

I κ B 激酶生物学特征及其抑制剂研究进展

薛建跃¹, 周彬², 张大永^{2*}, 吴晓明²

(1. 巢湖学院化学与材料科学系, 安徽 巢湖 238000; 2. 中国药科大学药学院, 江苏 南京 210009)

摘要: NF- κ B 信号通路调控超过 150 个靶基因的表达, 其中包括细胞因子、炎症趋化因子、白细胞黏附因子、诱导效应酶等, 对机体免疫反应、炎症反应、应激反应、凋亡等发挥重要的作用。I κ B 激酶 (IKK) 是该信号通路的关键激酶, 其结构较为独特, 由催化亚基和调节亚基组成。IKK 的激活需要两种亚基的相互作用和上游激酶对其的磷酸化。鉴于 IKK 的关键作用, 研究者们以其为靶点已研发出大量的抑制剂, 为新型抗炎、抗肿瘤药物的研发提供了极为有利的切入点。

关键词: NF- κ B; I κ B 激酶; 抗炎; 抗肿瘤

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 03-0253-08

Research progress of the biological characteristics of I κ B kinase and its inhibitors

XUE Jian-yue¹, ZHOU Bin², ZHANG Da-yong^{2*}, WU Xiao-ming²

(1. Department of Chemistry and Materials, Chaohu College, Chaohu 238000, China;

2. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: The NF- κ B pathway regulates the expression of over 150 target genes, e.g., cytokines, chemokines, leukocyte adhesion molecules and inducible effector enzymes. Consequently, it plays a crucial role in innate and adaptive immune responses, inflammatory response, stress responses, apoptosis and so on. I κ B kinase (IKK) is the key of this pathway, and it owns a special structure which consists of catalytic subunit and regulatory subunit. Naturally, the activation of IKK needs the interaction of the two subunits and phosphorylation by its upstream kinases. Actually, there are two methods of activation of the NF- κ B pathway, and both of the methods need the IKK complex. Given to the crucial role of IKK, researchers have isolated and synthesized amounts of IKK inhibitors, and these provide a great convenience to develop novel anti-inflammatory and anti-tumor drugs.

Key words: NF- κ B; I κ B kinase; anti-inflammatory; anti-tumor

核因子 κ B (NF- κ B) 是属于 Rel 家族的转录因子, 在机体许多致病机制中起关键作用, 参与调节与机体免疫、炎症反应、应激反应、凋亡等有关的基因转录。NF- κ B 家族拥有一个共同的 DNA 结合或二聚化区域, 即所谓的 Rel 同源区 (Rel homology domain, RHD), 该家族成员主要有 5 种, 分别是 p65 (RelA)、RelB、c-Rel、p50/p105 (NF- κ B1) 和 p52/p100 (NF- κ B2)^[1],

它们通过 RHD 能形成同或异二聚体, 其中 p65/p50 二聚体是最主要的形式。在静息细胞中, NF- κ B 与 I κ B 抑制蛋白结合形成无活性的聚合体, 隐藏在细胞质中。一旦受到细胞外因子的刺激, I κ B 即被 I κ B 激酶 (IKK) 磷酸化, 并进一步泛素化降解。自由的 NF- κ B 二聚体得以从细胞质转移到细胞核内, 并与核内靶基因的操纵子结合, 使其激活表达。这一过程中 IKK 的激活是关键因素, 本文拟从该关键激酶 IKK 着手, 分析其生物学特征, 进而阐释其在该通路中的关键性。结合近年来研究者们对 IKK 抑制剂的研究, 说明

收稿日期: 2010-07-23.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30973607); 江苏省“六大人才高峰”资助项目 (Y092003).

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

IKK 作为抗炎和抗癌靶点的重要地位。

1 IKK 的结构特征

IKK 的激活是 NF- κ B 信号通路顺利表达的关键性因素,完整的 IKK 是一个大的聚合体,分子量在 700~900 kDa 左右,一般包括催化亚基和调节亚基两大部分。催化亚基有 4 类,即 IKK α 、IKK β 、IKK ϵ 和 TBK1,最常出现的形式是 IKK α 和 IKK β 的二聚体;调节亚基即 IKK γ ,也称为 NEMO 或 FIP-3。IKK 活性的实现依赖催化亚基和调节亚基间的相互作用。任何扰乱 NEMO 和 IKK 间相互作用的反应都将损害 IKK 的功用。

1.1 催化亚基的结构特点

目前催化亚基研究较多的主要为 IKK α 和 IKK β ,两者是相关的丝氨酸、苏氨酸激酶,拥有 52% 的共有特征。尤其是,IKK α (1~745 位氨基酸残基组成的肽段) 和 IKK β (1~756 位氨基酸残基组成的肽段) 都具有下列次序的 4 个可识别区段: 一个氮端激酶区 (KD, kinase domain)、一个亮氨酸拉链基序 (LZ, leucine zipper domain)、一个螺旋-环-螺旋结构域 (HLH, helix-loop-helix domain) 和一个碳端 NEMO 结合区 (NBD, NEMO-binding domain)^[2]。其中, KD 具有催化功能; LZ 是实现催化亚基二聚化的关键部位; HLH 的后面紧接着碳端尾巴; NBD 是催化亚基与 NEMO 相结合的区段。在 IKK β 中, NBD 仅包含 735~745 的氨基酸残基, Lo 等^[3]认为 705~745 的区段与 NEMO 结合中显示出更高的结合能力。最近研究表明 IKK 与 TBK1 可一起作为 IKK 复合体的上游激酶。但其机制尚不明确,有待于进一步研究。

1.2 调节亚基的结构特点

调节亚基 NEMO 被认为是 NF- κ B 信号途径激活的“分子开关”, NEMO 是一个分子量为 50 kDa 的多区段蛋白,由 419 个氨基酸组成,其中有 11 个半胱氨酸残基。NEMO 二聚体的形成需要 54 位和 347 位半胱氨酸参与,以形成必需的二硫键结构^[4]。NEMO 蛋白分子的结构组成 (图 1^[5]) 包括两个螺旋-环-螺旋结构域 (HLH1, HLH2, helix-loop-helix domains)、两个卷曲螺旋区 (CC1, CC2, coiled coil domains)、一个亮氨酸拉链区 (LZ, leucine zipper domain)、一个碳

端锌指蛋白 (ZF, zinc finger)^[5,6]。碳端即 CC2-LZ 和 ZF 区是 NEMO 的调节区。其中, CC2-LZ 区段包含一个泛素结合区 (UBD, ubiquitin-binding domain), 通过 UBD 可实现 NEMO 的低聚反应,这对 NEMO 功能的发挥至关重要。理论上, CC2-LZ 区段可作为 NEMO 三聚化或四聚化的潜在位点,但目前的报道还仅限于二聚化^[7]。另外, ZF 区段是激活 IKK 复合体的关键因子。氮端包含 HLH1 在内的区段是 NEMO 与催化亚基相结合的位点。

2 IKK 的激活方式

2.1 两种完全不同的 NF- κ B 信号途径

体内组织中, NF- κ B 信号途径的激活分为两类: 经典途径和选择性途径^[8]。IKK 的激活是 NF- κ B 信号途径激活的关键,在胞内 NF- κ B 的两种信号途径中, IKK 的激活方式各异。

经典途径中,正常细胞膜上受体如肿瘤坏死因子受体 (TNFR)、B 细胞受体 (BCR)、T 细胞受体 (TCR) 等受到胞外因子刺激时,会产生各自不同的连锁反应,并通过 IKK 上游激酶将刺激信号转化为对 IKK 复合体的磷酸化,进而实现 IKK β 对 I κ B α 32 和 36 位丝氨酸残基的磷酸化。磷酸化后的 I κ B α 经 E3 连接酶作用,发生聚泛素效应,然后被 26S 蛋白酶体降解,释放出 p65/p50 复合物 (NF- κ B 的主要存在形式)。自由的 p65/p50 复合物转移至核内,诱导靶基因的表达。

选择性途径中,其激活方式与经典途径有着明显的不同,其胞外刺激因子主要有 TNF- α 的部分成员、B 细胞活化因子、CD40 配基、淋巴毒素- β 等^[9]。上游激酶主要为 NIK (NF- κ B-inducing kinase),它受到一个复杂的遍在蛋白连接酶复合体的调节^[10]。正常的静息细胞中, NIK 被泛素化,并经蛋白酶体作用发生降解,故不能表达。但当受到 CD40 或 BAFF 等刺激时,可阻止 NIK 的泛素化,从而使得 NIK 通过自磷酸化累积和激活,激活的 NIK 磷酸化 IKK α ,然后 NIK 和 IKK α 共同磷酸化无活性的 p100/RelB 异二聚体中的 p100 部分,再经 26S 蛋白酶体依赖的方式降解,使其转化为有活性的 p52/RelB 二聚体,并最终实现其核转移。该途径只在病理状况下如胰腺癌细胞株

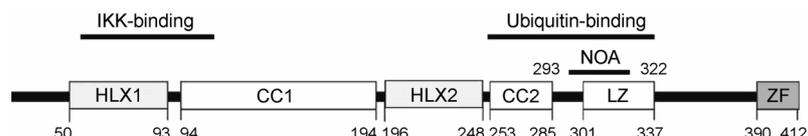


图 1 NEMO 的结构特征

中表达, 它的持续激活又使得胰腺癌进一步恶化^[11]。

2.2 经典途径中 IKK 的激活过程

2.2.1 上游激酶对 IKK 的激活过程

激活的 IKK 能够磷酸化 I κ B, 进而激活整个 NF- κ B 信号通路。反过来, IKK 的激活也需要上游激酶对其的磷酸化作用。经典途径中, IKK β 的磷酸化对整个信号通路的激活起着决定性的作用。其上游激酶主要有 TAK1 (TGF- β activated kinase 1)、NAK (NF- κ B activating kinase)、胞外信号调节激酶 (MEKK1、MEKK3)、蛋白激酶 C β (PKC β)、酪氨酸激酶家族等^[12]。从接受胞外因子刺激到 IKK 的激活, 这一过程较为复杂, 目前研究较为清楚的是与 TNFR 有关的信号转导过程 (图 2^[13])。当 TNF- α 与 TNFR1 结合后, SODD (silencer of death domain) 从受体中释放出来, 并将 TRADD (TNFR1-associated death domain)、TRAF2、TRAF5 以及 RIP1 (receptor-interacting protein 1) 等信号蛋白连续地募集至胞膜的 TNFR1 上。然后 TRAF (TNF receptor-associating factor) 蛋白募集 Ubc13 和 Uev1A, 以促使 RIP1 在 K377 位点上发生聚泛素反应。泛素化的 RIP1 通过泛素链和 TAB2 (TAK1-binding protein 2) 的 NZF 区段间的相互作用募集 TAK1 激酶复合体。RIP1 上的泛素链通过与 NEMO 结合, 以达到对 IKK 复合体的募集, 进而实现 TAK1 对 IKK β 的磷酸化激活 (该过程发生在 IKK β 活性 T 环上的 177 和 181 位丝氨酸残基上)。因此, Ea 等^[13]认为 RIP1 上的泛素链是募集 TAK1 和 IKK 复合体的平台, 为 TAK1 磷酸化激活 IKK 创造条件。Delhase 等^[14]认为在正常细胞中, 当受到各种刺激后, 胞内系统能快速磷酸化激活 IKK β , 以活化 NF- κ B 信号途径, 产生炎症反应; 当刺激因子消失后, IKK β 又能通过位于其 HLH 基序和碳端之间的丝氨酸丛的自磷酸化, 迅速降低自身活性。这种 IKK β 的负反馈调节作用, 也是其具有活性瞬变特征的原因。另外, 近年来研究表明 TNF- α 诱导的 IKK 复合体的形成和激活, 还需调节亚基 ELKS 和热休克蛋白 Hsp90/Cds37 分子伴侣的参与^[15], 但其具体的作用机制尚需进一步的研究。

2.2.2 NEMO 的激活

在 NF- κ B 信号途径中有“分子开关”之称的 NEMO, 在 IKK 复合体的形成及激活过程中起着至关重要的作用。静息或未结合状态时 (图 3^[16]), NEMO 主要是以单体形式存在, 且形成无活性的卷曲螺旋束。在这个螺旋束中 HLX2 包裹着 CC2 和 LZ 区, 使得 NEMO 关键的氨基酸残基被隐藏, 成为潜在的配偶体。在受到内源的 TNF- α 、脂多糖

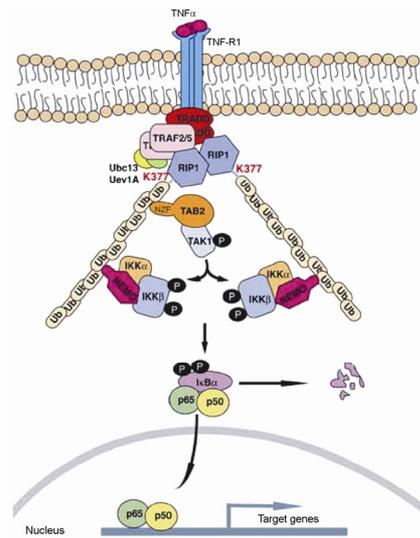


图 2 TNF- α 诱导的 IKK 激活模型

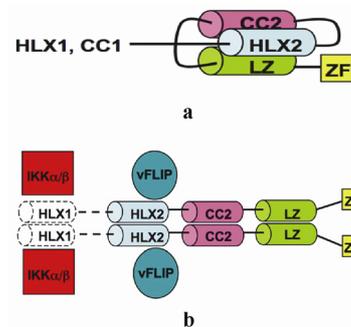


图 3 (a) NEMO 的静息构象, (b) NEMO 的活性构象

(LPS, lipopolysaccharides)、IL-1 β 或病毒刺激时, NEMO 可以打开成一个展开的构象, 使之前隐藏的基团变得容易接近。由此, NEMO 便可通过碳端的 UBD 区段发生低聚反应, 形成二聚体。这一结构可被 ks-vFLIP 稳定, 接着氮端包含 HLH1 在内的区段作为一平台以募集 IKK α 和 (或) IKK β , 从而形成完整的 IKK 复合体。同时 ZF 基序对 IKK 的完全激活是不可缺少的, 尽管 ZF 基序在 NEMO 的低聚反应和 IKK 的募集反应中不是必须的。另外, 碳端 UBD 区段是与 RIP1 泛素链相结合的部分。

2.3 非经典途径中 IKK 的激活

选择性途径在体内的作用没有经典途径广泛, 其刺激因子也相对较少, 主要为 TNF- α 的部分成员如 CD40 配基、淋巴毒素- β 、BAFF 等。上游激酶 NIK 为选择性途径的激活所必需, 而 NEMO 却并不必要。细胞接受 CD40 配基刺激后, 经过一系列磷酸化反应激活 NIK, 激活后的 NIK 作用于 IKK α 的同二聚体, 并磷酸化其 176 和 180 位的丝氨酸残基, 从而激活 IKK α 。NIK 不仅可以与 IKK α 共同磷酸化 p100, 其

本身也可作为一个能将 IKK α 募集至 p100 上的对接分子。近年来的研究表明抑制基于 NIK 和 IKK α 的选择性途径的表达, 有助于抗炎和抗肿瘤药物的研发。另外, Woronicz 等^[17]认为 NIK 的过度表达也能激活经典途径。

3 NF- κ B 信号通路及其意义

3.1 NF- κ B 二聚体入核机制

通常情况下, 在静息细胞内, NF- κ B 和 I κ B 抑制蛋白结合形成无活性的聚合体, 隐藏在细胞质中。一旦受到细胞外因子的刺激, 聚合体即与转录辅因子 cAMP 反应元件结合蛋白结合蛋白结合 (responsive element-binding protein-binding protein), 抑制分子 I κ B 就会磷酸化、泛素化并进一步蛋白分解, 进而使得从聚合体上解离出来的 NF- κ B 能够转移到细胞核并诱导转录。这一过程的作用机制, 研究者们认为 NF- κ B 亚基 p65 和 p50 上都存在核定位序列 (NLS, nuclear localizing sequence), 而 p65、I κ B 上存在出核转运序列 (NES, nuclear export sequences)。通常情况下, p65 上的 NLS 被 I κ B 掩盖, 而 p50 上的 NLS 并未被掩盖, 这就产生了一个有趣的现象, NF- κ B 和 I κ B α 的复合体在细胞核和细胞质之间不断地来回穿梭, 尽管其稳定状态在细胞质中^[18]。细胞质和细胞核定位的动态平衡主要依赖于 I κ B α 的降解, 因为这样就去除了 I κ B α 的 NLS, 并暴露了 p65 上被掩盖的 NLS, 从而导致自由的 NF- κ B 二聚体通过经典的入核转运途径转移至细胞核内。

3.2 NF- κ B 调节的靶基因及其意义

NF- κ B 信号通路的重要作用已被众多的研究所证实, 尽管如此, 起初 NF- κ B 被发现时仅被认定为 B 细胞专一基因表达的一个转录因子。后来发现 NF- κ B 信号通路在生物体中牵涉极其广泛, 激活后能促进超过 150 个靶基因的表达^[19]。其中, 细胞因子 (如 TNF- α 、G-CSF、IF-2、GM-CSF)、细胞因子受体 (如 IL-2 α)、炎症趋化因子 (如 MIP-1 α 、MIP-2)、白细胞黏附因子 (如 ICAM-1、VCAM-1、E-selectin)、免疫调节蛋白 (如 I κ k、TCR α 、TAP1) 等基因表明其对机体免疫调节、炎症反应的重要作用, 诱导效应酶 (如 iNOS、COX-2)、急性期蛋白 (如反应性蛋白、脂多糖结合蛋白) 等基因表明其在应激反应中的重要作用, 另外, 还有一些抗凋亡基因, 如 Bcl2 样因子、TRAF1、TRAF2、A20、IEX-1L 等^[19, 20]。许多生理反应均需要 NF- κ B 信号通路参与调节, 归结起来有: 先天和后天的免疫反应、炎症反应、应激反应、凋亡、细胞增殖以及肿瘤等, 更为重要的是在许多细胞中,

NF- κ B 信号通路能根据环境的变化对机体做出快速和广泛的调节。

3.3 I κ B/NF- κ B 在介导细胞凋亡中的作用

研究发现敲除 RelA (p65) 的老鼠会因大面积的肝凋亡产生胚胎致死。另外, 这种老鼠衍生的细胞对 TNF 诱导的细胞死亡的敏感性提高。许多 NF- κ B 诱导的抗凋亡基因都已经被发现, 包括凋亡抑制剂、Bcl-2 样的因子、TRAF1、TRAF2、A20 和 IEX-1L 等^[20]。这表明 I κ B/NF- κ B 信号通路能阻止细胞的凋亡。肿瘤细胞的演化机制更能说明这一点, 在肿瘤组织中, 增殖的动力源自癌细胞中癌基因的过度表达, 同时触发一个强有力的凋亡信号, 这时肿瘤组织中 NF- κ B 的异常激活, 产生抗凋亡信号以抵消上述效应^[21]。然而, 在适当的环境下, I κ B/NF- κ B 信号通路也能促进细胞的凋亡。例如, 一系列体外神经细胞受伤模型中, NF- κ B 显示出了促凋亡活性, 将神经毒素谷氨酸盐放入老鼠的主要神经培养液和海马切片中, 就会引起 NF- κ B 的激活和凋亡, 然后用阿司匹林和水杨酸盐抑制细胞中激活的 NF- κ B, 则会出现凋亡抑制活性。有趣的是 NF- κ B 在控制免疫细胞凋亡时具有双重作用, 具有依赖激活剂的性质, 在 CD4+CD+胸腺细胞中, NF- κ B 能产生诱导或抑制凋亡的作用^[20]。I κ B/NF- κ B 信号通路控制凋亡的方式有如下 3 种: ① 直接调节抑制或促进凋亡的基因; ② 调节细胞周期, 提高或降低细胞对凋亡信号的敏感性; ③ 通过干扰能影响细胞生命平衡的蛋白。然而目前, 决定 NF- κ B 抗或促凋亡的精确分子机制尚未清晰地阐明。

4 以 IKK 为靶点的抑制剂

4.1 新型三环类 IKK 抑制剂

三环类 IKK 抑制剂是以吡唑并嘌呤等为母核设计合成的, 大多具有 IKK β 选择性抑制作用, 对炎症反应和自身免疫性疾病有治疗效用。近些年先后合成了多种以咪唑啉啉、噻唑、吡唑嘌呤等为母核的三环类 IKK 小分子抑制剂^[22, 23] (1~3, 图 4), 取得可喜的成果, 但作用效能低、代谢稳定性差是其致命缺陷。最近, Kempson 等^[24]对基于吡唑嘌呤和噻吩的三环类化合物的代谢物研究发现母核氧化为一个主要的代谢途径。由此, 他们进行结构修饰, 设计电子等排体, 以阻断现有的代谢位点, 经合成得到了一系列新三环类 IKK 抑制剂 (4~6, 图 4)。图 4 中的化合物 6a, 经实验得出, IKK α IC₅₀ = 1.0 μ mol·L⁻¹, IKK β IC₅₀ = 0.005 μ mol·L⁻¹, PBMC IC₅₀ = 0.16 μ mol·L⁻¹。其作用效能、代谢稳定性较化合物 1~3 有显著的改善, 但

具有高效和较好体内药代动力学特征的新型抑制剂还有待于进一步研发。

4.2 新型查尔酮金刚烷芳维甲类 (AdArs, adamantyl arotinoids) IKK 抑制剂

维甲酸类是生物体细胞生长和分化、发育、内稳态以及癌发生等关键调节因素。维甲酸类相关分子 (RRMs, retinoid related molecules) 能够介导细胞凋亡, 近期研究表明 RRM 在癌细胞株中对 IKK/NF- κ B 信号通路有持续抑制作用。Lorenzo 等^[25]以 AdArs 化合物为先导, 经构效关系修饰, 合成了一系列新型 IKK 抑制剂 (图 5)。其中化合物 7 对 IKK β 的 IC₅₀ 为 7 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 而对 IKK α 则无明显作用, 是 IKK β 的选

择性抑制剂, 6 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的剂量即可完全抑制由 TNF α 诱导的 IKK 活性。此类化合物均具有抗炎、抗癌的活性, 有望开发成新型药物。

4.3 ent-贝壳杉烷型二萜类 IKK 抑制剂

Aquila 等^[26]从天然产物早生香茶菜属中提取到 4 个 ent-贝壳杉烷型二萜化合物, 它能够通过促使 IKK 失活来抑制 I κ B 的磷酸化和蛋白酶体降解, Leung 等^[27]在早期就证明这一点。这 4 个化合物分别是香茶菜素 xerophilusin A (10)、xerophilusin B (11)、longikaurin B (12) 和 xerophilusin F (13) (图 6)。鼠类巨噬细胞 RAW264.7 在受到脂多糖 (LPS) 的刺激后, 将会激活转录因子 NF- κ B。当图 6 中 4 个化合物各 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

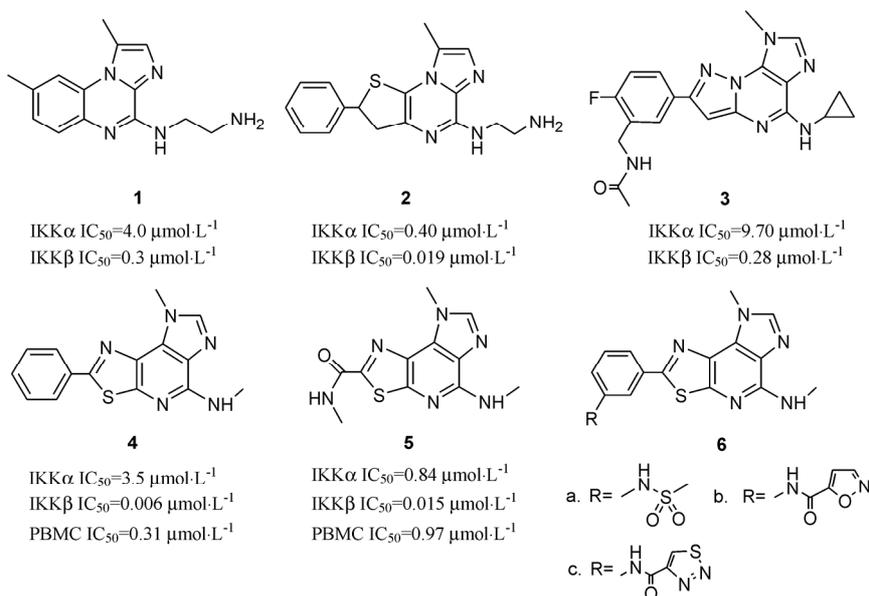


图 4 新型三环类化合物

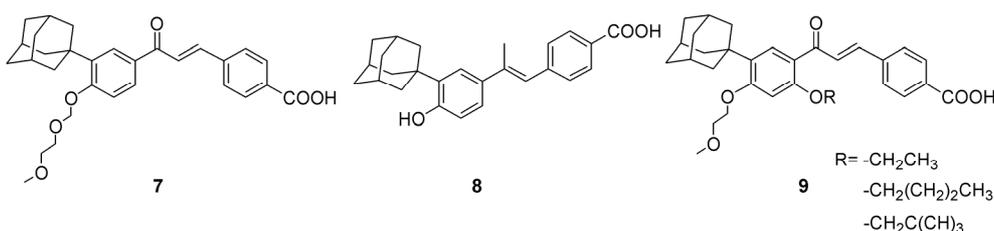


图 5 新型查尔酮金刚烷芳维甲类化合物

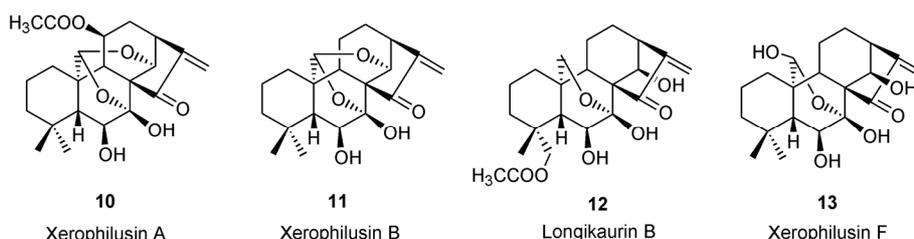


图 6 ent-贝壳杉烷型二萜化合物

分别与之接触后, 化合物 **10~12** 对 NF- κ B 信号通路有明显的抑制作用, 而化合物 **13** 则无这一特性。对于 p65 从胞质转移至核内的这一过程, 这 4 个化合物均呈现出抑制作用。

4.4 松香烷类二萜 IKK 抑制剂

中草药狼毒大戟主要化学成分是二萜、三萜和甾类等, 可用于癌症、水肿、腹水等的治疗。Yan 等^[28]从中提取了二萜类化合物 17-乙酰氧基 jolkinolide B (17-AJB, 17-acetoxyjolkinolide B, **14a**) (图 7), 经过一系列生物和化学实验分析发现 17-AJB 是 IKK β 的选择性不可逆抑制剂, 而对 TNF- α 与其受体的结合、NF- κ B 与其调节 DNA 的结合无影响。该小组另设计了 6 个 17-AJB 的类似物 (图 6, **14b~18**), 测试发现 17-AJB 活性最高。推测 17-AJB 与 IKK β 的键合可能是通过 α, β -不饱和和内酯或环氧基与激活环 Cys179 的迈克尔加成完成的。后经还原试剂 DDT 分析证实了 17-AJB 与 IKK β 发生了共价修饰, 使 IKK β 锁定在磷酸化的构型上。17-AJB 是 NF- κ B 信号途径的新型抑制剂, 它独有的作用机制使其有望成为肿瘤细胞凋亡强有力的诱导剂和新型抗癌候选药。

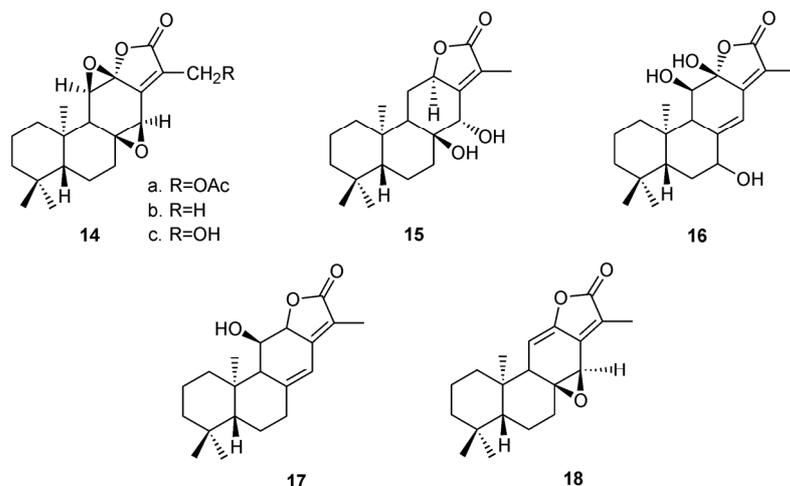


图 7 松香烷类二萜化合物

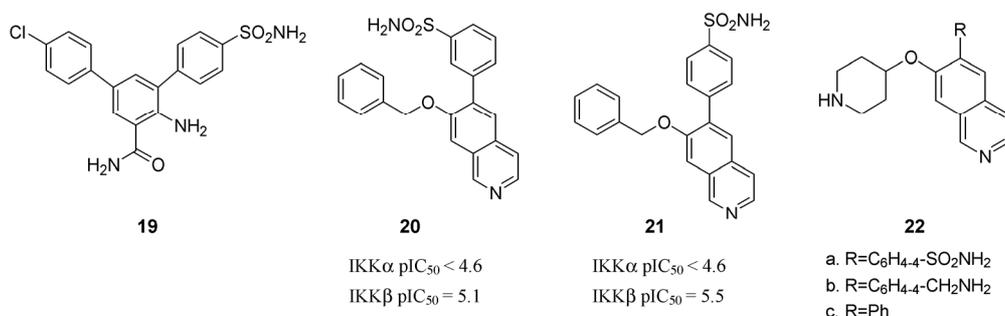


图 8 6-芳基-7-烷氧基异喹啉类化合物

4.5 6-芳基-7-烷氧基异喹啉 IKK β 抑制剂

2-氨基-3, 5-二芳基甲酰胺 (图 8, **19**) 是一个 IKK β 有效的抑制剂, 其中的氨基磺胺部分能够显著的提高抑制效用。Christopher 等^[29]推测可能是 IKK β 的 ATP 位点上氨基磺胺的氧与 Lys106 侧链或 Asp103 主链间的氢键相互作用, 他们首先将 8 000 多个芳族卤化物通过严格的子结构可展性过滤器和试剂有效性检验, 建立一个 3D 数据库, 并在 IKK β 蛋白同源模建和对接苯甲酰胺抑制剂之间用保守的相互作用建立一个 3D 药效团。通过分子对接从 280 个目标化合物中成功获得 184 个, 其中异喹啉 **20** 和 **21** 在 IKK β 蛋白活性、激酶选择性特征、服从二维靶标伸展的基础上进行进一步的评估和发展。如上获得的活性化合物与 IKK β 的 ATP 键合位点的同源模建重新对接 (图 9^[29]), 从而获得更为严格的药效团键合模型。并可进一步假设 7 位苯甲氧基被氧连接的 4 位哌啶或 4 位哌啶酰胺类和磺胺类取代最佳, 同时要使 6 位与芳基结合。依此, 合成得到了一系列具有 IKK β 抑制活性的化合物, 其中 **22a~22c** 的活性较好。化合物 **22c** 的抑制效用: IKK α pIC₅₀ = 5.6, IKK β pIC₅₀ = 7.0,

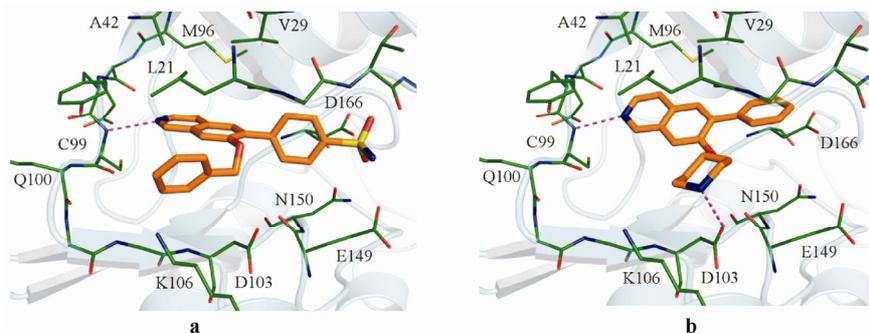


图9 (a) IKK β 与化合物 21 对接的模型; (b) IKK β 与化合物 22c 对接的模型

PBMC pIC₅₀ = 6.1。可作为 IKK β 选择性抑制剂开发的重要先导物。

5 结语

NF- κ B 信号通路在多种生理反应中起重要作用,如先天和后天的免疫反应、炎症反应、应激反应、凋亡等。IKK 作为该通路的关键激酶,对 NF- κ B 的激活发挥着至关重要的作用。研究者们通过天然活性物提取、先导化合物优化、虚拟筛选、计算机辅助药物设计等方法,已开发出大量 IKK 抑制剂。在此基础上,通过药理实验,研究者们可获得候选化合物的构效关系,继而通过计算机辅助药物设计和药理活性实验反复筛选,开发 IKK β 选择性强、体内药代动力学活性较高的化合物。目前以 IKK 为靶点,进行抗炎、抗癌药物的研发,前景较为乐观。

References

- [1] Yu MY, Liu XY. Recent progress in the study of HIV-1 transcription factor NF- κ B and its inhibitors [J]. Acta Pharm Sin (药理学学报), 2007, 42: 1007–1012.
- [2] Tegethoff S, Behlke J, Scheidereit C. Tetrameric oligomerization of I κ B kinase gamma (IKKgamma) is obligatory for IKK complex activity and NF- κ B activation [J]. Mol Cell Biol, 2003, 23: 2029–2041.
- [3] Lo YC, Maddineni U, Chung GY, et al. High-affinity interaction between IKK β and NEMO [J]. Biochemistry, 2008, 47: 3109–3116.
- [4] Herscovitch M, Comb W, Ennis T, et al. Intermolecular disulfide bond formation in the NEMO dimer requires Cys54 and Cys347 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 367: 103–108.
- [5] Grubisha O, Kaminska M, Duquerroy S, et al. DARPIn-assisted crystallography of the CC2-LZ domain of NEMO reveals a coupling between dimerization and ubiquitin binding [J]. J Mol Biol, 2010, 395: 89–104.
- [6] Agou F, Courtois G, Chiaravalli J, et al. Inhibition of NF- κ B activation by peptides targeting NF- κ B essential modulator (nemo) oligomerization [J]. J Chem Biol, 2004, 279: 54248–54257.
- [7] Marienfeld RB, Palkowitsch L, Ghosh S. Dimerization of the I κ B kinase-binding domain of NEMO is required for tumor necrosis factor alpha-induced NF- κ B activity [J]. Mol Cell Biol, 2006, 26: 9209–9219.
- [8] Ramakrishnan P, Wang WX, Wallach D. Receptor-specific signaling for both the alternative and the canonical NF- κ B activation pathways by NF- κ B-inducing kinase [J]. Immunity, 2004, 21: 477–489.
- [9] Bonizzi G, Karin M. The two NF- κ B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity [J]. Trends Immunol, 2004, 25: 280–288.
- [10] Vallabhapurapu S, Matsuzawa A, Zhang WZ, et al. Nonredundant and complementary functions of TRAF2 and TRAF3 in a ubiquitination cascade that activates NIK-dependent alternative NF- κ B signaling [J]. Nat Immunol, 2008, 9: 1364–1370.
- [11] Nishina T, Yamaguchi N, Gohda J, et al. NIK is involved in constitutive activation of the alternative NF- κ B pathway and proliferation of pancreatic cancer cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 388: 96–101.
- [12] Kim JM, Oh YK, Lee JH, et al. Induction of proinflammatory mediators requires activation of the TRAF, NIK, IKK and NF- κ B signal transduction pathway in astrocytes infected with *Escherichia coli* [J]. Clin Exp Immunol, 2005, 140: 450–460.
- [13] Ea CK, Deng L, Xia ZP, et al. Activation of IKK by TNF α requires site-specific ubiquitination of RIP1 and polyubiquitin binding by NEMO [J]. Mol Cell, 2006, 22: 245–257.
- [14] Delhase M, Hayakawa M, Chen Y, et al. Positive and negative regulation of I κ B kinase activity through IKK β subunit phosphorylation [J]. Science, 1999, 284: 309–313.

- [15] Ducut Sigala JL, Bottero V, Young DB, et al. Activation of transcription factor NF-kappaB requires ELKS, an IkappaB kinase regulatory subunit [J]. *Science*, 2004, 304: 1963-1967.
- [16] Bagn ris C, Ageichik AV, Cronin N, et al. Crystal structure of a vFlip-IKK γ complex: insights into viral activation of the IKK signalosome [J]. *Mol Cell*, 2008, 30:620-631.
- [17] Woronicz JD, Gao X, Cao Z, et al. IkB kinase- β : NF- κ B activation and complex formation with IkB kinase- α and NIK [J]. *Science*, 1997, 278: 866-869.
- [18] Johnson C, Van Antwerp D, Hope TJ. An N-terminal nuclear export signal is required for the nucleocytoplasmic shuttling of IkB α [J]. *EMBO J*, 1999, 18: 6682-6693.
- [19] Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF- κ B transcription factors [J]. *Oncogene*, 1999, 18: 6853-6866.
- [20] Barkett M, Gilmore TD. Control of apoptosis by Rel/NF- κ B transcription factors [J]. *Oncogene*, 1999, 18: 6910-6924.
- [21] Foo SY, Nolan GP. NF- κ B to the rescue: RELs, apoptosis and cellular transformation [J]. *Trends Genet*, 1999, 15: 229-235.
- [22] Burke JR, Pattoli MA, Gregor KR, et al. BMS-345541 is a highly selective inhibitor of IkB kinase that binds to an allosteric site of the enzyme and blocks NF- κ B dependent transcription in mice [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 1450-1456.
- [23] Belema M, Bunker A, Nguyen VN, et al. Synthesis and structure-activity relationship of imidazo(1, 2-a)thieno(3, 2-e)pyrazines as IKK β inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17: 4284-4289.
- [24] Kempson J, Spergel SH, Guo JQ, et al. Novel tricyclic inhibitors of IkB kinase [J]. *J Med Chem*, 2009, 52: 1994-2005.
- [25] Lorenzo P, Alvarez R, Ortiz MA, et al. Inhibition of IkB kinase- β and anticancer activities of novel chalcone adamantyl arotinoids [J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 5431-5440.
- [26] Aquila S, Weng ZY, Zeng YQ, et al. Inhibition of NF- κ B activation and iNOS induction by ent-kaurane diterpenoids in LPS-stimulated RAW264.7 murine macrophages [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72: 1269-1272.
- [27] Leung CH, Grill SP, Lam W, et al. Eriocalyxin B inhibits nuclear factor- κ B activation by interfering with the binding of both p65 and p50 to the response element in a noncompetitive manner [J]. *Mol Pharmacol*, 2006, 70: 1946-1955.
- [28] Yan SS, Li Y, Wang Y, et al. 17-Acetoxyjolkinoide B irreversibly inhibits IkB kinase and induces apoptosis of tumor cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7: 1523-1532.
- [29] Christopher JA, Bamborough P, Alder C, et al. Discovery of 6-aryl-7-alkoxy-isoquinoline inhibitors of IkB kinase- β (IKK- β) [J]. *J Med Chem*, 2009, 52: 3098-3102.

敬告作者

为了进一步做好对作者、读者的服务工作,共同办好《药学报》,编辑部决定自 2011 年起:

- ① 进一步缩短审稿周期,将原来审稿流程中外审、总审两个流程合并,改为同时送三个外审,预计可将审稿周期缩短为一个月左右;
- ② 对经专家审查认为质量较高的稿件给与版面费减免,同时加快发表;
- ③ 对有特殊要求的作者,如职称评定、学生毕业等,其论文可给予加快发表,不另收加快费;
- ④ 继续加强论文预发表,论文一经定稿即在编辑部的网上预发表;
- ⑤ 进一步加强出版印刷质量,不再另收彩图费,每印刷页收取版面费 260 元。

《药学报》在药学领域综合性期刊中多年来保持各项评价指标的首位,连续八年荣获“百种中国杰出学术期刊”,这些成绩的取得应感谢作者、读者对我们多年来的不懈支持与帮助。编辑部欢迎广大作者、读者对我们的工作多提宝贵意见,我们将不断改进工作,为大家提供更好的服务,希望我们共同努力,争取把《药学报》办成具有一定国际影响力的药学学术期刊。

本刊编辑部