

·综述·

泛素-蛋白酶体及其抑制剂的分类与合成

李 景, 张大永*, 吴晓明

(中国药科大学药学院, 江苏 南京 210009)

摘要: 泛素-蛋白酶体是人体内降解蛋白质的主要途径, 通过该酶体来抑制蛋白质的降解是近年来治疗癌症的新策略, 同时还扩大了化学治疗药的靶标。该蛋白酶体调控着人体内非必需或废弃细胞蛋白的降解, 这一过程在许多癌症细胞中往往调控紊乱。基于这个靶标, 治疗多发性骨髓瘤的二肽硼酸类化合物 Bortezomib, 在 2003 年得到了 FDA 的批准, 成为该靶点第一个成功上市的药物。随后一系列具有蛋白酶 20S 抑制活性的合成小分子化合物或提取的天然化合物进入临床实验。本文主要综述了蛋白酶体的结构、蛋白酶抑制剂的作用机制及其抑制剂的合成与分类。

关键词: 蛋白质的降解; 泛素-蛋白酶系统 (UPP); 抑制剂; 抗肿瘤活性

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 12-1313-07

Classification and synthesis of ubiquitin-proteasome inhibitor

LI Jing, ZHANG Da-yong*, WU Xiao-ming

(School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: The inhibition of protein degradation through the ubiquitin-proteasome pathway is a recently developed approach to cancer treatment which extends the range of cellular target for chemotherapy. This therapeutic strategy is very interesting since the proteasomes carry out the regulated degradation of unnecessary or damaged cellular proteins, a process that is dysregulated in many cancer cells. Based on this hypothesis, the proteasome complex inhibitor Bortezomib was approved for use in multiple myeloma patients by FDA in 2003. Drug discovery programs in academy and the pharmaceutical industry have developed a range of synthetic and natural inhibitors of the 20S proteasome core particle that have entered human clinical trials as significant anti-cancer leads. The main results from the use of proteasome inhibition in cancer chemotherapy, the structure of several proteasome inhibitors and their synthesis is going to be reviewed in this paper.

Key words: protein degradation; ubiquitin-proteasome pathway; inhibitor; anti-cancer activity

1 泛素-蛋白酶体的结构和功能

人体内各种细胞的稳态以及功能的正常发挥有赖于机体内严格的分子调节机制, 其中一个重要的方面就是各种生理过程中蛋白质的及时降解, 如细胞分裂、生长发育、信号的转导及细胞的凋亡等过程^[1]。如果细胞内蛋白质的降解过程受到阻碍, 细胞中将积累大量的蛋白质, 会影响细胞分裂周期中G1期到S期的转变。在真核细胞中, 90%的蛋白质降解过

程都是通过泛素-蛋白酶系统 (UPP) 来完成, 从而来调控信号传导、炎症反应等生理活动。

核心蛋白酶体 (26S) 是一个 ATP 依赖性蛋白水解酶复合体。蛋白酶体的活性对细胞功能的维持非常重要。26S 蛋白酶体对蛋白的降解依赖于靶蛋白的泛素化和泛素化蛋白的识别两个过程。蛋白酶体抑制剂能通过抑制蛋白酶体活性进而干扰和影响细胞原有的功能, 对肿瘤细胞的生长产生抑制作用。同时, 利用蛋白酶体抑制剂改变蛋白酶体的酶切位点活性也成为免疫、炎症等研究的热点。

体内需要降解的蛋白质首先要接受一个泛素化

收稿日期: 2009-04-01.

*通讯作者 Tel / Fax: 86-25-83271307, E-mail: cpuzdy@yahoo.com.cn

的过程(图1)。泛素活化过程是一个依赖ATP水解酶的过程。其中包括3个主要的蛋白酶体:泛素活化酶E1(ubiquitin-activating enzyme)、泛素结合酶E2(ubiquitin-conjugating enzyme)和泛素连接酶E3(ubiquitin-ligase enzyme)。经过泛素酶E1、E2、E3活化后的蛋白质才能被蛋白酶体26S所识别^[2,3]。

26S蛋白酶体主要由20S的催化中心和19S的调节颗粒两部分组成。20S的催化中心由两个相同的 α 环和 β 环组成,形成一个环状的 $\alpha\beta\beta\alpha$ 圆柱体结构。外围由 α 单位组成,内环由 β 单位组成,每个环各有7个相同的亚单位。催化蛋白质降解的活性部位位于 β 亚基的内表面上。19S的调节颗粒像一个帽子盖在催化中心的两端,具有伴侣分子似的ATP酶活性,其主要作用是识别已经泛素化的蛋白质,移除蛋白质上的泛素酶,重新折叠蛋白质,再将其转运至20S催化中心。

β 环是催化中心的主要部位,其中 β_1 、 β_2 、 β_5 是复合酶的主要催化部位,分别具有类糜蛋白酶活性(ChTL)、类胰蛋白酶活性(TL)、蛋白酶样活性^[4]。这些蛋白酶可以水解蛋白质上的特定氨基酸,从而水解蛋白质,释放多肽类物质。虽然蛋白酶体上具有3个酶活性部位,但目前研发的小分子物质主要抑制其中的一个或两个来阻止蛋白的降解,如Bortezomib只抑制类糜蛋白酶,对其他的两个酶没有影响^[5]。

2 蛋白酶抑制剂的抗癌机制

用蛋白酶抑制剂抑制体内蛋白质的分解,将会使体内蛋白质的调节失衡,细胞分裂周期将会停留在G1—S和G2—M期,同时机体对蛋白质的降解也会发生一系列的补偿代谢,激活胞外降解蛋白质的

途径。因此,先前有学者认为,抑制蛋白酶体的活性,蛋白质的调节将紊乱,有可能会引起肿瘤的发生、药物耐受和免疫力下降等问题^[6]。

在临床研究发现应用蛋白酶抑制剂后,机体内一些关键调节蛋白将积聚在细胞质中,如与NF- κ B相关的I κ B抑制剂、肿瘤抑制基因p53、细胞周期依赖酶抑制剂p21和p27及Bax蛋白等。调节蛋白浓度的增加将会降低NF- κ B的激活,肿瘤抑制基因p53的表达会增加,p21和p27的增加将会使细胞周期调节失衡,依赖Bax蛋白酶的Bcl-2抑制剂的增加将加速细胞的凋亡^[4,7]。同时,蛋白酶体功能受到抑制会阻碍细胞信号的传导,其中包括通过有丝分裂原激活蛋白激酶家族(MAPK)中由ERK1和ERK2调节的肿瘤基因。研究发现,和正常细胞相比,癌细胞对蛋白酶抑制剂更敏感,如乳胞素(lactacystin)对正常的淋巴细胞无明显作用,而对肿瘤细胞的作用明显。其中原因现在还未有定论,有学者指出可能是因为肿瘤细胞中蛋白质的运转周期短,使其对蛋白酶抑制剂的敏感性增加^[7]。Masdehors等^[8]发现B-CLL细胞中,ChTL活性水平是正常淋巴细胞的3倍,其蛋白的泛素化水平也高于正常细胞。还有人认为在肿瘤细胞中,抑制剂与蛋白酶的作用时间比在正常细胞更长,也有人认为和正常细胞相比,抑制剂在癌细胞中的降解速度慢,作用时间长,从而达到治疗癌症的目的^[4,9]。

Li^[10]认为,泛素-蛋白酶体在哺乳动物细胞生长发育过程中,其功能是不可替代的。临床实验证明在前列腺癌患者中,体内低水平的Bax蛋白将会加速蛋白质的降解,使癌症恶化的几率上升。应用蛋白酶

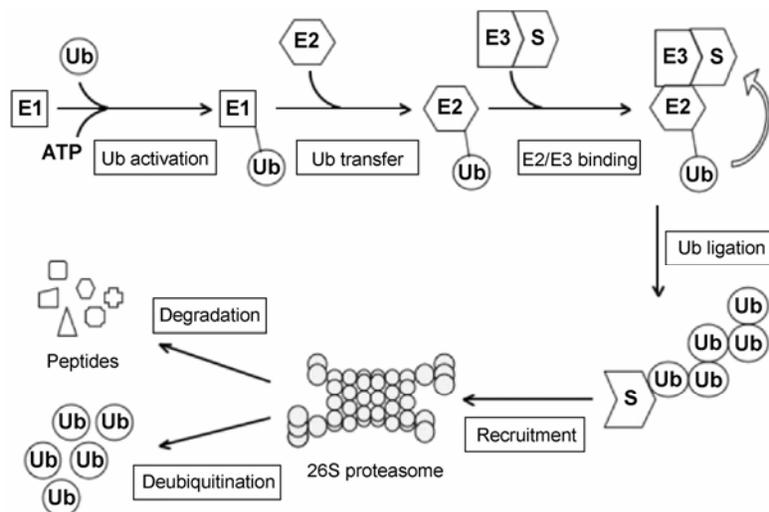


Figure 1 Ubiquitination and degradation process of protein *in vivo*

抑制剂后, 阻止了 Bax 蛋白的降解, 细胞质中 Bax 蛋白活性增加, 导致细胞凋亡, 达到抑制癌症的目的。

在进一步的研究中, 发现当肿瘤细胞对其他药物出现耐受时, 蛋白酶抑制剂对其仍有较好的治疗效果, 而将其他化疗药物或治疗手段和蛋白酶抑制剂同时作用时, 治疗癌症的效果更好^[9, 11, 12]。但其作用机制至今还未研究清楚。

从发现泛素-蛋白酶系统开始, 各国科学家就开始研究开发各种各样的蛋白酶体抑制剂, 从小分子化合物到提取的天然化合物, 其结构也有很大的差异, 但其与蛋白酶体的作用方式基本相同, 大多都是作用于核心蛋白酶体 20S 的 β_1 、 β_2 和 β_5 亚基, 与其发生可逆或不可逆的结合, 占据降解蛋白质的结合位点, 蛋白质降解过程受阻, 细胞分裂周期停滞^[9, 12-14]。

在蛋白酶的催化中心 20S 中, *N*-末端是一个苏氨酸残基, 残基中的 -OH 基团有较好的亲核性。20S 中催化蛋白质底物的活性部位也正是这个苏氨酸残基的 -OH。后文介绍的各种抑制剂均是通过和这个亲核性基团结合, 达到可逆或不可逆的效果, 因此可以说蛋白酶抑制剂是一类缺电子的化合物, 具有亲电性。如 Bortezomib 与蛋白酶体 20S 作用时的可逆过程和 salinosporamides A 作用时的不可逆过程 (图 2)^[9, 10]。

蛋白酶抑制剂的分类与合成

蛋白酶体活性的变化会使细胞执行不同的生理功能, 蛋白酶体已经成为开发新型抗肿瘤药物的一个重要靶标, 其抑制剂比其他抗肿瘤药物在耐受性方面具有更大优势。根据化学结构蛋白酶抑制剂可分为醛基肽类、硼酸肽类、 β -内酯类、TMC-95A 及其衍生物和乙烯基磺酸类化合物等 (图 3)。

3.1 醛基肽类 (aldehyde peptide) 醛基肽类化合物 (主要是醛基三肽) 是最早用于研究蛋白酶抑制剂的一类化合物, 最早研究的主要有钙蛋白酶抑制剂 I (Ac-Leu-Leu-nLeu-al) 和天然放射菌类产物亮太素 (Ac-Leu-Leu-Arg-al)、MG-132、CEP-1612、CVT-634 等。通过此类化合物的研究证实蛋白酶复合体的催化中心是 *N*-末端的苏氨酸残基^[10]。该类化合物通过结构中的醛基和催化中 20S 的 β_1 和 β_2 苏氨酸残基的 -OH 结合, 形成一个半缩醛的结构, 可逆性的抑制蛋白酶复合体的活性。这种类型的天然化合物大多数作用强度较低和选择性不好, 但合成的三肽类衍生物效果明显, 且选择性更高。2004 年, 合成出一个新的三肽类化合物 (酪氨酸化合物 (tyropeptin A)), 药效强度有所增强, 并以其作为先导化合物, 通过计算机辅助药物设计等手段对该系列衍生物进行构效关系研究, 虚拟筛选出 TP-104 (结构中的异丁基换成萘甲基) 和 TP-110 (TP-104 上的两个羟基甲基化) 两个活性较好的化合物^[15]。

此类化合物结构简单, 通过两次氨基酸的缩合合成目标化合物。以 tyropeptin A 的合成 (合成路线 1) 为例来介绍这类化合物的合成: 化合物 **1** 中两个 -OH 先用苄基保护, 用 Boc 试剂保护化合物中的氨基; 在三氟甲磺酸的催化下, Boc 氨基端加上一个 Boc-*L*-Val, 得到化合物 **2**; 用同样方法在 **2** 的末端加上 Boc-*L*-Tyr 和异丁酸得到三肽; 酰胺三肽水解除去苄基保护基, 氧化后得到目标化合物 tyropeptin A^[15, 16]。其他 tyropeptin A 三肽类衍生物, 如 TP-104 和 TP-110 的合成方法与 tyropeptin A 的合成方法类似。

3.2 硼酸肽类 硼酸肽类化合物是现阶段最重要的蛋白酶抑制剂。体外细胞和动物体内实验均结果表

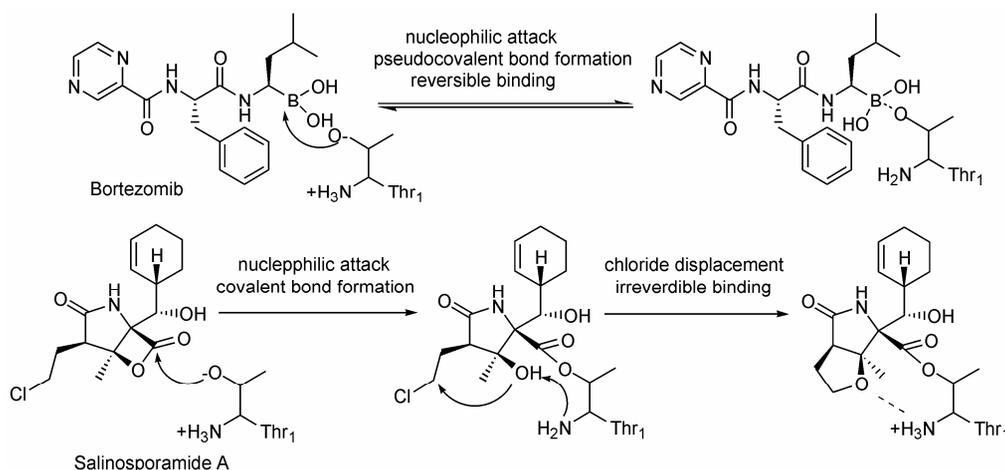


Figure 2 Proteasome inhibitor Bortezomib and salinosporamide A combined with 20S

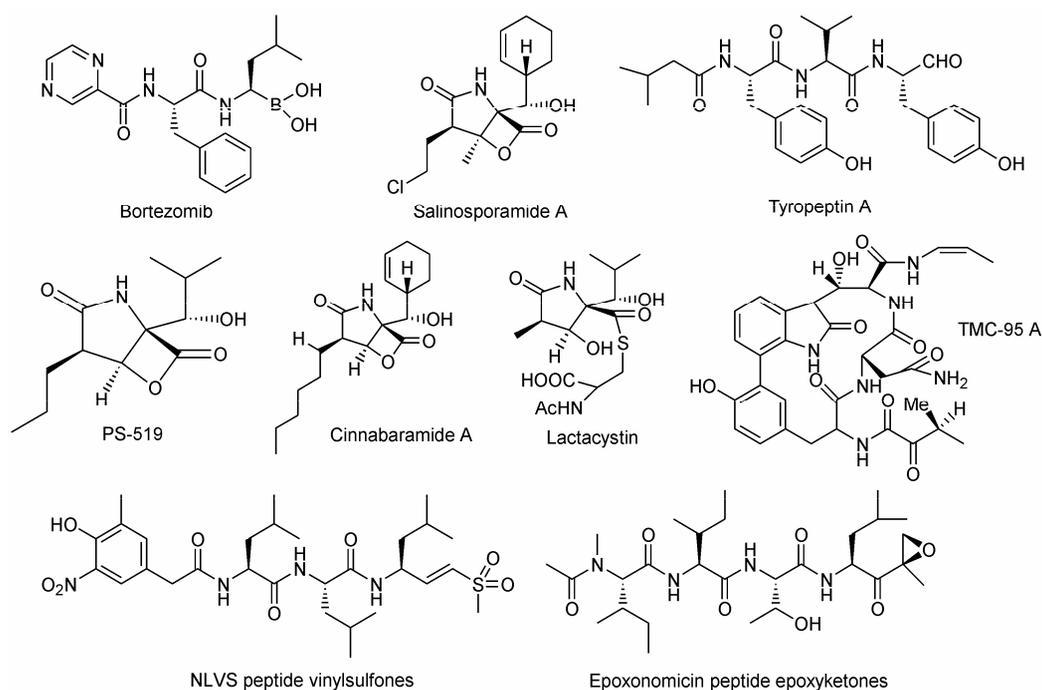
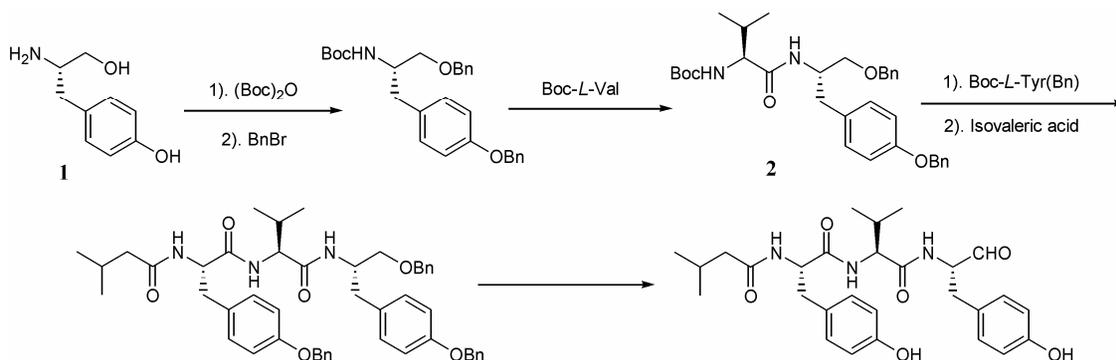


Figure 3 Structures of protease inhibitors



Scheme 1 Synthesis of tyropeptin A

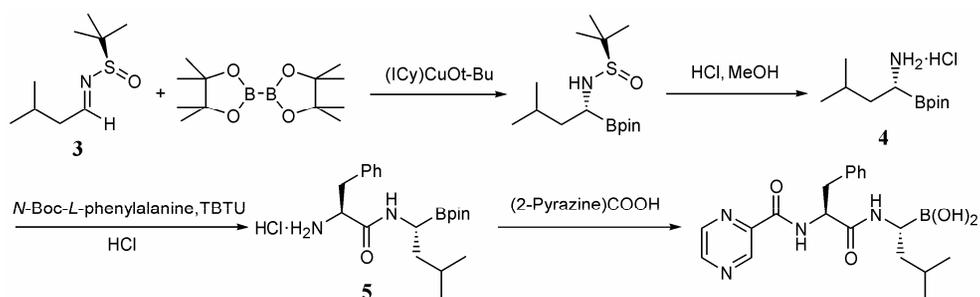
明有较强的蛋白酶抑制活性, 且具有高度的酶选择性, 主要抑制核心蛋白酶体 20S 中的 β_1 的活性, 即类糜蛋白酶的活性。该类化合物逐渐成为研究中的热点, 第一个由 FDA 批准的蛋白酶抑制剂药物 Bortezomib (图 3) 就是此类结构, 主要用于多发性骨髓瘤的治疗^[17]。

硼酸肽类化合物大多数都是二肽硼酸衍生物的结构。活性中心是化合物中的硼酸结构, 化合物结构中硼原子外层只有 6 个电子, 含有一个空轨道, 是一个典型的 Lewis 酸结构, 可以与蛋白酶体中催化中心的丝氨酸残基中的 -OH 形成配位键, 从而可逆性的抑制酶的活性。其结构改造主要通过改造二肽硼酸主链上的三个残基来进行。近年来发现的一种硼酸衍生物 CEP-18770 (结构中有一个苏氨酸) 有较高的生物利用度和类似 Bortezomib 的药理作用, 目前已进入临床

前试验^[18, 19]。

硼酸肽类化合物合成困难, 主要原因是硼酸的 α 位存在一个不对称碳原子, 即 α -氨基硼酸部分, 该部分对于化合物的活性非常重要。 α -氨基硼酸部分的合成, 以前基本上都是采取 Matteson's 合成法^[20]。这里介绍一种新的合成方法, 即 Sadighi's 合成法 (合成路线 2)^[21]。

在金属铜的催化下, 将亚胺中间体 **3** 与 B_2pin_2 加成, 形成 α -氨基硼酸化合物, 该步骤合成产率高, 立体选择性较好, 中间体 **ee** 值接近 80%。然后在酸性条件下, 选择性的水解氮端的磺酰基团, 得到化合物 **4**。化合物 **4** 在 TBTU 的催化下, 与 *L*-Boc-Phe-OH 反应, 盐酸酸化得到化合物 **5**。同样条件下化合物 **5** 与 (2-pyrazine) COOH 反应, 反应产物水解硼酸保护基团即可得到 Bortezomib。



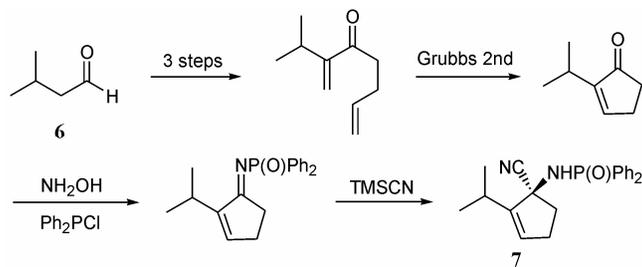
Scheme 2 Synthesis of Bortezomib

3.3 β -内酯类化合物 β -内酯类化合物基本上都是从天然产物提取出来的, 链霉菌代谢产物 (+)-lactacystin (图 3) 是从自然界分离出来的第一个非肽类蛋白酶抑制剂。(+)Lactacystin在体内经过酶催化形成 β -内酯活性中间体omuralide^[22]。在体内由于 β -内酯环张力较大, 容易受丝氨酸残基上羟基的进攻, 不可逆的抑制蛋白酶体的活性。

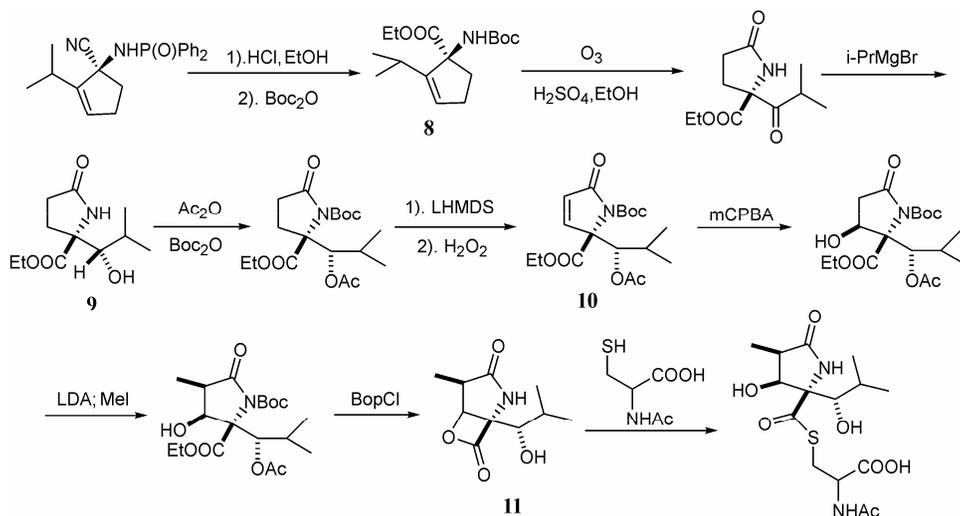
与 β -内酯环联合的内酰胺环上的取代基对抑癌效果有很大的影响, 如正丙基取代化合物PS-519 (图 3)^[23], 抑癌作用比天然化合物lactacystin更强, 目前已进入临床试验, 但主要用于中风的治疗。从海中放线菌属提取的新的天然产物 (omuralide的衍生物)

salinosporamide A (NPI-0052) 生物等效性高, 和omuralide相比其抑制类糜蛋白酶活性强几十倍, 且对 β 亚基的选择范围要广, 已进入I期临床试验^[24]。此外, 还从陆生放线菌属提取到一种新型的 β -内酯化合物cinnabaramides (图 3), 在体外实验中也具有较强的抑癌效果^[25]。

β -内酯类化合物的母体结构是五元环的内酰胺结构并四元环内酯结构。其母体结构合成方法较多^[26], 合成的关键在于选择好的手性催化剂进行不对称合成。以 (+)-lactacystin的合成例 (合成路线 3、4), 从一个简单的醛 **6** 出发, 经过加成、环合、再与羟胺缩合合成中间体**7**, 缩合中间体在Gd(Oi-Pr)₃



Scheme 3 Synthesis of compound 7



Scheme 4 Synthesis of (+)-lactacystin

的催化下,将氰基不对称的加成到亚胺上,该步骤为关键步骤,得到不对称产物 **7**^[27]。

将化合物 **7** 中的氰基水解,与乙醇成酯,再用Boc保护氨基,得到化合物 **8**,用O₃氧化破坏双键,胺解,分子内环合得到酰胺环。用格式试剂对化合物侧链上的羰基进行加成,分离到化合物 **9**。用乙酰基保护-OH,氧化内酰胺环得到 α , β 不饱和酮 **10**,将水加到形成的双键上,然后在LDA的催化下,甲基加到酮的 α 位,醇解环合形成四元环 **11**,即omuralide。在此基础上接上侧链就可以得到 (+)-lactacystin。

对于内酯母体结构的构造,基本原理和步骤和上述方法基本相似,但对侧链保护基的选取各有不同。用一个含有两个氧原子的1,3-二氧六环,在保护羟基的同时,增大位阻,立体选择性更好^[28]。

3.4 TMC-95A及其衍生物 TMC-95 类化合物(图3)是从菌属*Apiospora montagnei*中提取的环状肽类化合物,该类化合物是从天然产物中提取的唯一非共价抑制所有的蛋白酶复合体的化合物,并且药效在纳摩尔级。目前在此菌属中还分离得到了该系列的衍生物,但目前对其机制的研究还不是很清楚^[29]。

该类物质结构复杂,全合成有一定难度。Danishefsky和Alexis Coste等都研究了这类化合物的全合成工作。Danishefsky路线先通过Suzuki-Miyaura偶联形成联苯,在内酰胺环合形成16元酰胺环,关键步骤为合成多取代的色氨酸取代物。William's采用Julia烯炔合成来合成其他色氨酸多取代物。Alexis Coste对William's合成路线中色氨酸侧链部分的合成进行了改进,提高了产率,成功的合成了一系列TMC-95类似物。该类化合物合成设计的整体思路是先合成联苯部分,然后再对侧链进行修饰,最后通过HPLC对其异构体进行分离得到TMC-95的各种同分异构体。合成的具体方法可参考Danishefsky路线或Alexis Coste路线^[30]。

除了上述4类主要的抑制剂外,还发现乙烯基磺酰化合物NLVS (peptide vinylsulfones) 和 α , β -环氧酮类化合物epoxomicin (peptide epoxyketones) 等类型的抑制剂(图3)。乙烯基磺酰类化合物可与蛋白酶复合体20S中的亲核羟基进行迈克尔加成,形成共价键,导致不可逆的抑制蛋白酶的活性。与乙烯基磺酰类化合物相比,天然产物环氧酮类化合物对蛋白酶复合体 β_5 亚基的选择性更高。从发射菌属分离出来的不饱和环氧酮类化合物(从二肽到四肽),其抑制 β_5 亚基的活性都很好,但环氧酮类化合物的抑制机制

有所不同。该类化合物与催化活性中心的苏氨酸形成一个玛琳环,这就使得与其他抑制剂相比环氧酮类化合物对活性中心末端是苏氨酸的酶体具有很高的特异性。

4 展望

UPP系统在哺乳细胞内普遍存在,从细胞膜、细胞质到细胞核以及内质网腔等处的蛋白质都受到泛素-蛋白酶体监控,甚至mRNA的稳定性也可通过蛋白酶体对蛋白质的降解过程来调节。异常的泛素-蛋白酶体行为与恶性肿瘤的发生和发展有着密切的关系,这主要是由于异常的UPP系统对细胞内重要功能蛋白质的降解失常所造成的。因此发掘作用于UPP的药物可能有助于改善一些恶性肿瘤的治疗效果。上述主要的几类化合物中,硼酸肽类和 β -内酯类化合物对靶点的选择性好,有很大的市场开发潜力。但近来有报道称硼酸肽类化合物有一定的神经毒性,具体原因仍在研究之中,值得进一步关注。

References

- [1] Goldberg AL. Protein degradation and protection against misfolded or damaged proteins [J]. *Nature*, 2003, 426: 895-899.
- [2] Orłowski RZ, Zeger EL. Targeting the proteasome as a therapeutic strategy against haematological malignancies [J]. *Expert Opin Invest Drugs*, 2006, 15: 117-130.
- [3] Orłowski RZ, Kuhn DJ. Proteasome inhibitors in cancer therapy: lessons from the first decade [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14: 1649-1657.
- [4] Kisselev AF, Goldberg AL. Proteasome inhibitors: from research tools to drug candidates [J]. *Chem Biol*, 2001, 8: 739-758.
- [5] DeMartino GN, Slaughter CA. The proteasome, a novel protease regulated by multiple mechanisms [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 22123.
- [6] Yang H, Cai YC, Pang JY, et al. Induction of G2/M phase arrest and apoptosis of MCF-7 cells by novel benzofuran lignan via suppressing cell cycle proteins [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 138-144.
- [7] Lin YJ, Huang YH, Zhen YS, et al. Rhein lysinate induces apoptosis in breast cancer SK-Br-3 cells by inhibiting HER-2 signal pathway [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 1099-1105.
- [8] Masdehors P, Omura S, Merle-Béral H, et al. Increased sensitivity of CLL-derived lymphocytes to apoptotic death activation by the proteasome-specific inhibitor lactacystin [J]. *Br J Haematol*, 1999, 105: 752-757.

- [9] Voorhees PM, Dees EC, O'Neil B, et al. The proteasome as a target for cancer therapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 17: 6316–6325.
- [10] Li B, Dou QP. Bax degradation by the ubiquitin/proteasome-dependent pathway; involvement in tumor survival and progression [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2000, 97: 3850–3855.
- [11] Hideshima T, Richardson P, Chauhan D, et al. The proteasome inhibitor PS-341 inhibits growth, induces apoptosis, and overcomes drug resistance in human multiple myeloma cells [J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 3071–3076.
- [12] Masdehors P, Merle-Béral H, Maloum K, et al. Deregulation of the ubiquitin system and p53 proteolysis modify the apoptotic response in B-CLL lymphocytes [J]. *Blood*, 2000, 96: 269–274.
- [13] Chauhan D, Catley L, Li GL, et al. A novel orally active proteasome inhibitor induces apoptosis in multiple myeloma cells with mechanisms distinct from Bortezomib [J]. *Cancer Cell*, 2005, 8: 407–419.
- [14] Chauhan D, Hideshima T, Anderson KC. A novel proteasome inhibitor NPI-0052 as an anticancer therapy [J]. *Br J Cancer*, 2006, 95: 961–965.
- [15] Momose I, Sekizawa R, Hirosawa S, et al. Tyropeptins A and B, new proteasome inhibitors produced by *Kitasatospora* sp. MK993-dF2. II Structure determination and synthesis [J]. *J Antibiot*, 2001, 54: 1004–1012.
- [16] Momose I, Umezawa Y, Hirosawa S, et al. Synthesis and activity of tyropeptin A derivatives as potent and selective inhibitors of mammalian 20S proteasome [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2005, 69: 1733–1742.
- [17] Adams J, Behnke M, Chen S, et al. Potent and selective inhibitors of the proteasome: dipeptidyl boronic acids [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1998, 8: 333–338.
- [18] Dorsey BD, Iqbal M, Chatterjee S, et al. Discovery of a potent, selective, and orally active proteasome inhibitor for the treatment of cancer [J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 1068–1072.
- [19] Piva R, Ruggeri B, Williams M, et al. CEP-18770: a novel, orally active proteasome inhibitor with a tumor-selective pharmacologic profile competitive with bortezomib [J]. *Blood*, 2008, 111: 2765–2775.
- [20] Matteson DS, Sadhu KM, Lienhard GE. (*R*)-1-Acetamido-2-phenylethaneboronic acid. A specific transition-state analogue for chymotrypsin [J]. *J Am Chem Soc*, 1981, 103: 5241–5242.
- [21] Beenen MA, An C, Ellman JA. Asymmetric copper-catalyzed synthesis of α -amino boronate esters from *N*-tert-butanesulfinyl aldimines [J]. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 6910–6911.
- [22] Fenteany G, Standaert RF, Lane WS, et al. Inhibition of proteasome activities and subunit-specific amino-terminal threonine modification by lactacystin [J]. *Science*, 1995, 268: 726–731.
- [23] Elliott PJ, Zollner TM, Boehncke WH. Proteasome inhibition: a new anti-inflammatory strategy [J]. *J Mol Med*, 2003, 81: 235–245.
- [24] Feling RH, Buchanan GO, Mincer TJ, et al. Salinosporamide A, an antitumor proteasome inhibitor from a novel microbial source, a marine bacterium of the new genus *Salinospora* [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2003, 115: 369–371.
- [25] Stadler M, Bitzer J, Mayer-Bartschmid A, et al. Cinnabaramides A-G: analogues of lactacystin and salinosporamide from a terrestrial streptomycete [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70: 246–252.
- [26] Shibasaki M, Kanai M, Fukuda N. Total synthesis of lactacystin and salinosporamide A [J]. *Chem Asian J*, 2007, 2: 20–38.
- [27] Fukuda N, Sasaki K, Sastry TV, et al. Catalytic asymmetric total synthesis of (+)-lactacystin [J]. *J Org Chem*, 2006, 71: 1220–1225.
- [28] Hayes CJ, Sherlock AE, Green MP, et al. Enantioselective total syntheses of omuralide, 7-epi-omuralide and (+)-lactacystin [J]. *J Org Chem*, 2008, 73: 2041–2051.
- [29] Koguchi Y, Kohno J, Nishio M, et al. TMC-95A, B, C, and D, novel proteasome inhibitors produced by *Apiospora montagnei* Sacc. TC 1093. Taxonomy, production, isolation and biological activities [J]. *J Antibiot*, 2000, 53: 105–109.
- [30] Coste A, Couty F, Evano G. TMC-95A-D and analogues: chemistry and biology [J]. *C R Chim*, 2008, 11: 1–30.