青蒿素及其衍生物的抗疟构效关系研究和治疗新适应症衍生物的发现

郑明月¹, 刘刚¹, 唐炜¹, 左建平¹, 张翱¹, 蒋华良^{1,2*}

1. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203;

2. 上海科技大学生命科学与技术学院, 上海 201210

* 联系人, E-mail: hljiang@simm.ac.cn

2017-02-21 收稿, 2017-02-28 修回, 2017-02-28 接受, 2017-03-30 网络版发表

摘要 青蒿素及其衍生物蒿甲醚、青蒿琥酯在抗疟领域取得了巨大成功, 尤其对脑型疟疾和抗氯喹耐药表现出很好的疗效. 本文首先对青蒿素及其衍生物的构效关系进行了回顾, 系统分析了采用量子化学计算、三维定量构效关系分析、还原电势检测, 以及分子对接等不同手段对于研究青蒿素衍生物结构优化, 阐明其潜在作用机制方面的指导作用. 除了抗疟作用, 青蒿素及其衍生物还具有显著的免疫调节功能. 近年来, 通过对青蒿素类化合物开展了以免疫调节活性为导向的药物化学与药理学相结合的系统研究, 在青蒿素母体结构上引入新的基团, 发现了一批具有更强免疫抑制活性以及口服吸收良好的新型青蒿素衍生物. 其次, 主要介绍这些新型青蒿素类衍生物在治疗自身免疫疾病方面的研究进展. 为了充分挖掘青蒿素骨架在药物研发方面的潜力, 从20世纪90年代开始有越来越多的研究开始探索青蒿素及其衍生物的抗肿瘤活性. 青蒿素本身或其简单的衍生物, 如双氢青蒿素、蒿甲醚、蒿乙醚等的抗肿瘤活性较弱. 然而, 通过采用向青蒿素骨架中引入水溶性片段、杂多环, 以及靶向药物片段等策略, 可以获得抗肿瘤活性更好, 成药性更高, 且具有明确分子靶标的新型青蒿素衍生物. 最后, 对新型抗肿瘤青蒿素衍生物的设计和改造最新进展进行了综述.

关键词 青蒿素, 抗疟药物, 结构活性关系, 自身免疫疾病, 肿瘤

青蒿素(artemisinin)是1971年从菊科植物黄花蒿(*Artemisia annua*)中提取的一种含有过氧桥结构的倍半萜内酯类化合物, 是我国首先发现的新构型的抗疟药物. 青蒿素体内的代谢产物为双氢青蒿素(dihydroartemisinin, DHA), 也具有良好的抗疟活性. 青蒿素及其衍生物是目前世界上最有效的治疗脑型疟疾和抗氯喹恶性疟疾的药物. 作为一线抗疟药, 青蒿素类药物挽救了数百万人的生命, 被世界卫生组织称为“治疗疟疾的最大希望”, 具有快速、高效、无抗药性、低毒副作用的特征^[1]. 2015年, 屠呦呦获得诺贝尔医学奖后发表感言曾提到: “青蒿素是传统中医

药送给世界人民的礼物”, 对防治疟疾等传染性疾病, 维护世界人民健康具有重要意义^[2]. 多年来的研究发现, 除了抗疟作用, 青蒿素及其衍生物还具有免疫调节、抗肿瘤、抗菌等作用, 拥有广阔的发展前景. 本文主要综述青蒿素类化合物的抗疟构效关系和发现治疗多种不同疾病衍生物及其药理作用研究进展.

1 青蒿素及其衍生物抗疟活性与结构关系研究

与其他抗疟疾药物相比, 青蒿素对脑型疟疾和抗氯喹疟疾具有治疗效果, 具有明显的优越性. 但青

引用格式: 郑明月, 刘刚, 唐炜, 等. 青蒿素及其衍生物的抗疟构效关系研究和治疗新适应症衍生物的发现. 科学通报, 2017, 62: 1948–1963

Zheng M Y, Liu G, Tang W, et al. Structure-activity relationships of the antimalarial agent artemisinin and the research progress on the artemisinin analogues with novel pharmacological actions (in Chinese). Chin Sci Bull, 2017, 62: 1948–1963, doi: 10.1360/N972017-00197

蒿素本身较低的溶解性限制了进一步的应用。为了找到更有效的抗疟疾药物,中国科学院上海药物研究所从1978年开始着手青蒿素的化学改造研究,包括合成、结构修饰、生物活性评价等。由于青蒿素及

其衍生物的结构与其他抗疟疾药物有很大不同,为了探究青蒿素及其衍生物的构效关系及抗疟机理,本研究组对青蒿素衍生物(图1和表1)进行了深入的定量构效关系和作用机制探索。

图1 青蒿素(a)、DHA (b)、青蒿素衍生物(c)的基本结构骨架

Figure 1 The chemical structure of artemisinin (a), DHA (b), and the generic structure of artemisinin derivatives (c)

表1 青蒿素衍生物的结构及抗疟活性

Table 1 The structure and antimalarial activity of artemisinin derivatives

化合物	R	SD ₉₀ (mg kg ⁻¹ d ⁻¹)	-logC ^a
DHQHS1	-H(α)	3.65	4.89
DHQHS2	-H(β)	3.65	4.89
SM229	-CH ₃ (α)	1.16	5.41
SM224	-CH ₃ (β)	1.02	5.47
SM227	-C ₂ H ₅ (β)	1.95	5.21
SM220	- <i>n</i> -C ₃ H ₇ (β)	1.70	5.28
SM245	-CH(CH ₃) ₂ (β)	2.24	5.16
SM247	-CH ₂ CH ₂ CH(CH ₃) ₂ (β)	5.65	4.8
SM249	-CH ₂ CH ₂ OCH ₃ (β)	4.10	4.92
SM277	-CH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH ₂ CH ₃ (β)	3.71	5.02
SM280	-CH ₂ CH ₂ COCH ₃ (α)	2.28	5.18
SM105	-COCH ₃ (α)	1.20	5.44
SM108	-COC ₂ H ₅ (α)	0.66	5.71
SM241	-COC ₃ H ₇ (α)	0.65	5.74
SM223	-COOC ₂ H ₅ (α)	0.63	5.75
SM242	-COOC ₃ H ₇ (α)	0.50	5.87
SM273	-CO(p-CH ₃)C ₆ H ₄ (α)	1.73	5.37
SM233	-COCH=CHC ₆ H ₅ (α)	0.74	5.75
SM270	2-Oxacuclophepy(β)	4.70	4.89
SM232	-COC ₆ H ₅ (β)	3.42	5.04
SM242a	-COOC ₃ H ₇ (β)	1.32	5.45
SM276	-COOC ₆ H ₅ (α)	0.63	5.81
SM374	-COCH ₂ C ₆ H ₅ (α)	0.95	5.62

1.1 青蒿素衍生物的量子化学研究

由于青蒿素及其衍生物的结构与其他的抗疟疾药物有很大的不同,为了从电子水平上来探究青蒿素的抗疟机理,本课题组应用半经验性量化方法AM1和PM3对23种衍生物的分子总能量、分子轨道能量以及净电荷和键级进行了理论计算.根据计算结果可以发现,分子的最高占有轨道能量与最低未占有轨道能量与青蒿素衍生物的抗疟活性无关,C-16位净电荷以及O-5位与C-16位的键级与其抗疟活性有关.通过与去氧青蒿素的比较可以发现,O-1位与C-10位,O-2位与C-6位,O-1位与O-2位的键级也与青蒿素衍生物的抗疟活性有关,并进一步推测青蒿素衍生物的内过氧桥可能是通过与受体形成氢键发挥作用的^[3].图2显示了青蒿素衍生物可能的药效团及这些化合物与受体的可能作用方式.

1.2 青蒿素衍生物的三维定量构效关系研究

在三维定量构效关系研究中,Marshall和Cramer^[4]提出的比较分子力场法(comparative molecular field analysis, CoMFA)是一种较常用的方法. CoMFA方法的依据是:与同一受体发生可逆相互作用的系列化合物,主要是通过非键相互作用如静电、疏水和氢键等相互结合的,因此该系列化合物与受体之间的这些力场应该具有某种相似性,且力场的大小、方向分布也应与生物活性之间具有相关性.根据这一观点,可以在不了解受体三维结构的情况下,建立一个CoMFA数学模型来描述各种力场与生物活性之间的定量关系,并以此模型设计新化合物并预测生物活性.本课题组利用CoMFA方法验证了表1青蒿素衍生物三维空间结构与生物活性之间的关系,并指出链

-C-6-O-2-O-1-C-10-O-3-C-7-O-4-C-12-O-5-以及C-16对于青蒿素衍生物抗疟活性很重要,并且增加C-16位的正电性能增加其生物活性^[5].

1.3 青蒿素衍生物的循环伏安法研究

循环伏安法(cyclic voltammetry)是一种常用的电化学研究方法.该方法可以控制电极电势以不同的速率,随时间以三角波形一次或多次反复扫描,电势范围使电极上能交替发生不同的还原和氧化反应.通过记录电流-电势曲线,可根据曲线形状判断电极反应的可逆程度.为了进一步验证半经验性的量化计算方法和三维定量构效关系(three-dimensional quantitative structure-activity relationship, 3D-QSAR)提出的青蒿素衍生物的抗疟药效团和药物与受体可能作用模式, Jiang等人^[6]利用循环伏安法测定了青蒿素、DHA以及SM220, SM224, SM227和SM229的还原电势,得到这些化合物的循环伏安曲线.可以发现,这些化合物有相似的还原分解机制,结合实验可以证明这些化合物的分解是由分子中过氧链的断裂引起的.综合利用偏最小二乘(partial least squares, PLS)法对这些化合物的还原电势和生物活性进行分析,可以发现这些化合物的还原电势与抗疟活性有很好的相关性,说明青蒿素衍生物分子中的过氧链对抗疟生物活性至关重要,也进一步验证了定量化学方法和3D-QSAR得到的结论.

1.4 青蒿素衍生物与铁卟啉相互作用的分子对接研究

随着药理研究的深入,青蒿素被认为是通过与体内的铁卟啉分子作用从而起到抗疟作用.为了更好地了解青蒿素抗疟机制和青蒿素类似物的结构和活性之间的关系, Cheng等人^[7]在蒋华良的指导下对青蒿素类化合物进行了分子对接和3D-QSAR的研究.与前期基于分子结构叠合的方法不同,该研究首先应用分子对接的方法确定23种青蒿素衍生物与铁卟啉分子作用时的可能结合构象,然后利用这些预测的活性构象进行3D-QSAR (CoMFA和CoMSIA)分析.图3(a)显示了青蒿素衍生物与铁卟啉分子结合的最小能量构象,可以发现青蒿素衍生物的内过氧桥正指向铁卟啉分子的Fe原子.

通过利用分子对接得到的青蒿素类似物活性构象进行3D-QSAR (CoMFA, CoMSIA)分析可以得到预

图2 青蒿素衍生物的药效团及与受体的可能作用模式
Figure 2 Proposed pharmacophore model of artemisinin derivatives

图3 (网络版彩色)青蒿素衍生物与铁卟啉结合的优势构象(a)和青蒿素衍生物的CoMFA力场系数图(b)

Figure 3 (Color online) The common structure of artemisinin derivatives and Fe ion indicated in ball and stick model (a), and contour maps from the final CoMFA analysis in combination with all artemisinin analogues (b)

测能力更强的3D-QSAR模型。CoMFA系数图的结果(图3(b))与本研究组前面得到的青蒿素与铁卟啉结合模型和药理实验结果相一致。CoMFA的立体场等势图表明, C-12位的取代基 α -构型能够增强抗疟活性, β -构型能够降低活性。CoMFA的静电场等势图表明增加C-16位的正电性能够增强抗疟活性, C-16位的酯取代物的活性高于醚取代物。CoMSIA的结论与CoMFA相同基本一致, 不过CoMSIA能够提供疏水相似指数场数据。ComMSIA的疏水场数据表明, 增加C-12位的疏水性能够增加抗疟活性, 但是体积更大的疏水基团也有可能降低活性^[7]。

2 青蒿素类似物新适应症研究

2.1 传统青蒿素类抗疟药物的免疫调节活性研究

青蒿素类抗疟药物, 如青蒿琥酯(artesunate)、DHA、蒿甲醚(artemether)^[8-12], 不仅在抗疟方面有着出色的表现, 同时也被报道具有一定的免疫抑制活性。体外采用TCR信号刺激纯化的正常小鼠(*Mus musculus*) T细胞, 发现蒿甲醚能够显著抑制TCR信号介导的T细胞增殖, 抑制TCR信号触发的IL-2及IFN- γ 生成, 抑制细胞周期进展, 减少TCR信号刺激下T细胞的分裂; 进一步研究发现, 蒿甲醚能够显著抑制TCR信号触发的MAPKs信号途径, 抑制ERK1/2, Jnk及P38的磷酸化, 从而发挥免疫抑制活性; 采用卵清白蛋白(ovalbumin, OVA)免疫小鼠后, 分离致敏小鼠T细胞及APC细胞, 进行交叉培养, 结果发现蒿甲醚主要通过抑制抗原特异性T细胞从而发挥免疫抑制作用^[13]。此外, 也有研究表明, 青蒿素及其衍生物能够与钙调蛋白(calmodulin)结合, 抑制磷酸二酯酶活性, 提高胞内cAMP含量, 从而发挥免疫抑制作

用^[14,15]。给小鼠注射不同剂量的青蒿素和DHA, 可以明显抑制小鼠的体液免疫和细胞免疫^[16,17]; 青蒿琥酯能加速骨髓移植后的免疫重建^[18]; 在实验性哮喘模型中, 青蒿琥酯抑制呼吸道招募炎症细胞和黏液的产生, 降低OVA诱导的呼吸道反应性, 并抑制Th2反应从而缓解哮喘^[19], 青蒿琥酯通过调节抗氧化剂的活性能有效缓解哮喘对肺造成的损伤^[20]; 青蒿素类化合物对类风湿性关节炎的作用也有报道, 青蒿琥酯体外显著降低了关节炎病人滑膜细胞大量炎症因子的浸润。有研究者在体外将RA患者的滑膜细胞进行培养, 加入TNF- α 刺激, 结果发现青蒿琥酯能够显著抑制上清中IL-1 β , IL-6以及IL-8的水平, 进一步研究发现青蒿琥酯通过阻断TNF- α 激活的PI3K/Akt及NF κ B信号途径, 抑制Akt的磷酸化, 抑制I κ B降解从而阻断TNF- α 导致的滑膜细胞释放前炎介质^[21,22]。DHA及青蒿琥酯对小鼠系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)有一定的治疗作用^[23-25]; DHA对多发性硬化(multiple sclerosis, MS)症模型的缓解作用之前也有报道^[26]。临床上青蒿素类药物在自身免疫性疾病治疗上也有探索性的应用, 如湿疹、光敏性皮肤病^[27,28]、SLE^[29-31]等, 也具有一定疗效。近年来, 随着自身免疫性疾病的发病率不断增高, 临床上迫切需要新型的高效低毒免疫抑制剂用于联合或交替用药。然而, 传统青蒿素类药物的难溶性影响了口服给药的体内吸收及生物利用度, 限制了其作为慢性自身免疫性疾病治疗药物的临床应用^[32,33]。因此, 研究者在积极寻找溶解性好的、活性更高的新型青蒿素类衍生物, 寻找“高效、安全、口服方便”的具有更强免疫抑制活性的青蒿素类衍生物, 完成其临床研究并最终使其作为免疫抑制新药进入市场, 成为免疫抑制药物研究中的一个具有重大科学意义的崭新课程。

2.2 新型青蒿素衍生物的发现与免疫抑制活性研究

青蒿素是含有过氧桥的倍半萜内酯。研究表明, 过氧桥是青蒿素发挥抗疟作用必需的, 如果将此结构破坏, 或者通过结构改造合成出无过氧桥结构的青蒿素衍生物, 则抗疟作用大大降低或者消失。反之, 保留过氧桥结构, 而将倍半萜结构进行改造, 则仍然能保留抗疟活性^[34,35]。多年来, 中国科学院上海药物研究所研究人员对青蒿素类化合物开展了以

疫调节活性为导向的药物化学与药理学相结合的系统研究,在青蒿素母体结构上引入新的基团,合成了多系列的新型青蒿素衍生物,发现了一批具有更强免疫抑制活性以及口服吸收良好的新型衍生物.通过免疫抑制活性筛选,最终寻找并确定了若干目标化合物,这些衍生物与现有青蒿素类化合物相比,具有更高的成药性,其中代表性的化合物为油性衍生物SM735与SM933;水溶性衍生物SM934与SM905等(图4)^[36~40].

与已知青蒿素类药物相比,它们的免疫抑制活性大大提高,同时保留了低毒的特点,具有较高的治疗指数(IC₅₀/CC₅₀).新型水溶性青蒿素衍生物在不引起细胞毒性的情况下,明显抑制ConA和LPS诱导的淋巴细胞增殖、抑制异基因抗原诱导的混合淋巴反应(表2),抑制anti-CD3+anti-CD28抗体诱导的T细胞增殖以及T细胞产生细胞因子IL-2和IFN- γ ^[40]. SM905能够抑制LPS诱导的RAW 264.7细胞产生NO, TNF- α , IL-1 β 及IL-6等促炎细胞因子,显著降低ERK1/2, p38, JNK的活化和I κ B α 的降解^[42].体内实验结果显示,口服SM905或SM934强烈抑制小鼠迟发型超敏反应

(delay type hypersensitivity, DTH),有效抑制抗原OVA诱导的淋巴细胞免疫应答^[40,41].

2.3 青蒿素类化合物对自身免疫性疾病的治疗研究进展

(i) 青蒿素类化合物治疗类风湿性关节炎. 类风湿性关节炎是常见的以慢性关节性病变为主要表现的全身性自身免疫性疾病. 关节滑膜炎持久反复发作,可导致关节内软骨和骨的破坏,关节功能障碍,甚至残废. 胶原诱导的关节炎(collagen induced arthritis, CIA)是用于研究人类类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)的实验动物模型^[43]. 新型水溶性青蒿素衍生物具有优良的免疫抑制活性,对T细胞的功能有明显的抑制作用,可能应用于T细胞介导的自身免疫性疾病的防治. 研究发现,在胶原诱导的小鼠关节炎模型上,无论是预防给药还是治疗性给药, SM905均能够显著降低CIA的发生,减轻关节滑膜损伤,降低各种炎症因子的分泌与表达^[44]. 此外,有证据显示, CIA模型小鼠经过口服SM905治疗后T细胞往保护性的Th2方向分化, Th2型细胞因子IL-4分泌增加,同时

图4 新型青蒿素衍生物免疫抑制剂的化学结构

Figure 4 Chemical structures of novel artemisinin derivative with immunosuppressive activity

表2 新型青蒿素衍生物的免疫抑制活性

Table 2 Immunosuppressive activity of novel artemisinin derivatives

化合物	IC ₅₀ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)			CC ₅₀ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	参考文献
	ConA	LPS	Alloantigen		
蒿甲醚	6.3 $\pm$ 1.9	2.4 $\pm$ 1.5	3.5 $\pm$ 0.6	80 $\pm$ 0.4	[13]
DHA	6.0 $\pm$ 1.5	1.2 $\pm$ 0.3	0.82 $\pm$ 0.45	9.4 $\pm$ 1.0	—
青蒿琥酯	2.4 $\pm$ 0.6	0.6 $\pm$ 0.1	0.83 $\pm$ 0.48	6.8 $\pm$ 2.5	—
SM735	0.33 $\pm$ 0.06	0.27 $\pm$ 0.02	0.86 $\pm$ 0.18	53.1 $\pm$ 7.8	[38]
SM905	1.33 $\pm$ 0.37	0.31 $\pm$ 0.08	0.67 $\pm$ 0.12	79.6 $\pm$ 6.0	[40]
SM934	1.2 $\pm$ 0.5	2.6 $\pm$ 1.4	2.11 $\pm$ 0.76	67.3 $\pm$ 32.7	[41]

T细胞往致病性的Th17方向分化受到抑制,与Th17分化密切相关的转录因子ROR γ -t mRNA表达以及胶刺激下IL-17的分泌及mRNA表达也显著下降。同时本研究组也验证了SM934对CIA的防治作用,结果发现,无论CIA小鼠发病前或发病后口服给予SM934均能明显改善CIA的疾病症状。机理研究结果表明,SM934通过干扰CIA小鼠Tfh(滤泡T细胞)及Th17分化,减少抗体产生,有效缓解关节炎症状^[45]。

(ii) 青蒿素类化合物治疗SLE。SLE是以B淋巴细胞过度活化、大量自身抗体产生为主要免疫学特征的自身免疫性疾病。红斑狼疮患者多为多系统、多器官累积,严重者可出现狼疮性肾炎(lupus nephritis)乃至死亡。SLE病理机制较其他自身免疫性疾病更为复杂,病程更为漫长与反复。1956年,抗疟药物羟氯喹(hydroxychloroquine, HCQ)被批准作为一线免疫抑制剂用于SLE的治疗。因此,同样作为抗疟药物的青蒿素类化合物,其在狼疮上的疗效作用也备受关注。自20世纪80年代起,中国科学家就陆续报道了传统青蒿素类抗疟药包括DHA、青蒿琥酯以及蒿甲醚等在狼疮动物模型以及狼疮患者中的治疗作用^[46-49]。中国科学院上海药物研究所较早采用两种自发SLE模型小鼠,雌性MRL/lpr小鼠与雌性NZB×NZW/F1小鼠,开展了青蒿素衍生物治疗SLE的相关研究。MRL/lpr小鼠由于*fas*基因缺失导致外周自身免疫性淋巴细胞凋亡清除途径缺陷,从而发生类似与人类SLE症状。NZB/W F1小鼠是NZB与NZW小鼠的杂交一代。此小鼠模型整合了NZB与NZW小鼠的狼疮易感基因,且只有雌性发病,病理表现与人类SLE最为类似。本研究组发现,青蒿素衍生物SM934在两种疾病模型上均有良好的治疗作用,SM934能够显著降低模型小鼠蛋白尿发生率、减少血清中致病性自身抗体水平、减

轻狼疮性肾脏损伤、减少肾脏免疫复合物沉积^[48,50,51]。相较于传统青蒿素类化合物,SM934在体内实验中也显示出了明显的剂量优势(表3)。据文献报道,125(高剂量),25 mg kg⁻¹ d⁻¹(低剂量)DHA可有效缓解BXS B狼疮小鼠的肾脏损伤并降低血清抗ds-DNA抗体水平^[52-54]。同样地,125 mg kg⁻¹ d⁻¹青蒿琥酯可提高MRL/lpr小鼠的生存率、缓解狼疮肾炎、降低尿蛋白和血清ANA水平^[47,55]。基于新型水溶性青蒿素衍生物SM934的研究表明,2.5, 5以及10 mg kg⁻¹ d⁻¹ SM934即可显著降低MRL/lpr小鼠的血清自身抗体、纠正淋巴细胞的异常发展、减轻肾脏免疫复合物沉积、改善肾脏功能并提高小鼠生存率,且呈现出了较好的剂量依赖性^[48,50]。另外,3以及10 mg kg⁻¹ d⁻¹ SM934在NZB/W F1狼疮小鼠上也显示出了显著的治疗效果^[51]。

进一步的机理研究表明,SM934降低血清抗核抗体水平、抑制抗体的类别转换,并降低血清中体液免疫相关细胞因子IL-6, IL-10, IL-21水平; SM934能延缓MRL/lpr小鼠的疾病进程,提高静息态B细胞及生发中心B细胞数量,降低活化B细胞及浆细胞数量。SM934通过抑制B细胞中TLR7/9 mRNA的表达、MyD88蛋白表达及NF- κ B蛋白的磷酸化,从而抑制MRL/lpr小鼠B细胞的活化、增殖,IL-6, IL-10的产生以及抗体的分泌,且SM934上调转录因子BCL6的表达而下调*Blimp-1*的表达。与MRL/lpr小鼠中的结果一致,SM934抑制TLR7/9信号介导的人PBMC中B细胞的活化、增殖,并抑制浆细胞的形成及抗体IgG和IgM的释放。

SM934具有较强的体内外免疫抑制活性,且在NZB/W F1以及MRL/lpr等SLE疾病动物模型上显示了良好的药效,并揭示该治疗作用可能与SM934对T细胞免疫平衡的调节有关。历经10余年研发,水溶性青蒿素衍生物SM934于获得国家食品药品监督管理

表3 青蒿素类化合物在狼疮动物模型上的药效学数据

Table 3 Pharmacodynamic data of artemisinin compounds on different animal models of lupus

化合物/药物	狼疮/肾病动物模型	剂量, 给药途径	疗效
SM934	MRL/lpr雌性小鼠	2.5, 5, 10 mg kg ⁻¹ d ⁻¹ 灌胃给药	提高存活率, 降低蛋白尿, 改善肾脏组织损伤 ^[48,50]
	NZB/W F1雌性小鼠	10, 3, 1 mg kg ⁻¹ d ⁻¹ 灌胃给药	提高存活率, 降低蛋白尿, 改善肾脏组织损伤 ^[51]
	ADR大鼠肾病	50, 25, 12.5 mg kg ⁻¹ d ⁻¹	降低蛋白尿, 改善肾脏组织损伤, 改变肾组织自由基水平 ^[52]
二氢青蒿素	BXS B雄性小鼠	25, 125 mg kg ⁻¹ d ⁻¹ 灌胃给药	抑制多种免疫球蛋白及补体在肾脏的沉积, 改善BXS B小鼠肾组织的病理损害 ^[53-55]
青蒿琥酯	MRL/lpr雌性小鼠	125 mg kg ⁻¹ d ⁻¹ 灌胃给药	提高生存率, 降低蛋白尿, 肾脏组织损伤 ^[47,56]

总局核准的临床研究批件, 已开展临床研究.

(iii) 青蒿素类化合物治疗MS. MS是一类Th17与Th1型T细胞免疫共同介导的, 发生在中枢神经系统的自身免疫性疾病, 患者主要表现为进行性瘫痪, 常用实验性脑脊髓膜炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)动物模型进行药物筛选及MS病理机制研究^[57]. 研究表明, 脂溶性青蒿素类衍生物SM933对EAE模型有良好的防治作用, 能够显著降低炎症细胞向脊髓的浸润, 减少脱髓鞘现象, 改善脊髓病理损伤, 进一步研究认为SM933通过抑制NF- κ B而降低了NO的分泌, IFN- γ 下游的Rig-G/JAB1信号也受到抑制, 这些可能都是青蒿素潜在的作用靶点^[39]. 还有研究证明二氢青蒿素体外可以显著抑制mTOR信号通路, 从而增强了调节性T细胞的分化, 在EAE体内表现为显著升高Treg的水平而缓解了EAE的发病^[26].

本研究组发现, SM934对EAE具有较好的防治作用, 抑制了炎症细胞向中枢神经系统的浸润, 促进了Treg在体内的分化和扩增, 显著升高了Treg的水平^[58].

2.4 青蒿素衍生物抗肿瘤研究进展

随着老药新用原理的广泛应用,青蒿素及其衍生物的抗肿瘤活性也受到越来越多的重视.然而,由于青蒿素本身,或其简单的衍生物,如DHA、蒿甲醚、蒿乙醚等的抗肿瘤活性较弱,对肿瘤细胞的增值抑制在几十微摩尔范围,加之青蒿素衍生物本身的水溶性差、机制不明确等缺点,因此,青蒿素及其简单的衍生物很少进入体内抗肿瘤活性研究.大体上,目前文献报道的研发具有抗肿瘤活性的青蒿素衍生物主要包括4条策略,即10位衍生化,寻找活性取代基(图5(a))^[59,60],杂合其他抗肿瘤分子(图5(b))^[61],偶

图5 传统青蒿素衍生物的抗肿瘤活性报道。(a) L1210, $IC_{50}=10 \text{ nmol L}^{-1[59]}$; HepG2, $IC_{50}=0.46 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1[60]}$; (b) CCRF-CEM, $IC_{50}=9.7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1[61]}$; (c) ART-peptide^[62]; (d) 二聚体^[63]

Figure 5 Antitumor activity of traditional artemisinin derivatives. (a) L1210, $IC_{50}=10 \text{ nmol L}^{-1}$ ^[59]; HepG2, $IC_{50}=0.46 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ^[60]; (b) CCRF-CEM, $IC_{50}=9.7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ^[61]. (c) ART-peptide^[62]. (d) artemisinin-derived dimers^[63]

联共转运体(图5(c))^[62], 构建二聚体及多聚体(图5(d))^[63]. 其中, 除具有高度的抗疟活性以外, 青蒿素二聚体类衍生物也显示出较高的体外抗肿瘤活性, 一些化合物对部分肿瘤细胞增殖抑制活性的 IC_{50} 值达到 10 nmol L^{-1} . 然而, 尽管这些化合物的体外抗肿瘤活性有了显著提高, 其体内抗肿瘤活性仍然不强, 部分化合物还显示很高的毒性, 因此, 活性、安全性及口服生物利用度等限制青蒿素衍生物作为抗肿瘤药物研究的最大瓶颈.

近年来, 中国科学院上海药物研究所针对现有青蒿素衍生物研发的瓶颈, 设计合成了多个系列的新型青蒿素衍生物, 并对其抗肿瘤活性进行了初步探索.

(i) 具有杂芳基哌啶、哌嗪结构单元的青蒿素衍生物. 为改善青蒿素分子理化性质, 张翱等人^[64]将水溶性二级胺引入青蒿素骨架并在末端并入或接入芳香杂环增加化合物的新颖性, 设计一类水溶性提高、结构新颖的青蒿素衍生物. 选用人口腔上皮癌细胞KB及其长春新碱(vincristine, VCR)耐药细胞KB/VCR进行活性评价, 初步设计的芳基并哌嗪、哌啶类衍生物(图6(a))没有明显的增殖抑制活性. 本研究组进一步通过芳基外迁或杂芳基外迁的策略设计两类新颖的结构(图6(b)和(c)), 活性评价发现, 新化合物的抗肿瘤活性均提高到低微摩尔范围, 远远强于青蒿素母体($IC_{50}>20\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$). 有趣的是, 含苯并

咪唑类化合物**1**(图6(d))和**2**(图6(e))对VCR耐药的KB细胞活性优于普通的KB细胞, 尤其是化合物**2**(图6(e))对耐药细胞活性达到 $0.5\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, 比亲本细胞活性高出10倍以上, 显示此类化合物可能具有克服肿瘤多药耐药的潜力.

(ii) 具有并环、螺双环/多环青蒿素衍生物的设计合成. 青蒿素C-12位羰基是其骨架中化学性质较为活泼的官能团, 同时内酯环也是代谢不稳定的位点, 因此目前青蒿素的结构改造主要集中在该位点. 将内酯环还原并进一步引入其他官能团是目前青蒿素结构改造的主要策略. 除此之外, 另有少量的文献报道的结构优化发生在青蒿素的C-11和C-13位.

为了得到结构新颖的青蒿素衍生物用于抗肿瘤活性研究, 中国科学院上海药物研究所将研究目光集中在多位点修饰, 并首次提出了构建并环和螺环化合物库的策略(图7). 一方面, 通过在青蒿素11位和12位构建并环类化合物, 再通过关环的烯烃复分解反应(ring closing metathesis, RCM)成功实现了青蒿素并环己烯和并二氢呋喃两类青蒿素并环衍生物的合成. 另一方面, 充分利用青蒿素12位羰基的吸电子能力, 在其邻位11位通过多种类型的1,3-偶极环加成反应成功构建了青蒿素螺四氢环戊烯、螺异恶唑啉、螺异恶唑烷、螺多环等四类螺环衍生物.

选用KB, KB/VCR, A549 3种肿瘤细胞对所构建化合物库中所有化合物进行细胞毒活性研究, 如表4

图6 (网络版彩色)含杂芳基哌啶、哌嗪青蒿素衍生物

Figure 6 (Color online) The structure of artemisinin derivatives containing heteroaryl piperidine and piperazine

图7 (网络版彩色)并环和螺环青蒿素衍生物库

Figure 7 (Color online) The chemical library of ring and spiro artemisinin derivatives

所示, 两类并环类衍生物并环己烯(化合物3)和并二氢呋喃(化合物4)的抗肿瘤活性都没有提高, 螺四氢环戊烷类(化合物5)活性也没有得到改善. 螺多环类衍生抗肿瘤活性明显提高, 环上取代基不同对活性影响很大. 螺异恶唑啉类活性明显优于螺异恶唑啉类衍生物, 其中活性最优的螺异恶唑啉分子13, 对KB, KB/VCR, A549 3种肿瘤细胞的活性分别为1.47, 3.16, 5.01 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 与青蒿素($IC_{50}>20 \mu\text{mol L}^{-1}$)比较约有10倍以上的提高. 进一步对化合物13过氧桥和内酯环都进行了构效关系研究发现, 过氧桥变成单氧桥(化合物17)或是内酯环羰基进一步衍生化(化合物14~16)都使抗肿瘤活性明显降低, 证明了这两个官能团对整个分子抗肿瘤活性的重要性^[65,66].

(iii) 二氢异噁唑啉酸酯或酰胺类青蒿素衍生物的设计合成. 尽管通过引入杂多环可以极大丰富了青蒿素衍生物的多样性, 并获得活性提高的化合物. 然而, 多环的引入使环系本就很多的青蒿素骨架更加刚性, 理化性质较差, 进而可能影响其抗肿瘤活性. 为改善其多环刚性结构, 且充分利用其异恶唑啉类

抗肿瘤优势片段, 本研究组将异恶唑啉片段接入青蒿素的C-12位, 并将在末端引入文献报道的烷基链抗肿瘤优势片段, 构建了二氢异噁唑啉酸酯或酰胺两类青蒿素衍生物(图8(a)和(b)).

通过对链长度以及X原子的考查, 得到酰胺链接的末端含14个碳的最优活性化合物23, 对KB细胞的活性达到0.21 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 比青蒿素强100倍以上. 进一步对其做引入水溶性片段和破碎过氧桥骨架的修饰, 抗肿瘤活性反而降低(表5). 同时, 化合物23具有广谱的抗肿瘤活性, 对近10种肿瘤细胞的 IC_{50} 值都小于1 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 同时对多药耐药的细胞系MCF-7/ADR, KB/VCR都有明显的活性(表6)^[67]. 化合物23结构新颖、体外活性较好, 具有进一步用于靶点研究的潜力

(iv) 靶向膜蛋白受体Smoothened (Smo)的青蒿素衍生物的设计合成. 青蒿素在抗肿瘤领域的开发具有广阔的前景, 抗肿瘤谱广, 对包括白血病、乳腺癌、宫颈癌、卵巢癌、胃癌、结肠癌、肝癌、胰腺癌、肺癌、骨肉瘤等在内的多种肿瘤细胞都具有杀伤作

表4 并环、螺环类化合物抗肿瘤活性

Table 4 Antitumor activity of ring and spiro compounds

化合物	结构	(IC ₅₀ , μmol L ⁻¹)		
		KB	KB/VCR	A549
3		—	—	—
4		—	—	—
5		—	—	—
6-8		—	—	—
3	—	>20	>20	NC
4	—	>20	>20	NC
5	—	>20	>20	NC
6	R ₁ =H, R ₂ =H	>20	19.9	>20
7	R ₁ =H, R ₂ =acryloyl	6.31	3.53	13.76
8	R ₁ =4-F, R ₂ =H	2.25	2.89	8.79
9-11		—	—	—
12-16		—	—	—
17		—	—	—
9	R=H	>20	>20	>20
10	R=4-Cl	13.89	13.95	>20
11	R=4-OMe	>20	>20	>20
12	R=H, Y=O	2.91	14.02	9.93
13	R=6'-MeO, Y=O	1.47	3.16	5.01
14	R=6'-MeO, Y=OMe	>20	>20	>20
15	R=6'-MeO, Y=F	>20	>20	NC
16	R=6'-MeO, Y=O-CH ₂ -CH ₂ -N(CH ₂) ₂	>20	>20	>20
17	—	15.43	13.36	NC

图8 (网络版彩色)二氢异噁唑啉酸酯或酰胺类青蒿素衍生物

Figure 8 (Color online) Dihydro-isoxazole acid esters or amide derivatives of artemisinin

表5 二氢异噁唑啉酸酯或酰胺类青蒿素衍生物的抗肿瘤活性

Table 5 The antitumor activity of dihydroisoxazolates and amide artemisinin derivatives

化合物	X	R	(IC ₅₀ , μmol L ⁻¹)		
			KB	KB/VCR	A549
青蒿素			>20	>20	>20
18	NH	C ₉ H ₁₉	5.36	5.49	ND
19	NH	C ₁₂ H ₂₅	3.65	3.82	ND
20	NH	C ₁₄ H ₂₉	0.68	0.47	0.49
21	NH	C ₁₆ H ₃₃	1.55	3.13	3.28
22	O	C ₁₂ H ₂₅	3.13	6.21	>20
23	(-)-isomer		0.21	0.58	0.64
24	(+)-isomer		0.24	0.72	1.21
25	—		>20	>20	ND
28	—		0.88	2.42	ND
29	—		15.77	14.94	ND

表6 二氢异噁唑啉酰胺类青蒿素衍生物化合物23对多种肿瘤细胞活性

Table 6 Anti-tumor cells activity of dihydroisoxazolinamide artemisinin derivative of compound 23

细胞系	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)	细胞系	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)
MCF-7	0.88	MCF-7/ADR	2.13
KB	0.21	KB/VCR	0.58
SGC-7901	0.28	SK-OV-3	0.80
SW-620	1.01	SPC-A4	0.19
BEL-7402	0.38		

用。然而，目前对青蒿素在抗肿瘤领域的研究大多集中在提高其细胞毒活性基础上，尝试寻找其潜在的分子靶标。遗憾的是，无论是抗疟还是抗肿瘤研究，目前对青蒿素靶点的研究均不成功，这或许暗示青蒿素衍生物本身没有单一的作用靶标。因此，中国科学院上海药物研究所采用向青蒿素骨架中引入靶向药物片段的策略，以期获得具有明确分子靶标的新型青蒿素衍生物。通过组合策略，先后在青蒿素骨架中引入RET, ALK, c-Met, EGFR, FGFR, Smo, Bcl-2, AXL, PARP, STING等多个靶向性药物片段(图9)，最终发现，在青蒿素骨架引入Smo蛋白抑制剂GDC-0449的关键作用片段吡啶苯胺药效中心后，得到的新型青蒿素

衍生物30和31显示百纳摩尔级的Smo拮抗活性。

为了提高化合物的稳定性，中国科学院上海药物研究所和复旦大学药学院相关研究组合作，进一步通过酸处理破碎青蒿素骨架，再进行杂环构建，从而获得稳定的青蒿素衍生物，再与Smo靶弹头连接，得到系列结构简化的青蒿素衍生物。通过进一步对靶向弹头的优化，得到了多个Smo拮抗活性更优的化合物。其中，化合物32抑制Hh信号通路活性的IC₅₀值为9.53 nmol L⁻¹，其对Hh活性的抑制与已经上市的抗肿瘤药物GDC-0449, LDE-225相当(图10)^[68]。

同时，机理研究证实化合物32的分子靶点为Smo蛋白，作用位点与天然产物环巴胺一致，对从ptch⁺; -p53^{-/-}小鼠中分离的髓母细胞具有显著的抗增殖作用，体内实验进一步显示化合物对髓母细胞瘤小鼠的肿瘤生长具有显著抑制作用，在25及50 mg kg⁻¹剂量下抑瘤率分别达81%和91%，且对小鼠的体重没有明显影响。因此，化合物32是一个结构新颖、体内外活性较好且具有进一步研发潜力的新型靶向Smo拮抗剂，有进一步研发潜力。

3 结语

青蒿素类抗疟药物的问世是我国自主创制新药

图9 (网络版彩色)青蒿素靶向制剂的设计

Figure 9 (Color online) The design of molecular target agents with artemisinin scaffold

图10 (网络版彩色) Smo靶向的青蒿素衍生物的设计

Figure 10 (Color online) The design of Smo-targeted artemisinin derivatives

中一面成功的旗帜, 针对青蒿素抗疟药物品种的研究, 既有历史上成功的经验, 也有专利制度变迁的教训. 随着近年来生命科学领域科技水平的整体提高, 对青蒿素及其衍生物的研究工作不断深入, 证实青蒿素类药物不仅具有出色的抗疟活性, 在治疗自身免疫疾病

和抗肿瘤等研究领域也有不俗的表现, 拥有广阔的发展前景. 这对于发挥我国青蒿素的植物资源优势, 拓展青蒿素类化合物的应用领域, 满足国内巨大的创新药物市场的潜在需求, 无疑注入了一剂强心针. 同时, 这也为药物研究者们提供了良好的机遇.

参考文献

- 1 White N J. Qinghaosu (artemisinin): The price of success. *Science*, 2008, 320: 330–334
- 2 Tu Y. Artemisinin—A gift from traditional Chinese medicine to the world (nobel lecture). *Angew Chem Int Ed Engl*, 2016, 55: 10210–10226
- 3 Jiang H L, Chen K X, Wang H W, et al. Quantum chemical studies on antimalarial of artemisinin (qinghaosu) derivatives. *Chin J Chem*, 1995, 13: 131–140
- 4 Marshall G R, Cramer R D, 3rd. Three-dimensional structure-activity relationships. *Trends Pharmacol Sci*, 1988, 9: 285–289
- 5 Jiang H L, Chen K X, Wang H W, et al. 3D-QSAR study on ether and ester analogs of artemisinin with comparative molecular field analysis. *Acta Pharmacol Sin*, 1994, 15: 481–487
- 6 Jiang H L, Chen K X, Wang H W, et al. Cyclic voltammetry study on antimalarial mechanism of artemisinin (qinghaosu) derivatives. *Chin Chem Lett*, 1996, 7: 623–626
- 7 Cheng F, Shen J, Luo X, et al. Molecular docking and 3-D-QSAR studies on the possible antimalarial mechanism of artemisinin analogues. *Bioorg Med Chem*, 2002, 10: 2883–2891
- 8 Li G Q, Li Y, Li Z L, et al. Artemisinin Antimalarials (in Chinese). Beijing: Science Press, 2005 [李国桥, 李英, 李泽琳, 等. 青蒿素类抗疟药. 北京: 科学出版社, 2005]
- 9 Li Y, Wu Y L. Advances in Pharmacochemistry and Pharmacology of Artemisinin Compounds (in Chinese). Beijing: Chemical Industry Press, 2005. 433–503 [李英, 吴毓林. 青蒿素类化合物的药物化学和药理研究进展. 北京: 化学工业出版社, 2005. 433–503]
- 10 Li Y. The Researches About Artemisinin (in Chinese). Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2007 [李英. 青蒿素研究. 上海: 上海科学技术出版社, 2007]
- 11 Li Y, Huang H, Wu Y L. Qinghaosu (artemisinin)—A fantastic antimalarial drug from a traditional Chinese medicine. In: Liang X T, Fang W S, eds. *Medicinal Chemistry of Bioactive Natural Products*. New Jersey: John Wiley & Sons, Hoboken, 2006. 183–256
- 12 Li Y, Wu Y L. Golden phoenix arising from herbal nest—A review and reflection on the study of antimalarial drug qinghaosu. *Chem China*, 2010, 5: 357–422
- 13 Wang J X, Tang W, Shi L P, et al. Investigation of the immunosuppressive activity of artemether on T-cell activation and proliferation. *Br J Pharmacol*, 2007, 150: 652–661
- 14 Noori S, Hassan Z M, Rezaei B, et al. Artemisinin can inhibit the calmodulin-mediated activation of phosphodiesterase in comparison with Cyclosporin A. *Int Immunopharmacol*, 2008, 8: 1744–1747
- 15 Noori S, Naderi G A, Hassan Z M, et al. Immunosuppressive activity of a molecule isolated from *artemisia annua* on DTH responses compared with Cyclosporin A. *Int Immunopharmacol*, 2004, 4: 1301–1306
- 16 Sun X Z, Xie S S, Long Z Z. Experimental study on immunosuppressive effect of artemisinin and its derivatives. *Chin J Integr Trad Western Med*, 1991, 11: 37–38 [孙秀珍, 谢蜀生, 龙振洲. 青蒿素及其衍生物免疫抑制作用的实验研究. 中西医结合杂志, 1991, 11: 37–38]
- 17 Tawfik A F, Bishop S J, Ayalp A, et al. Effects of artemisinin, dihydroartemisinin and arteether on immune responses of normal mice. *Int J Immunopharmacol*, 1990, 12: 385–389
- 18 Yang S X, Xie S S, Gao H L, et al. Artemisinin and its derivatives enhance T lymphocyte-mediated immune responses in normal mice and accelerate immunoreconstitution of mice with syngeneic bone marrow transplantation. *Clin Immunol Immunopathol*, 1993, 69: 143–148
- 19 Cheng C, Ho W E, Goh F Y, et al. Anti-malarial drug artesunate attenuates experimental allergic asthma via inhibition of the phosphoinositide 3-kinase/akt pathway. *PLoS One*, 2011, 6: e20932
- 20 Ho W E, Cheng C, Peh H Y, et al. Anti-malarial drug artesunate ameliorates oxidative lung damage in experimental allergic asthma. *Free Radic Biol Med*, 2012, 53: 498–507
- 21 Xu H, He Y, Yang X, et al. Anti-malarial agent artesunate inhibits TNF-alpha-induced production of proinflammatory cytokines via inhibition of NF-kappaB and PI3 kinase/Akt signal pathway in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes. *Rheumatology (Oxford)*, 2007, 46: 920–926
- 22 He Y, Fan J, Lin H, et al. The anti-malaria agent artesunate inhibits expression of vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor-1alpha in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocyte. *Rheumatol Int*, 2011, 31: 53–60
- 23 Gao C F, Gao Y X. Effect of artesunate on SLE-like mouse model. *Chin J Dermatol*, 1995, 28: 17–19 [高春芳, 高玉祥. 青蒿琥酯对系统性红斑狼疮样小鼠模型的影响. 中华皮肤科杂志, 1995, 28: 17–19]

- 24 Xu L M, Chen X R, Tu Y Y. Effects of dihydroartemisinin on lupus bxsb mice. *Chin J Dermatovenerol Integr Trad Western Med*, 2012, 1: 19–20 [徐丽敏, 陈学荣, 屠呦呦. 双氢青蒿素对狼疮性 bxsb 小鼠的作用. *中国中西医结合皮肤性病学期刊*, 2012, 1: 19–20]
- 25 Shen M, Ge H L, He Y X, et al. Immunosuppressive action of qinghaosu. *Sci Sin B*, 1984, 27: 398–406
- 26 Zhao Y G, Wang Y, Guo Z, et al. Dihydroartemisinin ameliorates inflammatory disease by its reciprocal effects on Th and regulatory T cell function via modulating the mammalian target of rapamycin pathway. *J Immunol*, 2012, 189: 4417–4425
- 27 Chen H, Gao Y X. Clinical observation of artesunate in the treatment of eczema-dermatitis and photosensitive skin diseases. *J Bengbu Med Coll*, 1991, 16: 251–252 [陈华, 高玉祥. 青蒿琥酯治疗湿疹-皮炎及光敏性皮肤病临床观察. *蚌埠医学院学报*, 1991, 16: 251–252]
- 28 Jiang H Y, Zheng R, Zhou M H. An important validation of the treatment of neurodermatitis with artemisia annua oil scavenger: A report of 68 cases. *J Chengdu Univ Trad Chin Med*, 1992, 15: 23–25 [江海燕, 郑蓉, 周明辉. 青蒿油擦剂治疗神经性皮炎的重要验证: 附 68 例临床观察报告. *成都中医学院学报*, 1992, 15: 23–25]
- 29 Yu Q B, Jin H L. Clinical observation of artesunate in the treatment of 30 cases of systemic lupus erythematosus. *J Bengbu Med Coll*, 1996, 21: 173–174 [余其斌, 金慧玲. 青蒿琥酯治疗系统性红斑狼疮 30 例临床观察. *蚌埠医学院学报*, 1996, 21: 173–174]
- 30 Zhong J X, Liu Y M, Liu H J. Safety of artesunate in the treatment of systemic lupus erythematosus. *Trad Chin Drug Res Clin Pharmacol*, 2000, 11: 336 [钟嘉熙, 刘亚敏, 刘红蛟. 青蒿琥酯治疗系统性红斑狼疮的安全性观察. *中药新药与临床药理*, 2000, 11: 336]
- 31 Gladman D D, Urowitz M B, Senecal J L, et al. Aspects of use of antimalarials in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*, 1998, 25: 983–985
- 32 Steyn J D, Wiesner L, du Plessis L H, et al. Absorption of the novel artemisinin derivatives artemisone and artemiside: Potential application of pheroid technology. *Int J Pharm*, 2011, 414: 260–266
- 33 Sahoo N G, Abbas A, Judeh Z, et al. Solubility enhancement of a poorly water-soluble anti-malarial drug: Experimental design and use of a modified multifluid nozzle pilot spray drier. *J Pharm Sci*, 2009, 98: 281–296
- 34 Olliaro P L, Haynes R K, Meunier B, et al. Possible modes of action of the artemisinin-type compounds. *Trends Parasitol*, 2001, 17: 122–126
- 35 Vennerstrom J L, Arbe-Barnes S, Brun R, et al. Identification of an antimalarial synthetic trioxolane drug development candidate. *Nature*, 2004, 430: 900–904
- 36 Yang Z S, Wang J X, Zhou Y, et al. Synthesis and immunosuppressive activity of new artemisinin derivatives. Part 2: 2-[12(beta or alpha)-dihydroartemisininoxymethyl (or 1'-ethyl)]phenoxyl propionic acids and esters. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14: 8043–8049
- 37 Yang Z S, Zhou W L, Sui Y, et al. Synthesis and immunosuppressive activity of new artemisinin derivatives. 1. [12(beta or alpha)-dihydroartemisininoxyl]phen(ox)yl aliphatic acids and esters. *J Med Chem*, 2005, 48: 4608–4617
- 38 Zhou W L, Wu J M, Wu Q L, et al. A novel artemisinin derivative, 3-(12-beta-artemisininoxyl) phenoxyl succinic acid (SM735), mediates immunosuppressive effects *in vitro* and *in vivo*. *Acta Pharmacol Sin*, 2005, 26: 1352–1358
- 39 Wang Z, Qiu J, Guo T B, et al. Anti-inflammatory properties and regulatory mechanism of a novel derivative of artemisinin in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol*, 2007, 179: 5958–5965
- 40 Wang J X, Tang W, Yang Z S, et al. Suppressive effect of a novel water-soluble artemisinin derivative SM905 on T cell activation and proliferation *in vitro* and *in vivo*. *Eur J Pharmacol*, 2007, 564: 211–218
- 41 Hou L F, He S J, Wang J X, et al. SM934, a water-soluble derivative of artemisinin, exerts immunosuppressive functions *in vitro* and *in vivo*. *Int Immunopharmacol*, 2009, 9: 1509–1517
- 42 Wang J X, Hou L F, Yang Y, et al. SM905, an artemisinin derivative, inhibited no and pro-inflammatory cytokine production by suppressing mapk and NF-kappaB pathways in raw 264.7 macrophages. *Acta Pharmacol Sin*, 2009, 30: 1428–1435
- 43 Myers L K, Rosloniec E F, Cremer M A, et al. Collagen-induced arthritis, an animal model of autoimmunity. *Life Sci*, 1997, 61: 1861–1872
- 44 Wang J X, Tang W, Zhou R, et al. The new water-soluble artemisinin derivative SM905 ameliorates collagen-induced arthritis by suppression of inflammatory and Th17 responses. *Br J Pharmacol*, 2008, 153: 1303–1310
- 45 Lin Z M, Yang X Q, Zhu F H, et al. Artemisinin analogue SM934 attenuate collagen-induced arthritis by suppressing T follicular helper cells and T helper 17 cells. *Sci Rep*, 2016, 6: 38115
- 46 Lu L. study on effect of cordyceps sinensis and artemisinin in preventing recurrence of lupus nephritis. *Chin J Integr Trad Western Med*, 2002, 22: 169–171 [卢岚. 冬虫夏草和青蒿素抑制狼疮性肾炎复发的研究. *中国中西医结合杂志*, 2002, 22: 169–171]
- 47 Jin O, Zhang H, Gu Z, et al. A pilot study of the therapeutic efficacy and mechanism of artesunate in the MRL/lpr murine model of systemic lupus erythematosus. *Cell Mol Immunol*, 2009, 6: 461–467
- 48 Hou L F, He S J, Li X, et al. Oral administration of artemisinin analog SM934 ameliorates lupus syndromes in MRL/lpr mice by inhibiting Th1 and Th17 cell responses. *Arthritis Rheum*, 2011, 63: 2445–2455

- 49 Yu Q, Gao Y. Sodium artesunate treated 56 case of patients with lupus erythematosus. *Chin J Dermatol*, 1997, 30: 51–52
- 50 Wu Y, He S, Bai B, et al. Therapeutic effects of the artemisinin analog SM934 on lupus-prone MRL/lpr mice via inhibition of TLR-triggered B-cell activation and plasma cell formation. *Cell Mol Immunol*, 2016, 13: 379–390
- 51 Hou L F, He S J, Li X, et al. SM934 treated lupus-prone NZB×NZW F1 mice by enhancing macrophage interleukin-10 production and suppressing pathogenic T cell development. *PLoS One*, 2012, 7: e32424
- 52 Li T T, Zhang X H, Jing J F, et al. Artemisinin analogue SM934 ameliorates the proteinuria and renal fibrosis in rat experimental membranous nephropathy. *Acta Pharmacol Sin*, 2015, 36: 188–199
- 53 Li W D, Dong Y J, Tu Y Y, et al. Dihydroarteannuin ameliorates lupus symptom of BXSB mice by inhibiting production of TNF- α and blocking the signaling pathway NF- κ B translocation. *Int Immunopharmacol*, 2006, 6: 1243–1250
- 54 Dong Y J, Li W D, Tu Y Y, et al. Effect of dihydro-qinghaosu on auto-antibody production, TNF α secretion and pathologic change of lupus nephritis in BXSB mice. *Chin J Integr Trad Western Med*, 2003, 23: 676–679 [董妍君, 李卫东, 屠呦呦, 等. 双氢青蒿素对 BXSB 狼疮小鼠自身抗体产生、TNF α 分泌及狼疮性肾炎病理改变的影响. *中国中西医结合杂志*, 2003, 23: 676–679]
- 55 Dong Y J, Li W D, Tu Y Y, et al. The effects of DHA (dihydroarteannuin) on the pathologic changes in BXSB mice lupus nephritis and the effect mechanism. *Chin Pharmacol Bull*, 2003, 19: 1125–1128
- 56 Jin O Y, Zhang H Y, Xu T, et al. Pathological change and mechanism of artesunate treatment for lupus nephritis in MRL/lpr mice. *J Clin Med Pract*, 2007, 7: 4
- 57 Handel A E, Lincoln M R, Ramagopalan S V. Of mice and men: Experimental autoimmune encephalitis and multiple sclerosis. *Eur J Clin Invest*, 2011, 41: 1254–1258
- 58 Li X, Li T T, Zhang X H, et al. Artemisinin analogue SM934 ameliorates murine experimental autoimmune encephalomyelitis through enhancing the expansion and functions of regulatory T cell. *PLoS One*, 2013, 8: e74108
- 59 Liu Y, Wong V K, Ko B C, et al. Synthesis and cytotoxicity studies of artemisinin derivatives containing lipophilic alkyl carbon chains. *Org Lett*, 2005, 7: 1561–1564
- 60 Li Y, Wu J M, Shan F, et al. Synthesis and cytotoxicity of dihydroartemisinin ethers containing cyanoarylmethyl group. *Bioorg Med Chem*, 2003, 11: 977–984
- 61 Horwedel C, Tsogoeva S B, Wei S, et al. Cytotoxicity of artesunic acid homo- and heterodimer molecules toward sensitive and multidrug-resistant CCRF-CEM leukemia cells. *J Med Chem*, 2010, 53: 4842–4848
- 62 Oh S, Kim B, Singh N, et al. Synthesis and anti-cancer activity of covalent conjugates of artemisinin and a transferrin-receptor targeting peptide. *Cancer Lett*, 2009, 274: 33–39
- 63 Fröhlich T, Çapcı Karagöz A, Reiter C, et al. Artemisinin-derived dimers: Potent antimalarial and anticancer agents. *J Med Chem*, 2016, 59: 7360–7388
- 64 Zhang A, Miao Z H, Guo J F, et al. Artemisinin derivative containing heteroaryl piperidine, preparation method and application thereof (in Chinese). PRC Patent, CN104211712A, 2013-06-04 [张翱, 缪泽鸿, 郭俊峰, 等. 含杂芳基哌啶的青蒿素衍生物、其制备方法及应用. 中华人民共和国专利, CN104211712A, 2013-06-04]
- 65 Zhang A, Miao Z H, Liu G, et al. Lin isoxazole and isoxazole alkyl substituted artemisinin derivatives, their preparation and use (in Chinese). PRC Patent, 201510129923, 2015-03-23 [张翱, 缪泽鸿, 刘刚, 等. 异噁唑琳和异噁唑烷取代的青蒿素衍生物、其制备方法及应用. 中华人民共和国专利, 201510129923, 2015-03-23]
- 66 Liu G, Song S, Shu S, et al. Novel spirobicyclic artemisinin analogues (artemalogues): Synthesis and antitumor activities. *Eur J Med Chem*, 2015, 103: 17–28
- 67 Liu G, Song S, Liu X, et al. Novel dihydroisoxazoline-alkyl carbon chain hybrid artemisinin analogues (artemalog): Synthesis and antitumor activities. *RSC Adv*, 2016, 6: 98975–98984
- 68 Liu G, Xue D, Yang J, et al. Design, synthesis, and pharmacological evaluation of 2-(2,5-dimethyl-5,6,7,8-tetrahydroquinolin-8-yl)-n-aryl propanamides as novel Smoothed (Smo) antagonists. *J Med Chem*, 2016, 59: 11050–11068

Summary for “青蒿素及其衍生物的抗疟构效关系研究和治疗新适应症衍生物发现”

Structure-activity relationships of the antimalarial agent artemisinin and the research progress on the artemisinin analogues with novel pharmacological actions

ZHENG MingYue¹, LIU Gang¹, TANG Wei¹, ZUO JianPing¹, ZHANG Ao¹ & JIANG HuaLiang^{1,2*}

¹ Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China;

² School of Life Science and Technology, ShanghaiTech University, Shanghai 201210, China

* Corresponding author, E-mail: hljiang@simm.ac.cn

Artemisinin is a sesquiterpene lactone compound containing a peroxy bridge structure, extracted from *Compositae Artemisia annua* L. in 1971. Discovered by Chinese researchers, artemisinin and its derivatives are currently the most effective drugs in the world for the treatment of chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* strains and cerebral malaria. As first-line antimalarial medicines, artemisinin and its derivatives have saved millions of lives, and artemisinin has been reputed as “the best hope for malaria treatment” by World Health Organization. At Nobel Prize Award Ceremony in 2015, Tu Youyou, a natural product medicinal chemist at the China Academy of Chinese Medical Sciences who made significant contribution to the discovery of artemisinin as an antimalarial drug, delivered a speech entitled “Artemisinin—A gift from traditional Chinese medicine to the world”. Tu said: “From research experience gained from artemisinin discovery, we learnt strengths of both Chinese and Western medicines. There is great potential and future advances if these strengths can be fully integrated. We have a substantial amount of natural resource from which our fellow medical researchers can develop novel medicines”. Doubtless the discovery of artemisinin represents a banner in the history of Chinese pharmaceutical industry, which is of immense significance both to enlighten the currently much modernized drug discovery world and to encourage young generations of scientists working with the traditional Chinese medicines. In order to understand the antimalarial mechanism of artemisinin analogues, we firstly discussed on quantitative structure-activity relationship, structure-based physico-chemical properties, and molecular docking generated putative “bioactive” conformations of artemisinin analogues. In addition to the outstanding antimalarial activity, artemisinin and its derivatives also show significant immunosuppressive effects both *in vitro* and *in vivo*. We then summarized some typical artemisinin analogues that exhibit promising therapeutic effects on multiple autoimmune diseases, by suppressing the differentiation and expansion of pathologic T helper cells and accumulation of plasma cells, etc. The unusual endoperoxide and multiple cyclic structure of artemisinin has also been extensively explored to develop analogues with cytotoxic anticancer effects. Unfortunately, most of these artemisinin analogues failed to show tumor growth inhibition *in vivo*. To overcome this limitation, we finally reviewed some recent progresses to develop molecularly targeted anticancer therapies derived from artemisinin, by combining the typical skeleton of artemisinin or its fragmented intermediates with a molecularly targeted drug bullet. Among several tried approaches, the incorporation of a Smo antagonistic structural motif into the structure of artemisinin led to highly potent Smo-targeting antagonists. The recognition by the Nobel Prize does not mean that the study of artemisinin is over; instead, this great honor will inspire scientists around the world to move on to discover more therapeutic effects of artemisinin compounds, and to explore other potential gifts from Traditional Chinese Medicine.

artemisinin, antimalarial medicine, structure activity relationship, autoimmune diseases, tumor

doi: 10.1360/N972017-00197