作用。鉴于鬼臼毒素类化合物作用于 topo II, 改造山荷叶素, 寻找新的 topo 抑制剂, 获得以山荷叶素为苷元的芳基萘类木脂素化合物 59~61, 结构类似于叶下珠素, 对 HT-29 细胞的 IC₅₀ 值在 18~140 nmol/L, 对 topo II 的抑制作用比其母体化合物山荷

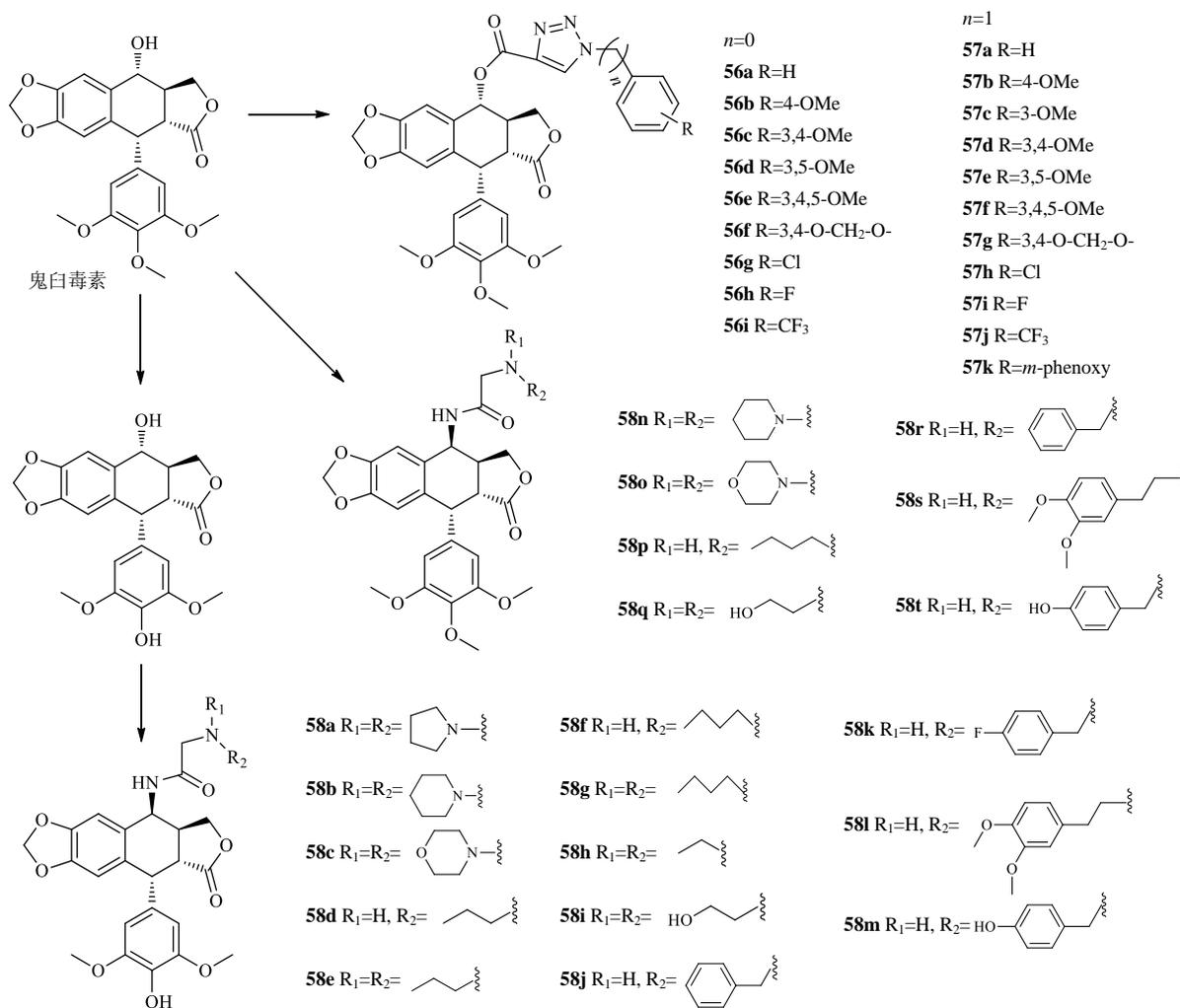


图 11 2016 年以来鬼臼毒素类衍生物的化学结构

Fig. 11 Chemical structures of podophyllotoxin derivatives since 2016

叶素强, 但弱于依托泊苷^[46]。

2016 年以来山荷叶素类衍生物的化学结构见图 12。

2.3 黄酮及萜类衍生物

黄酮类是天然产物中最为常见的成分之一, 包括黄酮、异黄酮、查耳酮等, 其中噢啞亦属于黄酮类, 且具有 *topo* 抑制作用^[47]。对噢啞进行骨架跃迁可以设计出合成 2-芳基亚甲基咪唑[1,2-a]吡啶酮类化合物, 如化合物 **62a**~**62j** (图 13)。这些化合物相比于依托泊苷, 对 *topo II α* -介导的 DNA 断开抑制能力更强, 在相同的取代条件下, 化合物 **62c**、**62f**

相比于母体橙酮 (C1 和 C2), 对 *topo II α* 的抑制作用更强。另外这些化合物对 MCF-7 细胞的抑制浓度在 nmol/L 水平^[48]。说明了骨架跃迁设计思路对于噢啞类化合物开发是一个较佳的选择。

对黄酮及异黄酮同样可以采取骨架跃迁设计策略, 如由黄酮设计出 2-芳基-4*H*-吡啶并[1,2-a]嘧啶-4-酮类化合物 **63a**~**63g**, 由异黄酮设计出 3-芳基-4*H*-吡啶并[1,2-a]嘧啶-4-酮类化合物 **64a**~**64i** (图 14)。这些化合物及其母体 C1~C4、C6~C7 对 *topo II α* 抑制作用均比依托泊苷强, 通过选择性抑制 *topo II α* 的催化作用, 而不干扰 DNA 大沟结构域处 *topo I*

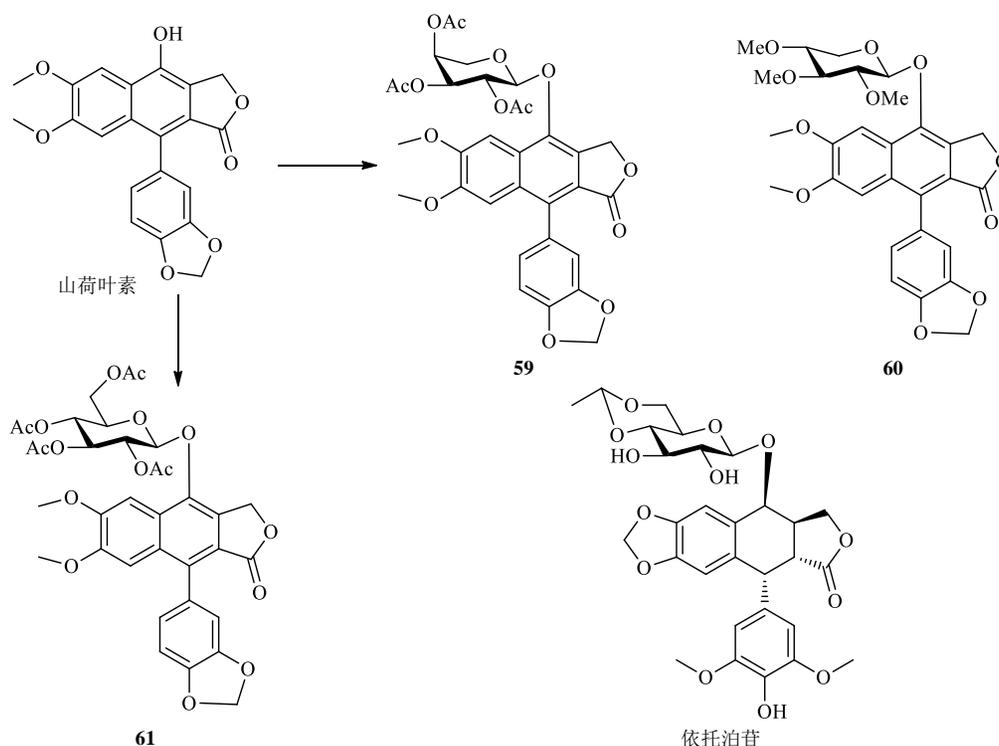


图 12 2016 年以来山荷叶素类衍生物的化学结构

Fig. 12 Chemical structures of diphyllin derivatives since 2016

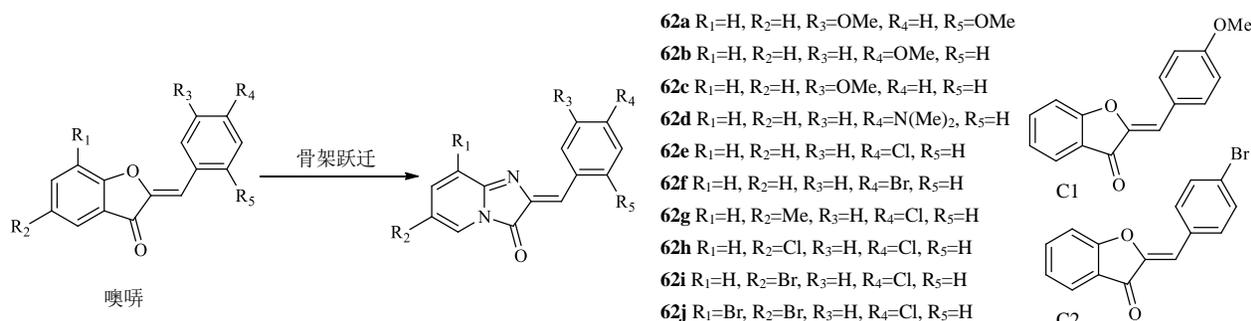


图 13 2016 年以来噢啞类的结构改造

Fig. 13 Structures modification of aurones since 2016

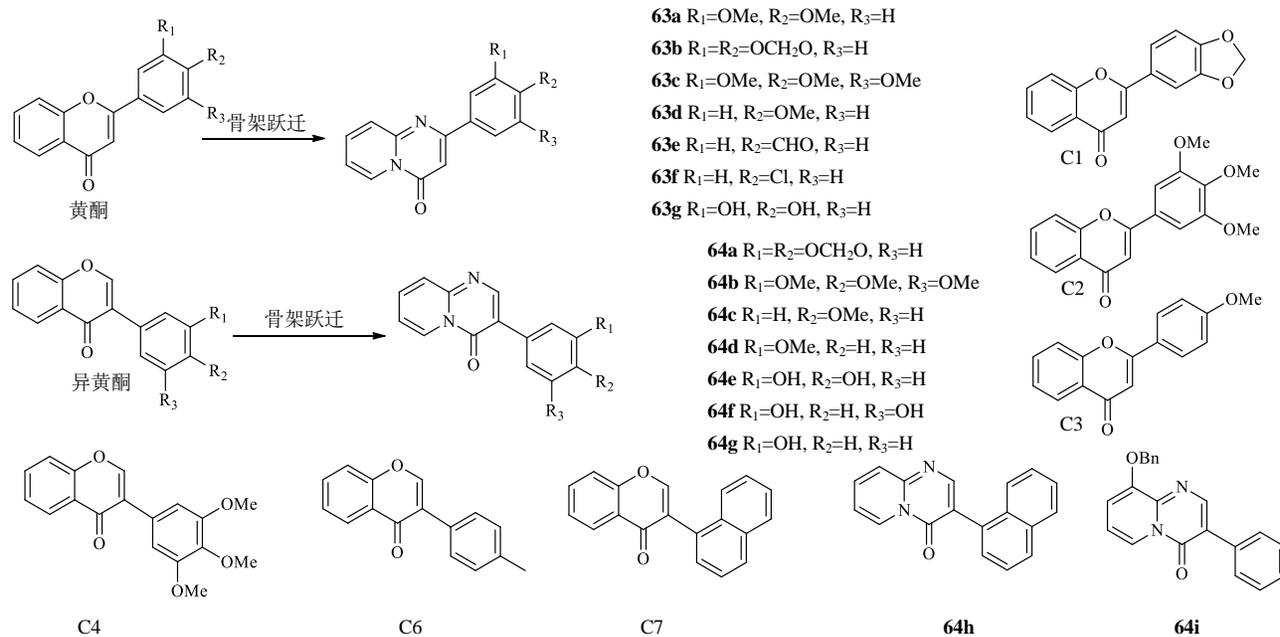


图 14 2016 年以来黄酮类的结构改造

Fig. 14 Structures modification of flavonoids since 2016

与 DNA 的相互作用。对人胚肾 HEK-293 细胞 IC_{50} 值在 $1.5\sim 4.0\ \mu\text{mol/L}$ 。与母体化合物相比，通过骨架跃迁设计的化合物保留了相似功能，有的还提高了对 $\text{topo II}\alpha$ 的抑制作用^[49]，为众多的黄酮类化合物的开发提供了一种新的思路。

萜类成分是抗肿瘤天然产物中的佼佼者，如紫杉醇等，是抗肿瘤药物开发中良好先导化合物来源

之一^[50-51]。反式-去氢巴豆宁是从巴西亚马逊巴豆 *Croton cajucara* Benth 的茎皮中分离出来的 1 个克罗烷型二萜，以其为母体化合物，在酮羰基上经亚胺修饰即可获得化合物 65~69（图 15）。获得的化合物 66~69 对腹水瘤 Ehrlich 细胞的抑制作用明显强于母体化合物。同时化合物 65~67、69 对 K562 细胞具有一定的抑制作用， IC_{50} 为 $7.85\sim 40.72$

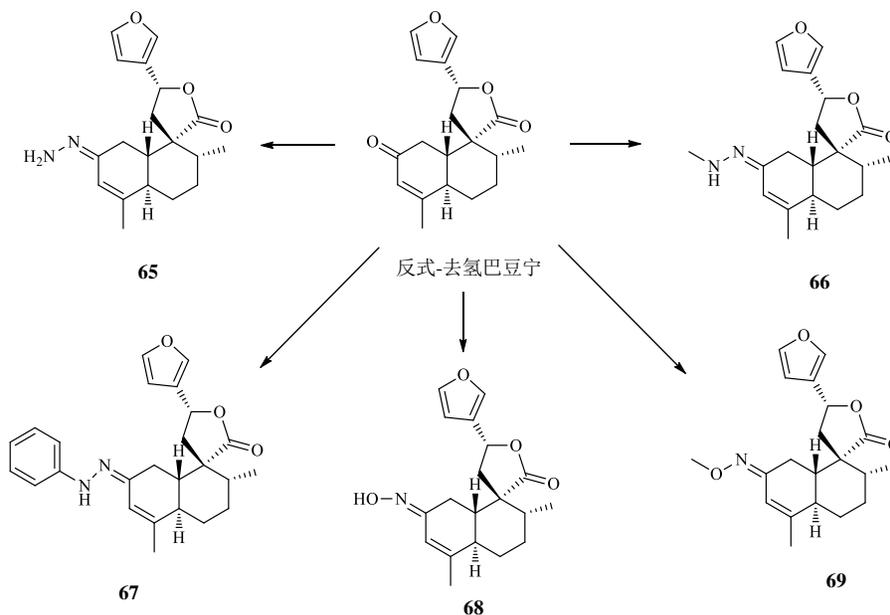


图 15 2016 年以来反式-去氢巴豆宁衍生物的化学结构

Fig. 15 Chemical structures of *trans*-dehydrocrotonin derivatives since 2016

$\mu\text{mol/L}$ 。进一步的机制研究发现,除了化合物 66 之外,这些化合物对 topo I 均有较强的抑制作用,尤其是化合物 67 作用最强^[52]。可见,通过对天然产物进行修饰,即使是初步的修饰,也可能获得较大的收益。

3 结语

天然产物是抗肿瘤药物的重要来源之一,分布在不同科属植物中,成分类型多样,涉及几乎所有成分类型^[53]。天然产物抗肿瘤作用的靶点各异,DNA topo 是其作用靶点之一,受到了广泛的关注。目前已发现许多种天然 topo 抑制剂,如生物碱类、木脂素类、黄酮类等,在新药的开发中提供了众多重要价值的先导化合物,如以羟喜树碱为基础开发出的拓扑替康、伊立替康;以鬼臼毒素为基础开发出的依托泊苷,它们已成为临床抗肿瘤的重要药物。近年来,天然 topo 抑制剂亦取得了很多成果。然而,纵观天然 topo 抑制剂,可以发现,成分类型比较集中,多以生物碱为主,其他结构类型的天然 topo 抑制剂较少,而且最近发现的很多成分来自于海洋植物,说明海洋是未来发现天然 topo 抑制剂的一个主要来源。由于天然产物本身存在的局限,如水溶性较差,活性不强,毒性太大等,以天然成分为基础,进行改造、修饰、转化,是一种行之有效的药物开发策略,也是今后药物开发的重点,近年来的研究成果也充分体现了这点,因此以天然产物为基础,进行深层次结构开发是 topo 抑制剂开发的一个重要方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wang J C. Cellular roles of DNA topoisomerases: A molecular perspective [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3(6): 430-440.
- [2] Nitiss K C, Nitiss J L, Hanakahi L A. DNA damage by an essential enzyme: A delicate balance act on the tightrope [J]. *DNA Repair*, 2019, 82: 102639.
- [3] Giaccone G, van Ark-Otte J, Scagliotti G, et al. Differential expression of DNA topoisomerases in non-small cell lung cancer and normal lung [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1264(3): 337-346.
- [4] Bax B D, Murshudov G, Maxwell A, et al. DNA topoisomerase inhibitors: Trapping a DNA-cleaving machine in motion [J]. *J Mol Biol*, 2019, 431(18): 3427-3449.
- [5] Jain C K, Majumder H K, Roychoudhury S. Natural compounds as anticancer agents targeting DNA topoisomerases [J]. *Curr Genomics*, 2017, 18(1): 75-92.
- [6] Kintzios S E. Terrestrial plant-derived anticancer agents and plant species used in anticancer research [J]. *Crit Rev Plant Sci*, 2007, 25(2): 79-113.
- [7] Hadavand Mirzaei H, Jassbi A R, Pirhadi S, et al. Study of the mechanism of action, molecular docking, and dynamics of anticancer terpenoids from *Salvia lachnocalyx* [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2020, 40(1): 24-33.
- [8] Lee M G, Liu Y C, Lee Y L, et al. Heteronemin, a marine sesterterpenoid-type metabolite, induces apoptosis in prostate LNCap cells via oxidative and ER stress combined with the inhibition of topoisomerase II and hsp90 [J]. *Mar Drugs*, 2018, 16(6): 204.
- [9] Lai K H, Liu Y C, Su J H, et al. Antileukemic scalarane sesterterpenoids and meroditerpenoid from *Carteriospongia (Phyllospongia)* sp., induce apoptosis via dual inhibitory effects on topoisomerase II and hsp90 [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 36170.
- [10] Otake K, Yamada K, Miura K, et al. Identification of topoisomerases as molecular targets of cytosporolide C and its analog [J]. *Bioorg Med Chem*, 2019, 27(15): 3334-3338.
- [11] Skok Z, Zidar N, Kikelj D, et al. Dual inhibitors of human DNA topoisomerase II and other cancer-related targets [J]. *J Med Chem*, 2020, 63(3): 884-904.
- [12] Kaur P, Sharma V. Prospective plant based anticancer lead molecules [J]. *Curr Top Med Chem*, 2018, 18(30): 2567-2583.
- [13] Li F, Janussen D, Peifer C, et al. Targeted isolation of tsitsikammamines from the antarctic deep-sea sponge *Latrunclia biformis* by molecular networking and anticancer activity [J]. *Mar Drugs*, 2018, 16(8): 268.
- [14] Kalinski J J, Waterworth S, Siwe Noundou X, et al. Molecular networking reveals two distinct chemotypes in pyrroloiminoquinone-producing *Tsitsikamma favus* sponges [J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(1): 60.
- [15] Dalvie E D, Gopas J, Golan-Goldhirsh A, et al. 6,6'-dihydroxythiobinupharidine as a poison of human type II topoisomerases [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019, 29(15): 1881-1885.
- [16] Yang N, Yue R, Ma J, et al. Nitidine chloride exerts anti-inflammatory action by targeting topoisomerase I and enhancing IL-10 production [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 148: 104368.
- [17] Song X D, Wang Y N, Zhang A I, et al. Advances in research on the interaction between inflammation and cancer [J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(4): 300060519895347.

- [18] Almeida A F, Dos Santos C N, Ventura M R. Polyphenols, their metabolites and derivatives as drug leads [J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(19): 2188-2207.
- [19] Jadaun A, Subbarao N, Dixit A. Allosteric inhibition of topoisomerase I by pinostrobin: Molecular docking, spectroscopic and topoisomerase I activity studies [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2017, 167: 299-308.
- [20] Xin L T, Liu L, Shao C L, et al. Discovery of DNA topoisomerase I inhibitors with low-cytotoxicity based on virtual screening from natural products [J]. *Mar Drugs*, 2017, 15(7): 217.
- [21] Li X, Wu X, Zhu J, et al. Amexanthomycins A-J, pentangular polyphenols produced by *Amycolatopsis mediterranei* S699ΔrifA [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2017, 102(2): 689-702.
- [22] Panter F, Krug D, Baumann S, et al. Self-resistance guided genome mining uncovers new topoisomerase inhibitors from myxobacteria [J]. *Chem Sci*, 2018, 9(21): 4898-4908.
- [23] Hall S R, Toulany J, Bennett L G, et al. Jadomycins inhibit type II topoisomerases and promote DNA damage and apoptosis in multidrug-resistant triple-negative breast cancer cells [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2017, 363(2): 196-210.
- [24] Vann K R, Ekiz G, Zencir S, et al. Effects of secondary metabolites from the fungus *Septofusidium berolinense* on DNA cleavage mediated by human topoisomerase II α [J]. *Chem Res Toxicol*, 2016, 29(3): 415-420.
- [25] Alallah M I, Alhemaïd F, Bai F, et al. The binding proximity of methyl β -lilacinobioside isolated from *Caralluma retropiciens* with topoisomerase II attributes apoptosis in breast cancer cell line [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2018, 25(8): 1826-1833.
- [26] Selvakumar J N, Chandrasekaran S D, Doss G P C, et al. Inhibition of the atpase domain of human topoisomerase α on HepG2 cells by 1,2-benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexyl) ester: Molecular docking and dynamics simulations [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2019, 19(6): 495-503.
- [27] Sośnicki J G, Idzik T J. Pyridones-powerful precursors for the synthesis of alkaloids, their derivatives, and alkaloid-inspired compounds [J]. *Synthesis*, 2019, 51(18): 3369-3396.
- [28] Pommier Y. Topoisomerase I inhibitors: Chemistry, biology, and interfacial inhibitions [J]. *Chem Rev*, 2009, 109(7): 2894-2902.
- [29] Mathijssen R H, van Alphen R J, Verweij J, et al. Clinical pharmacokinetics and metabolism of irinotecan (CPT-11) [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(8): 2182-2194.
- [30] Slatter J G S L, Sams J P, et al. Pharmacokinetics, metabolism, and excretion of irinotecan (CPT-11) following i. V. Infusion of [(14)c] (CPT-11) in cancer patients [J]. *Drug Metab Dispos*, 2000, 28(4): 423-433.
- [31] Naumczuk B, Wiktorska K, Lubelska K, et al. New generation of camptothecin derivatives spontaneously alkylating DNA [J]. *New J Chem*, 2016, 40(9): 7978-7985.
- [32] Jin C, Zhang Q, Lu W. Synthesis and biological evaluation of hypoxia-activated prodrugs of sn-38 [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 132: 135-141.
- [33] 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, 604: 74-85.
- [34] Cincinelli R, Musso L, Artali R, et al. Camptothecin-psammaphin a hybrids as topoisomerase I and hdac dual-action inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 143: 2005-2014.
- [35] Xu X, Wu Y, Liu W, et al. Discovery of 7-methyl-10-hydroxyhomocamptothecins with 1,2,3-triazole moiety as potent topoisomerase I inhibitors [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2016, 88(3): 398-403.
- [36] Dai L L, Li D D, Zhao X M, et al. Synthesis and antitumor effect of sophoridine derivatives bearing an acyclic aryloxy phosphoramidate mustard functionality [J]. *J Heterocyclic Chem*, 2019, 56(2): 417-425.
- [37] Zhao W, Zhang C, Bi C, et al. Sophoridinol derivative 05d induces tumor cells apoptosis by topoisomerase I-mediated DNA breakage [J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9: 2805-2817.
- [38] Ibric A, Eckerstorfer S, Eder M, et al. Position-selective synthesis and biological evaluation of four isomeric A-ring amino derivatives of the alkaloid luotonin A [J]. *Molecules*, 2019, 24(4): 716.
- [39] Rouëssé J, Spielmann M, Turpin F, et al. Phase II study of elliptinium acetate salvage treatment of advanced breast cancer [J]. *Eur J Cancer*, 1993, 29A(6): 856-859.
- [40] Paoletti C, Le Pecq J B, Dat-Xuong N, et al. Antitumor activity, pharmacology, and toxicity of ellipticines, ellipticinium, and 9-hydroxy derivatives: Preliminary clinical trials of 2-methyl-9-hydroxy ellipticinium (NSC 264-137) [J]. *Recent Results Cancer Res*, 1980, 74: 107-123.
- [41] Miller C M, O'Sullivan E C, McCarthy F O. Novel 11-substituted ellipticines as potent anticancer agents with divergent activity against cancer cells [J]. *Pharmaceuticals*, 2019, 12(2): 90.

- [42] Wang L, Fang K, Cheng J, *et al.* Scaffold hopping of natural product evodiamine: Discovery of a novel antitumor scaffold with excellent potency against colon cancer [J]. *J Med Chem*, 2019, 63(2): 696-713.
- [43] Zhang X, Rakesh K P, Shantharam C S, *et al.* Podophyllotoxin derivatives as an excellent anticancer aspirant for future chemotherapy: A key current imminent needs [J]. *Bioorg Med Chem*, 2018, 26(2): 340-355.
- [44] Reddy V G, Bonam S R, Reddy T S, *et al.* 4beta-amidotriazole linked podophyllotoxin congeners: DNA topoisomerase-IIalpha inhibition and potential anticancer agents for prostate cancer [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 144: 595-611.
- [45] Wei J, Chen J, Ju P, *et al.* Synthesis and biological evaluation of 4β-N-acetylamino substituted podophyllotoxin derivatives as novel anticancer agents [J]. *Front Chem*, 2019, 7: 253.
- [46] Woodard J L, Huntsman A C, Patel P A, *et al.* Synthesis and antiproliferative activity of derivatives of the phyllanthusmin class of aryl-naphthalene lignan lactones [J]. *Bioorg Med Chem*, 2018, 26(9): 2354-2364.
- [47] Ballinari D, Bonomini L, Ermoli A, *et al.* Aurones as telomerase inhibitors: Italia, EP2002/004191 [P]. 2002-04-15.
- [48] Priyadarshani G, Nayak A, Amrutkar S M, *et al.* Scaffold-hopping of aurones: 2-arylideneimidazo [1,2-a] pyridinones as topoisomerase IIα-inhibiting anticancer agents [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2016, 7(12): 1056-1061.
- [49] Priyadarshani G, Amrutkar S, Nayak A, *et al.* Scaffold-hopping of bioactive flavonoids: Discovery of arylpyridopyrimidinones as potent anticancer agents that inhibit catalytic role of topoisomerase IIα [J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 122: 43-54.
- [50] Islam M T. Diterpenes and their derivatives as potential anticancer agents [J]. *Phytother Res*, 2017, 31(5): 691-712.
- [51] Chen Y, Zhao J, Li S, *et al.* Total synthesis of sesterterpenoids [J]. *Nat Prod Rep*, 2019, 36(2): 263-288.
- [52] Esteves-Souza A, Pissinate K, Maciel M, *et al.* Synthesis of new *trans*-dehydrocrotonin nitrogenated derivatives and their cytotoxic and DNA-topoisomerase I inhibitory activities [J]. *J Brazil Chem Soc*, 2017, 29(1): 133-139.
- [53] Shen B. A new golden age of natural products drug discovery [J]. *Cell*, 2015, 163(6): 1297-1300.

[责任编辑 崔艳丽]