

微管蛋白抑制剂的研究进展

尚海¹, 潘莉¹, 杨澍¹, 陈虹², 程卯生^{1*}

(1. 沈阳药科大学制药工程学院, 基于靶点的药物设计与研究教育部重点实验室, 辽宁 沈阳 110016;
2. 中国人民武装警察部队医学院, 天津 300162)

摘要: 微管是细胞骨架的主要组成部分, 在维持细胞形态、细胞分裂、信号转导等过程中起着重要作用。由于微管在细胞分裂过程中的重要作用, 微管蛋白已经成为研究与开发全新抗癌药物的重要靶点之一, 作用于微管系统的微管蛋白抑制剂也已成为一类有效的抗肿瘤药物。该类抑制剂的作用机制是通过抑制微管蛋白的聚合或者促进微管蛋白的聚合而干扰细胞的有丝分裂过程, 从而发挥抗肿瘤作用。本文对近年来微管蛋白抑制剂的研究进展进行了总结, 着重介绍了微管蛋白抑制剂的药理活性和临床研究进展, 并探讨了该类抑制剂的发展趋势。

关键词: 微管; 微管蛋白抑制剂; 抗肿瘤; 药理活性; 作用机制

中图分类号: R916 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870 (2010) 09-1078-11

Progress in the study of tubulin inhibitors

SHANG Hai¹, PAN Li¹, YANG Shu¹, CHEN Hong², CHENG Mao-sheng^{1*}

(1. Key Laboratory of Structure-Based Drugs Design & Discovery of Ministry of Education,
School of Pharmaceutical Engineering, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;
2. Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China)

Abstract: Microtubule is one of the key components of the cytoskeleton and plays an important role in the maintenance of cell shape and the process of signal transduction and mitosis. Due to the extreme importance of microtubule in the process of mitosis, tubulin becomes one of the most important targets for development of new anticancer drugs and tubulin inhibitors are used for the treatment of cancer nowadays. These inhibitors have antitumor activity by inhibiting or promoting the assembly of tubulin to microtubules and interfering the process of cell mitosis. This review summarized the research progress of the tubulin inhibitors, especially the introduction of the tubulin inhibitors of pharmacological activities and the progress of clinical research. Also, the development trend of these inhibitors is discussed.

Key words: microtubule; tubulin inhibitor; antitumor; pharmacological activity; mechanism of effect

微管是细胞骨架的主要组成部分, 由 α -微管蛋白和 β -微管蛋白异二聚体组成, 具有中空管状结构的特点^[1] (图 1)。此外, 还有一种 γ 微管蛋白, 它不是微管的组成成分, 但参与微管的组装。

微管具有聚合和解聚的动力学特性^[2], 在维持细

胞形态、细胞分裂、信号转导及物质输送等过程中起着重要作用。微管在细胞分裂前期聚合成为纺锤体, 而纺锤体在有丝分裂中牵引染色体向两极移动进入两个子细胞中, 完成细胞增殖。由于微管在细胞分裂中具有极其重要的作用, 现已成为抗肿瘤药物研究的重要靶点之一。作用于微管系统的微管蛋白抑制剂也已成为一类有效的抗肿瘤药物。

微管蛋白抑制剂有两种分类方法^[1, 3, 4]。一种是根据作用机制的不同分为两种类型: ① 抑制微管蛋

收稿日期: 2010-01-19.

基金项目: 天津市科技计划项目 (09ZCKFSH01700); 天津市应用基础研究计划重点项目 (06YFJZJC02700).

*通讯作者 Tel: 86-24-23986413, Fax: 86-24-23995043,

E-mail: mscheng@syphu.edu.cn

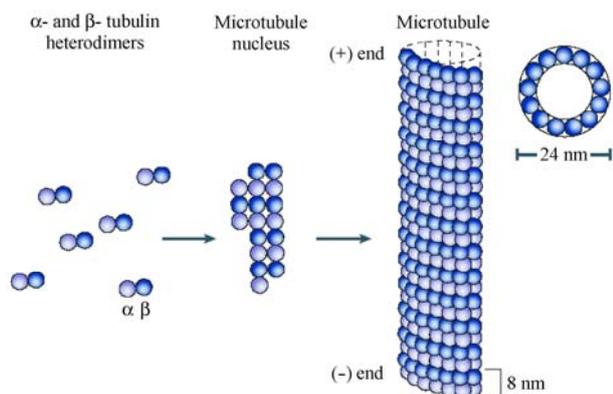


图1 微管聚合过程

白聚合的微管蛋白解聚剂; ② 促进微管蛋白聚合的微管蛋白聚合剂。另一种分类方法是根据微管蛋白抑制剂与微管蛋白作用位点的不同分为3类: ① 作用于秋水仙碱位点的微管蛋白抑制剂; ② 作用于长春碱位点的微管蛋白抑制剂; ③ 作用于紫杉醇位点的微管蛋白抑制剂。本文采用作用机制分类法, 对近年来各类微管蛋白抑制剂的最新研究进展进行总结。

1 抑制微管蛋白聚合的微管蛋白解聚剂 (图2)

1.1 Combretastatin A-4、combretastatin A-4 phosphate 与 combretastatin A-4 类似物

Combretastatin A-4 (CA4, **1**) 最初从风车子属南非柳树 *Combretum caffrum* 中分离得到, 结构上与秋水仙碱比较相似, 具有1个顺式乙烯桥连接的两个苯环的基本结构, 并且在环上有一些甲氧基取代。构效关系研究表明, 保持顺式构型对 CA4 的生物学活性有着重要意义^[5]。药理实验结果表明, CA4 能与微管蛋白结合并抑制微管蛋白的聚合, 对人类的肿瘤细胞表现出明显的细胞毒活性。CA4 水溶性较差, 难以经血管给药, 故将其制成了磷酸酯的二钠盐形式 (combretastatin A-4 phosphate, CA4P, **2**)。CA4P 作为 CA4 的前体药物, 极大地改善了 CA4 的水溶性和药代动力学性质, 利用磷酸酯酶在增殖的血管内皮细胞中的浓度高于正常细胞的特点, 使 CA4P 在肿瘤血管中被选择性激活, 靶向释放出 CA4 并发挥抗血管、抗肿瘤作用^[6]。I 期临床研究表明, CA4P 表现出很好的活性, 并有很好的耐受性且无血液毒性, 现已进入 III 期临床试验阶段^[7, 8]。

Monk 等^[9]设计合成了一系列含氮基团的 CA4 衍生物, 这些化合物仅对 CA4 的 B 环进行了结构改造, 这样就可以很好地考察含氮基团对活性的影响。在抑制微管蛋白聚合的实验中, 化合物 **3** 和 **4** 的 IC_{50} 值分

别达到了 $1.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $2.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 其活性与 CA4 相当, 在体外细胞毒实验与体内血流量抑制实验中, 两个化合物同样表现出了很好的活性。证明无论 CA4 的 B 环 3'-OH 保留还是被 H 取代, 2' 位引入氨基都会有利于保持很好的活性。此外, 在 CA4 的 B 环 2' 和 5' 位引入硝基的化合物 **5** 和 **6** 也表现出良好的抑制微管蛋白聚合的作用, 但在体外细胞毒实验与体内血流量抑制实验中表现较差。

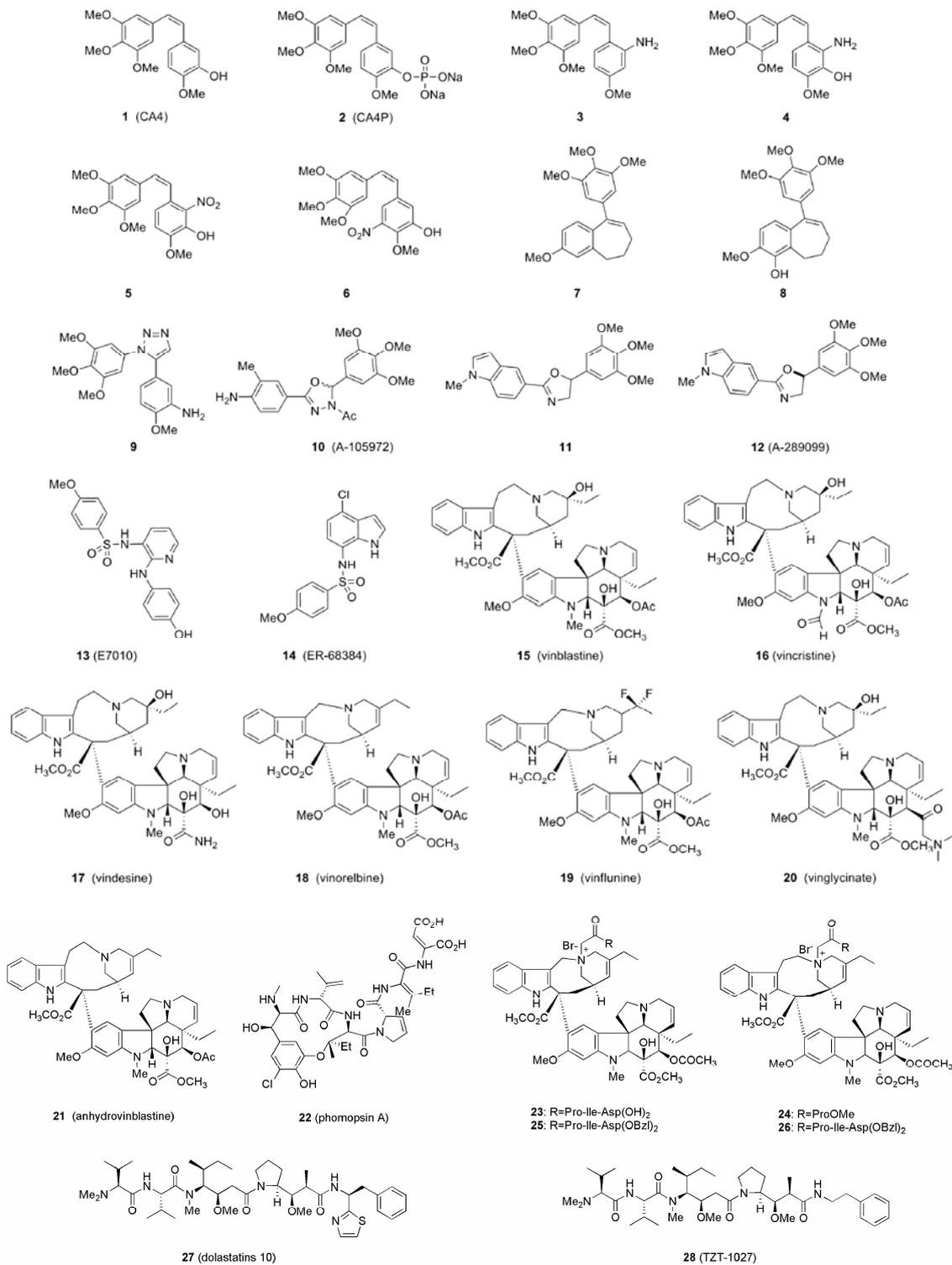
苯并环庚烯类化合物是 Sriram 等^[10]设计并合成的 CA4 类似物。由于 3, 4, 5-三甲氧基苯基是 CA4 重要的药效团, 所以该类化合物保留了 3, 4, 5-三甲氧基苯基的片段结构。从活性测试结果来看, 化合物 **7** 和 **8** 表现出了良好的活性, 其抑制微管蛋白聚合的 IC_{50} 值分别为 $1.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 这一结果与 CA4 ($1.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 测试结果相当。值得注意的是: 化合物 **8** 对 NCI-H460、DU-145 和 SKOV-3 等 3 种肿瘤细胞株均显示出了显著的细胞毒活性, 除了作用于微管蛋白这个靶点外, 很有可能还存在其他抑制肿瘤细胞生长的作用机制。

Odlo 等^[11]根据 CA4 的构效关系研究结果设计并合成了 1, 5-二取代-1, 2, 3-三氮唑类化合物。该类化合物中均包含了 CA4 的 A 环 3, 4, 5-三甲氧基苯基片段和 B 环对甲氧基苯基片段结构, 同时, 1, 2, 3-三氮唑杂环充当了 CA4 中双键的作用, 并且通过环的刚性结构, 使得 1 位和 5 位的取代基处于环的同侧, 很好地模拟了 CA4 的顺式构型, 从而保持了良好的活性。药理实验结果表明, 化合物 **9** 对不同的肿瘤细胞均表现出了良好的体外细胞毒活性, 其 IC_{50} 值与 CA4 相当 (表 1)。分子对接研究表明, 化合物 **9** 结合在秋水仙碱位点的 α , β -微管蛋白上, 且大部分结合在 β 亚基上。

Li 等^[12]以化合物 A-105972 (**10**) 为先导化合物合成了一系列 2-取代咪唑啉类化合物。在所合成的化合物中, 化合物 **11** 对 NCI-H460 及 HCT-15 两个肿瘤细胞株均表现出了明显的抗增殖活性, 同时其口服生物利用度可达到 35%。作者还对化合物 **11** 的两个对映异构体进行了进一步的研究, 研究表明, 化合物 **11** 的 *S*-异构体 A-289099 (**12**) 抗增殖作用明显优于 *R*-异构体, 并表现出明显的抑制微管蛋白聚合的作用, 其 IC_{50} 值达 $2.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。分子模拟结果表明, 该类化合物在结构上为 CA4 的类似物, 作用位点为秋水仙碱位点。

表 1 CA4 与化合物 9 的体外细胞毒性测试 IC₅₀ 值 (nmol·L⁻¹)

化合物	MDA-MB231	SK-BR 3	SKOV	OVCAR	WM35	WM239
CA4	6.00	5.10	3.30	3.30	2.50	2.80
9	>10	4.00	4.90	4.70	3.90	5.10



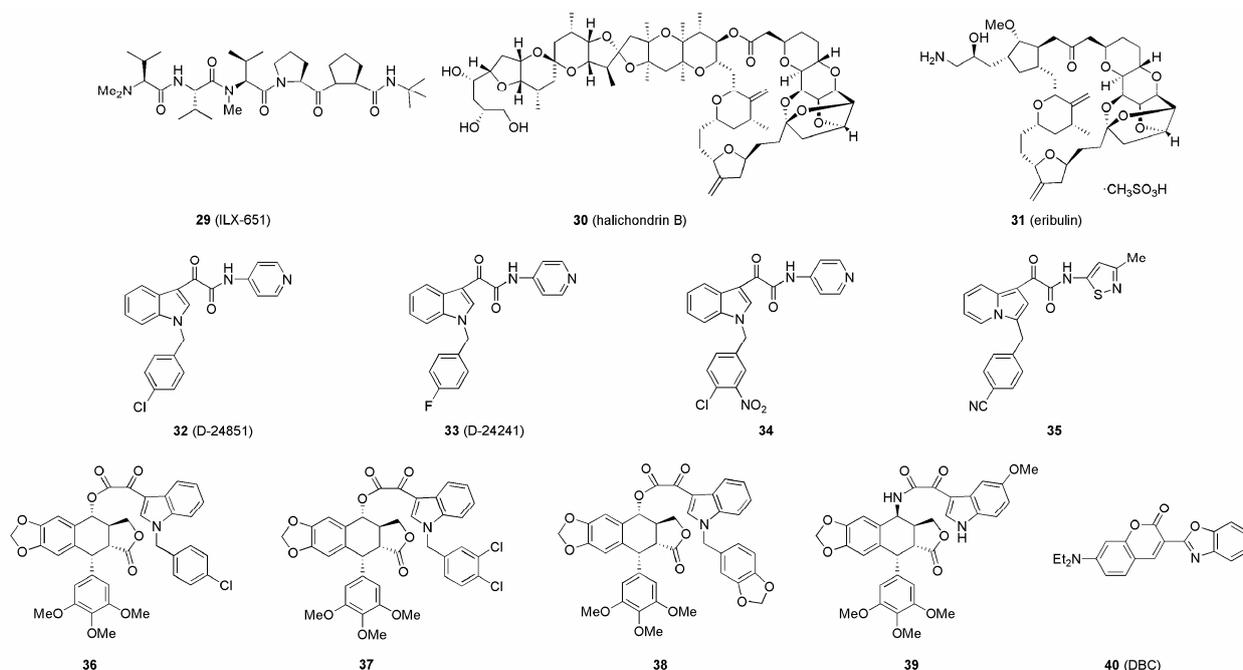


图2 微管蛋白解聚剂

从上述 CA4 类似物的结构中不难发现, 所有化合物均包含了 3, 4, 5-三甲氧基苯基和对甲氧基苯基片段结构, 并通过 1 个类似顺式乙烯桥的结构片段相连接, 使两个取代芳基片段保持了很好的顺式构型。这些结构特征符合 CA4 构效关系研究结果, 同时良好的活性结果也证明了这些特征对活性保持起着重要作用。CA4 及其类似物作为抗癌药物目前正处在不断的发展中, 许多新的类似物还处在初期研究阶段, CA4 及其类似物作为抗癌药物进入临床应用可能还言之过早, 但可以确定的是, 未来几年将会有有一个或者多个基于 CA4 设计的药物进入临床使用, 成为一类重要的抗癌药物。

1.2 吡啶-磺胺类化合物

近年来, 随着人们对磺胺类药物的不断研究, 发现部分磺胺类化合物表现出抗肿瘤活性, 该类化合物可与微管蛋白的秋水仙碱位点结合, 干扰细胞的有丝分裂过程, 从而起到抗肿瘤作用^[13, 14]。其中代表性化合物 E7010 (**13**) 可以可逆性地结合在秋水仙碱位点的 β -微管蛋白上, 阻止微管蛋白聚合, 干扰有丝分裂过程, 表现出抗肿瘤活性, 并对长春新碱耐药的 P388 瘤株也有活性, 现已完成 I 期临床研究^[15-18]。

Mohan 等^[19]在 E7010 的基础上进行了结构改造, 合成了吡啶-磺胺类化合物, 并表现出了良好的抑制微管蛋白聚合的活性。药理实验结果表明, 该类化

合物对 HeLa 细胞株表现出了较好的抑制细胞生长活性。其中, 活性最好的化合物 **14** 的 IC_{50} 值为 $6.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。进一步研究表明, 该类化合物通过干扰纺锤体微管的动力学组装从而起到抑制细胞增殖的作用, 并且可使 bcl-2 高度磷酸化而诱导细胞凋亡, 杀死肿瘤细胞。

1.3 长春碱类化合物

长春碱类抗肿瘤化合物是从夹竹桃科植物长春花 (*Catharanthus roseus*) 中提取的具有抗癌活性的一类生物碱。研究表明, 长春碱类药物作用于细胞微管蛋白并干扰细胞周期的有丝分裂阶段, 抑制微管聚合, 阻止纺锤体微管的形成, 从而阻止肿瘤细胞分裂增殖^[20]。该类生物碱自发现具有抗肿瘤活性以来, 已有长春碱 (vinblastine, **15**)、长春新碱 (vincristine, **16**)、长春地辛 (vindesine, **17**) 和长春瑞滨 (vinorelbine, **18**) 用于临床治疗, 而长春氟宁 (vinflunine, **19**)、长春甘酯 (vinglycinat, **20**) 及脱水长春碱 (anhydrovinblastine, **21**) 正处于临床研究阶段^[21]。

长春碱可引起细胞核崩溃, 呈空泡状固缩, 也能作用于细胞膜, 干扰细胞膜对氨基酸的转运, 抑制蛋白质的合成, 并通过抑制 RNA 综合酶的活力而抑制其合成, 将细胞杀灭于 G_1 期。临床主要用于治疗急性白血病、淋巴瘤及绒毛膜上皮癌, 它与顺铂和博来霉素联合应用是治疗播散性非精原细胞睾丸癌的首选, 可使大多数病人获得长期存活。

长春新碱可抑制微管蛋白的聚合, 从而影响纺锤体微管的形成, 使有丝分裂停止于中期。还可干扰蛋白质代谢及抑制 RNA 多聚酶的活力, 并抑制细胞膜类脂质的合成和氨基酸在细胞膜的转运。临床主要用于治疗急性淋巴细胞性白血病、霍奇金病和恶性淋巴瘤。单独使用对儿童急性淋巴细胞性白血病的完全缓解率达 50%, 与泼尼松合用可达 90%。但由于长春新碱神经系统毒性和局部刺激性较大地限制了其在临床上的使用, 目前临床上往往采用联合用药的方法来降低长春新碱的毒性以提高其疗效。

在对长春碱结构改造过程中, 合成了长春地辛, 它可以与细胞内的转铁蛋白形成共价键, 阻止铁的运输。对实验动物肿瘤的抑制活性远优于长春碱和长春新碱, 对急性淋巴细胞性白血病及慢性粒细胞性白血病有显著疗效。对小细胞及非小细胞肺癌、乳腺癌也有较好疗效^[22]。不良反应为骨髓抑制、胃肠道反应、神经毒性、生殖毒性和致畸作用和局部组织刺激反应。

长春瑞滨是近年来开发上市的另一半合成的长春碱衍生物, 浓度大于 $12 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时可阻断 G_2/M 期, 对有丝分裂的微管和轴突微管有亲和力, 可引起神经毒性, 但毒性作用较长春碱和长春新碱弱。它对肺癌, 尤其对非小细胞肺癌的疗效好, 还用于乳腺癌、卵巢癌、食道癌等的治疗。不良反应表现为血液学毒性、神经毒性、胃肠道毒性、支气管及肺毒性, 少数病人用药后还会出现中度脱发和下颌痛。

长春氟宁是一种新型的半合成长春花碱, 通过抑制微管蛋白的细胞增殖发挥其抗肿瘤作用, 目前正处于 III 期临床研究, 用于治疗各种实体瘤和白血病。与其他长春碱一样, 长春氟宁能抑制细胞微管的动态不稳定性以及踏车行为, 但对微管的结合力和对微管聚集的抑制作用相对较弱。体外实验表明, 长春氟宁抑制多株瘤细胞的 IC_{50} 在 $0.05\sim 2.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间; 而体内实验证明长春氟宁剂量依赖性地抑制小鼠不同类型移植肿瘤的生长, 具有明显的抗肿瘤作用^[23]。

长春碱类药物均含有 3 个叔氨基, 一个仲氨基, 具有一定的弱碱性。药用时, 除长春瑞滨以重石酸长春瑞滨应用外, 其余为硫酸盐形式。构效关系研究表明, 在长春碱类化合物中, C-2'和 C-18'上的取代基和构型对长春碱类化合物的抗肿瘤活性的保持十分重要。其构型的改变、环的破坏均会引起抗肿瘤活性的完全丧失。C-3 和 C-4 位酯基的修饰对长春碱类化

合物和微管蛋白结合的亲和力影响较小, 但对药物在细胞内的聚集和滞留有明显的改变。如长春地辛比长春碱和长春新碱疗效显著^[22]。

1.4 长春花生物碱与拟茎点霉毒素的拼合物

拟茎点霉毒素 (phomopsin) 是一种真菌毒素, 它通过选择性的结合于微管蛋白二聚体, 抑制微管纺锤体的形成从而阻止细胞分裂。研究发现, phomopsin 能够表现出一定程度的抗肿瘤活性, 并可以选择性地作用于肝脏而尽量减少对其他组织的影响^[24]。Ngo 等^[25]采用拼合原理设计并合成了一类长春花生物碱与 phomopsin A (**22**) 拼合的化合物。他们将 octahydrophomopsin A 的侧链连接到脱水长春碱和长春瑞滨的长春碱环的叔胺上, 形成季铵盐, 以期待这类化合物既能作用于微管蛋白的 vinblastine (VLB) 位点, 同时还能作用于 phomopsin A 位点。活性测试结果表明, 除化合物 **23** 外, 其他化合物均表现出抑制微管蛋白聚合的作用, 其中化合物 **24** 表现出了比长春碱更好的活性 ($IC_{50-24}/IC_{50-VLB} = 0.9$)。值得注意的是, 化合物 **25** 和 **26** 在三肽侧链连有大体积保护基的情况下依然表现出了很强的活性 ($IC_{50-25}/IC_{50-VLB} = 1.8$ 和 $IC_{50-26}/IC_{50-VLB} = 1.3$)。在针对 KB 细胞株的细胞毒测试中, 除化合物 **25** 外, 其余化合物的 IC_{50} 值均小于 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。而分子模拟研究发现, 该类化合物的侧链处于一个与 phomopsin A 侧链方向不相同的活性口袋中, 并能干扰 α -微管蛋白和 β -微管蛋白, 从而增强了该类化合物的活性, 这也解释了化合物 **25** 和 **26** 在连有大体积保护基的情况下依然具有很好活性的原因。

1.5 Dolastatins 10 及其类似物

Dolastatins 10 (**27**) 由 Pettit 等从印度洋软体动物 *Dolabella auricularia* 中分离得到, 能抑制微管的聚合, 干扰肿瘤细胞的有丝分裂, 并对多种肿瘤细胞有抗增殖和诱导凋亡的作用。其作用位点在长春碱位点附近, 是一种长春碱和微管结合的非竞争性抑制剂, 当将其与作用于微管的药物长春碱合用时显示出协同作用^[26, 27]。I 期临床研究发现, dolastatins 10 可使 40% 的病人出现中度的外周神经毒性反应。II 期临床试验中, 由于该药对前列腺癌和恶性黑色素瘤没有明显疗效, 因而已遭淘汰^[28]。

TZT-1027 (auristatin PE, soblidotin, **28**) 是 dolastatins 10 的衍生物, 具有抑制微管聚合的活性。以 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 静脉注射 TZT-1027 后, 可明显看到抑制小鼠 B16 黑色素瘤、colon26 腺瘤和 M5076 肉瘤

的增长, 且活性优于 dolastatins 10、顺铂、长春新碱、5-氟尿嘧啶以及 E7010。它对耐长春新碱、顺铂和 5-氟尿嘧啶的 P388 白血病细胞也显示出了很好的活性, 但对耐阿霉素的无效^[29]。研究发现, TZT-1027 除了具有抑制微管蛋白聚合的活性, 还表现出了显著的抗血管增生作用^[30]。I 期临床研究发现, 其毒性主要表现为嗜中性白细胞减少和注射部位疼痛, 此外, 还会出现疲劳、食欲减退、恶心、脱发等不良反应^[31, 32]。目前, II 期临床正在进行中, 用于治疗非小细胞肺癌和软组织肉瘤。

ILX-651 (29) 是合成得到的第 3 代 dolastatins 15 的类似物, 其同样具有抑制微管蛋白聚合, 干扰细胞有丝分裂的作用。I 期临床研究发现, ILX-651 与其他微管蛋白抑制剂 (如: 其他 dolastatins 类似物) 相比, 毒性显著降低^[33-35]。II 期用于治疗黑色素瘤、非小细胞肺癌以及激素治疗失败的前列腺癌的研究已经完成, 现正处于评估阶段^[36]。

1.6 软海绵素 B 与 eribulin

软海绵素 B (halichondrin, 30) 是一种长春碱和微管结合的非竞争性抑制剂, 具有抑制微管蛋白聚合的作用。由于其在不同的动物模型中均表现出了很好的活性, 因此, 它适合进一步开发并应用于临床治疗。但软海绵素 B 的来源不足, 所以临床研究受到了限制。Eribulin 甲磺酸盐 (31) 是在软海绵素 B 的基础上, 经结构优化得到的一个软海绵素 B 类似物, 与软海绵素 B 一样, eribulin 也是一个微管蛋白聚合抑制剂。作用机制研究表明, eribulin 可以高亲和地结合于微管的 (+) 端, 而不影响微管 (-) 端的动态不稳定性, 从而破坏了微管的动态不稳定性^[37]。体外实验显示其与软海绵素 B 具有相同的亚纳摩尔水平的抗癌活性。目前, eribulin 用于治疗局部复发性或转移性乳腺癌的 III 期临床试验正在进行中^[8]。

1.7 吲哚-3-草酰胺类化合物

吲哚-3-草酰胺类化合物是一类新型的小分子微管蛋白抑制剂^[38-41]。此类微管蛋白抑制剂中最具代表性的是化合物 D-24851 (32), 该化合物可以抑制微管聚合, 从而使细胞周期停滞在 G₂/M 期。与微管蛋白的竞争性结合实验结果表明, D-24851 不作用于已知的微管蛋白抑制剂的结合位点, 因此很可能作用于微管蛋白上一个新的作用位点^[42]。D-24851 在体内和体外抗肿瘤实验中均显示出很强的抗肿瘤活性, 并具有可口服给药、对多药耐药肿瘤细胞有效以及治疗剂量下无神经毒性等优点。基于上述优点, D-24851

现已作为抗肿瘤候选药物完成 I 期临床研究^[43]。

Marchand 等^[44]以 D-24851 和化合物 D-24241 (33) 为先导化合物, 合成了一系列 N-芳基取代的吲哚-3-草酰胺类化合物, 并对构效关系进行了讨论。构效关系研究表明, 4-氨基吡啶基团和吲哚氮上的取代苄基基团均对保持活性起到了重要作用。在所合成的该类化合物中, 化合物 34 明显表现出抗增殖作用, 其活性与先导化合物 D-24851 相当。

James 等^[45]合成了一系列 N-芳基取代的吲哚-3-草酰胺类化合物。他们将吲哚氮上的氢用对氯苄基取代, 草酰基一端连接不同的芳香杂环胺, 从而考察了不同芳杂胺对活性的影响。作者还对不同母核替代吲哚母核对活性的影响进行了考察。研究结果表明, 吲哚替代吲哚母核所得到的吲哚草酰胺类化合物具有很好的活性。其中, 化合物 35 对不同的肿瘤细胞株, 特别是对紫杉醇有多药耐药的 MES-SA/DX5 和 HL60/TX1000 两个肿瘤细胞株, 依然显示出了很强的细胞毒作用。

1.8 取代吲哚-3-草酰鬼臼毒素类化合物

Yu 等^[46]运用药物设计的拼合原理, 设计并合成了一类基于 D-24851 的吲哚-3-草酰基结构的鬼臼毒素衍生物。药理实验结果表明, 该类化合物对 HeLa 和 SKOV-3 两个肿瘤细胞株表现出了不同程度的细胞毒活性, 其中化合物 36、37、38 和 39 等部分化合物还对耐阿霉素 K562 细胞显示出了较好的细胞毒活性。

1.9 7-二乙氨基-3-(2'-苯并噁唑基)-香豆素 (DBC)

Lee 等^[47]合成了一系列结构新颖的 7-二乙氨基香豆素类化合物, 其中活性最好的是化合物 DBC (40)。作为一个微管蛋白抑制剂, 它可使微管蛋白失去稳定性, 从而导致细胞周期停滞在 G₂/M 期。药理测试结果表明^[48], 人类的肿瘤细胞对 DBC 的敏感性 (IC₅₀ = 44.8~475.2 nmol·L⁻¹) 大于正常纤维原细胞对 DBC 的敏感性 (IC₅₀ = 7.9 μmol·L⁻¹)。同时它还对多药耐药肿瘤细胞具有抗增殖作用。基于以上这些特点, 化合物 40 表现出了独特的药理性质。

2 促进微管蛋白聚合的微管蛋白聚合剂 (图 3)

2.1 紫杉醇及其类似物

紫杉醇 (paclitaxel, 41) 最先是来自美国西海岸的短叶红豆杉的树皮中提取得到的一个具有紫杉烯环的二萜类化合物, 具有促进微管蛋白聚合活性。它具有很强的抑制肿瘤细胞活性, 除耐药细胞株系外, 其 IC₅₀ 值小于 10 nmol·L⁻¹, 对肿瘤细胞生长的抑制作用

与对微管蛋白的作用一致。紫杉醇与细胞接触后会诱发 DNA 断裂,引起细胞凋亡。此外,它还能诱导细胞中肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 基因的表达,提高蛋白质,包括 MAP 激酶和 Raf-1 激酶的酪氨酸残基的磷酸化水平^[49]。1992 年 12 月,美国 FDA 批准了紫杉醇用于乳腺癌和卵巢癌的治疗,次年,施贵宝公司开始在美国市场销售。由于它对大多数实体瘤有强力抑制作用,尤其对晚期卵巢癌、乳腺癌、非小细胞肺癌和卡波济氏肉瘤的疗效确切、副作用较小,故上市 10 年来销售额一直保持较高的增长率。但是,紫杉醇在数种红豆杉属植物中含量很低,使来源受到限制。后来,在浆果紫杉的新鲜叶子中提取得到紫杉醇的前体 10-去乙酰浆果赤霉素 III,并以此进行半合成紫杉醇及其衍生物,从而解决了来源受限问题。

多西紫杉醇 (docetaxel, **42**) 是通过半合成方法得到的紫杉醇类似物。其水溶性比紫杉醇好,抗肿瘤谱更广,对除肾癌、结肠癌、直肠癌以外的其他实体瘤都有效。在相当的毒性剂量下,其抗肿瘤作用比紫杉醇高 1 倍,且同样情况下,活性优于紫杉醇^[50]。

尽管目前仅有紫杉醇和多西紫杉醇用于临床治疗,但已有许多类似物进入了临床研究阶段。Taxoprexin (DHA-paclitaxel, **43**) 为 2'-酰基紫杉醇,是半合成的紫杉烷类化合物,它是紫杉醇的前药,本身并无细胞毒活性,当 DHA 断裂后以紫杉醇的形式产生抗肿瘤活性。由于肿瘤细胞比正常细胞对 DHA 的吸收能力更强,这样会使 taxoprexin 集中在肿瘤组织处,当酯键断裂后,肿瘤细胞中的紫杉醇浓度要比直接使用紫杉醇更高,细胞毒活性也更强。II 期临床研究表明, taxoprexin 对非小细胞肺癌的应答率很低,但具有部分应答和稳定病情的作用^[51],现正处于 III 期临床试验阶段用于治疗非小细胞肺癌^[4]。Larotaxel (**44**) 为多西紫杉醇的衍生物,临床前研究证明它对紫杉醇耐药的肿瘤细胞有较好的活性,并可以通过血脑屏障。II 期临床研究显示, larotaxel 对之前接受过紫杉醇治疗的转移性乳腺癌患者有很好的治疗作用^[52]。现已进入治疗乳腺癌和胰腺癌的 III 期临床试验阶段^[8]。Paclitaxel poliglumex (**45**) 为紫杉醇与聚谷氨酸的结合物,目的是提高紫杉醇水溶性和改善其药理学特征。现处于 III 期临床试验阶段用于治疗非小细胞肺癌和卵巢癌。Cabazitaxel (XRP-6258, TXD258, **46**) 是多西紫杉醇的二甲氧基衍生物,现处于 III 期临床试验阶段与泼尼松联用治疗抗激素转移性前列

腺癌。此外, simotaxel (**47**)、TL-310 (**48**) 等化合物处于 I 期临床研究阶段,而 TPI-287 (**49**)、ortataxel (**50**) 等化合物也已处于 II 期临床研究阶段^[4, 8]。

最近, Ojima 等^[53]在对紫杉烷类化合物构效关系研究的基础上,针对紫杉烷类化合物的 C2、C10 和 C3' 上的 N 位进行了系统的结构修饰,合成了结构新颖的第二代紫杉烷类化合物。第二代紫杉烷类化合物对多药耐药肿瘤细胞表现出了很强的细胞毒作用,其中化合物 **51**、**52** 等几个紫杉烷类化合物由于明显地表现出对药物敏感肿瘤细胞和多药耐药肿瘤细胞均有效且作用效果无明显差异的特点,成为第 3 代紫杉烷类化合物,它们的耐药因子甚至小于 1。在针对乳腺癌 1A9PTX10 和 1A9PTX22 两个紫杉醇耐药细胞株的细胞毒实验中,化合物 **51** 和 **53** 的细胞毒作用明显强于紫杉醇,其 IC₅₀ 值比紫杉醇低 2 个数量级。同时,化合物 **51** 和 **53** 对 4 种胰腺癌细胞也表现出明显的细胞毒作用,其中化合物 **53** 的 IC₅₀ 值均小于 4 nmol·L⁻¹。

2.2 埃博霉素及其类似物

埃博霉素 A (**54**) 和埃博霉素 B (**55**) 最初被分离出来是作为抗真菌药使用的,1995 年它们被报道具有促进微管蛋白聚合的活性。埃博霉素的生物活性研究显示出它的作用机制与紫杉醇相似,结合在微管蛋白 β 亚基上,促进微管蛋白聚合,从而使细胞分裂停止在有丝分裂中期,导致肿瘤细胞凋亡。研究表明,紫杉醇和埃博霉素在微管上的结合位点在很大程度上是重叠的^[54]。

与紫杉醇相比,埃博霉素有着以下几个优点:①天然的埃博霉素活性比紫杉醇强 10 到 1000 多倍;②水溶性比紫杉醇更好;③结构相对简单,易合成得到;④与紫杉醇不同,埃博霉素对许多药物治疗效果不稳定的癌细胞以及多药配伍易产生抗药性的癌细胞也具有高活性,表现出对紫杉醇及其他抗癌药物有耐药性的癌细胞具有优异的疗效^[55]。由于埃博霉素作为抗肿瘤化合物有着极其独特的优点,药物学家、化学家和生物学家对其进行了大量而深入研究,埃博霉素 B (patupilone) 目前处于 III 期临床试验阶段用于治疗卵巢癌^[8]。

美国施贵宝公司开发的伊沙匹隆 (ixabepilone, **56**) 是埃博霉素 B 内酰胺的类似物,也是第一个埃博霉素类全新抗肿瘤药物。其作用机制与紫杉醇类药物类似,可与微管蛋白结合而导致肿瘤细胞不能顺利

进行有丝分裂, 最终使肿瘤细胞凋亡。伊沙匹隆对多种肿瘤细胞具有很好的活性, 如乳腺癌、结肠癌、肺癌等^[56]。体外实验表明, 其较少受到肿瘤的多药耐药机制影响, 包括转运蛋白如 MRP-1 和 P-糖蛋白外排作用的影响。I / II 期临床试验研究结果表明, 对于曾接受过紫杉醇和阿霉素治疗的转移性乳腺癌患者, 伊沙匹隆和卡培他滨合用可增加抗肿瘤疗效, 同时安全性也易于控制。III 期临床试验结果显示: 对于蒽环类和紫杉类耐药的转移性乳腺癌, 伊沙匹隆联合卡培他滨的疗效优于卡培他滨单药治疗。2007 年 10 月, 美国 FDA 批准伊沙匹隆可用于对蒽环类、紫杉烷类、卡培他滨耐药的晚期乳腺癌治疗^[57-59]。

由于埃博霉素及其类似物在抗肿瘤方面体现出的众多优势, 埃博霉素及其类似物很有可能会成为一类新的抗肿瘤药物, 该类化合物将会在治疗乳腺

癌以及其他肿瘤疾病方面起到重要的作用。

2.3 Discodermolide

Discodermolide (57) 是从海绵 *Discodermia dissoluta* 中分离得到的一个海洋天然产物^[60], 具有促进微管蛋白聚合的活性。定量分析实验发现, 在室温下, 使 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的微管蛋白聚合所需紫杉醇的 EC_{50} 值为 $23 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 而 discodermolide 的 EC_{50} 值仅为 $3.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 其诱导微管蛋白聚合的能力强于紫杉醇^[61]。与紫杉醇位点的竞争性结合实验中, discodermolide 可以将结合在紫杉醇位点的紫杉醇置换下来, 即使加入过量的紫杉醇也不会影响 discodermolide 的结合。这一结果说明 discodermolide 与微管蛋白的结合能力强于紫杉醇, 很有可能与紫杉醇作用于同一位点, 或者与紫杉醇位点重叠^[62]。关于 discodermolide 的全合成已有文献报道, 也已合成

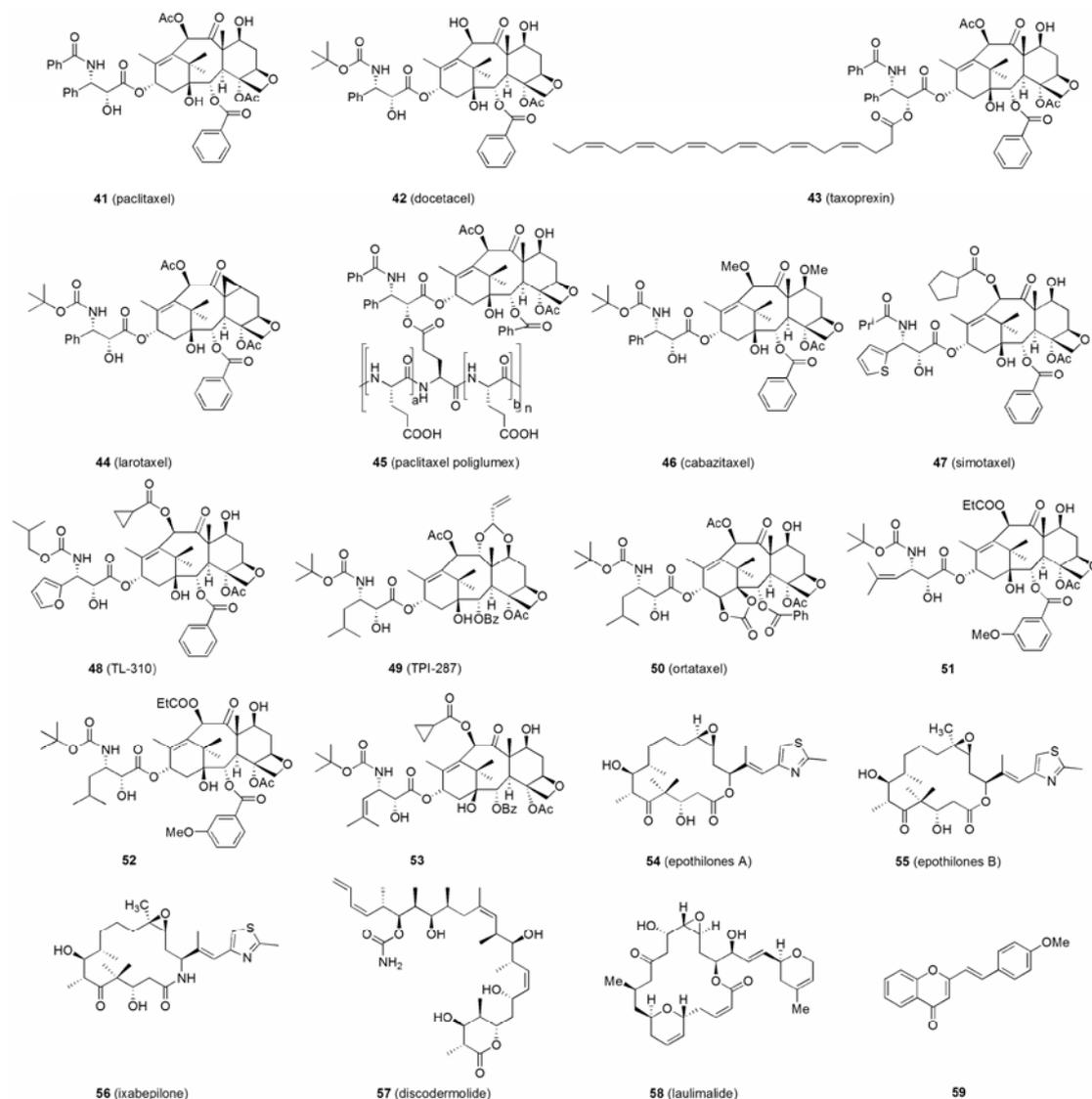


图 3 微管蛋白聚合剂

了许多类似物,进行了活性测试,并总结出了构效关系^[63]。虽然临床研究发现 *discodermolide* 具有毒性,诺华公司停止了对其进一步的研究^[8],但其类似物很有可能成为临床候选药物并进入临床研究。

2.4 Laulimalide

Laulimalide (**58**) 是一种具有细胞毒活性的海洋天然产物,具有促进微管蛋白聚合的作用^[64]。研究发现,它虽具有和紫杉醇类似的作用方式,却并不作用于紫杉醇位点,这说明在微管上很有可能还存在其他可以使微管蛋白聚合的作用位点^[65]。对于一些紫杉醇和埃博霉素耐药的卵巢癌瘤株, *laulimalide* 表现了明显优于紫杉醇和埃博霉素的活性,这很有可能也与 *laulimalide* 不作用于紫杉醇位点有关。Ghosh 等^[66]于 2001 年报道了 *laulimalide* 的全合成路线,这将有助于合成出更多的 *laulimalide* 衍生物,以寻找出活性更好的化合物。虽然目前 *laulimalide* 还未进入临床研究,但由于它独特的作用位点和很好的活性,相信 *laulimalide* 和以 *laulimalide* 为先导化合物得到的衍生物不久就会进入临床研究。

2.5 4'-甲氧基-2-苯乙烯基色酮

4'-甲氧基-2-苯乙烯基色酮 (**59**) 作为微管蛋白抑制剂可以抑制多种人类肿瘤细胞的生长^[67],例如可选择性地抑制人类肿瘤细胞 MCF-7 与 NCI-H460 的增殖,而对正常的成纤维细胞 MRC-5 敏感性较差。研究表明,化合物 **59** 可以使纺锤体形成单级结构,导致有丝分裂纺锤体异常,从而使有丝分裂停止,表现出干扰微管的作用。其作用机制与紫杉醇的抑制微管解聚、促进其聚合类似。

结语

综上所述,药物化学家已经合成了大量结构多样的微管蛋白抑制剂,且部分化合物表现出了很强的抗肿瘤作用。其中,作用于秋水仙碱位点的 CA4 及其类似物已经成为近几年来研究的一个热点,并取得了很大进展。而针对一些经典的微管蛋白抑制剂进行深入的结构修饰与改造,以期获得活性更好、对多药耐药肿瘤细胞有效的化合物也将成为研究与开发该类药物的一个新方向。此外,一些作用于未知位点的微管蛋白抑制剂的出现将会有助于发现新的抗肿瘤作用机制,从而获得一些作用机制独特的抗肿瘤药物,为微管蛋白抑制剂的研究开辟出一片新领域。因此,相信随着研究的不断深入,将会有许多活性更强、毒性更低、对多药耐药肿瘤细胞更有效的新

型微管蛋白抑制剂不断涌现出来。

References

- [1] Jordan MA, Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drugs [J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4: 253-265.
- [2] Li JN, Jiang JD. Biological characteristics of microtubule and related drug research [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2003, 38: 311-315.
- [3] Cragg GM, Newman DJ. A tale of two tumor targets: topoisomerase I and tubulin. The wall and wani contribution to cancer chemotherapy [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67: 232-244.
- [4] Kingston DGI. Tubulin-interactive natural products as anticancer agents [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72: 507-515.
- [5] Ren X, Lin LP, Ding J. Vascular targeting agent-combretastatin A4 [J]. *Chin J New Drugs (中国新药杂志)*, 2007, 16: 1336-1341.
- [6] Cai YC, Zou Y, Xian LJ. Advances in the study of the anti-tumor activity of small molecule vascular disrupting agents [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2010, 45: 283-288.
- [7] Banerjee S, Wang ZW, Mohammad M, et al. Efficacy of selected natural products as therapeutic agents against cancer [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71: 492-496.
- [8] Butler MS. Natural products to drugs: natural product-derived compounds in clinical trials [J]. *Nat Prod Rep*, 2008, 25: 475-516.
- [9] Monk KA, Siles R, Hadimani MB, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of combretastatin nitrogen-containing derivatives as inhibitors of tubulin assembly and vascular disrupting agents [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14: 3231-3244.
- [10] Sriram M, Hall JJ, Grohmann NC, et al. Design, synthesis and biological evaluation of dihydronaphthalene and benzosuberene analogs of the combretastatins as inhibitors of tubulin polymerization in cancer chemotherapy [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16: 8161-8171.
- [11] Odlo K, Hentzen J, Chabert JFD, et al. 1, 5-Disubstituted 1, 2, 3-triazoles as *cis*-restricted analogues of combretastatin A-4: synthesis, molecular modeling and evaluation as cytotoxic agents and inhibitors of tubulin [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16: 4829-4838.
- [12] Li Q, Woods KW, Claiborne A, et al. Synthesis and biological evaluation of 2-indolyloxazolines as a new class of tubulin polymerization inhibitors. Discovery of A-289099 as an orally active antitumor agent [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2002, 12: 465-469.
- [13] Banerjee M, Poddar A, Mitra G, et al. Sulfonamide drugs

- binding to the colchicine site of tubulin: thermodynamic analysis of the drug-tubulin interactions by isothermal titration calorimetry [J]. *J Med Chem*, 2005, 48: 547-555.
- [14] Nguyen TL, McGrath C, Hermone AR, et al. A common pharmacophore for a diverse set of colchicine site inhibitors using a structure-based approach [J]. *J Med Chem*, 2005, 48: 6107-6116.
- [15] Iwamoto Y, Nishio K, Fukumoto H, et al. Preferential binding of E7010 to murine β_3 -tubulin and decreased β_3 -tubulin in E7010-resistant cell lines [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1998, 89: 954-962.
- [16] Yoshimatsu K, Yamaguchi A, Yoshino H, et al. Mechanism of action of E7010, an orally active sulfonamide antitumor agent: inhibition of mitosis by binding to the colchicine site of tubulin [J]. *Cancer Res*, 1997, 57: 3208-3213.
- [17] Nihei Y, Suzuki M, Okano A, et al. Evaluation of antivascular and antimitotic effects of tubulin binding agents in solid tumor therapy [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1999, 90: 1387-1395.
- [18] Yamamoto K, Noda K, Yoshimura A, et al. Phase I study of E7010 [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1998, 42: 127-134.
- [19] Mohan R, Banerjee M, Ray A, et al. Antimitotic sulfonamides inhibit microtubule assembly dynamics and cancer cell proliferation [J]. *Biochemistry*, 2006, 45: 5440-5449.
- [20] Kruczynski A, Barret JM, Etiévant C, et al. Antimitotic and tubulin-interacting properties of vinflunine, a novel fluorinated vinca alkaloid [J]. *Biochem Pharmacol*, 1998, 55: 635-648.
- [21] Ding YF, Bao YM, An LJ. Progress research of antitumor agents vinblastine analogues [J]. *Chin J Pharm (中国医药工业杂志)*, 2005, 36: 424-428.
- [22] You QD. *Medicinal Chemistry (药物化学)* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 544-545.
- [23] Xiao L, Quan HT, Xu YP, et al. Antitumor effects of vinflunine [J]. *Chin Pharmacol Bull (中国药理学通报)*, 2007, 23: 507-511.
- [24] Edgar AJ. Anticancer agent and method of treatment of cancer: WO, 0122986 [P]. 2001-04-05.
- [25] Ngo QA, Roussi F, Cormier A, et al. Synthesis and biological evaluation of vinca alkaloids and phomopsin hybrids [J]. *J Med Chem*, 2009, 52: 134-142.
- [26] Attard G, Greystoke A, Kaye S, et al. Update on tubulin-binding agents [J]. *Pathol Biol*, 2006, 54: 72-84.
- [27] Bai R, Pettit GR, Hamel E. Binding of dolastatin 10 to tubulin at a distinct site for peptide antimitotic agents near the exchangeable nucleotide and vinca alkaloid sites [J]. *J Biol Chem*, 1990, 265: 17141-17149.
- [28] Zhang YP, Xu F, Wang M. Progress on marine anticancer drugs in R&D [J]. *Prog Pharm Sci (药学进展)*, 2006, 30: 433-442.
- [29] Kobayashi M, Natsume T, Tamaoki S, et al. Antitumor activity of TZT-1027, a novel doaistatin 10 derivative [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1997, 88: 316-327.
- [30] Natsume T, Watanabe J, Koh Y, et al. Antitumor activity of TZT-1027 (Soblidotin) against vascular endothelial growth factor-secreting human lung cancer *in vivo* [J]. *Cancer Sci*, 2003, 94: 826-833.
- [31] Schöffski P, Thate B, Beutel G, et al. Phase I and pharmacokinetic study of TZT-1027, a novel synthetic dolastatin 10 derivative, administered as a 1-hour intravenous infusion every 3 weeks in patients with advanced refractory cancer [J]. *Ann Oncol*, 2004, 15: 671-679.
- [32] de Jonge MJA, van der Gaast A, Planting AST, et al. Phase I and pharmacokinetic study of the dolastatin 10 analogue TZT-1027, given on days 1 and 8 of a 3-week cycle in patients with advanced solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 3806-3813.
- [33] Ebbinghaus S, Rubin E, Hersh E, et al. A phase I study of the dolastatin-15 analogue tasidotin (ILX651) administered intravenously daily for 5 consecutive days every 3 weeks in patients with advanced solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 7807-7816.
- [34] Mita AC, Hammond LA, Bonate PL, et al. Phase I and pharmacokinetic study of tasidotin hydrochloride (ILX651), a third-generation dolastatin-15 analogue, administered weekly for 3 weeks every 28 days in patients with advanced solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 5207-5215.
- [35] Cunningham C, Appleman LJ, Kirvan-Visovatti M, et al. Phase I and pharmacokinetic study of the dolastatin-15 analogue tasidotin (ILX651) administered intravenously on days 1, 3, and 5 every 3 weeks in patients with advanced solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 7825-7833.
- [36] Lian W, Ye BP. The status of clinical study on anti-cancer compounds from marine ecosystem [J]. *Prog Pharm Sci (药学进展)*, 2009, 33: 204-211.
- [37] Smith JA, Wilson L, Azarenko O, et al. Eribulin binds at microtubule ends to a single site on tubulin to suppress dynamic instability [J]. *Biochemistry*, 2010, 49: 1331-1337.
- [38] Knaack M, Emig P, Bats JW, et al. Synthesis and characterization of the biologically active 2-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl]-2-oxo-N-pyridin-4-yl acetamide [J]. *Eur J Org Chem*, 2001, 20: 3843-3847.
- [39] Nickel B, Szelenyi I, Schmidt J, et al. Indolyl-3-glyoxylsäure-derivate mit antitumorwirkung: WO, 9951224 [P]. 1999-10-14.

- [40] Koya K, Sun LJ, Ono M, et al. 3-Glyoxylamideindoles for treating cancer: WO, 03022280 [P]. 2003-03-20.
- [41] Menta E, Pescalli N. 2-(1*H*-indol-3-yl)-2-oxo-acetic acid amides with antitumor activity: US, 6987122 [P]. 2006-01-17.
- [42] Bacher G, Nickel B, Emig P, et al. D-24851, a novel synthetic microtubule inhibitor, exerts curative antitumoral activity *in vitro*, shows efficacy toward multidrug-resistant tumor cells, and lacks neurotoxicity [J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 392–399.
- [43] Kuppens IE, Witteveen PO, Schot M, et al. Phase I dose-finding and pharmacokinetic trial of orally administered indibulin (D-24851) to patients with solid tumors [J]. *Invest New Drugs*, 2007, 25: 227–235.
- [44] Marchand P, Antoine M, Baut GL, et al. Synthesis and structure-activity relationships of *N*-aryl(indol-3-yl)glyoxamides as antitumor agents [J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17: 6715–6727.
- [45] James DA, Koya K, Li H, et al. Indole- and indolizine-glyoxylamides displaying cytotoxicity against multidrug resistant cancer cell lines [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18: 1784–1787.
- [46] Yu PF, Chen H, Wang J, et al. Design, synthesis and cytotoxicity of novel podophyllotoxin derivatives [J]. *Chem Pharm Bull*, 2008, 56: 831–834.
- [47] Lee S, Sivakumar K, Shin WS, et al. Synthesis and anti-angiogenesis activity of coumarin derivatives [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16: 4596–4599.
- [48] Kim SN, Kim NH, Park YS, et al. 7-Diethylamino-3(2'-benzoxazolyl)-coumarin is a novel microtubule inhibitor with antimetabolic activity in multidrug resistant cancer cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2009, 77: 1773–1779.
- [49] Li YZ, Hu W, Zhou L. Natural anti-tumor compounds with activity of promoting microtubule assembly [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2001, 36: 155–160.
- [50] You QD. *Medicinal Chemistry (药物化学)* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 546.
- [51] Payne M, Ellis P, Dunlop D, et al. DHA-paclitaxel (Taxoprexin) as first-line treatment in patients with stage IIIB or IV non-small cell lung cancer: report of a phase II open-label multicenter trial [J]. *J Thorac Oncol*, 2006, 1: 984–990.
- [52] Diréas V, Limentani S, Romieu G, et al. Phase II multicenter study of larotaxel (XRP9881), a novel taxoid, in patients with metastatic breast cancer who previously received taxane-based therapy [J]. *Ann Oncol*, 2008, 19: 1255–1260.
- [53] Ojima I, Chen J, Sun L, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of new-generation taxoids [J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 3203–3221.
- [54] Sun MY, Zhang P. Advances in clinical research of epothilones and related analogs [J]. *Oncol Prog (癌症进展)*, 2009, 7: 44–51.
- [55] Liu XX. New anti-cancer medicine-epothilones [J]. *J Guilin Norm Coll (桂林师范高等专科学校学报)*, 2006, 20: 170–174.
- [56] Hunt JT. Discovery of ixabepilone [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8: 275–281.
- [57] Qi WY, Meng ZY, Dou GF. Clinical research progress of epothilone analogues [J]. *J Int Pharm Res (国际药学研究杂志)*, 2009, 36: 336–339.
- [58] Chang CE, Zhang YT, Fu DX, et al. Ixabepilone, a new antineoplastic drug for breast cancer [J]. *Chin J New Drugs (中国新药杂志)*, 2008, 17: 1629–1633.
- [59] Zhu Y, Fu DX. Advances in the study of microtubule stabilizing agents [J]. *Chin J New Drugs (中国新药杂志)*, 2009, 18: 1105–1109.
- [60] Gunasekera SP, Gunasekera M, Longley RE. Discodermolide: a new bioactive polyhydroxylated lactone from the marine sponge discodermia dissolute [J]. *J Org Chem*, 1990, 55: 4912–4915.
- [61] ter Haar E, Kowalski RJ, Hamel E, et al. Discodermolide, a cytotoxic marine agent that stabilizes microtubules more potently than taxol [J]. *Biochemistry*, 1996, 35: 243–250.
- [62] Hung DT, Chen J, Schreiber SL. (+)-Discodermolide binds to microtubules in stoichiometric ratio to tubulin dimers, blocks taxol binding and results in mitotic arrest [J]. *Chem Biol*, 1996, 3: 287–293.
- [63] Smith AB, Freeze BS. (+)-Discodermolide: total synthesis, construction of novel analogues, and biological evaluation [J]. *Tetrahedron*, 2008, 64: 261–298.
- [64] Mooberry SL, Tien G, Hernandez AH, et al. Laulimalide and isolaulimalide, new paclitaxel-like microtubule-stabilizing agents [J]. *Cancer Res*, 1999, 59: 653–660.
- [65] Pryor DE, O'Brate A, Bilcer G, et al. The microtubule stabilizing agent laulimalide does not bind in the taxoid site, kills cells resistant to paclitaxel and epothilones, and may not require its epoxide moiety for activity [J]. *Biochemistry*, 2002, 41: 9109–9115.
- [66] Ghosh AK, Wang Y, Kim JT. Total synthesis of microtubule-stabilizing agent (–)-laulimalide [J]. *J Org Chem*, 2001, 66: 8973–8982.
- [67] Marinho J, Pedro M, Pinto DC, et al. 4'-Methoxy-2-styrylchromone a novel microtubule-stabilizing antimetabolic agent [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 75: 826–835.