

含硫核苷化合物的研究进展

刘学娜, 柴奇, 韩维娜* (哈尔滨医科大学药学院, 哈尔滨 150081)

摘要: 硫是人体必不可少的常量元素之一, 也是药物结构修饰的常用元素。含硫药物有着广泛的生物活性, 其中, 含硫核苷的衍生物在抗肿瘤、抗病毒、抗菌等方面均具有很高的活性。因此本文对已经上市药物和正在研究开发的含硫核苷类化合物进行综述。

关键词: 硫; 硫代核苷; 生物活性

中图分类号: R963

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2016)02-0246-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.02.029

Research Progress of Nucleoside Sulfur Compounds

LIU Xuena, CHAI Qi, HAN Weina* (College of Pharmacy, Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

ABSTRACT: Sulfur is one of the human body essential macro-elements and the medicinal structural modifications common elements. Sulfur-containing compounds have the remarkable biological activities. Furthermore, thionucleoside derivatives have the high activities in anti-tumor, anti-virus and antibacterial field. Therefore, this paper is going to summarize the medicine which is already on the market and the thionucleoside derivatives which is still in the research and development stage.

KEY WORDS: sulfur; thionucleoside; biological activity

硫是组成生物体细胞成分的基本元素, 也是组成蛋氨酸、半胱氨酸和胱氨酸的化学元素, 并参与 DNA 和 RNA 的合成, 因此在体内具有重要的生理功能, 包括细胞信号传导和代谢调节等。在 tRNA 中已发现了一些含硫核苷, 如 2-硫代尿苷、4-硫代尿苷(4-thiouridine, 4-SU)、2-硫代胞苷以及 2-甲基硫代腺嘌呤核苷的衍生物^[1]。人们从抗代谢的角度对核苷进行药物结构改造, 其中核苷糖基和碱基改造的类似物在治疗实体瘤、淋巴组织增生性疾病、病毒感染(肝炎和艾滋病)以及某些炎性(克罗恩)疾病有显著效果^[2]。在肿瘤治疗中使用的大多数核苷类似物的作用机制是相似的, 它们进入细胞被转变为特殊核苷酸(通常是活性药物), 然后由任一嘌呤或嘧啶代谢成酶的类似物, 这些酶的类似物能够进入核酸, 抑制 DNA 酶的合成, 从而导致 DNA 损伤, 诱导细胞凋亡^[3]。但是核苷类药物也存在缺点, 例如近些年上市的卡培他滨能够抑制细胞分裂, 干扰 RNA 和蛋白质合成^[4], 但存在选择性不高、不良反应大等问题。为克服核苷类药物的这些不足, 对其结构修饰已成为研究热点。硫是组成生物体细胞的基本要素, 在 tRNA 中有很多硫修饰的核苷, 分别发挥着重要的

生理作用。因此硫代核苷结构改造后的类似物可能会成为一种高效、低毒的抗肿瘤、抗病毒等的药物。目前, 硫取代核苷与核苷碱基类似物的已上市药物包括: 巯嘌呤、磺巯嘌呤钠、巯鸟嘌呤、巯唑嘌呤、丙硫氧嘧啶、甲硫氧嘧啶、拉米夫定和恩曲他滨。正在研究的药物包括: 1, 2, 3-三唑新型 6-巯基嘌呤衍生物、硫代嘌呤吡喃糖核苷类化合物、4-硫代核苷衍生物、4'-硫代核苷衍生物以及硫代反义寡核苷酸药物等。

1 核苷碱基含硫的化合物

1.1 含硫嘌呤及其核苷的活性

嘌呤类核苷药物主要用于治疗血液型恶性肿瘤。20 世纪 50 年代初期 Elion 和 Hitchings 团队开发了巯鸟嘌呤和 6-巯基嘌呤(6-Mercaptopurine, 6-MP), 它能够杀死肿瘤细胞而又不伤害正常细胞。1988 年, Elion 和 Hitchings 获得诺贝尔生理学或医学奖, 后来他们又开发了巯唑嘌呤, 用于防止移植器官排斥, 和其他嘌呤醇一起使用可治疗痛风, 也可以治疗炎症性肠病^[5]。硫取代嘌呤本身无活性, 但在体内最终代谢为 6-甲基巯基嘌呤和 6-硫代鸟嘌呤核苷酸, 扰乱 DNA 或 RNA 的合成, 生成没有功能的核酸或核苷酸, 从而使细胞

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(H201404)

作者简介: 刘学娜, 女, 硕士生 Tel: 15846526412
E-mail: hanweina@163.com

E-mail: 591348558@qq.com

*通信作者: 韩维娜, 女, 博士, 副教授, 硕导 Tel:

15604510527

凋亡^[6]。这项研究基于机体生理过程而开发出核苷衍生物的药物,将核苷类药物的研究带入一个新的里程碑,也使更多的科学家对硫取代核苷药进行更多的修饰改造。

目前,核苷类似物已成为临床上治疗恶性肿瘤疾病的第一化疗药,除此以外,也有人对 6-MP 进行改造。2011 年,Corrales 等^[7]合成了一系列的含有 1, 2, 3-三唑新型 6-巯基嘌呤衍生物(见图 1),并做了体内抗疟疾和体外抗利什曼原虫活性实验。结果表明,有 4 个化合物呈现抑制寄生虫的

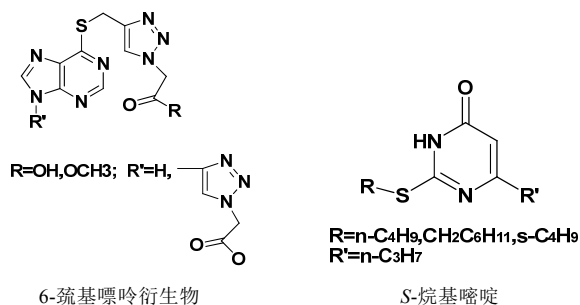
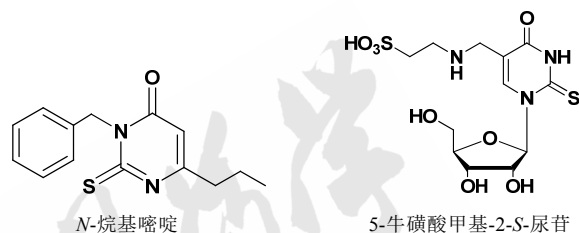


图 1 化学结构
Fig. 1 Chemical structures

1.2 含硫嘧啶及嘧啶核苷的活性

目前已上市硫修饰嘧啶类药物有 2 种,即丙硫氧嘧啶(propylthiouracil)和甲硫氧嘧啶,属于抗甲状腺药,作用机制是抑制了甲状腺素合成^[9]。嘧啶是构成核酸的重要组成部分,有很多报道称硫修饰的嘧啶及衍生物有抗肿瘤、抗病毒、抗菌等作用,是潜在的治疗剂。2-硫尿嘧啶是中间体,存在于大肠杆菌的 tRNA 中,有报道称其对黑色素瘤有很高的活性^[10]。S-烷基化和 N-烷基化硫氧嘧啶类似物(图 1)最近已报道会成为新型抗菌和细胞毒性药物^[11]。手术、放疗和化疗是治疗肿瘤的 3 种手段,但是放疗与化疗都对人体正常组织与器官有不同程度的损伤。因此人们研究结合 2 种治疗方法并尝试开发应用紫外光(Ultraviolet Radiation A, UVA)辅助化学药物的方法治疗肿瘤。Reelfs^[12]等近年来研究发现,4-硫代胸腺嘧啶核苷本身无毒性、无抗肿瘤活性,它与低强度 UVA 协同作用可杀死皮肤癌细胞。在模拟生理条件下,Zhang 等^[13]发现 4-硫代胸腺嘧啶核苷对人血清蛋白有静态荧光淬灭作用。而 4-SU 在高浓度($\geq 100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)通常用于光活性增强的核糖核苷交联和免疫共沉淀实验与标记信使 RNA。2013 年,Burger 等^[14]

活性而且比氯喹作用要好,其中 1 个化合物对利什曼原虫有活性,这些合成的衍生物对哺乳动物细胞几乎无毒性。Dimopoulou 等^[8]合成了一系列的硫代嘌呤吡喃糖核苷类化合物,其中 2-氨基-6-巯基-9-(β -D-吡喃半乳糖)嘌呤、2-氨基-6-巯基-9-(β -D-吡喃甘露糖)嘌呤以及 2-氨基-6-巯基-9-(β -D-吡喃来苏糖)嘌呤对鼠白血病 L1210 细胞、人 CD4⁺T 淋巴细胞、人宫颈癌 HeLa 细胞均具有抗增殖作用,尤其是 2-氨基-6-巯基-9-(β -D-吡喃半乳糖)嘌呤在很低的浓度下对以上 3 种细胞都有抑制作用。



发现 4-SU 在低浓度($\leq 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)时可标记 rRNA 合成,而在浓度 $>50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时抑制合成 47S 的 rRNA,并伴随抑制 NPM1 基因的核质易位,诱导肿瘤抑制基因 p53,抑制细胞增殖,即 4-SU 能够抑制 rRNA 的合成并触发核仁应激反应。还有人合成了 5-牛磺酸甲基-2-S-尿苷(图 1),该化合物针对人类线粒体 tRNA[Leu(UUR)]和 tRNA(Lys)反密码子第 1 位摆动位点的碱基修饰缺陷导致的疾病(遗传性脑肌病)^[15]。

2 核苷上糖基含硫的化合物

核苷类药物很多是在糖基上进行了修改,如已经上市的拉米夫定与恩曲他滨均为抗病毒药。它们能够抑制病毒 DNA 聚合酶和反转录酶,在各种病毒的生命周期中有着关键作用,是目前最有效的抗病毒剂^[1]。Thiarabin(4'-Thio-beta-D-arabinofuranosylcytosine, 见图 2)是美国仍在研究的一种药物,利用硫原子取代核糖环中的氧原子结构,对多种不同实体瘤有活性。而且它的活性高于阿糖胞苷与吉西他滨,原因可能是其有更长的胞内半衰期,且降低了对脱氨酶灭活作用的敏感度、对 DNA 复制有更强的抑制作用^[16]。关于 4'-硫代核苷类似物的报道还有很多,例如 5-碘-4'-硫-2'-脱

氧尿苷, 研究表明它可以协同剧毒俄歇电子发射体辐射到肿瘤细胞的 DNA, 对不同阶段的骨髓瘤细胞都有拮抗作用, 更重要的是对正常血浆和骨髓基质细胞没有毒性。此外它还能对抗白介素-6 和类胰岛素一号增长因子对多发性骨髓瘤细胞的保护, 因此 5-碘-4'-硫-2'-脱氧尿苷与俄歇电子发射体的联合使用可能会成为治疗多发性骨髓瘤的一种方法^[17]。阿糖胞苷用于急性骨髓性白血病的治疗, 但其对实体肿瘤的功效非常有限, 因为 DNA 损伤旁路聚合酶可以对抗顺铂和阿糖胞苷对 DNA 的损伤, 降低了它们的药效。4'-硫代 β -D-阿糖呋喃胞嘧啶(T-阿糖胞苷)是新开发的核苷类似物, 对 DNA 损伤旁路聚合酶有一定的作用, 有实验表明其对异种移植人类实体肿瘤的小鼠模型有活性^[18]。Haraguchi

等^[19]合成了 4'-乙炔基-2'-脱氧-4'-硫代核糖核苷(图 2), 发现其对反转录酶有抑制作用, 而且作用效果较好, 细胞毒性较低。Erica 等^[20]在 5'位引入含硫基团合成了一系列的 2, 5'-二取代腺苷衍生物(图 2), 实验表明其能够抑制腺苷受体 A1 和 A3, 而且在一般情况下, 含硫取代基团小时, 此类化合物对腺嘌呤核苷受体 A2A 和 A3 则有较高的亲和力; 含硫取代基团大时, 其可增加受体 A3 的选择性。总而言之, 此类化合物表现为腺嘌呤核苷受体 A2A 和 A3 的部分激动剂, 并且对受体 A2A 的活性要高于受体 A3。Thottassery 等^[21]发现 5-氮杂-4'-硫代-2'-脱氧胞苷(氮杂-T-dCyd, 见图 2)能够消耗 DNA 甲基转移酶 1 抑制肿瘤的生长且毒性较低, 氮杂-T-dCyd 的选择性指数是地西他滨的 10 倍以上。

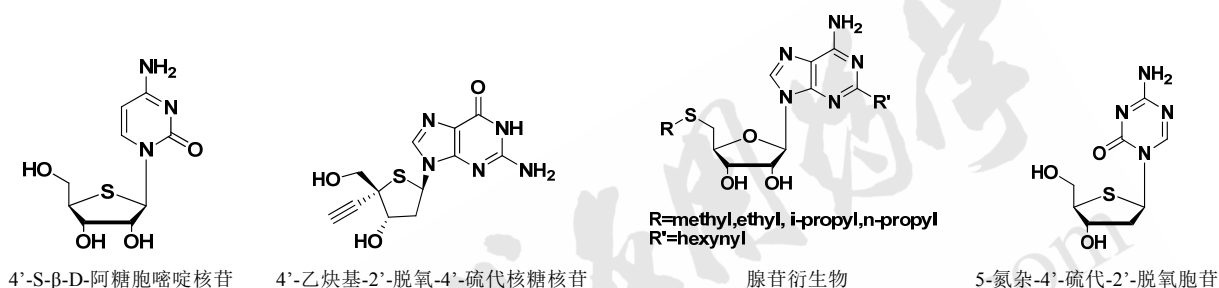


图 2 化学结构

Fig. 2 Chemical structures

3 核苷酸上磷酸根含硫的化合物

硫修饰核苷酸磷酸根的药物大多为反义寡核苷酸类药物。合成的寡核苷酸能够作为探针来确定 DNA 和 RNA 结构和功能。1978 年 Zamecnik 和 Stephenson^[22]发现未经修改的寡核苷酸能与特异的 mRNA 结合, 使基因表达减少, 但是天然的寡核苷酸进入细胞较困难, 而且对核酸酶比较敏感, 容易被降解, 因此科学工作者们就用硫原子替换磷酸二酯键上的非桥接氧原子, 得到了硫代磷酸酯寡核苷酸。硫代磷酸的引入增强了寡核苷酸类化合物对核酸酶的抵抗, 使半衰期达 9~10 h, 而未被修饰的寡核苷酸的半衰期仅仅是 1 h^[23-25]。缺点是使寡核苷酸与细胞外、细胞膜上的蛋白产生特异性作用, 导致细胞毒性^[26], 还使其 RNA 分子与相应的磷酸二酯寡核苷酸的亲和力略有降低^[27]。学者们经过不断探索, 发现并合成了一些磷手性硫代寡核苷酸类似物, 希望其在抗病毒和抗肿瘤方面有更好的效果^[28]。癌泰德与流感泰德是临床研究中抗肿瘤、抗病毒活性较好的 2 种硫

代反义寡核苷酸药物。癌泰德(序列 5'-ACTCACT CAGGCCTCAGACT-3')是以端粒酶催化亚基 Hest2 mRNA 为靶点、全长 20 nt 的硫代反义寡核苷酸; 抗流感新药流感泰德^[29](序列 5'-CCTTGT TTCTACT-3')是以 5'-UTR 保守序列为靶点、全长 13 nt 的硫代反义寡核苷酸^[30]。

4 展望

含硫核苷衍生物是通过抑制 DNA 合成中所需的叶酸、嘌呤、嘧啶及嘧啶核苷途径, 抑制肿瘤细胞的生存和复制所必须的代谢途径, 导致肿瘤细胞死亡。其选择性较高, 细胞毒性较低, 因此近年来含硫核苷衍生物修饰成为热点, 开发出了很多新型的抗病毒、抗肿瘤等药物。硫和氧属于同一主族, 化学性质相似。很多化合物中的氧都可以用硫来替换。随着硫元素在生物学、医学等领域研究的不断深入, 经过精心设计的含硫核苷类似物在药理活性和低剂量水平下具有低毒性, 而且人体内有很多含硫化合物, 生物功能各异, 改造后, 能在抗肿瘤、抗病毒、抗菌等方面有很

好的活性。因此硫代核苷的发展有很大的进步空间, 会有更多安全、低毒、有效的药物被开发出来, 治疗更多的疾病。

REFERENCES

- [1] SHIGI N. Biosynthesis and functions of sulfur modifications in tRNA [J]. *Front Genet*, 2014(5): 67. Doi: 10.3389/fgene.2014.00067.
- [2] PASTOR-ANGLADA M, PÉREZ-TORRAS S. Nucleoside transporter proteins as biomarkers of drug responsiveness and drug targets [J]. *Front Pharmacol*, 2015(6):13. Doi: 10.3389/fphar.2015.00013.
- [3] PARKER W B. Enzymology of purine and pyrimidine antimetabolites used in the treatment of cancer [J]. *Chem Rev*, 2009, 109(7): 2880-2893.
- [4] GAO L, ZHAO Z Y, ZHENG X H, et al. Cost-effectiveness analysis of capecitabine plus docetaxel versus epirubicin plus docetaxel for advanced or metastatic breast cancer [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2015, 32(4): 493-497.
- [5] ELION G B. Nobel lecture in physiology or Medicine-1988. The purine path to chemotherapy [J]. *In Vitro Cell Dev Biol*, 1989, 25(4): 321-330.
- [6] BÄR F, SINA C, FELLERMANN K. Thiopurines in inflammatory bowel disease revisited [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(11): 1699-1706.
- [7] CORRALES R C, DE SOUZA N B, PINHEIRO L S, et al. Thiopurine derivatives containing triazole and steroid: synthesis, antimalarial and antileishmanial activities [J]. *Biomed Pharmacother*, 2011, 65(3): 198-203.
- [8] DIMOPOULOU A, MANTA S, PARMENOPOULOU V, et al. Synthesis of novel thiopurine pyranonucleosides: evaluation of their bioactivity [J]. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2015, 34(4): 289-308.
- [9] ZENKER N. Thyroid function and thyroid drugs [M]. 3rd ed. Philadelphia, London: Lea & Febiger, 1990.
- [10] VETTERA C, WAGNERA C, GORAN N, et al. Synthesis, characterization, and cytotoxicity of trimethylplatinum(IV) complexes with 2-thiocytosine and 1-methyl-2-thiocytosine ligands [J]. *Inorg Chim Acta*, 2009, 362(1): 189-195.
- [11] PRACHAYASITTIKU S, SORNONGKHAM N, PINGAEW R, et al. Synthesis and novel bioactivities of substituted 6-propylthiouracils [J]. *Eur J Sci Res*, 2009, 36(2): 236-245.
- [12] REELFS O, XU Y Z, MASSEY A, et al. Thiothymidine plus low-dose UVA kills hyperproliferative human skin cells independently of their human papilloma virus status [J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(9): 2487-2495.
- [13] ZHANG X, GAO R, LI D, et al. Study on interaction between 5-Bromo-4-thio-2'-deoxyuridine and human serum albumin by spectroscopy and molecular docking [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2014, 136PC: 1775-1781.
- [14] BURGER K, MÜHL B, KELLNER M, et al. 4-thiouridine inhibits rRNA synthesis and causes a nucleolar stress response [J]. *RNA Biol*, 2013, 10(10): 1623-1630.
- [15] LESZCZYNSKA G, LEONCZAK P, WOZNAK K, et al. Chemical synthesis of the 5-taurinomethyl-(2-thio)uridine modified anticodon arm of the human mitochondrial tRNA(Leu(UUR)) and tRNA(Lys) [J]. *RNA*, 2014, 20(6): 938-947.
- [16] PARKER W B, SHADDIX S C, GILBERT K S, et al. Enhancement of the *in vivo* antitumor activity of clofarabine by 1-beta-D-[4-thio-arabinofuranosyl]-cytosine [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2009, 64(2): 253-261.
- [17] MORGENROTH A, DINGER C, ZLATOPOLSKIY B D, et al. Auger electron emitter against multiple myeloma-targeted endo-radio-therapy with 125I-labeled thymidine analogue 5-iodo-4'-thio-2'-deoxyuridine [J]. *Nucl Med Biol*, 2011, 38(7): 1067-1077.
- [18] CHEN Y W, CHOU K M. DNA lesion bypass polymerases and 4'-thio-beta-Darabinofuranosylcytosine (T-araC) [J]. *Int J Biochem Mol Biol*, 2011, 2(4): 340-346.
- [19] HARAGUCHI K, SHIMADA H, KIMURA K, et al. Synthesis of 4'-ethynyl-2'-deoxy-4'-thioribonucleosides and discovery of a highly potent and less toxic nrti [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2011, 2(9): 692-697.
- [20] ERICA W VAN TILBURG, VON FRIJTAG DRABBE KÜNZEL J, DE GROOTE M, et al. 2,5'-Disubstituted adenosine derivatives: evaluation of selectivity and efficacy for the adenosine A(1), A(2A), and A(3) receptor [J]. *J Med Chem*, 2002, 45(2): 420-429.
- [21] THOTTASSERY J V, SAMBANDAM V, ALLAN P W, et al. Novel DNA methyltransferase-1 (DNMT1) depleting anticancer nucleosides, 4'-thio-2'-deoxycytidine and 5-aza-4'-thio-2'-deoxycytidine [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2014, 74(2): 291-302.
- [22] STEPHENSON M L, ZAMECNIK P C. Inhibition of Rous sarcoma viral RNA translation by a specific oligodeoxyribonucleotide [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1978, 75(1): 285-288.
- [23] CAMPBELL J M, BACON T A, WICKSTROM E. Oligodeoxynucleoside phosphorothioate stability in subcellular extracts, culture media, sera and cerebrospinal fluid [J]. *J Biochem Biophys Methods*, 1990, 20(3): 259-267.
- [24] PHILLIPS M I, ZHANG Y C. Basic principles of using antisense oligonucleotides *in vivo* [J]. *Methods Enzymol*, 2000, 313: 46-56.
- [25] KURRECK J, WYSZKO E, GILLEN C, et al. Design of antisense oligonucleotides stabilized by locked nucleic acids [J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(9): 1911-1918.
- [26] CROOKE S T. Progress in antisense technology: the end of the beginning [J]. *Methods Enzymol*, 2000, 313: 3-45.
- [27] LEVIN A A. A review of the issues in the pharmacokinetics and toxicology of phosphorothioate antisense oligonucleotides [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1489(1): 69-84.
- [28] GUGA P, KOZIOŁKIEWICZ M. Phosphorothioate nucleotides and oligonucleotides - recent progress in synthesis and application [J]. *Chem Biodivers*, 2011, 8(9): 1642-1681.
- [29] ZHONG J, LI B S, ZHU D L, et al. Study on the content of sodium in oligonucleotide bulk pharmaceuticals-flutide [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2012, 29(8): 730-734.
- [30] LU D D. The studies on preclinical pharmacokinetics of phosphorothioate antisense oligonucleotides [D]. Beijing: Academy of Military Medical Sciences, 2007.

收稿日期: 2015-09-15