

• 药物化学 •

喜树碱类化合物的构效关系及作用方式研究

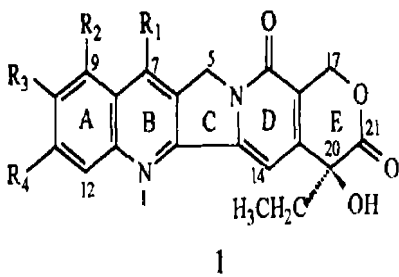
朱 杰 张万年 季海涛(第二军医大学药学院 上海 200433)

摘要 目的: 探寻喜树碱类化合物的构效关系及其与受体的可能作用方式。方法: 对近年来喜树碱类化合物的结构修饰、改造及活性的研究结果进行综述。结果: 对该类化合物的构效关系及其与酶-DNA 复合物的可能作用方式有了深入认识。结论: 喜树碱类化合物的芳环共轭平面为结构必需, 其中 α -OH 内酯环(E 环) 是发挥作用的关键部位, 而对 7 及 9-11 位进行适当取代可望增效降毒。

关键词 喜树碱; 抗肿瘤; 构效关系 (SAR); 作用方式

喜树碱(CPT, Cmp. 1a) 自 1966 年首次从珙 科植物喜树中分离得到以来, 一度因其强的细胞毒性而引起广泛重视。70 年代初, CPT 以水溶性钠盐(Cmp. 2) 形式进入临床研究, 虽然对肝癌、胃癌、膀胱癌及白血病等有较好的近期疗效, 但因伴有严重的副作用使得 II 期临床难以继续。直至 1985 年, Hisang 等人发现 CPT 是拓扑异构酶 I (ToPo I) 的专属性抑制剂^[1], 才使 CPT 的研究重获新生。近期研究表明 CPT 并非仅通过抑制 ToPo I 的催化活性而起到杀死癌细胞的作用, 而是与 ToPo I-DNA 的可裂

解复合物可逆结合形成 CPT-ToPo I-DNA 三元复合物从而稳定了 ToPo I-DNA 复合物, 抑制 DNA 的解旋, 导致 DNA 磷酸二酯键的断裂, 产生细胞毒作用^[2]。几十年来, 各国的研究人员为解决 CPT 极弱的溶解性并降低其毒副作用而合成了大量的 CPT 衍生物进行生化及药理筛选, 目前已有不少药物上市或进入临床研究(Cmp. 1a-1f)。本文将对 CPT 的构效关系作一较全面的综述, 并试述其与酶-DNA 复合物可能作用方式。



- 1a: $R_1=R_2=R_3=R_4=H$ (CPT)
- 1b: $R_1=R_4=H, R_2=CH_2NMe_2, R_3=OH \cdot HCl$ (topotecan)
- 1c: $R_1=R_3=R_4=H, R_2=NH_2$ (9AC)
- 1d: $R_1=Et, R_2=R_4=H, R_3=OH$ (SN-38)
- 1e: $R_1=H_2C-N(CH_3)-N(CH_3), R_2=H, R_3, R_4=O(CH_2)_2O \cdot CF_3CO_2H$ (G147211)
- 1f: $R_1=Et, R_2=R_4=H, R_3=OCON(CH_2)_4N(CH_2)_4CH_3 \cdot HCl$ (irinotecan / CPT-11)

1 立体构型与活性

CPT 中仅含有一个不对称中心: 20 位碳原子。对 P-388 白血病系统的药效测试表明 (RS)-CPT 的活性是 (S)-CPT 的 $1/2^{[3]}$; 而在对 ToPo I 的抑制实验中也发现 20S-CPT 活性高出 20R-CPT 100 倍, 约是消旋体的 2 倍^[4]。因此 20S(d/+)-CPT 才是抗肿瘤所需的必须构型。

2 A 环修饰

A 环是结构修饰的重点, 针对 9~12 各位的单、双取代及环的改变都曾作过许多研究。

2.1 A 环单取代

9、10 位单取代后的活性至少和 CPT 相当, 或者更强^[5]: 如 9、10 位的 NH_2, OH 取代。Kingsburg 对 A 环 10 位的研究表明该位置不宜较大基团取代^[6]; 而对 9 位作的一系列较大

基团取代则发现活性无较大差别,推测 9 位对 CPT 与酶-DNA 复合物结合的空间影响不大,因此允许有较大的基团取代^[6]。为了解决溶解性问题,学者们以 10-OH CPT 为目标化合物,合成了许多前药^[7],其中 CPT-11(Cmp. 1f)已在日本、法国上市。Hertzberg 等用³H 标记的 10-CH₂NHCOCH₂Br-CPT 对酶-DNA 复合物作抑制研究表明 CPT 以能使其 A 环 10 位与酶上的亲核位点相贴近的方式与复合物结合^[8]。对 A 环 11 位取代发现除 OH、OCH₃、CN 外,活性均降低或消失^[5a]。后来对 7-Et-CPT 的 A 环修饰发现,11 位 F 取代及其衍生物对 KB 和 L1210 具极强的细胞毒性^[9]。对 12 位进行的取代均导致了活性严重降低^[5],一般认为 CPT 的 12 位与酶-DNA 有较紧密接触,空间限制极为严格。对 9~12 各位单取代的活性大小通常可得出下列结论:9≈10>11>12。

2.2 A 环双取代

对 A 环双取代的 L-1210 系统测试表明,双取代通常会降低活性,但 10,11-OCH₂O-CPT 则活性很高^[4,5a]。于是有人合成了 7 位取代的 10,11-OCH₂O-CPT 及 10,11-OCH₂CH₂O-CPT^[10],发现后者活性相对要低,由此推测 A 环取代的平面性很重要。Nelson 亦发现取代基凸出(或高或低)于 A 环的化合物活性都很低。

2.3 环的改变

Wall 等人还将去除 A 环的化合物作了抑酶测试,活性下降 20 多倍^[4]。还有人用噻吩、萘环、吡啶替换 A 环^[3,5a](吡啶替换生成 10 位 N- 或 12 位 N-CPT),活性都没有真正获得提高^[5a]。但是近来有人为了模拟具有强活性的 11-F-CPT 的电子效应,用吡啶替代 A 环合成了 11 位 N-CPT (Cmp. 3) 系列衍生物^[11],在对 ToPo I 可裂解复合物的体外测试中发现 11N-CPT 活性两倍于 CPT。可见, A 环为发挥活性所必需,且电子效应对其活性亦有一定的影响。

3 B 环修饰

Sawada 等人曾将 CPT 的 B 环还原成四氢 CPT,发现活性消失^[5b],作者认为是严重破坏了 CPT 的几何及电子结构(ABCD 共轭平面结构)的缘故。7 位是目前 B 环修饰的重点。为了增加水溶性及提高活性,人们合成了许多 7 位取代化合物,结果以乙基效果最佳^[12],侧链增减都会降低活性,且发现亲水取代通常要降低活性,而 α -支链烷基或酰胺取代则无活性^[12]。进一步研究发现,7-乙基取代增强了药物在血浆中的稳定性,提高了 CPT 内酯对人体血浆白蛋白(HSA)的亲合力,使内酯闭合与开环平衡左移,并且有研究表明 7 位乙基取代提高了药物对脂质双层的亲合力。

4 C 环修饰

Sawada 等人对 C 环 5 位进行了 OH、OCH₃、OC₄H₉、OCOCH₃ 和 OCOC₆H₅ 的取代, L-1210 体内测试几乎没有活性^[12]。

5 D 环修饰

曾有人对 14 位进行氯取代,发现活性很低。Crow 等人对 14 位作了甲酯取代研究^[13],原设想在 14 位引入一酯基(亲电基团),会同酶-DNA 复合物中的亲核基团作用,但结果 14 位甲酯取代导致很低的活性,推测 14 位立体效应为首要因素,或是因取代而干扰了 20-OH 的功效发挥。Nicholas 等用苯环替代 D 环,合成了与 CPT 三维结构相同的化合物 Cmp. 4 及其异构体 Cmp. 5,体外细胞毒和 ToPo I 抑制实验表明,Cmp. 4 活性比 CPT 低很多,而 Cmp. 5 则无活性^[14]。由此可见, D 环亦是 CPT 发挥抗癌活性的必须结构。

6 E 环修饰

6.1 开环

研究发现临床使用的 CPT 钠盐虽增加了水溶性,但活性只有 CPT 的 1/10^[3]。合成的大量水溶性 E 环开环化合物的活性一般都有所降低,或是在较高剂量下才有好的疗效^[9]。酶学研究表明闭合内酯是抑制 ToPo I 的必须形式^[1,8,15],开环化合物需经环合后才能发挥功效。所以可以此设计前药,改善溶解性及降低毒性。但是发现有一例外(Cmp. 6),该化合物无法环合

成内酯,但体内 L-1210 测试仍有活性^[16],研究人员将此归于 20-OH 的重要性。

6.2 内酯

有人曾还原 21 位羰基,去除羰基碳,用 N、S 替换内酯中的氧,发现体内外均无活性^[14,15,17],因此认为内酯可能是与酶-DNA 复合物相互作用的关键部分。另外 Hertzberg 还合成了一个五员内酯(Cmp. 7)及咪啉环替代 E 环的 Cmp. 8,它们具有细胞毒性,但并不抑制 Topo I,研究者认为可能是通过其他的作用机制在发挥作用^[15]。

6.3 20-OH

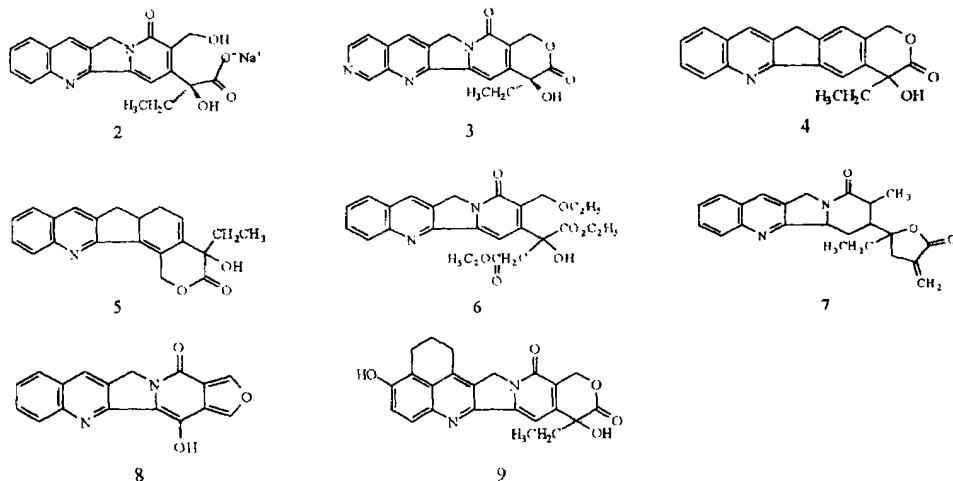
研究人员针对 20 位羟基作了许多工作^[14-16],将 20 羟基酯化、脱氧、用卤素、氨基、叠氮替换,发现均无活性。因此认为 20 位羟基绝对必须,并推测其可能是通过:1)与酶-DNA 复合物形成氢键;2)与 21 位羰基形成分子内氢键使内酯易于开环;3)增加 21 位碳对亲核基团的敏感性来发挥功效。根据 SAR 以及

CPT 在不同 PH 条件下的开闭环研究并结合自己的实验观察:20-OH-CPT 在 H₂¹⁸O 中吸收¹⁸O,而 20 位脱氧 CPT 却不能,Hertzberg 提出:CPT 的 α-OH 内酯环首先以闭合形式与复合物结合,但其后开环形式将对稳定复合物起到重要作用^[15]。尽管许多学者认为 α-OH 内酯是必须结构,但亦有人报道了 20-NH₂-CPT 在较高剂量下对 P-388 体内测试有较好的活性^[18]。

6.4 20-乙基

研究者用烯丙基、炔丙基、苄基替换了 20 位的乙基,体内实验发现仍有活性,且(RS)-烯丙基取代 CPT 在对 L-1210 和 P-388 的体内实验中活性均高于(RS)-CPT^[16,18],但是苯酰亚甲基替代乙基则无活性^[16]。Wani 等还制备了(RS)-18-OCH₃-CPT,其活性较(RS)-CPT 高^[3]。可见用适当的基团替换 20-乙基,有望提高活性。

7 环数变化



研究人员合成了许多只有 DE 环或 CDE 环的类似物,发现均无活性,说明了 ABCDE 五环完整的必要性。而日本学者通过把 7、9 位取代基环合成 5 员至 7 员环而合成了一些六环化合物^[19],如 Cmp. 9;并在六员环的 2 或 3 位作了 O、S、N 替代。经过体内外测试表明六环系统较 CPT 的五环系统有更高的活性,研究者认为对 7、9 位进行刚性构象的取代有利于提高抗肿瘤活性。

总结

根据目前研究,大至可得出以下结论:1) ABCD 环组成芳环共轭平面为结构必需,CPT 可能进入复合物中较狭窄的空腔与之作用。2) α-OH 内酯环(E 环)是发挥作用的关键部位。3) CPT 中不宜取代的 12、N1、14 位组成的凹槽区(亦可能包括 11 位),可能在药物作用时进入酶-DNA 复合物的内部,与之紧密接触。4) 7 及 9~11 位选取合适的取代基,会提高药物活性并降低毒性。

尽管对 CPT 构效与可能作用机制作了大

量研究,但是仍有许多问题不太清楚。比如, E 环与酶- DNA 复合物的具体作用方式是 21 位羰基与 Topo I 上亲核残基作用还是通过 20 羟基或开环后的 21 羟基与复合物形成氢键; 内酯闭合、开环在与复合物作用中到底如何变化; A 环可能与复合物相作用的方式; CPT 引发 DNA 断裂后如何导致细胞死亡的具体机制等。这些问题的解决还有待于构效关系、酶学、生化等各方面的进一步研究。我们相信随着研究的深入,在对 CPT 的构效及作用机制有了更多理解后,一定能开发出更好的 CPT 类药物,造福于人类。

参考文献

- Hsiang YH, Hertzberg R, Hecht S et al. Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *J Biol Chem*, 1985, 260: 14873
- Hertzberg RP, Caranfa MJ, Hecht SM et al. On the mechanism of topoisomerase I inhibition by camptothecin - evidence for binding to an enzyme DNA complex. *Biochemistry*, 1989; 28: 4629
- Wani MC, Ronman PE, Lindley JT et al. Plant antitumor agents. 18. Synthesis and biological activity of camptothecin analogs. *J Med Chem*, 1980; 23: 554
- Wall ME, Wani MC, Nicholas AW et al. Plant antitumor agents. 30. Synthesis and structure activity of novel camptothecin analogs. *J Med Chem*, 1993; 36: 2689
- (a) Wani MC, Nicholas AW, Wall ME. Plant antitumor agents. 23. Synthesis and antileukemic activity of camptothecin analogs. *J Med Chem*, 1986; 29: 2358
(b) Sawada S, Matsuoka S, Nokata K et al. Synthesis and antitumor activity of 20(S) - camptothecin derivatives: A - ring modified and 7, 10 - disubstituted camptothecin. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(12): 3183
- Kingsbury WD, Boehm JC, Jakas DR et al. Synthesis of water-soluble (Aminoalkyl) camptothecin analogues: inhibition of topoisomerase I and antitumor activity. *J Med Chem*, 1991, 34: 98
- (a) Sawada S, Okajima S, Aiyama R et al. Synthesis and structure activity of 20(S) - camptothecin derivatives: Carbamate-linked, water-soluble derivatives of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(6): 1446
(b) Yaegashi T, Nokata K, Sawada S et al. Chemical modification of an antitumor alkaloid, 20(S) - camptothecin: glycosides, phosphates and sulfates of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40(1): 131
- Hertzberg RP, Busby RW, Caranfa MJ et al. Irreversible trapping of the DNA topoisomerase I covalent complex. *J Bio Chem*, 1990, 265: 19287
- Yaegashi T, Sawada S, Nagata H et al. Synthesis and antitumor activity of 20(S) - camptothecin derivatives. A - ring - substituted 7-ethylcamptothecins and their E - ring - modified water-soluble derivatives. *Chem Pharm Bull*, 1994, 42(12): 2518
- Luzzio MJ, Besterman JM, Emerson DL et al. Synthesis and structure activity of novel water soluble derivatives of camptothecin as specific inhibitors of topoisomerase I. *J Med Chem*, 1995, 38: 395
- Uehling DE, Nanthakumar SS, Croom D et al. Synthesis, topoisomerase I inhibitory activity, and in Vivo evaluation of 11- Azacamptothecin analogs. *J Med Chem*, 1995, 38: 1106
- Sawada S, Nokata K, Furuta T et al. Chemical modification of an antitumor alkaloid camptothecin: Synthesis and antitumor activity of 7- C- substituted camptothecins. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(10): 2574
- Crow RT, Crothers DM. Structural modifications of camptothecin and effects on topoisomerase I inhibition. *J Med Chem*, 1992, 35: 4160
- Nicholas AW, Wani MC, Manikumar G et al. Plant antitumor agents. 29. Synthesis and biological activity of ring D and ring E modified analogues of camptothecin. *J Med Chem*, 1990, 33: 972
- Hertzberg R, Caranfa MJ, Holden KG et al. Modification of the hydroxy lactone ring of camptothecin: inhibition of mammalian topoisomerase I and biological activity. *J Med Chem*, 1989, 32: 715
- Sugasawa T, Toyoda T, Uchida N et al. Experiments on the synthesis of dl - camptothecin. 4. Synthesis and antileukemic activity of dl - camptothecin analogues. *J Med Chem*, 1976, 19: 675
- (a) Yaegashi T, Sawada S, Furuta T et al. Chemical modification of an antitumor alkaloids, 20(S) - camptothecin and 7-ethyl camptothecin: Reaction of the E - lactone ring portion with hydrazine hydrate. *Chem Pharm Bull*, 1993, 41(5): 971
(b) Ejima A, Terasawa H, Sugimori M et al. Antitumor agents. V. Synthesis and antileukemic activity of E - ring - modified (RS) - camptothecin analogues. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40(3): 683
- Sugimori M, Ejima A, Ohsuki S et al. Antitumor agents. 7. Synthesis and antitumor activity of novel hexacyclic camptothecin analogues. *J Med Chem*, 1994; 37: 3033