

# 基于经典天然产物的药物发现研究

胡立宏\*, 徐吉庆

(中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

**摘要:** 利用现代细胞生物学、分子生物学技术开展经典天然产物的分子机制研究, 建立合适的体外活性评价模型系统, 然后通过药物化学技术进一步研究其结构与活性、结构与毒性、结构与 ADME (absorption, distribution, metabolism and excretion) 性质的关系, 是我国发现具有自主知识产权新药的一条有效途径。

**关键词:** 药物发现; 经典天然产物; 作用分子机制; 构效关系研究; 资源研究

中图分类号: R916.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870(2009)01-0011-08

## Drug discovery based on classic natural products

HU Li-hong\*, XU Ji-qing

(Shanghai Research Center for Modernization of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

**Abstract:** We think the strategy of classic natural product-based drug discovery will be an effective way for us to develop new drugs with independent intellectual property. The strategy includes: to study the molecular mechanism of action of classic natural product with chemical genetics and chemical biology approaches firstly; then establish the proper *in vitro* bioassay or bioassay system based on its molecular mechanism for their pharmacodynamic evaluation; finally, study their structure-activity, structure-toxicity and structure-ADME properties with medicinal chemistry.

**Key words:** drug discovery; classic natural product; molecular mechanism of action; structure-activity relationship study; resource study

天然药物是人类预防和治疗疾病的重要物质来源, 不仅世界各种传统医药学中使用的药物均属于天然来源的物质, 而且现代医学中被广泛应用的化学药物, 其一半左右也来源于天然化合物及其衍生物或类似物。纵观我国 50 年来研究成功的化学新药, 其中 90% 以上与天然产物有关。中医、中药是中华民族的瑰宝, 是中华民族几千年与疾病作斗争的经验总结, 曾为中华民族的繁衍昌盛做出贡献。中药有效成分是中药发挥功效的物质基础。近百年来国内外科学家从中草药中先后分离报道了几千个单体化合物, 并对其中许多成分进行过生物活性研究, 其中一些

活性成分已被广泛用于临床。

利用中草药活性成分研发新药是我国药物研究工作的特色, 也是一条业界公认的捷径。本文提到的经典天然产物是指被广泛研究过的中药有效成分。经典天然产物的特点是: ① 具有丰富的研究信息, 包括化学、药理学、毒理、机制研究的文献资料和一些临床应用经验的总结。② 具有一定的化合物商业供应产业链, 包括原材料的大规模种植和相关化合物单体的生产。③ 大多数经典天然产物的药理活性研究不够深入规范。虽然其生物活性在临床上或相关的动物模型上得到了证实, 但相关的临床和动物试验存在试验设计不够规范、临床试验的样本数不够多和动物评价模型不够规范和合理等缺点, 其试验结果往往令人不太信服。④ 大多数经典天然产物发挥活性作用的分子机制和靶蛋白不清楚。

在过去的二十多年中, 现代细胞生物学、分子生

收稿日期: 2008-12-01.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30572241, 30623008, 30772638).

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-21-50272221,

E-mail: simmhulh@mail.shcnc.ac.cn

物学、基因组学和分子遗传学等研究手段的快速发展,人类基因组计划的实施和蛋白质组学技术的发展和运用,都为中药有效成分的作用分子机制研究提供了新思路、新策略和新的技术方法,也为经典天然产物的再研究提供了新的机遇。

大多经典天然产物存在活性不够强、或作用特异性低、或溶解性较差、或药代动力学性质不理想、或毒副作用大等缺陷,尤其是缺乏知识产权保护,不能直接作为药物开发。在对经典天然产物的再研究中,作者提出把其作为先导结构,并进行进一步的结构优化,改进其不足之处,最终获得具有自主知识产权的药物候选化合物。

经典天然产物能否成为先导结构,并通过进一步的结构优化得到药物候选化合物,须满足两个条件:①对经典天然产物作用的分子机制要有较清晰的阐明,并能建立基于作用机制的体外生物活性评价模型用于构效关系研究。②具有较经济的经典天然产物的来源。

天然产物绝大部分结构复杂,不太可能通过全合成的方式来提供。经典天然产物来源的先导结构能否有竞争力,直至药物开发能否成功,与以下几个因素有直接的关系:①来源于经典天然产物的药物候选物的作用分子机制是否具有新颖性;②与相同作用机制的药物相比,活性是否更强,毒性是否更低,生产成本是否更便宜。

作者认为,利用现代的细胞生物学、分子生物学技术开展经典天然产物的分子机制研究,建立合适的体外活性评价模型系统,通过药物化学技术进一步研究其结构与活性、结构与毒性、结构与ADME性质的关系,是我国发现具有自主知识产权新药的一条有效途径。

以下结合文献的成功案例和作者过去几年的研究工作进一步阐述基于经典天然产物的药物发现研究策略。

## 1 经典天然产物的新作用机制、新靶点的发现能够突破药物开发的瓶颈

### 1.1 强效 HIV 病毒抑制剂 DSB 的成功开发

现有上市的抗 AIDS 药物主要为逆转录酶抑制剂(大多为核酸类似物或非核苷类抑制剂)或蛋白酶抑制剂(大多为多肽类化合物),临床长期使用后已产生抗药性,并具有副反应多、治疗费用昂贵等缺点。桦木酸(betulinic acid, BA)类衍生物是近年快速发展起来的一类强效抗 HIV 病毒化合物,与现有抗艾滋药物作用靶点完全不同,很有希望上市。

BA 类化合物是一类常见的羽扇豆烷型五环三萜,具有抗炎、抗肿瘤等多种生物活性,但活性均不强,无法直接应用于临床。1994 年,Mayaux 等<sup>[1]</sup>发现 BA 具有抑制 HIV 病毒的活性,通过对 BA 的 C-28 位进行结构修饰得到 RPR103611(图 1),其 EC<sub>50</sub>达到了 10 nmol·L<sup>-1</sup>。Labrosse 等<sup>[2,3]</sup>对其作用分子机制研究,发现 RPR103611 并不影响 HIV 与 CD4 的结合过程,而是通过阻断 gp120 和 gp41 识别,进而使 gp41 构象不能发生改变,信号不能向下游传导,从而使得 HIV 不能感染 CD4 细胞形成合胞体。1996 年李国雄等<sup>[4,5]</sup>对 BA 的 3-OH 进行结构修饰得到 DSB(图 1),其 EC<sub>50</sub>达到了 0.35 nmol·L<sup>-1</sup>,TI 大于 20 000,活性比先导物 BA 提高了 3 000 倍以上。Kanamoto 等<sup>[6]</sup>对其作用分子机制研究,发现当宿主细胞和 DSB 同时存在时,HIV 颗粒组装受到抑制,提示 DSB 可能抑制 HIV 的成熟化和包装过程。与 RPR103611 作用机制不同的是 DSB 主要影响 HIV 病毒衣壳蛋白前体 CA-SP1/p25 的切断,使其不能成为有正常功能的衣壳蛋白 p24,从而生成有内核缺陷的 HIV 病毒颗粒,与正常的 HIV 颗粒竞争结合位点,抑制正常的 HIV 颗粒感染 CD4<sup>[7,8]</sup>。RPR103611 和 DSB 的发现,使得基于病毒侵入和病毒颗粒包装通路的抗 HIV 新机制很快被阐明并证实,为 BA 类衍生物进入临床测试提供了有力的安全性保证。鉴于单作用机制的抗 HIV 药物很容易导致 HIV 变异并产生抗药性,Huang 等<sup>[9]</sup>把 RPR103611 与 DSB 的修饰结果相拼合,在 C-3 与 C-28 位同时进行结构修饰,得到了具有抑制 HIV 侵入 CD4 和干扰 HIV 颗粒包装双重活性的 LH15 和 LH55,有可能进一步降低 HIV 的抗药性,研究结果尚待进一步研究证实。DSB 的二葡甲胺盐现已进入 II 期临床试验。

### 1.2 新一代喜树碱类抗肿瘤药物的开发

喜树碱(camptothecin, CPT)(图 2)及其类似物是目前临床上被广泛使用的一类 Topo I 专一性抑制剂,最早由 Wall 等<sup>[10]</sup>于 1966 年从珙桐科植物喜树(*Camptotheca acuminata*)根皮中分离出来的一个对结肠癌特别有效的喹啉类生物碱内酯。但由于其具有一定的毒性、极低的水溶性、令人难以忍受的副作用以及制成水溶性的钠盐后抗癌活性降低等原因,使临床试验受阻而停止开发。直到 1985 年,Hsiang 等<sup>[11,12]</sup>发现 CPT 类成分的独特作用分子机制——CPT 能与 Topo 异构酶 I 及其切口的 DNA 结合形成稳定的复合物,导致 Topo I 不能正常解旋 DNA 并使复制停滞,最终导致癌细胞死亡。抑制 Topo I 的药物可以选择性抑制增殖期肿瘤细胞 DNA 复制,是设计抗癌药物的优良靶

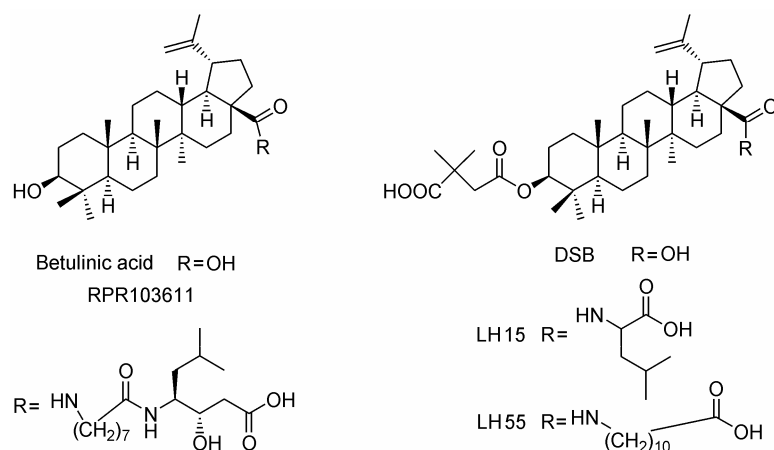


图 1 桦木酸类抗 HIV 衍生物

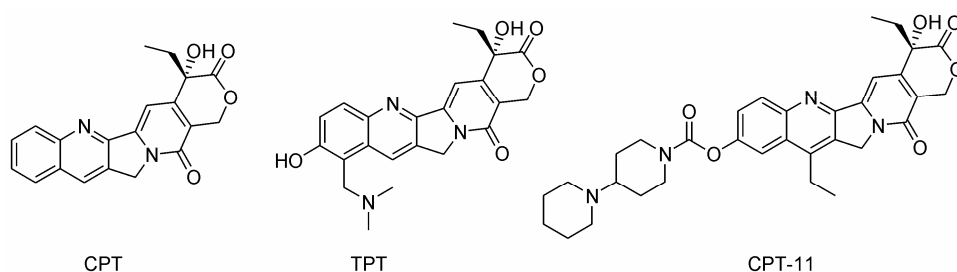


图 2 喜树碱及其衍生物结构

酶<sup>[13]</sup>。喜树碱作用新机制的发现,使得国际上多家大制药企业重新开始 CPT 类药物的开发工作,水溶性更好、毒性更低的喜树碱新衍生物 TPT (topotecan) 和 CPT-11 (irinotecan) (图 2) 相继成功上市,在治疗卵巢癌和非小细胞肺癌治疗中得到广泛应用。由于它们具有减少中性粒细胞和骨髓抑制等副作用,并逐渐在临床治疗中产生抗药性,各国研究人员现正对喜树碱进行进一步的结构改造,希望开发出更高效、低毒和改善耐药性的第三代喜树碱类药物。目前已有 gimatecan、NK-102、ST-1968、TP300、AP-30 等新喜树碱衍生物相继进入 I/II 期临床测试,cositecan 进入 III 期临床测试。

## 2 经典天然产物的再研究可以从寻找新资源方面突破

通过直接提取分离可得到活性高、含量低的天然产物,但由于资源的限制,难于直接大规模应用。若能从同属植物或其他植物中发现骨架相同的高含量类似物,再经过结构修饰,也能成功开发创新药物。最成功的例子就是多西紫杉醇 (docetaxel) 的发现。

1959 年,美国的 Wall 和 Wani 从太平洋红豆杉 (*Taxus brevifolia*) 的树皮中分离得到抗肿瘤活性物质紫杉醇;1979 年,Horwitz<sup>[14]</sup>阐明了紫杉醇独特的与长春碱正好相反的作用机制——抑制微管蛋白解聚使肿瘤细胞分裂终止于 G2 期和 M 期,直至死亡。1992

年底紫杉醇获 FDA 批准上市,在临床上治疗肿瘤获得极大成功。不过其最大的问题在于紫杉醇原料来源极其匮乏,从植物树皮中提取紫杉醇是目前临床用药的主要来源。但由于紫杉醇在红豆杉中含量极低,红豆杉属植物又较为珍稀,因此从植物来源直接提取紫杉醇代价高昂,也很难持续下去。长期以来,各国学者进行了各种获得紫杉醇的尝试,包括生物合成<sup>[15]</sup>和化学全合成 Taxol<sup>[16-20]</sup>,但基本都无法实现工业化。因此化学半合成或寻找来源较丰富的紫杉醇替代品就成为必然选择。

1985 年法国科学家 Pierre Potier 等通过资源研究发现,红豆杉同属植物 *Taxus baccata* 的针叶有较高含量的紫杉醇母核 10-deacetylbaaccatin III (含量为 0.1% 左右,且针叶为可再生资源,不会对生态产生破坏),通过 13 位羟基引入叔丁基酯侧链,成功地开发了水溶性更大、活性更强的 docetaxel<sup>[21-26]</sup> (1995 年上市)。多西紫杉醇的成功开发充分说明对于天然产物来源较贫乏的新药,解决资源问题或采用替代品常常是开发成功的关键。

## 3 经典天然产物的再研究可以从改善 ADME/T 性质方面得到突破

长春碱类 (Vinca alkaloids) 抗肿瘤药是从夹竹桃科长春花属植物长春花 *Catharanthus roseus* (L.)

G. Don 中分离得到的具有抗癌活性的一类双吲哚生物碱。研究表明<sup>[27]</sup>, 长春碱类抗肿瘤药物通过与微管蛋白二聚体结合, 抑制肿瘤细胞微管结合, 使分裂的细胞不能形成纺锤体而使细胞分裂停滞, 最终死亡。其对多种人类肿瘤细胞株如肺癌、结肠癌、白血病、前列腺癌、乳腺癌、黑色素瘤及中枢神经系统肿瘤有明显的抑制作用。目前有 4 种长春碱类药物长春碱 (vinblastine, VLB)、长春新碱 (vincristine, VCR)、长春地辛 (vindesine, VDS) 和长春瑞滨 (vinorelbine, NVB) 被应用于临床 (图 3), 但由于具有强烈的神经系统毒性、局部刺激、骨髓抑制或白细胞下降等较强的毒副作用, 限制了它们的临床使用。

法国 Pierre Fabre 实验室<sup>[28]</sup>采用 HF/SbF<sub>5</sub> 在长春瑞滨的非活性部位 C20' 引入了两个氟原子, 同时 C3'-C4' 之间的双键被还原成单键, 得到长春氟宁 (vinflunine, VLF)。临床试验研究显示 VLF 在疗效、耐受性以及活性等方面优于长春瑞滨。II 期临床显示其对膀胱癌, 非小细胞肺癌, 乳腺癌有较好活性。现 VLF 临床 III 期研究完毕, 正进入申请欧盟注册新药证书程序。值得注意的是, 长春氟宁比其他 VLB 碱更优越的药效是通过降低毒性、提高用药剂量达到的。由 VLF 的成功开发可见, 对已投入临床应用的但 ADME/T 有缺陷的天然药物进行结构修饰, 常常可以得到毒性更小、药代动力学性质更好的药物候选物。

#### 4 作者对小檗碱、齐墩果酸和长春碱等经典天然产物再研究的研究成果

**4.1 二氢小檗碱衍生物作为胰岛素增敏剂的发现和结构优化** 从 20 世纪 50 年代起, 一些专家学者和医务人员对临床上广泛使用的小檗碱 (BBR) 进行了

大量抗糖尿病的动物实验和临床试验, 发现小檗碱除了抗菌也可以治疗糖尿病及其并发症, 但其降糖作用的分子机制缺乏规范的、系统的研究。与作者合作的生物学家在现代的、规范的动物模型上证实了其抗糖尿病的效果<sup>[29, 30]</sup>。进一步研究发现其作用机制为通过抑制线粒体复合物 I 的活性, 提高 ADP/ATP 的比值, 促进 AMPK 磷酸化, 从而促进肌肉和脂肪组织对葡萄糖的吸收和利用。药理试验结果显示 BBR 的起效剂量很大 (每天 560 mg·kg<sup>-1</sup>), 如能通过结构优化获得生物利用度更高、毒性更低药物候选物, 将有很大的市场应用价值。

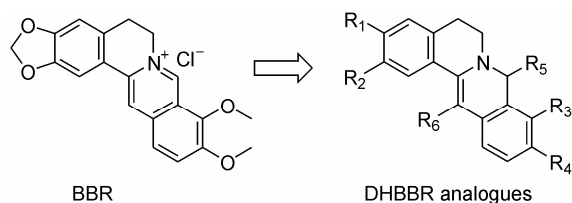


图 4 小檗碱结构优化示意图

作者首先合成了 3 个系列 (图 4): 小檗碱类 (BBR analogues)、二氢小檗碱类 (DHBBR analogues) 和四氢小檗碱类 (THBBR analogues) 共计 40 多个化合物, 在 L6 肌肉细胞上进行葡萄糖吸收和 AMPK 磷酸化水平测试, 发现小檗碱类化合物的促进葡萄糖吸收和提高 AMPK 磷酸化水平的活性大约是小檗碱的 80% 左右; 二氢小檗碱类的活性与小檗碱相当; 四氢小檗碱的活性则大大降低, 是小檗碱的 30% 左右。由于小檗碱类和二氢小檗碱类的油水分配系数  $\log P$  分别为 -0.92 和 3.88, 作者选取 DHBBR 进行了体内的抗糖尿

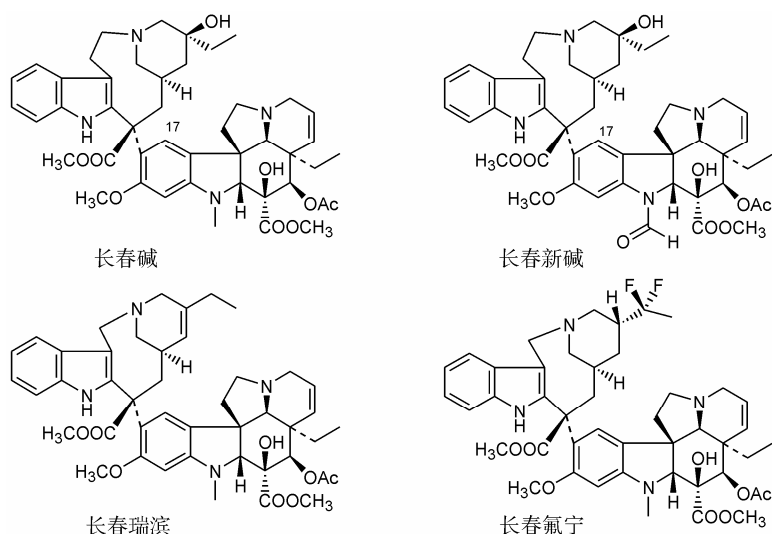


图 3 长春碱类抗肿瘤抑制剂

病药效学试验, 在高脂饲养诱导的胰岛素抵抗及肥胖小鼠、大鼠等多种模型上显示比小檗碱提高 6 倍多的疗效, 能够改善糖耐量和胰岛素抵抗, 减轻肥胖及降低血浆中的自由脂肪酸和甘油三酯, 缓解脂肪肝<sup>[31]</sup>。

药代动力学研究显示, DHBBR 大大提高了黄连素的口服生物利用度。急性毒性研究, 大鼠单次经口灌胃 DHBBR, 其  $LD_{50} > 2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。给药后及观察期间, 动物活动正常; 观察期结束后解剖, 主要脏器肉眼检查未见明显的病理变化, 显示其较高的安全性。

#### 4.2 三萜酸类 PTP1B 抑制剂的发现及结构优化

PTP1B 在胰岛素的信号传导途径中起到重要的负调节作用, 是具有新颖作用机制的治疗 II 型糖尿病的新靶点<sup>[32]</sup>。作者对临床上 (包括民间应用的) 用于治疗糖尿病的中药进行了研究, 发现常见的齐墩果酸具有较好的体外抑制 PTP1B 活性, 与已报道的 PTP1B 抑制剂具有完全不同的结构骨架。酶动力学试验证明此三萜酸类化合物是竞争性抑制剂, 同时在细胞试验中证实它们具有保护 IR 的磷酸化水平和促进葡萄糖吸收的作用<sup>[33-36]</sup>。由于齐墩果酸原料易得、丰富, 又是临床上正在使用的保肝药, 安全性高。因此, 作者将其作为先导化合物进行结构优化。

针对齐墩果酸的结构特点, 在 3 位和 28 位分别设计并合成了一系列活性优良的抑制剂。研究发现将齐墩果酸 28 位延长后连接具有芳香环结构的氨基酸可以较大的提高其抑制活性, 将 3 位连接对羧基苯醚也会使抑制活性得到较大提高。于是作者将两个思路合而为一, 设计并合成了 3 位和 28 位分别具有以上结构的化合物 **1** ( $IC_{50} = 0.16 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 其对 PTP1B 的抑制活性比母体 ( $IC_{50} = 3.37 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 提高了约 20 倍 (图 5)。大部分化合物不仅具有较高的抑制 PTP1B 的活性, 还对 PTP-LAR、PTP- $\alpha$ 、CDC25B

等同家族的其他蛋白酪氨酸磷酸酯酶具有很好的选择性<sup>[33]</sup>。针对这样一系列化合物, 作者还在酶动力学、与其他磷酸酯酶选择性和细胞水平上进行了全面的评价。值得一提的是化合物 **1** 在增加 IR 磷酸化和葡萄糖吸收两个细胞模型上都具有明显的效果, 这与之前的非天然产物来源的 PTP1B 抑制剂都无法透过细胞膜形成了鲜明的对比。最后选取细胞水平上活性更强、易于吸收和合成的衍生物 **2** ( $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 在高脂饲养诱导的胰岛素抵抗及肥胖小鼠模型上进行了体内药效学评价, 发现其降血糖效果与罗格列酮 ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 相当<sup>[37-40]</sup>。这些都为本类抑制剂的进一步开发应用打下了坚实的科学基础。

#### 4.3 抗肿瘤药长春碱新类似物的设计、合成及构效关系研究

长春碱类抗肿瘤药物是从夹竹桃科长春花属植物长春花和黄长春花中分离得到的具有抗癌活性的一类双吲哚生物碱。目前有 4 种长春碱类药物被广泛应用于临床: 长春碱、长春新碱、长春地辛和长春瑞滨。近年来又有两个长春碱衍生物进入临床研究: 一个是由加拿大 University of British Columbia 开发的脱水长春碱 (anhydrovinblastine, AVLB), 现已进入 II 期临床; 另一个是由法国 Pierre Fabre 实验室开发的含氟衍生物长春氟宁, 已经完成 III 期临床。虽然 AVLB、VLF 体外活性和 VLB、VCR、VDS、NVB 相比差 10 倍以上, 但动物体内实验和临床研究表明他们的毒性低于 VLB、VCR、VDS、NVB, 抑制淋巴瘤和一些实体瘤的综合治疗指数比 NVB 更高。

长春氟宁和脱水长春碱虽然在细胞水平上的抑制活性较低, 但动物体内试验和临床研究的结果显示它们具有更高的综合治疗指数, 这为长春碱类新药研究打开了新的思路, 即通过降低长春碱类化合物的毒性, 从而提高综合治疗指数是一可行的方法。从文献来看, 先前的结构修饰绝大多数都是以从市场

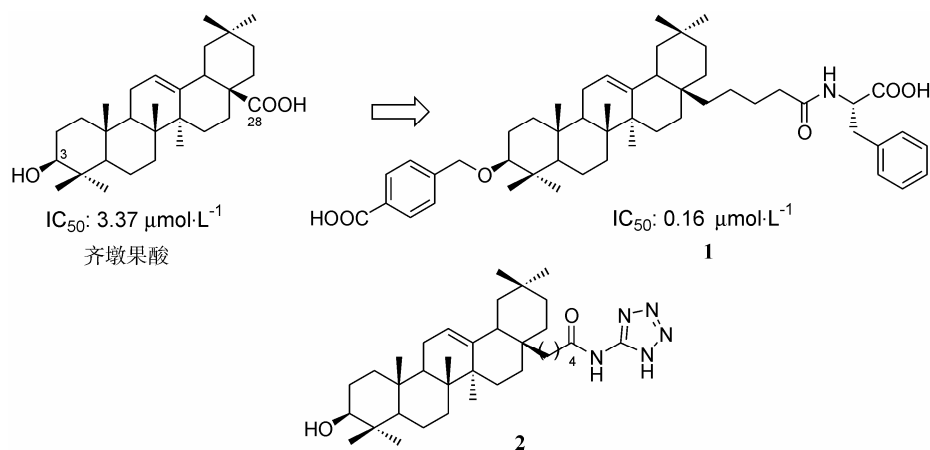


图 5 齐墩果酸结构优化示意图

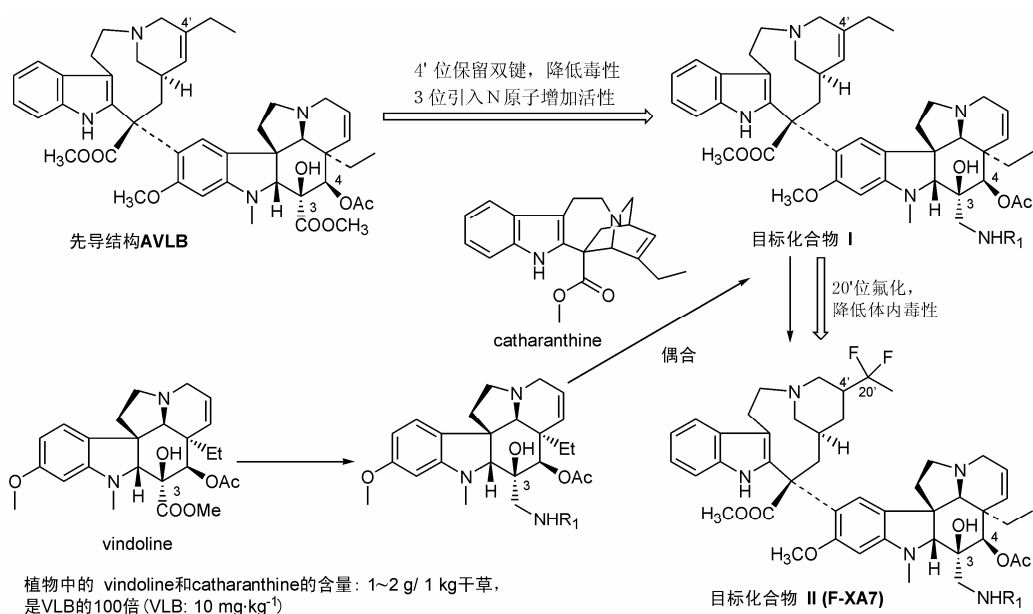


图6 药物候选物 F-XA7 的设计及合成技术路线

上易购得的长春碱为其始原料, 而长春碱结构中存在于一个易受光、空气氧化降解的含氮九元环, 所以对结构修饰的反应有很高的条件限制。作者从长春花的植物提取物开发出制备含量更高的单吲哚生物碱长春质碱 (catharanthine) 和文朵灵 (vindoline) 的生产工艺, 并在企业中实现了公斤级的生产规模<sup>[41]</sup>。结合现有的构效关系研究结果: 长春碱的3位引入氮原子能增加细胞毒的活性; 长春碱的3'、4'位保留双键和20'位引入氟原子会大大降低它的毒性, 特别是综合考察了影响毒性的官能团, 设计了系列长春碱新衍生物: 目标化合物库 I 和 II; 并采用更经济的起始原料: vindoline 和 catharanthine; 运用新的合成策略: 先对化学结构稳定的 vindoline 修饰, 再与 catharanthine 偶合, 制备所设计的目标化合物库<sup>[42-44]</sup> (图6)。对目标化合物库 I 和 II 共 80 多个长春碱新衍生物进行了系统的体内、外抗肿瘤活性评价, 发现了一系列高抗肿瘤活性的化合物, 其中多个化合物具有良好的药物开发前景。通过进一步的急性毒性和初步药代动力学研究, 确定了药物候选物 F-XA7 (图6) 进入临床前研究。与临床治疗非小细胞肺癌一线药物 NVB、VLF 相比, F-XA7 具有更高的体内抗肿瘤活性和更低的神经毒性, 同时显著的改善了长春碱类药物的耐药性<sup>[41, 45]</sup>。

## 5 结束语

经典天然产物, 尤其是一些中药有效成分或已上市天然药物, 通过其作用分子机制研究的新发现, 建立合适的体外活性评价模型系统, 通过药物化

学技术对其进一步结构改造, 以求获得更高活性、更低毒性或更好的 ADME 性质的药物候选物, 或解决其原料资源问题, 是我国研发具有自主知识产权新药的一条捷径, 能够有效缩短研发周期、降低研发成本、提高发现新药的可能性。作者认为, 采用这一合理的研究方法, 能够大大推动我国中药现代化的进程, 使中草药这一中华文化的瑰宝焕发出新的生命力, 造福于世界人民。

## References

- [1] Mayaux JF, Bousseau A, Pauwels R, et al. Triterpene derivatives that block entry of human immunodeficiency virus type 1 into cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91: 3564-3568.
- [2] Labrosse B, Pleskoff O, Sol N, et al. Resistance to a drug blocking human immunodeficiency virus type 1 entry (RPR103611) is conferred by mutations in gp41 [J]. J Virol, 1997, 71: 8230-8236.
- [3] Labrosse B, Treboute C, Alizon M. Sensitivity to a nonpeptidic compound (RPR103611) blocking human immunodeficiency virus type 1 env-mediated fusion depends on sequence and accessibility of the gp41 loop region [J]. J Virol, 2000, 74: 2142-2150.
- [4] Fujioka T, Kashiwada Y, Kilkuskie R, et al. Anti-AIDS agents, 11. Betulinic acid and platanic acid as anti-HIV principles from syzigium claviflorum, and the anti-HIV activity of structurally related triterpenoids [J]. J Nat Prod, 1994, 57: 243-247.
- [5] Kashiwada Y, Hashimoto F, Cosentino M, et al. Betulinic acid and dihydrobetulinic acid derivatives as potent anti-HIV agents [J]. J Med Chem, 1996, 39: 1016-1017.

- [6] Kanamoto T, Kashiwada Y, Kanbara K, et al. Anti-human immunodeficiency virus activity of YK-FH312 (a betulinic acid derivative), a novel compound blocking viral maturation [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 45: 1225-1230.
- [7] Li F, Goila-Gaur R, Salzwedel K, et al. PA-457: a potent HIV inhibitor that disrupts core condensation by targeting a late step in Gag processing [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 13555-13560.
- [8] Zhou J, Yuan X, Dismuke D, et al. Small-molecule inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication by specific targeting of the final step of virion maturation [J]. *J Virol*, 2004, 78: 922-929.
- [9] Huang L, Yuan X, Aiken C, et al. Bifunctional anti-human immunodeficiency virus type 1 small molecules with two novel mechanisms of action [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48: 663-665.
- [10] Wall ME, Wani MC, Cook CE, et al. Plant antitumor agents. I. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata* [J]. *J Am Chem Soc*, 1966, 88: 3888-3890.
- [11] Hsiang YH, Hertzberg R, Hecht S, et al. Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I [J]. *J Biol Chem*, 1985, 260: 14873-14878.
- [12] Hsiang YH, Lihou MG, Liu LF. Arrest of replication forks by drug-stabilized topoisomerase I-DNA cleavable complexes as a mechanism of cell killing by camptothecin [J]. *Cancer Res*, 1989, 49: 5077-5082.
- [13] Takimoto CH, Wright J, Arbuck SG. Clinical applications of the camptothecins [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1400: 107-109.
- [14] Schiff PB, Fant J, Horwitz SB. Promotion of microtubule assembly *in vitro* by taxol [J]. *Nature*, 1979, 277: 665-667.
- [15] Gan FY, Shen YM, Hao XJ. Recent advance on taxol biosynthesis [J]. *Prog Biotechnol (生物工程进展)*, 2000, 20: 52-56.
- [16] Holton RA, Somoza C, Kim HB, et al. First total synthesis of taxol 1: functionalization of the B ring [J]. *J Am Chem Soc*, 1994, 116: 1597-1598.
- [17] Holton RA, Somoza C, Kim HB, et al. First total synthesis of taxol 2: completion of the C and D ring [J]. *J Am Chem Soc*, 1994, 116: 1599-1600.
- [18] Nicolaou KC, Yang Z, Liu JJ, et al. Total synthesis of taxol [J]. *Nature*, 1994, 367: 630-634.
- [19] Danishefsky SJ, Masters JJ, Link JJ, et al. Total synthesis of baccatin III and taxol [J]. *J Am Chem Soc*, 1996, 118: 2843-2859.
- [20] Wender PA, Badham NF, Conway SP, et al. The pinene path to taxanes. 6. a concise stereocontrolled synthesis of taxol [J]. *J Am Chem Soc*, 1997, 119: 2757-2758.
- [21] Riou JF, Naudin A, Lavelle F. Effects of taxotere on murine and human tumor cell lines [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, 187: 164-170.
- [22] Hanauske AR, Degen D, Hilsenbeck SG, et al. Effects of taxotere and taxol on *in vitro* colony formation of freshly explanted human tumor cells [J]. *Anti-Cancer Drug*, 1992, 3: 121-124.
- [23] Vogel M, Hilsenbeck SG, Depenbrock H, et al. Preclinical activity of taxotere (RP 56976, NSC 628503) against freshly explanted clonogenic human tumor cells: comparison with taxol and conventional antineoplastic agents [J]. *Eur J Cancer*, 1993, 29A: 2009-2014.
- [24] Eisenhauer EA, Trudeau M. An overview of phase II studies of docetaxel in patients with metastatic breast cancer [J]. *Eur J Cancer*, 1995, 31A: S11-S13.
- [25] Trudeau ME, Eisenhauer E, Lofters W, et al. Phase II study of taxotere as first-line chemotherapy for metastatic breast cancer (MBC). A National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (NCIC CTG) study [J]. *Proc Am Soc Clin Oncol*, 1993, 12: 64.
- [26] Seidman AD, Hudis C, Crown JPA, et al. Phase II evaluation of taxotere (RP 56976, NSC 628503) as initial chemotherapy for metastatic breast cancer [J]. *Proc Am Soc Clin Oncol*, 1993, 12: 63.
- [27] Jordan MA, Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drugs [J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4: 253-265.
- [28] Kruczynski A, Hill BT. Vinflunine, the latest vinca alkaloid in clinical development: a review of its preclinical anticancer properties [J]. *Crit Rev Oncol Hemat*, 2001, 40: 159-173.
- [29] Turner N, Li JY, Hu LH, et al. Berberine and its more biologically available derivative, dihydroberberine, inhibit mitochondrial respiratory complex I: a mechanism for the action of berberine to activate AMP-activated protein kinase and improve insulin action [J]. *Diabetes*, 2008, 57: 1414-1418.
- [30] Lee YS, Kim WS, Kim KH, et al. Berberine, a natural plant product, activates AMP-activated protein kinase with beneficial metabolic effects in diabetic and insulin-resistant states [J]. *Diabetes*, 2006, 55: 2256-2264.
- [31] Hu LH, Li J, James D, et al. 2007.09.30 13,13a-Dihydroberberine derivatives, their pharmaceutical composition and use: PCT/CN2007/002882 [P]. 2006-09-30.
- [32] Zhang S, Zhang ZY. PTP1B as a drug target: recent developments in PTP1B inhibitor discovery [J]. *Drug Discov Today*, 2007, 12: 373-381.
- [33] Zhang YN, Zhang W, Hong D, et al. Oleanolic acid and its derivatives: new inhibitor of protein tyrosine phosphatase 1B with cellular activities [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16: 8697-8705.
- [34] Lin ZH, Zhang Y, Zhang YN, et al. Oleanolic acid derivative NPLC441 potently stimulates glucose transport in 3T3-L1 adipocytes via a multi-target mechanism [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 76: 1251-1262.
- [35] Shi L, Zhang W, Zhou YY, et al. Corosolic acid

- stimulates glucose uptake via enhancing insulin receptor phosphorylation [J]. Eur J Pharmacol, 2008, 584: 21-29.
- [36] Zhang W, Hong D, Zhou YY, et al. Ursolic acid and its derivative inhibit protein tyrosine phosphatase 1B, enhancing insulin receptor phosphorylation and stimulating glucose uptake [J]. Biochimie, 2006, 1760: 1505-1512.
- [37] Chen J, Hu LH, Shen X, et al. 3-(2'-Carboxylbenzoyl)-oleanolic acid, the pharmaceutical compositions comprising the said derivatives, and their use of therapies for diabetes and adiposis: CN 20081003435.3 [P]. 2008-03-06.
- [38] Hu LH, Li J, Ye QZ, et al. Triterpenes type protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors and the preparation method and the use: PCT/CN2005/000172 [P]. 2005-02-06.
- [39] Hu LH, Li J, Wang ZP. Total triterpenic acid of loquat (*eriobotrya japonica*) leaf, its preparation and application: CN 1315865C [P]. 2007-05-16.
- [40] An TY, Hong D, Li J, et al. Protein tyrosine phosphatases 1B inhibitors from traditional Chinese medicine. in herbs: challenges in chemistry and biology [J]. ACS Symposium Series, American Chemical Society: Washington, DC, 2006: 143-156.
- [41] Zhang HK, Shao Y, Ding H, et al. Synthesis and structure-activity relationship studies of cytotoxic ester and ether anhydrovinblastine derivatives [J]. J Nat Prod, 2008, 71: 1669-1676.
- [42] Shao Y, Ding H, Tang WD, et al. Synthesis and structure-activity relationships study of novel anti-tumor carbamate anhydrovinblastine analogues [J]. Bioorg Med Chem, 2007, 15:5061-5075.
- [43] Li WH, Shao Y, Hu LH, et al. BM6, a new semi-synthetic Vinca alkaloid, exhibits its potent *in vivo* anti-tumor activities via its high binding affinity for tubulin and improved pharmacokinetic profiles [J]. Cancer Biol Ther, 2007, 6: e1-e8.
- [44] Hu LH, Shen X, Jiang HL, et al. Novel vinblastine derivatives, their preparation, use and pharmaceutical compositions comprising the said derivatives: PCT/CN2007/003624 [P]. 2007-12-17.
- [45] Ni XZ, Hu LH. Method for preparing vindoline and catharanthine: CN 100376577C [P]. 2004-02-24.