

· 综述 ·

抗肿瘤多药耐药微管蛋白调节剂的研究进展

施赛健¹, 张 文², 厉廷有¹, 庄春林² (1. 南京医科大学药学院药物化学系, 江苏 南京 211166; 2. 第二军医大学药学院海洋药物研究中心, 上海 200433)

[摘要] 2015年,全世界有超过800万人死于肿瘤。传统化疗药物仍广泛应用于临床一线,但超过50%的肿瘤对此类药物产生明显的耐药性。微管蛋白调节剂已成为临床证实有效的抗癌药物。然而,紫杉醇、长春碱等传统微管蛋白调节剂也会产生严重耐药。近年来,研究发现作用于微管蛋白秋水仙碱位点的微管蛋白调节剂对抗肿瘤多药耐药具有很好的效果。本文综述近年来此类抗肿瘤多药耐药微管蛋白调节剂的研究进展。

[关键词] 抗肿瘤;多药耐药;微管蛋白;调节剂

[中图分类号] R914

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2017)05-0385-10

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.05.001

Recent research progress on anti-microtubule agents targeting multi-drug resistant cancers

SHI Saijian¹, ZHANG Wen², LI Tingyou¹, ZHUANG Chunlin² (1. Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China; 2. Research Center for Marine Drugs, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] In 2015, more than 8 million people died from various kinds of cancers all over the world. Although traditional chemotherapeutic drugs are widely used in clinic, more than 50% of cancers are significantly resistant to traditional chemotherapeutic drugs. Tubulin targeting agents have been confirmed to be effective anti-cancer drugs in clinic. However, some anti-microtubule agents developed resistance after long-term use, such as paclitaxel and vinblastine. In recent years, it is reported that tubulin modulators targeting on the colchicine-binding site are extremely effective against multi-drug resistant cancer cells. In this article, different anti-microtubule agents targeting multi-drug resistant cancers are reviewed.

[Key words] anti-cancer; multidrug resistant; tubulin; modulator

微管是细胞骨架的主要组成部分,在细胞生理活动的各阶段都起重要作用^[1]。微管在细胞分裂前期聚合成纺锤体,而纺锤体可在有丝分裂中牵引染色体向两极移动进入两个子细胞,从而完成细胞增殖^[2]。微管蛋白调节剂能影响微管动力学性质,促进微管聚合或引起微管解聚,从而干扰细胞的有丝分裂,达到抑制细胞增殖的作用。微管蛋白调节剂被广泛用于肿瘤化疗,然而其治疗窗窄、选择性差、易产生耐药等问题严重限制了其临床应用^[3]。通过联合用药的方法可以在一定程度上避免耐药性的产

生,但也可能给机体带来毒副作用^[4]。因此,研究新型抗肿瘤多药耐药微管蛋白调节剂具有十分广阔的临床前景和需求。

1 肿瘤多药耐药机制

肿瘤多药耐药(multi-drug resistance, MDR)的发生受多种因素影响,目前报道有:ATP结合性盒型转运蛋白超家族(又称ABC转运体,ATP-binding cassette transporters)^[5]、谷胱甘肽-S-转移酶过表达引起的解毒作用^[6]、拓扑异构酶水平的下调引起DNA断裂减少^[7]、细胞凋亡信号通路的改变^[8]等。

目前研究最多的肿瘤MDR机制为ABC转运体。ABC转运体位于细胞膜,可利用ATP水解提供的能量介导内源或外源性物质进出细胞。该家族介导的耐药蛋白约有15个,主要包括P糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)、MDR相关蛋白(multi-drug re-

[基金项目] 上海市教委青年科研骨干培养计划(晨光计划, 16CG42)

[作者简介] 施赛健,2013级药学本科.Email:poetry1226@163.com

[通讯作者] 庄春林,讲师.研究方向:抗肿瘤药物设计.Tel:(021) 81871258;Email:zelnathan@163.com

sistance-associated protein, MRP)、乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP)等^[4]。P-gp 是 ABC 转运体家族中被研究得最为透彻的一个,是由多药耐药基因(multidrug resistance gene, MDR1)编码,一般在耐药细胞的细胞膜上过表达,可介导癌细胞对多种药物的耐药,包括长春碱类、蒽环类、鬼臼毒素类和紫杉醇类药物^[9]。P-gp 由 4 个结构功能域组成(图 1),包括 2 个核苷酸结合域(nucleotide binding sites, NBDs)和 2 个跨膜结构域(trans-membrane domains, TMDs)。2 个核苷酸结合域与 ATP 酶活性和药物转运功能有关,这 2 个核苷酸结合域形成 1 个供 ATP 结合与水解的口袋;2 个跨膜结构域优先与分子较大的中性或带正电的亲脂性药物结合^[10,11]。2 分子 ATP 结合在核苷酸结合域并水解释放能量转运 1 分子药物到细胞外,使得胞内药物浓度降低,从而导致肿瘤 MDR^[4]。

肿瘤细胞对微管蛋白调节剂产生耐药的机制除了 P-gp 的过表达之外,还包括微管蛋白突变引起微管稳定性或药物结合位点的改变、同型微管蛋白或者微管相关蛋白(microtubule associated protein, MAP)的表达改变、微管与细胞骨架蛋白(γ 肌动蛋白或肌动蛋白调节蛋白)相互作用引起的改变^[12]。其中最主要的机制是 β -III 型微管蛋白的表达改变,临床证据证明 β -III 型微管蛋白与紫杉醇的耐药密切相关。 β -III 型微管蛋白在紫杉醇耐药细胞株中过表达^[13], β -III 型微管蛋白在非小细胞肺癌细胞中表达沉默后,可提高该肿瘤细胞对紫杉醇类药物的敏感性^[14]。

2 抗肿瘤耐药的微管蛋白调节剂

2.1 微管的结构生物学

微管呈中空圆筒状,直径为 24~26 nm,具有生长速度较快而解离速度较慢的正端和生长速度较慢而解离速度较快的负端。其负端通常是固定的,正端通过添加与 GTP 结合的亚基来进入周围的细胞质^[15]。微管主要由 α 和 β 微管蛋白组成,两者三维结构相似,紧密结合形成微管的基本组成单位——微管蛋白异二聚体(图 2)。 α 和 β 微管蛋白是球状蛋白,由大约 450 个氨基酸组成,两者有约 40% 的氨基酸序列同源^[10]。它们的三维结构由 2 个内部 β 折叠和多个外环绕 α 螺旋组成,并能分割为多个功能域。N 端由多个紧凑的 α 螺旋和 β 折叠亚基组成,并与 GTP 相结合。中间为连接功能域,2 条反向平行的 α 螺旋沿着上述 2 个功能域延伸构成了 C 端。C 端微管蛋白结构域面向外部微管表面,而 N 端 GTP 酶结构域暴露于内部空间,并且 GTP 总是结合在相邻亚基之间。微管蛋白结合的 GTP 在微管蛋白添加到微管末端时被水解成微管蛋白-GDP 和无机磷酸盐 Pi。随后 Pi 从微管解离,留下由 GDP 与微管结合组成的微管核心。含有微管蛋白结合的 GTP 或 GDP-Pi 的微管末端对于解聚是稳定的,微管蛋白结合的 GTP 的水解和随后的 Pi 释放诱导微管蛋白分子的构象变化,使微管聚合物不稳定,导致微管被破坏或缩短^[3]。

临床使用的微管蛋白调节剂(图 3)按作用机制可分为两类,一类是微管解聚剂(microtubule desta-

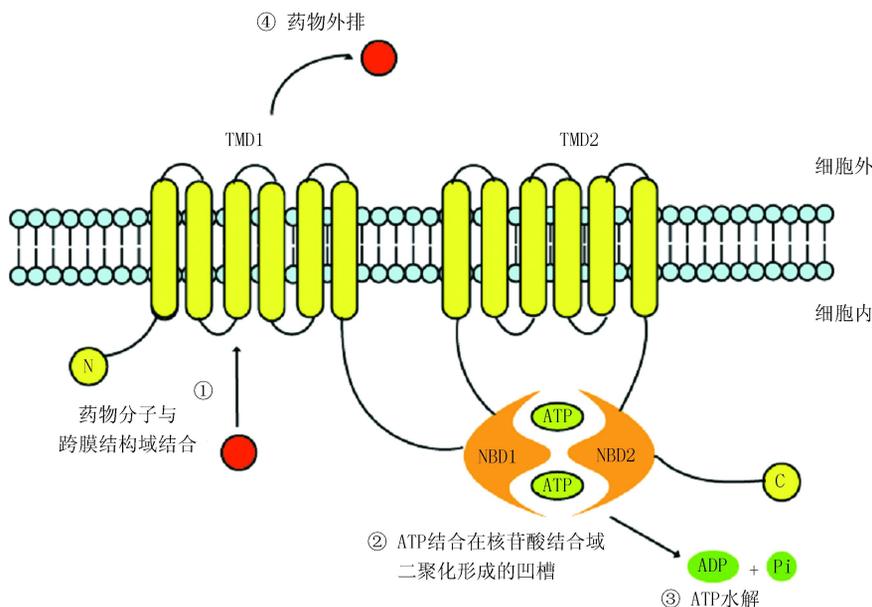


图 1 P-gp 介导的耐药机制

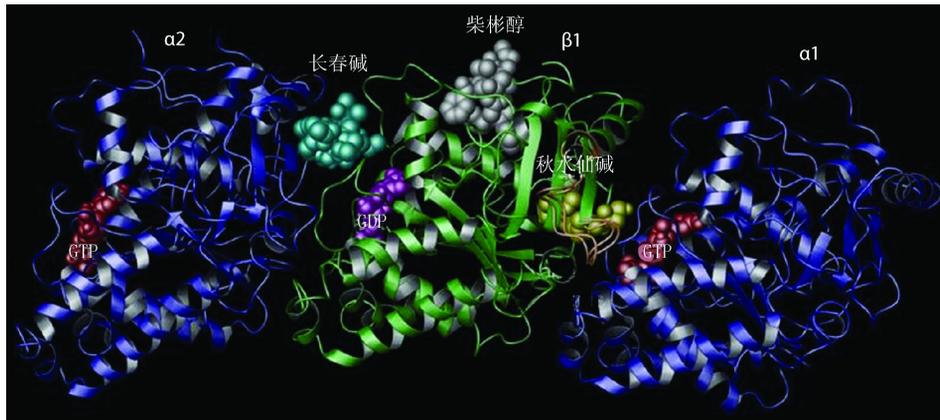


图2 α 和 β 微管蛋白的结构组成与紫杉醇(白色)、长春碱(蓝绿色)、秋水仙碱(黄色)、GDP(紫色)、GTP(红色)的结合位点

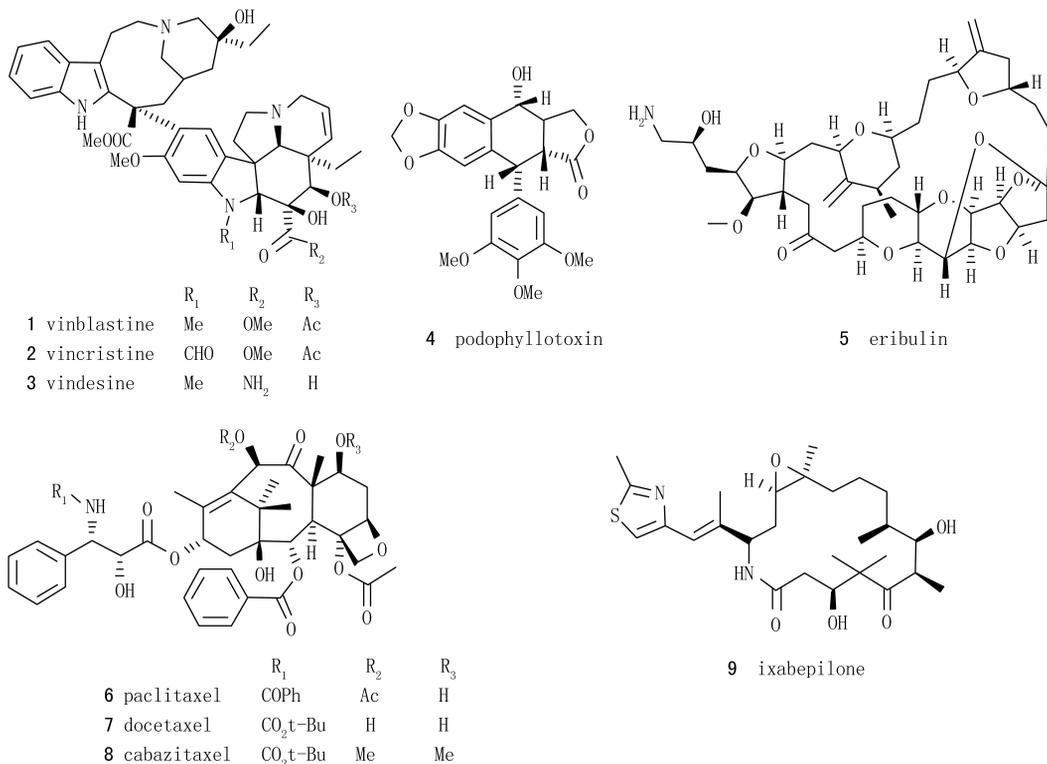


图3 临床常用的有代表性的微管蛋白调节剂

bilizing agents, MDAs), 通过阻止微管聚合来改变微管动力学和结构, 如长春碱类(1~3)、鬼臼毒素(4)、海洋天然产物艾瑞布林(5)等; 另一类是微管稳定剂(microtubule stabilizing agents, MSAs), 能促进微管聚合来干扰细胞有丝分裂, 如紫杉醇类(6~8)、伊沙匹隆(9)等。

如图2所示, 这些调节剂与微管蛋白的结合位点也各不相同: ①紫杉烷位点: 紫杉醇、多烯紫杉醇、卡巴他赛和伊沙匹隆与微管内部的 β 微管蛋白上紫杉烷位点结合^[16]; ②长春碱位点: 晶体复合物结构显示长春碱类药物需要2个不同的微管蛋白异源二

聚体来形成一个结合位点, 长春碱分子结合在2个异源二聚体之间^[17]; ③秋水仙碱位点: 秋水仙碱、康普瑞汀 A-1(CA-1)和 A-4(CA-4)与秋水仙碱位点结合, 该位点位于 β 微管蛋白和 α 微管蛋白的接口处^[18]。但迄今为止, 还没有一种作用于秋水仙碱位点的抗癌药物投入临床使用。目前, CA-4的磷酸盐(10)、CA-1的二磷酸盐(11)、2-甲氧基雌二醇(12)和 verubulin(13)已进入 I 期或 II 期临床试验阶段(图4)。

作用于秋水仙碱位点的药物大都不是 P-gp 作用底物, 可规避 P-gp 调控的抗肿瘤 MDR 机制。主

要原因有:①作用于秋水仙碱位点的药物大多是小分子物质,而 P-gp 等转运蛋白的跨膜结构域优先与大分子物质结合^[11];②该类药物几乎不受 β微管蛋白表达模式的影响,能避免 β-III型微管蛋白过表达引起的耐药^[19]。此类化合物结构修饰简单,易于得到药动学性质优良、强力有效、毒性较小的药物^[20]。近年来,作用于秋水仙碱位点的抗肿瘤耐药微管蛋白调节剂的研究成为了新热点。

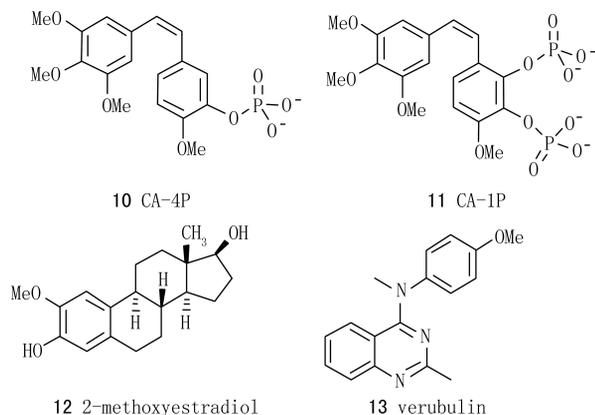


图4 作用于秋水仙碱位点的微管蛋白调节剂(处于I期或II期临床试验)

2.2 微管蛋白调节剂 作用于秋水仙碱位点的微管蛋白调节剂为解决抗肿瘤耐药提供了一个新的策略,目前发现的调节剂有多种,如 verubulin 类似物、CA-4 类似物、查尔酮类等,笔者将根据结构类型做简要介绍。

2.2.1 verubulin 类似物 Verubulin 是具有潜在

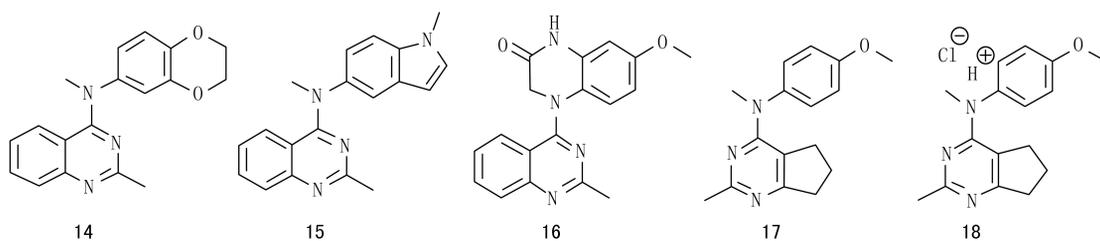


图5 verubulin 的代表性类似物

香豆素芳胺类:陈俐娟等通过骨架跃迁策略将香豆素骨架(19)引入 verubulin 结构中,设计了一系列结构新颖的微管蛋白调节剂(图6)。初步构效关系研究发现:①中间连接基为 N-甲基时活性最佳;②香豆素环上 R₁ 为甲基取代时,活性降低;③R₂ 位为脂肪链时对活性有利;R₂ 为酰胺结构和酯的结构时活性相似,但为磺酸酯时活性降低。并且发现了化合物 20 对多种肿瘤细胞株具有较强的抗增殖活性,IC₅₀ 为 (7~47) nmol/L^[27]。而且化合物 20 对

抗肿瘤活性的喹唑啉衍生物,能透过血脑屏障,目前正处于治疗复发性胶质母细胞瘤的 II 期临床研究阶段^[21]。Verubulin (13) 作用于 β微管蛋白的秋水仙碱位点并抑制微管的聚合,影响有丝分裂纺锤体的形成,引起细胞 G2/M 期周期阻滞而诱导细胞死亡。机制研究表明,verubulin 不是 ABC 转运蛋白的几种亚型的底物,对 P338/DOX、NCI/ADR-RES、MCF-7/MX、MCF-7/VP 等多种肿瘤耐药细胞有非常明显的抑制活性,其 IC₅₀ 值在 (1.3~3.4) nmol/L^[22]。作为血管生成抑制剂,可特异性地抑制肿瘤微血管,使得肿瘤组织急性缺血和肿瘤细胞死亡。值得注意的是,心血管毒性是其明显缺陷,应引起足够重视^[23]。

Mueller 等^[24]报道过 verubulin 的 2 个类似物 14 和 15 具有抗耐药肿瘤增殖活性,它们对 MCF-7/Topo、1411HP 的抑制活性为 1.0 和 5.8 nmol/L。谢兰等^[25]报道具有环氨基结构的化合物 16 对耐长春碱的 KB 细胞的 IC₅₀ 为 2.2 nmol/L。Mooberry 等^[26]对 verubulin 中喹唑啉结构进行改造,得到化合物 17 及其盐酸盐 18,其盐酸盐对 SK-OV-3 和 P-gp 过表达的 SK-OV-3 MDR-M6-6 的 IC₅₀ 分别为 11.3 和 16.4 nmol/L,其相对耐药指数(抗耐药细胞活性与非耐药细胞活性的比值, R_r)为 1.5。对 HeLa 细胞和 β-III 型微管蛋白过表达的 HeLa 细胞的 IC₅₀ 分别为 9.3 和 8.2 nmol/L,其 R_r 为 0.8(图5)。近 2 年,verubulin 类似物的研究开展较多,如香豆素芳胺类、咪唑并嘧啶类等。

耐药肿瘤细胞也有很好的效果,对 β-III 型微管蛋白过表达的 A2780/T 和 P-gp 过表达的 HCT-8/Vbl 和 MCF-7/DOX 的 IC₅₀ 值分别是 57.3、78.9、144.6 nmol/L。这表明 20 不是 P-gp 的作用底物,并且不会被 β-III 型微管蛋白基因所影响^[27]。

化合物 20 (2.5、5、10 mg/kg; iv; 2 d 一次; 共 30 d) 对卵巢癌 A2780s 荷瘤小鼠模型的肿瘤生长抑制率分别为 76.5%、85.1%、88.8%。以紫杉醇 (30 mg/kg; ip; 7 d 一次; 共 30 d) 为对照,肿瘤生长

抑制率为 82.9%。化合物 **20** (2.5、5、10 mg/kg; iv; 2 d 一次; 共 34 d) 对耐紫杉醇的 A2780/T 荷瘤小鼠模型的肿瘤生长抑制率分别为 59.2%、78.0%、82.7%; 紫杉醇 (30 mg/kg; ip; 7 d 一次; 共 34 d) 对 A2780/T 荷瘤小鼠模型的肿瘤生长抑制率仅为 37.7%。化合物 **20** 以上述浓度给药后, 小鼠并未出现体重减轻、行为异常等严重不良反应。通过免疫

荧光染色、微管动态分析、EBI 试验发现, 化合物 **20** 作用于微管蛋白的秋水仙碱结合位点, 100 nmol/L 的化合物 **20** 即可完全抑制微管蛋白聚合, 并使细胞周期停滞在 G2/M 期。

咪喃并嘧啶类: Mooberry 等以化合物 **21** 为先导结构修饰得到化合物 **22~29** (图 7)。通过评价其对胚胎小鼠平滑肌 A-10 细胞的微管解聚活性和对

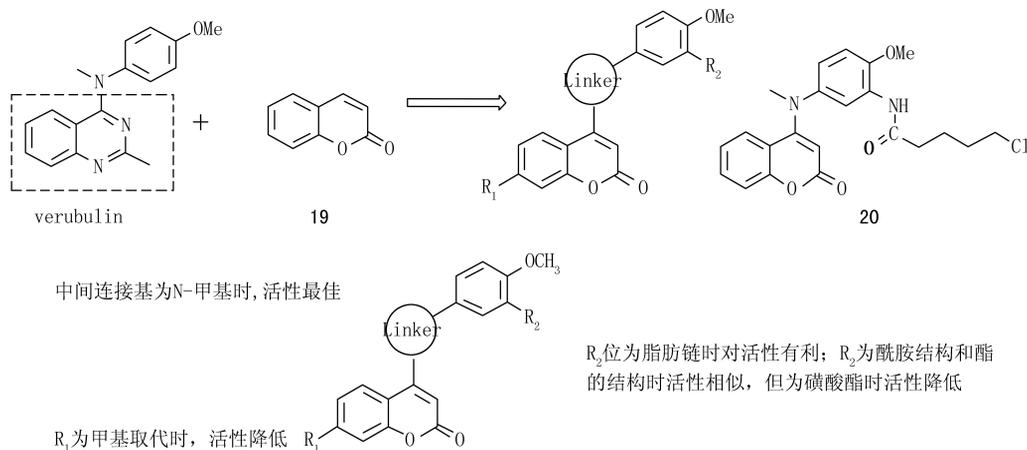


图 6 香豆素芳胺类 verubulin 类似物的化学结构和构效关系

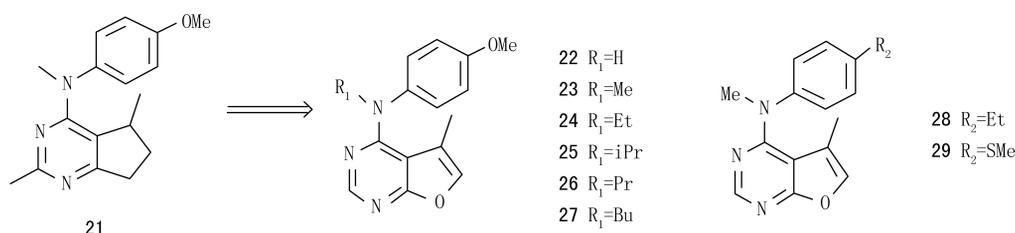


图 7 咪喃并嘧啶类 verubulin 类似物的化学结构

MDA-MB-435 肿瘤细胞抑制活性得出初步构效关系: 化合物 **22** 在微管解聚试验中无明显活性; 化合物 **23** 的微管解聚活性 (EC₅₀ = 24 nmol/L) 是先导化合物 **21** 的 2~3 倍; 抗 MDA-MB-435 肿瘤细胞增殖活性 IC₅₀ = (4.3 ± 0.3) nmol/L 是先导化合物 **21** 的 4 倍; 化合物 **24** 和 **29** 的微管解聚活性与化合物 **21** 的盐酸盐相当, 并且抗 MDA-MB-435 细胞增殖活性是化合物 **21** 盐酸盐的 1.4~2.1 倍。2-去甲咪喃并嘧啶骨架可显著提高微管解聚和抗细胞增殖作用^[17]。化合物 **23** 与秋水仙碱结合位点结合, 模拟秋水仙碱与 β 微管蛋白的 Leu248、Ala250、Lys254 和 Asn258 形成疏水作用。N¹ 位上用较大烷基取代 (**24~27**) 则活性降低, 主要原因是秋水仙碱结合位点对 N¹ 位取代基的空间允许程度较低。这类化合物可避免 P-gp 和 β-III 型微管蛋白调控机制产生的耐药作用。其中, 化合物 **23** 抗耐药作用最强, 对

SK-OV-3 和 P-gp 过表达的 SK-OV-3 MDR-1-6/6 的 IC₅₀ 值分别为 (7.7 ± 0.8) nmol/L 和 (8.4 ± 0.4) nmol/L, 其 R_r 为 1.1, 紫杉醇的 R_r 为 240; 对 HeLa 细胞和 β-III 型微管蛋白过表达的 HeLa 细胞的 IC₅₀ 分别是 (9.5 ± 0.8) nmol/L 和 (8.1 ± 0.9) nmol/L, 其 R_r 为 0.9, 紫杉醇的 R_r 为 8.6。

2.2.2 CA-4 类似物 Combretastatin A-4 (CA-4, **30**) 是从南非矮生柳树 (*Combretum caffrum*) 中分离得到的天然的微管蛋白聚合抑制剂, 但是由于其极低的水溶性和化学不稳定性限制了进一步临床应用。其双键可自发异构化为稳定性更强的反式异构体, 而反式异构体的半衰期短, 生物利用度低, 无明显活性^[28]。为寻找稳定性强、活性好的 CA-4 类似物, 国内外研究者报道了大量化合物, 如将 CA-4 结构中不稳定的双键替换成羰基得到的 phenstatin (**31**) 就是成功案例之一, phenstatin 表现出优异的

微管蛋白抑制活性。在 CA-4 的使用中还存在耐药的问题,它对耐药 KB-V1/Vbl 宫颈癌细胞、MCF-7/Topo 乳腺癌细胞只有中等抑制活性,MRP-1 过表达的 HT-29 结肠癌细胞对 CA-4 产生耐药^[18]。若将 CA-4 结构中不稳定的双键用其他基团替代,可得到诸多结构新颖、稳定性强、尤其是具有抗耐药活性的化合物(图 8),如 CA-4 的磺酸酯类似物

(32)^[29]、含 2-氨基噻唑环的类似物(33)^[30]、含咪唑环的类似物(34)^[31]、含 β 内酰胺环的类似物(35)^[32]都具有抗耐药肿瘤的活性。

此外,近年来还发现了一系列 CA-4 类似物,可作用于微管蛋白上的秋水仙碱结合位点,能够破坏微管动力学,抑制微管聚合,使肿瘤细胞停滞在 G2/M 期并引起细胞凋亡(表 1)。

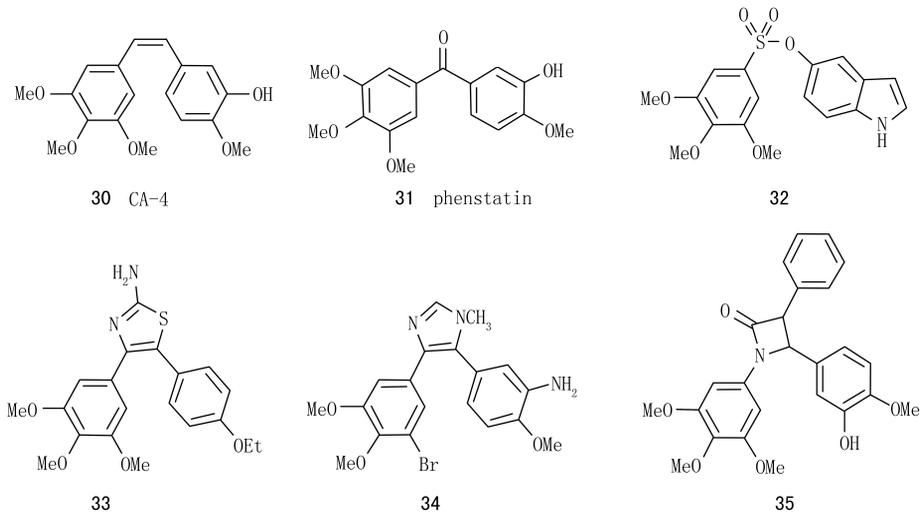
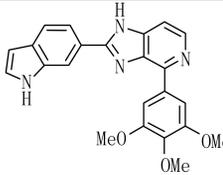
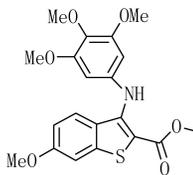
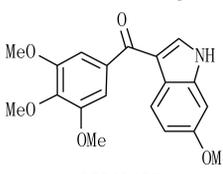
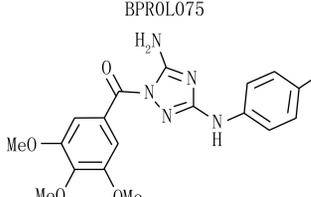


图 8 CA-4、phenstatin 和抗肿瘤耐药的 CA-4 类似物的化学结构

表 1 近年来发现的抗肿瘤耐药的 CA-4 类似物的 IC₅₀ 值和特点

编号	结构	IC ₅₀ 值		作用特点	参考文献	
		耐药细胞 (C _B /nmol · L ⁻¹)	正常细胞 (C _B /μmol · L ⁻¹)			
36		A2780/T	22	MCF-10A	3.761	选择性细胞毒作用 [33]
		HCT-8/VCR	12	L132	1.002	
		A549/CDDP	15	HLF	8.964	
		MCF-7/DOX	109			
37		KB-V1/Vbl	25.4	CHF	23.02	选择性细胞毒作用 [34]
		MCF-7/Topo	18.8	CCM	3.97	
38		A2780/CDDP	6.3	/	/	代谢稳定性高,水溶性较好,口服生物利用度高,消除率低 [18, 35]
		OVCAR-3	81			
39		A549/CDDP	24.8	HLF	1.86	选择性细胞毒作用 [36]
		A2780/T	2 810	BJ	19.8	
40		LoVo/DOX	24.8	/	/	[37]
		CEM/Vbl100	666.7			
		A549-T12	201.5			

(续表 1)

编号	结构	IC ₅₀ 值		作用特点	参考文献		
		耐药细胞 (C ₅₀ /nmol · L ⁻¹)	正常细胞 (C ₅₀ /μmol · L ⁻¹)				
41		PC-3/T	13	/	代谢稳定性强	[38]	
		DU145/T	12				
		M14/LCC6R1	53				
42		LoVo/DOX	0.4	/	/	[39]	
		CEM/Vbl100	1.3				
		A549-T12	12.6				
43		SKOV-3/T	7.1	/	/	[40]	
		OVCAR-3/T	3.6				
		1A9-PTX10	3.0				
44		LoVo/DOX	1.1	PBL	31.2	选择性细胞毒作用	[41]
		CEM/Vbl100	1.2	HUVEC	11.9		

2.2.3 查尔酮类 查尔酮类化合物是一类具有广泛生理活性的天然产物,MDL-27048 (**45**)是第1个被报道的具有抗细胞有丝分裂活性的查尔酮类化合物。由于查尔酮类化合物结构与CA-4结构有一定的相似性,普遍认为微管蛋白是它潜在的作用靶点。后续研究证明此类化合物作用于微管蛋白上的秋水仙碱位点,能使细胞周期停滞在G2/M期,并诱导细胞凋亡^[42]。

陈俐娟等发现带有氨基的 millepachine (**46**)衍生物(**47**)对耐药的A2780/T、A2780CP、MCF-7/DOX、HCT-8/T的IC₅₀分别是84、14、17和152 nmol/L,R_r为4.2、0.7、1.6、9.5。将**47**制成盐酸盐,可提高其水溶性、改善生物利用度。将化合物**47**的盐酸盐作用于4种肿瘤异体移植模型,结果显示其能有效抑制肿瘤生长,并且小鼠没有明显的体重减轻和行为异常^[43]。具有咪唑环的 millepachine 衍生物(**48**)对耐药的HCT-8/T和HCT-8/VCR具有中等抑制活性,IC₅₀分别为1.6和0.45 μmol/L^[44]。卜宪章等发现在邻位引入芳香环的查尔酮类化合物(**49**)对多种耐药肿瘤细胞A2780/T、HCT-8/VCT、A549/CDDP、MCF-7/DOX的IC₅₀分别是230、57、180、2 nmol/L,R_r分别是18、3.6、16、0.03。体内活性研究表明,化合物**49**

能显著抑制小鼠的A549肿瘤异体移植模型的生长^[45]。黎星术等发现咪唑查尔酮类化合物(**50**)对6种肿瘤细胞具有显著的抗增殖活性,IC₅₀为(3~9) nmol/L,而对正常细胞的毒性作用较弱。该化合物对耐药肿瘤细胞具有较强的抑制活性。其对A2780/T、HCT-8/VCT、A549/CDDP、MCF-7/DOX的IC₅₀分别是124、5、4、9 nmol/L。其磷酸盐(**51**)可显著抑制移植瘤的生长(抑瘤率70.4%),且没有明显的毒性^[46](图9)。

2.2.4 其他结构类型 Tivantinib(**52**)为选择性c-MET抑制剂,可通过抑制微管蛋白聚合发挥细胞毒活性。该化合物作用于秋水仙碱结合位点,通过抑制ABC转运体过表达而抑制耐药细胞的生长^[47]。

Krauze等发现具有3-氨基-噻吩并吡啶骨架结构的化合物抑制P-gp等多种转运蛋白的活性^[9]。Reynisson等在此基础上合成了一系列衍生物,通过表型海胆胚胎试验发现化合物**53**具有较强的微管解聚效应,分子对接表明该类化合物作用于微管蛋白上的秋水仙碱位点,其酰胺连接基是活性必需基团,与β微管蛋白上的Val181和Thr179形成氢键可增强药物与秋水仙碱结合位点的亲和力;对多药耐药黑色素瘤MDA-MB-435和乳腺癌MDA-MB-468细胞株具有明显的抗增殖活性(GI₅₀=52、

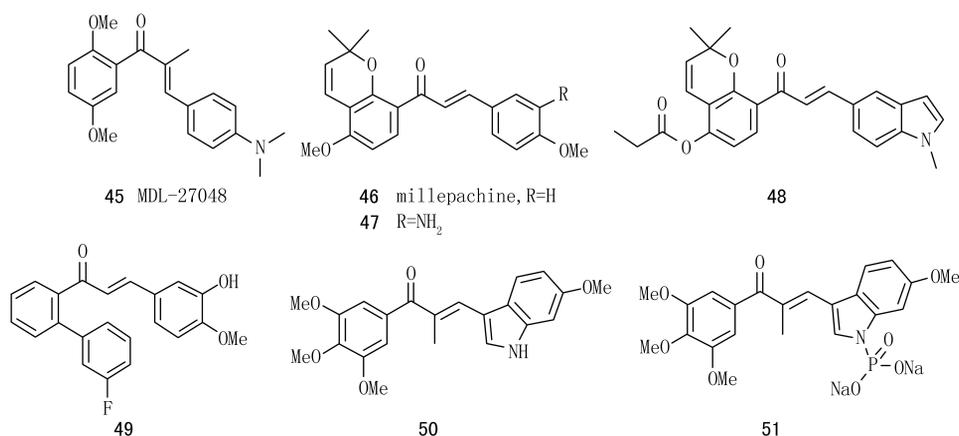


图9 抗肿瘤耐药的查尔酮类化合物结构

197 nmol/L)^[48]。

硝基苯甲酸酯类化合物 IMB5046 (**54**)是一个全新结构的微管蛋白抑制剂。该化合物结合于秋水仙碱位点,能显著破坏微管结构,对多个肿瘤细胞株的细胞毒作用的 IC₅₀ 值为(0.037~0.426) μmol/L。对耐药肿瘤细胞具有抑制活性,其对 P-gp 过表达的 KB_{v200} 细胞和 MCF-7/DOX 细胞的 IC₅₀ 分别是 183、75 nmol/L。可使细胞周期停滞在 G₂/M 期,并诱导细胞凋亡。在人肺癌移植瘤模型中,IMB5046 在能良好耐受的剂量下抑瘤率达 83%^[49]。

Desmosdumotin B (**55**)是黄酮类化合物,该化合物对 P-gp 过表达的耐药肿瘤细胞具有显著活性,但对于非耐药的肿瘤细胞却没有明显作用。Desmosdumotin B 的衍生物 (**56**)作用于秋水仙碱结合位点,抑制微管聚合并使细胞周期停滞在 G₂/M 期,其对耐药 KB-VIN 细胞的 IC₅₀ 为 70 nmol/L^[50]。

MPT0B169 (**57**)作用于微管蛋白上的秋水仙碱位点,可抑制微管聚合,使耐紫杉醇的 HL60/T 细胞周期停滞在 G₂/M 期。其对耐药的 HL60/T 的 IC₅₀ 是 0.32 nmol/L^[51] (图 10)。

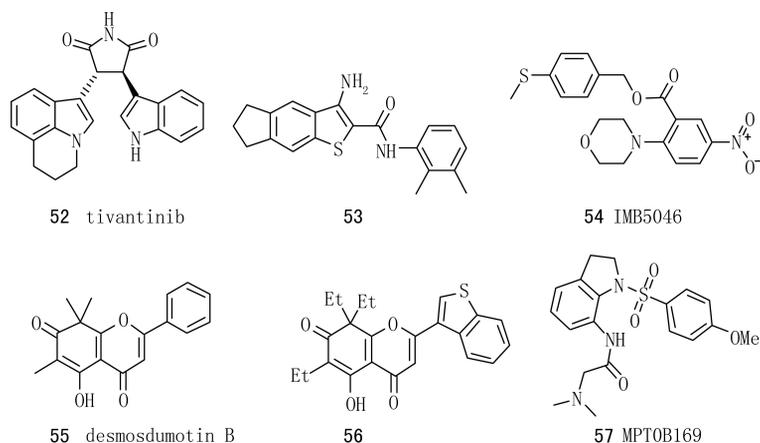


图10 其他结构类型的抗肿瘤耐药的微管蛋白调节剂

3 总结与展望

微管蛋白调节剂是一类应用广泛的抗肿瘤药物,与其他化疗药物一样,用药后易产生耐药性的问题,故研发一种抗肿瘤耐药的微管蛋白调节剂显得尤为重要。目前,主要研究策略是设计非 P-gp 作用底物,从而规避 P-gp 介导的耐药机制。目前发现绝大多数抗肿瘤耐药微管蛋白调节剂都作用于秋水仙碱位点,且作用于该位点的药物既不是 P-gp 作用底

物,也大多不受 β-III 型微管蛋白基因的影响。因此,通过秋水仙碱位点三维结构的研究,有望发现全新结构的小分子抑制剂。从天然产物中得到先导化合物、运用骨架跃迁等策略将活性基团引入先导化合物中,也是获得结构新颖并具有良好的活性的化合物的重要途径。水溶性不佳是限制微管蛋白调节剂临床使用的一个重要因素,将化合物制备成盐的形式,可改善这一缺点并满足体内活性研究的需求。综上所述,研究新型抗肿瘤多药耐药微管蛋白调节剂具

有非常广阔的临床前景。

【参考文献】

- [1] Parker AL, Kavallaris M, McCarroll JA. Microtubules and their role in cellular stress in cancer [J]. *Front Oncol*, 2014, 4: 153.
- [2] Prosser SL, Pelletier L. Mitotic spindle assembly in animal cells: a fine balancing act [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(3):187-201.
- [3] Jordan MA, Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drugs [J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(4):253-265.
- [4] Li W, Zhang H, Assaraf YG, et al. Overcoming ABC transporter-mediated multidrug resistance: Molecular mechanisms and novel therapeutic drug strategies [J]. *Drug Resist Updat*, 2016, 27:14-29.
- [5] Krishna R, Mayer LD. Multidrug resistance (MDR) in cancer. Mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2000, 11(4):265-283.
- [6] Hao XY, Widersten M, Ridderstrom M, et al. Co-variation of glutathione transferase expression and cytostatic drug resistance in HeLa cells: establishment of class Mu glutathione transferase M3-3 as the dominating isoenzyme [J]. *Biochem J*, 1994, 297 (Pt 1):59-67.
- [7] Ogiso Y, Tomida A, Tsuruo T. Nuclear localization of proteasomes participates in stress-inducible resistance of solid tumor cells to topoisomerase II-directed drugs [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(17):5008-5012.
- [8] Fernald K, Kurokawa M. Evading apoptosis in cancer [J]. *Trends Cell Biol*, 2013, 23(12):620-633.
- [9] Krauze A, Grinberga S, Krasnova L, et al. Thieno[2,3-b]pyrimidines—a new class of multidrug resistance (MDR) modulators [J]. *Bioorg Med Chem*, 2014, 22(21):5860-5870.
- [10] Dostal V, Libusova L. Microtubule drugs: action, selectivity, and resistance across the kingdoms of life [J]. *Protoplasma*, 2014, 251(5):991-1005.
- [11] Hu T, Li Z, Gao CY, et al. Mechanisms of drug resistance in colon cancer and its therapeutic strategies [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(30):6876-6889.
- [12] Kavallaris M. Microtubules and resistance to tubulin-binding agents [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(3):194-204.
- [13] Kavallaris M, Annereau JP, Barret JM. Potential mechanisms of resistance to microtubule inhibitors [J]. *Semin Oncol*, 2008, 35(3 Suppl 3):S22-S27.
- [14] Gan PP, Pasquier E, Kavallaris M. Class III beta-tubulin mediates sensitivity to chemotherapeutic drugs in non small cell lung cancer [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(19):9356-9363.
- [15] Amos LA. What tubulin drugs tell us about microtubule structure and dynamics [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2011, 22(9):916-926.
- [16] Löwe J, Li H, Downing KH, et al. Refined structure of $\alpha\beta$ -tubulin at 3.5 Å resolution [J]. *J Mol Biol*, 2001, 313(5):1045-1057.
- [17] Devambatla RK, Namjoshi OA, Choudhary S, et al. Design, synthesis, and preclinical evaluation of 4-substituted-5-methyl-furo[2,3-d]pyrimidines as microtubule targeting agents that are effective against multidrug resistant cancer cells [J]. *J Med Chem*, 2016, 59(12):5752-5765.
- [18] Philchenkov AA, Zavelevich MP, Tryndyak VP, et al. Anti-proliferative and proapoptotic effects of a pyrrole containing arylthioindole in human Jurkat leukemia cell line and multidrug-resistant Jurkat/A4 cells [J]. *Cancer Biol Ther*, 2015, 16(12):1820-1829.
- [19] Gan PP, McCarroll JA, Po'uha ST, et al. Microtubule dynamics, mitotic arrest, and apoptosis: drug-induced differential effects of betaIII-tubulin [J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(5):1339-1348.
- [20] Lu Y, Chen J, Xiao M, et al. An overview of tubulin inhibitors that interact with the colchicine binding site [J]. *Pharm Res*, 2012, 29(11):2943-2971.
- [21] Chamberlain MC, Grimm S, Phuphanich S, et al. A phase 2 trial of verubulin for recurrent glioblastoma: a prospective study by the Brain Tumor Investigational Consortium (BTIC) [J]. *J Neurooncol*, 2014, 118(2):335-343.
- [22] Kasibhatla S, Baichwal V, Cai SX, et al. MPC-6827: a small-molecule inhibitor of microtubule formation that is not a substrate for multidrug resistance pumps [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(12):5865-5871.
- [23] Subbiah IM, Lenihan DJ, Tsimberidou AM. Cardiovascular toxicity profiles of vascular-disrupting agents [J]. *Oncologist*, 2011, 16(8):1120-1130.
- [24] Mahal K, Resch M, Ficner R, et al. Effects of the tumor-vasculature-disrupting agent verubulin and two heteroaryl analogues on cancer cells, endothelial cells, and blood vessels [J]. *ChemMedChem*, 2014, 9(4):847-854.
- [25] Wang XF, Guan F, Ohkoshi E, et al. Optimization of 4-(N-cycloamino)phenylquinazolines as a novel class of tubulin-polymerization inhibitors targeting the colchicine site [J]. *J Med Chem*, 2014, 57(4):1390-1402.
- [26] Gangjee A, Zhao Y, Raghavan S, et al. Structure-activity relationship and *in vitro* and *in vivo* evaluation of the potent cytotoxic anti-microtubule agent N-(4-methoxyphenyl)-N,2,6-trimethyl-6,7-dihydro-5H-cyclopenta[d]pyrimidin-4-aminium chloride and its analogues as antitumor agents [J]. *J Med Chem*, 2013, 56(17):6829-6844.
- [27] Cao D, Liu Y, Yan W, et al. Design, synthesis, and evaluation of *in vitro* and *in vivo* anticancer activity of 4-substituted coumarins: A novel class of potent tubulin polymerization inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2016, 59(12):5721-5739.
- [28] Zhou B, Xing C. Diverse molecular targets for chalcones with varied bioactivities [J]. *Med Chem (Los Angeles)*, 2015, 5(8):388-404.
- [29] Gwaltney SL, Imade HM, Barr KJ, et al. Novel sulfonate analogues of combretastatin A-4: potent antimitotic agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, 11(7):871-874.

- [24] 王琼,王令冲,丁青龙,等.加味泽泻方中挥发油环糊精包合物的制备及其对透皮扩散的影响研究[J].南京中医药大学学报,2013,29(2):182-186.
- [25] 孙永慧,王桂姬,王建明.大蒜油 β 环糊精包合物缓释片制剂工艺研究[J].中国中医药信息杂志,2007,14(11):54-55.
- [26] 韩彬,廖霞俐,杨波.基于环糊精的靶向药物传递系统[J].化学进展,2014,26(6):1039-1049.
[收稿日期] 2016-10-09 [修回日期] 2017-04-17
[本文编辑] 顾文华
- (上接第393页)
- [30] Romagnoli R, Baraldi PG, Brancale A, et al. Convergent synthesis and biological evaluation of 2-amino-4-(3',4',5'-trimethoxyphenyl)-5-aryl thiazoles as microtubule targeting agents [J]. J Med Chem, 2011, 54(14):5144-5153.
- [31] Schobert R, Biersack B, Dietrich A, et al. 4-(3-Halo/amino-4,5-dimethoxyphenyl)-5-aryloxazoles and -N-methylimidazoles that are cytotoxic against combretastatin: A resistant tumor cells and vascular disrupting in a cisplatin resistant germ cell tumor model [J]. J Med Chem, 2010, 53(18):6595-6602.
- [32] Nathwani SM, Hughes L, Greene LM, et al. Novel cis-restricted beta-lactam combretastatin A-4 analogues display anti-vascular and anti-metastatic properties in vitro [J]. Oncol Rep, 2013, 29(2):585-594.
- [33] Cai D, Qiu Z, Yao W, et al. YSL-12, a novel microtubule-de stabilizing agent, exerts potent anti-tumor activity against colon cancer *in vitro* and *in vivo* [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2016, 77(6):1217-1229.
- [34] Mahal K, Biersack B, Schrufer S, et al. Combretastatin A-4 derived 5-(1-methyl-4-phenyl-imidazol-5-yl)indoles with superior cytotoxic and anti-vascular effects on chemoresistant cancer cells and tumors [J]. Eur J Med Chem, 2016, 118:9-20.
- [35] La Regina G, Bai R, Rensen W, et al. Design and synthesis of 2-heterocyclyl-3-arylthio-1H-indoles as potent tubulin polymerization and cell growth inhibitors with improved metabolic stability [J]. J Med Chem, 2011, 54(24):8394-8406.
- [36] An B, Zhang S, Yan J, et al. Synthesis, *in vitro* and *in vivo* evaluation of new hybrids of millepachine and phenstatin as potent tubulin polymerization inhibitors [J]. Org Biomol Chem, 2017, 15(4):852-862.
- [37] Romagnoli R, Baraldi PG, Salvador MK, et al. Discovery and optimization of a series of 2-aryl-4-amino-5-(3',4',5'-trimethoxybenzoyl)thiazoles as novel anticancer agents [J]. J Med Chem, 2012, 55(11):5433-5445.
- [38] Hwang DJ, Wang J, Li W, et al. Structural optimization of indole derivatives acting at colchicine binding site as potential anticancer agents [J]. ACS Med Chem Lett, 2015, 6(9):993-997.
- [39] Romagnoli R, Baraldi PG, Salvador MK, et al. Synthesis and biological evaluation of 2-(alkoxycarbonyl)-3-anilino-benzo[b]thiophenes and thieno[2,3-b]pyridines as new potent anticancer agents [J]. J Med Chem, 2013, 56(6):2606-2618.
- [40] Wang X, Wu E, Wu J, et al. An antimitotic and antivascular agent BPROL075 overcomes multidrug resistance and induces mitotic catastrophe in paclitaxel-resistant ovarian cancer cells [J]. PLoS ONE, 2013, 8(6):e65686.
- [41] Romagnoli R, Baraldi PG, Salvador MK, et al. Synthesis, antimitotic and antivascular activity of 1-(3',4',5'-trimethoxybenzoyl)-3-arylamino-5-amino-1,2,4-triazoles [J]. J Med Chem, 2014, 57(15):6795-6808.
- [42] Zhou B, Yu X, Zhuang C, et al. Unambiguous identification of beta-tubulin as the direct cellular target responsible for the cytotoxicity of chalcone by photoaffinity labeling [J]. Chem Med Chem, 2016, 11(13):1436-1445.
- [43] Yang Z, Wu W, Wang J, et al. Synthesis and biological evaluation of novel millepachine derivatives as a new class of tubulin polymerization inhibitors [J]. J Med Chem, 2014, 57(19):7977-7989.
- [44] Wang G, Li C, He L, et al. Design, synthesis and biological evaluation of a series of pyrano chalcone derivatives containing indole moiety as novel anti-tubulin agents [J]. Bioorg Med Chem, 2014, 22(7):2060-2079.
- [45] Zhu C, Zuo Y, Wang R, et al. Discovery of potent cytotoxic ortho-aryl chalcones as new scaffold targeting tubulin and mitosis with affinity-based fluorescence [J]. J Med Chem, 2014, 57(15):6364-6382.
- [46] Yan J, Chen J, Zhang S, et al. Synthesis, evaluation, and mechanism study of novel indole-chalcone derivatives exerting effective antitumor activity through microtubule destabilization *in vitro* and *in vivo* [J]. J Med Chem, 2016, 59(11):5264-5283.
- [47] Aoyama A, Katayama R, Oh-Hara T, et al. Tivantinib (ARQ 197) exhibits antitumor activity by directly interacting with tubulin and overcomes ABC transporter-mediated drug resistance [J]. Mol Cancer Ther, 2014, 13(12):2978-2990.
- [48] Eurtivong C, Semenov V, Semenova M, et al. 3-Amino-thieno[2,3-b]pyridines as microtubule-destabilising agents: Molecular modelling and biological evaluation in the sea urchin embryo and human cancer cells [J]. Bioorg Med Chem, 2017, 25(2):658-664.
- [49] Zheng YB, Gong JH, Liu XJ, et al. A Novel nitrobenzoate microtubule inhibitor that overcomes multidrug resistance exhibits antitumor activity [J]. Sci Rep, 2016, 6:31472.
- [50] Nakagawa-Goto K, Oda A, Hamel E, et al. Development of a novel class of tubulin inhibitor from desmosdomotin B with a hydroxylated bicyclic B-ring [J]. J Med Chem, 2015, 58(5):2378-2389.
- [51] Lee WH, Liu HE, Chang JY, et al. MPT0B169, a new tubulin inhibitor, inhibits cell growth and induces G2/M arrest in nonresistant and paclitaxel-resistant cancer cells [J]. Pharmacology, 2013, 92(1-2):90-98.
[收稿日期] 2017-05-03 [修回日期] 2017-06-19
[本文编辑] 李睿旻