

蛋白酶体抑制剂的进展

牟科, 付翌秋, 徐萍*

(北京大学药学院药物化学系, 北京 100191)

摘要: 作为体内蛋白质降解的途径之一, 蛋白酶体具有非常重要的生理作用, 并与多种疾病密切相关。抑制蛋白酶体的功能已经成为肿瘤治疗的又一有前景的新途径, 并受到越来越多的关注。本文对蛋白酶体的组成结构、病理生理作用和现有抑制剂进行归纳总结。

关键词: 蛋白酶体; 蛋白酶体, 抑制剂; 抗肿瘤药物

中图分类号: R916.1; R916.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-0440(2009)05-0348-07

Inhibitors of proteasome: research progress

MOU Ke, FU Yi-qiu, XU Ping

(Department of Medical Chemistry, School of Pharmaceutical Science, Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract: As one of the two pathways cells utilize for protein degradation, proteasome plays a very important role in physiological processes, and attributes to various diseases as well. Inhibition of proteasome has become a promising approach for tumor therapy, which attracts increasing attentions. This review summarizes composition and structure of proteasome, its physiological and pathological actions, and available inhibitors.

Key words: proteasome; proteasome inhibitor; anti-tumor agent

2004年诺贝尔化学奖颁给了发现泛素-蛋白酶体(proteasome)通路的科学家, 显示了蛋白酶体研究的重要性。目前已经确认的体内蛋白降解的正常途径有溶酶体途径和蛋白酶体途径。溶酶体主要负责细胞外和跨膜蛋白的降解, 蛋白酶体则主要降解胞内蛋白。蛋白酶体是一种高度保守的多价催化蛋白酶复合物, 广泛存在于真核细胞的核内和胞质内^[1]。这种复合物能催化水解连接有多聚泛素链的蛋白, 是泛素-蛋白酶体通路的主要组分。

列相关的酶: 泛素激活酶 E1、泛素结合酶 E2 和泛素连接酶 E3 组成(图 1)^[2]。

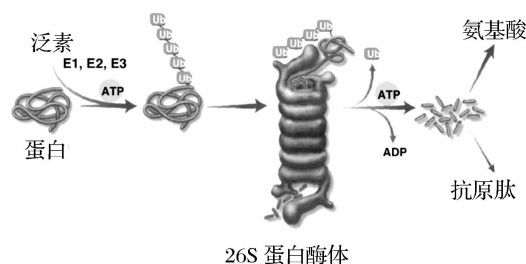


图 1 泛素-蛋白酶体通路简图

1 泛素-蛋白酶体通路的组成和结构

泛素-蛋白酶体通路由泛素、蛋白酶体以及一系

1.1 泛素

泛素是一种高度保守的、由 76 个氨基酸组成的小分子球蛋白, 相对分子质量为 8.6 ku, 能作为“标签”结合到其他蛋白质上, 使之成为蛋白酶体水解的底物。泛素分子的功能位点为 C2 端的 76 位 Gly 残基和 Lys 残基, Gly 残基上的羧基能与蛋白质底物的赖氨酸残基上的氨基形成异肽键。此外, 泛素还含有多个赖氨酸残基, 可作为内部受体, 与其他泛

收稿日期: 2009-06-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 20572006, 20772008 和 30772650)

作者简介: 牟科, 男, 在读博士研究生, 研究方向: 拟肽类蛋白酶体抑制剂的设计与合成, E-mail: william_mou@163.com, Tel: 010-82802951

* 通讯作者: 徐萍, 女, 教授, 博士生导师, 研究方向: 酶抑制剂的药物化学研究, Tel: 010-82801505, E-mail: pingxu@bjmu.edu.cn

素分子 C 端的甘氨酸结合,形成一条长链。结合上多聚泛素链的底物蛋白质被蛋白酶体识别后,将被水解为 5~15 个氨基酸的短肽^[3]。

1.2 蛋白酶体

26S 蛋白酶体包含 1 个 20S 的核心蛋白酶和 2 个 19S 调控复合物(图 2)。每个 19S 调节复合物都含有多个 ATP 酶活性位点,用于结合泛素。

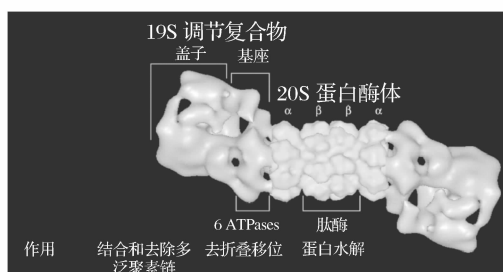


图 2 26S 蛋白酶体的组成

20S 蛋白酶体是由 4 个并列的环状中空圆柱状颗粒构成,包括两端分别由 7 个不同的 α 亚基($\alpha_1 - \alpha_7$)构成的 α 环和中间分别由 7 个不同的 β 亚基($\beta_1 - \beta_7$)构成的 β 环。中央为贯穿整个颗粒的孔道,颗粒内部有 3 个大的空腔,中间较大的空腔是水解反应发生的场所。每个 β 环都含有 3 个不同的蛋白水解活性位点,面向圆柱的内部空腔。因此在 20S 蛋白酶体的 2 个 β 环上共有 6 个活性位点,位于 2 个 β_5 亚基上的位点被称为“糜蛋白酶样(CT-L)位点”,倾向于在疏水性残基后裂解底物;位于 2 个 β_2 亚基上的位点被称为“胰蛋白酶样(T-L)位点”,倾向于在碱性残基后裂解底物;位于 2 个 β_1 亚基上的位点则称作“半胱天冬酶样位点”,倾向于在酸性残基后裂解底物^[4](图 3)。

1.3 E1、E2 和 E3 酶

蛋白的泛素化是蛋白降解的关键步骤,由 E1、E2 和 E3 酶共同完成,是一个蛋白级联反应,在内质网膜的胞质侧完成。E1 水解 ATP,形成一个高能硫酯键,将 E1 上活化的半胱氨酸位点与泛素上 76 位 Gly 的羧基端结合,激活泛素。激活的泛素随后被转移至 E2 表面。E2 与 E3 共同将泛素连接于底物蛋白的赖氨酸残基。在大多数情况下, E3 是一个底物连接因子,将底物蛋白与 E2 相联接,有利于底物的泛素化。在完成一系列的泛素化反应后,底物蛋白上形成泛素链,被蛋白酶体上的 19S 亚单位识别,进而被蛋白酶体降解^[5]。另外,少数底物-E3 复合物需要 E4 酶的帮助,以延长泛素链^[6]。

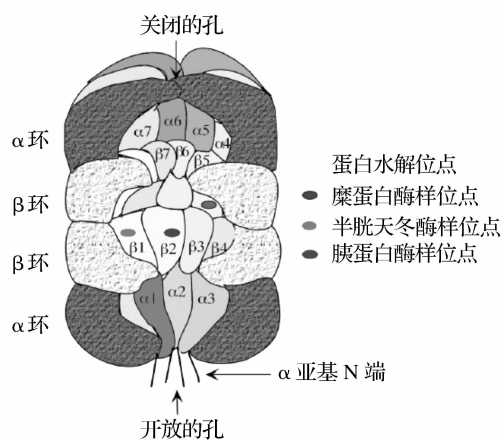


图 3 20S 蛋白酶体的结构

2 泛素-蛋白酶体通路的生理作用以及与疾病的关系

2.1 泛素-蛋白酶体通路的生理作用

泛素-蛋白酶体系统在体内发挥重要作用:(1)使非活性的蛋白前体经降解加工成活性蛋白,如转录因子 NF- κ B 的活化^[7];(2)将积蓄的蛋白降解以保持体内蛋白平衡,特别是细胞信号转导途径中多种调节蛋白的活化和降解,控制着细胞的分化、生长、凋亡等过程^[8];(3)选择性去除突变、损伤或错误折叠的蛋白^[9]。

2.2 泛素-蛋白酶体通路与恶性肿瘤

泛素-蛋白酶体通路主要通过以下多种途径对恶性肿瘤产生影响:(1)细胞的增殖需要周期蛋白进行调控,在细胞周期的不同阶段依赖特异的周期蛋白,而不需要的周期蛋白被及时降解,他们正是蛋白酶体的底物。(2)NF- κ B 转录因子与肿瘤发生、生长、转移和放疗抵抗密切相关。正常状态下,NF- κ B 与其抑制蛋白 I κ B 在细胞质中结合,以无活性的复合物形式存在,当蛋白酶体水解 I κ B 后,便会释放出具有活性的 NF- κ B。(3)p53 肿瘤抑制因子在正常细胞中低水平表达,能很快被蛋白酶体降解,抑制后者能提高 p53 的表达水平^[10]。

2.3 泛素-蛋白酶体通路与神经退行性疾病

异常蛋白质的积聚可能是神经退行性疾病的共同病理机制。阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿舞蹈病、马-约病、人类朊蛋白病和肌萎缩侧索硬化等均有异常蛋白的集聚和沉积。许多研究表明,泛素-蛋白酶体通路的异常可能是导致神经退行性疾病的主要原因^[11]。因此,蛋白酶体激动剂能改善神经退行性疾病,有望成为抗衰老治疗药物,例如蛋白酶体激动

剂 PA28 对亨廷顿舞蹈病神经元模型细胞具有保护作用^[12]。

2.4 泛素-蛋白酶体通路与炎症反应

近来的研究显示^[13],在许多风湿性疾病,如系统性红斑狼疮、多发性肌炎、皮肌炎、干燥综合征、硬皮病、类风湿性关节炎等,血清中蛋白酶体的浓度明显升高,显示了泛素-蛋白酶体通路与炎症的密切关系。

2.5 泛素-蛋白酶体通路与其他疾病

蛋白酶体还与糖尿病^[14]、心功能不全^[15]、白血病^[16]、动脉粥样硬化^[17]、病毒感染^[18]等密切相关,限于篇幅不再赘述。

3 蛋白酶体抑制剂

目前的蛋白酶体抑制剂主要分为 2 大类,共价结合和非共价结合的抑制剂。前者主要与蛋白酶体 Thr1 的 γ -O 形成共价键使蛋白酶体失活,这类抑制剂分子中通常都含有一个亲电中心,能接受 γ -O 的亲核进攻。非共价结合抑制剂目前研究较少,其主要机制是依靠抑制剂与蛋白酶体的氢键和疏水键作用与底物竞争结合活性位点。

3.1 蛋白酶体的水解机制

蛋白酶体的催化残基为苏氨酸,因此被称为苏氨酸蛋白酶,但是催化机制与丝氨酸蛋白酶和半胱氨酸蛋白酶相似。首先,蛋白酶体的 Thr-OH 进攻底物剪切键,形成四面体过渡态,其 α -NH₂ 代替丝氨酸蛋白酶中 His 的咪唑基作为质子受体;然后分解出酰化酶和水解产物之一;最后酰化酶再水解释放出另一水解产物和游离的蛋白酶体。虽然没有分离到酰化蛋白酶体的中间体,但是 X 射线晶体衍射结果证明了催化位点的羟基确实被抑制剂所酰化^[19]。

3.2 肽醛类抑制剂

肽醛类抑制剂是第 1 类蛋白酶体抑制剂。通过分子中的醛基与蛋白酶体活性中心的苏氨酸羟基形成可逆的半缩醛结构,从而抑制蛋白酶体的水解活性。这类抑制剂的缺点是能在细胞中迅速被氧化成没有活性的酸,然后被多药耐药系统载体转运出细胞。在早期研究中使用的 ALLN (Ac-Leu-Leu-Nle-H, **1**) 最初是一个钙激活蛋白酶抑制剂。后来还合成了许多其他的肽醛类抑制剂,但是只有少数的化合物得到广泛的应用。MG132 (Z-Leu-Leu-Leu-al, **2**) 的活性与 ALLN 相当,但选择性更好,现在广泛用作药理实验的阳性对照药。另一个增加活性的方法

是在醛基的 α 位加入一个酮羰基,生成乙二醛结构。一些三肽长度的乙二醛化合物是非常好的蛋白酶体抑制剂,比如化合物 **3**,其 K_i 值达到 $3 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[20]。

最近, Hines 等^[21]报道 fellutamide B (**4**) 可以通过抑制蛋白酶体的方式诱导神经生长因子分泌。Vivier 等^[22]在 MG132 的基础上,引入 *N*-(2-二乙氨基乙基)苯酰胺载体,增加了对肿瘤细胞的靶向作用,并得到活性很强的化合物 **5**, IC_{50} 值为 $(0.18 \pm 0.16) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3.3 α -酮酰胺类抑制剂

由于存在高反应活性的醛基,肽醛类化合物缺乏特异性且很不稳定。为了克服这一不足,研究人员研发了一些“非反应活性”的肽类抑制剂。其中, α -酮羰酰类化合物 **6** 的活性与相应的醛类化合物相近^[23]。CVT-600 (**7**) 是一种茈萘酮二肽苄胺抑制剂,在体外和体内对于蛋白酶体的 CT-L 活性具有很好的抑制作用^[24],它们均不抑制蛋白酶体的其他活性位点。

3.4 肽硼酸酯类抑制剂

肽硼酸酯类化合物是一类活性更高的蛋白酶体抑制剂。MG132 的硼酸酯类似物 MG262 (**8**),活性比肽醛类化合物高 100 倍, K_i 值达到 $18 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。一些二肽硼酸酯的 K_i 值也 $< 1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。这类化合物的抑制机制与肽醛类化合物类似,通过分子中的硼酸药效团与 Thr1 的侧链羟基反应生成四面体加成物。但是由于硼氧键比半缩醛中的碳氧键更加稳定,因此硼酸酯加成物的解离速率比肽醛类加成物的解离速率慢得多,虽然它们也归于可逆性抑制剂,但是实际上可以视为不可逆抑制剂。

目前唯一已经上市的蛋白酶体抑制剂波替单抗(硼替佐米, bortezomib, Velcade, PS341, **9**) 主要用于治疗多发性骨髓瘤。它在体内可以引起肿瘤细胞凋亡,并增加肿瘤细胞对放疗和化疗的敏感性^[25]。

CEP-18770 (**10**) 是一种新型的口服有效的硼酸类抑制剂,通过下调 NF- κ B 的活性诱导细胞凋亡,对多种实体瘤、血液肿瘤细胞具有极强的抗增殖活性^[26]。

3.5 肽乙烯砜类和肽乙烯酯类

这 2 类化合物的抑制机制是分子中的双键与蛋白酶体活性中心的苏氨酸羟基反应生成共价加成产物。该机制被 20S 蛋白酶体和乙烯砜类化合物的 X 射线晶体结构证实^[27]。最新报道的一系列乙烯砜类化合物以 PSI [Z-Ile-Glu(Ot-Bu)-Ala-Leu-al] 作为

起始的母体结构,在 C 端引入乙烯基砜,通过数轮化合物合成,得到 P2、P3 和 P4 位优化的产物 **11**,其对 CT-L 活性的 IC_{50} 值为 $1.1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$,对另外 2 个活性位点的 IC_{50} 值均大于 $450 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,具有良好的亚基选择性^[28]。Marastoni 等^[29]报道的化合物 **12** 对 CT-L 活性的 IC_{50} 值为 $33 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$,对另外 2 个活性位点的 IC_{50} 值都 $>10 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,也表现出良好的亚基间选择性。本课题组合成了一系列 P1 位优化的肽乙酰胺类抑制剂,并测试了对 4 种肿瘤细胞的抗增殖活性^[30]。

Groll 等^[31]报道,引起植物枯萎的丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*)可以分泌一种环肽结构的天然产物 syringolin A (SylA, **13**),该产物能与真核细胞中蛋白酶体的 3 种催化亚基可逆共价结合,从而抑制蛋白酶体活性。随后培养的共晶结构确定了这一结合方式,正是与乙烯砜类和乙烯酯的作用方式一致。

3.6 环氧酮类化合物

Eponemycin (**14**) 是由多种放线菌产生的环氧酮类化合物,这些化合物都有潜在的抗癌活性,而且它们在细胞内的靶点就是蛋白酶体。与其他的蛋白酶体抑制剂不同的是,此类化合物对蛋白酶体的抑制是特异性的,不抑制蛋白酶体以外的其他蛋白酶,这是由其特殊的抑制机制决定的(图 4):首先 Thr1 的羟基攻击 epoxomycin 的羰基,然后 Thr1 的氨基进攻环氧环,并开环形成吗啉环。该机制被 epoxomycin 与酵母 20S 蛋白酶体晶体复合物的 X 射线衍射结果所证实^[32]。半胱氨酸和丝氨酸蛋白酶不可能发生这样的反应,因为在它们的结构中,亲核基团附近没有游离氨基存在。

另外还合成了化合物 YU-101 (**15**) 和 YU-102

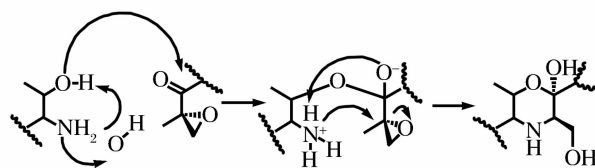


图 4 环氧酮的特殊抑制机制

(**16**),前者是一种选择性的 CT-L 活性抑制剂,后者则选择性抑制肽-谷氨酸肽水解酶(PGPH)活性^[33]。Demo 等^[34]在 YU-101 的基础上合成了 PR-171 (carfilzomib, **17**),相比之下,后者的水溶性提高了 1 000 倍以上,使体内应用得以实现,与硼替佐米活性相当(IC_{50} 为 $5.7 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$),对蛋白酶体 CT-L 亚基选择性超过 600 倍。Zhou 等^[35]进一步改造,得到可以口服使用的 PR-047 (**18**),虽然活性略有降低(IC_{50} 为 $55 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$),但是绝对生物利用度可达 39%,而且重复口服给药可以抑制多种组织内 $>80\%$ 的蛋白酶体活性。

3.7 β -内酯类和茶多酚类

Streptomyces 的代谢产物 lactacystin^[36] (**19**) 是一种高度特异的蛋白酶体可逆性抑制剂。Lactacystin 发挥活性的机制是:首先去除 N-乙酰半胱氨酸,它在生理浓度下就可以抑制蛋白酶体的活性,这表明在体内蛋白酶体是主要作用靶点。经 Jurkat T 细胞转化为活性中间体 β -内酯 omuralide (**20**)。然后蛋白酶体的 Thr1 对 β -内酯的羰基进行亲核进攻,同时打开 β -内酯环。PS-519 (**21**) 是较早进入临床的另一个抑制剂,因其具有抗炎活性而用于急性中风的治理^[37]。

此外,仅保留 β -内酯药效基团的抑制剂 homobelactosin C (**22**) 也具有纳摩尔水平的抑制活性^[38]。

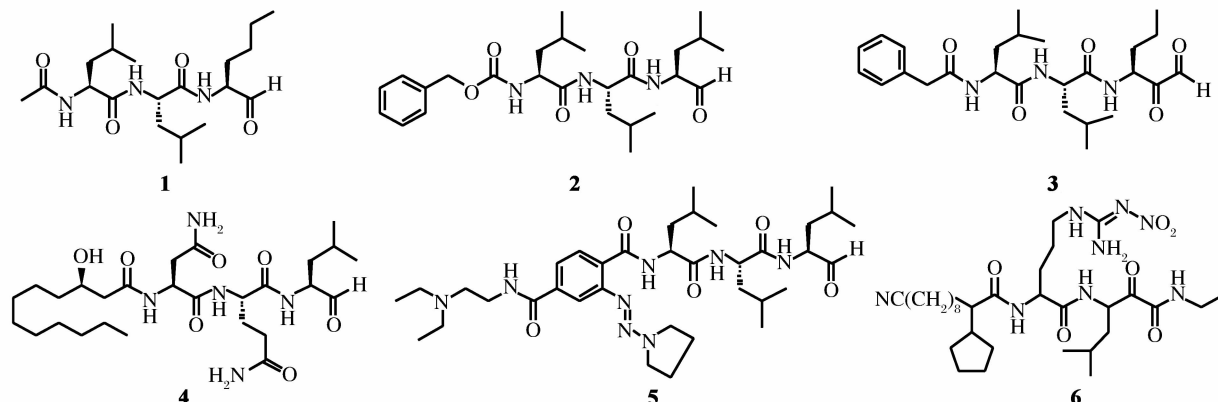


图 5 典型蛋白酶体抑制剂的化学结构

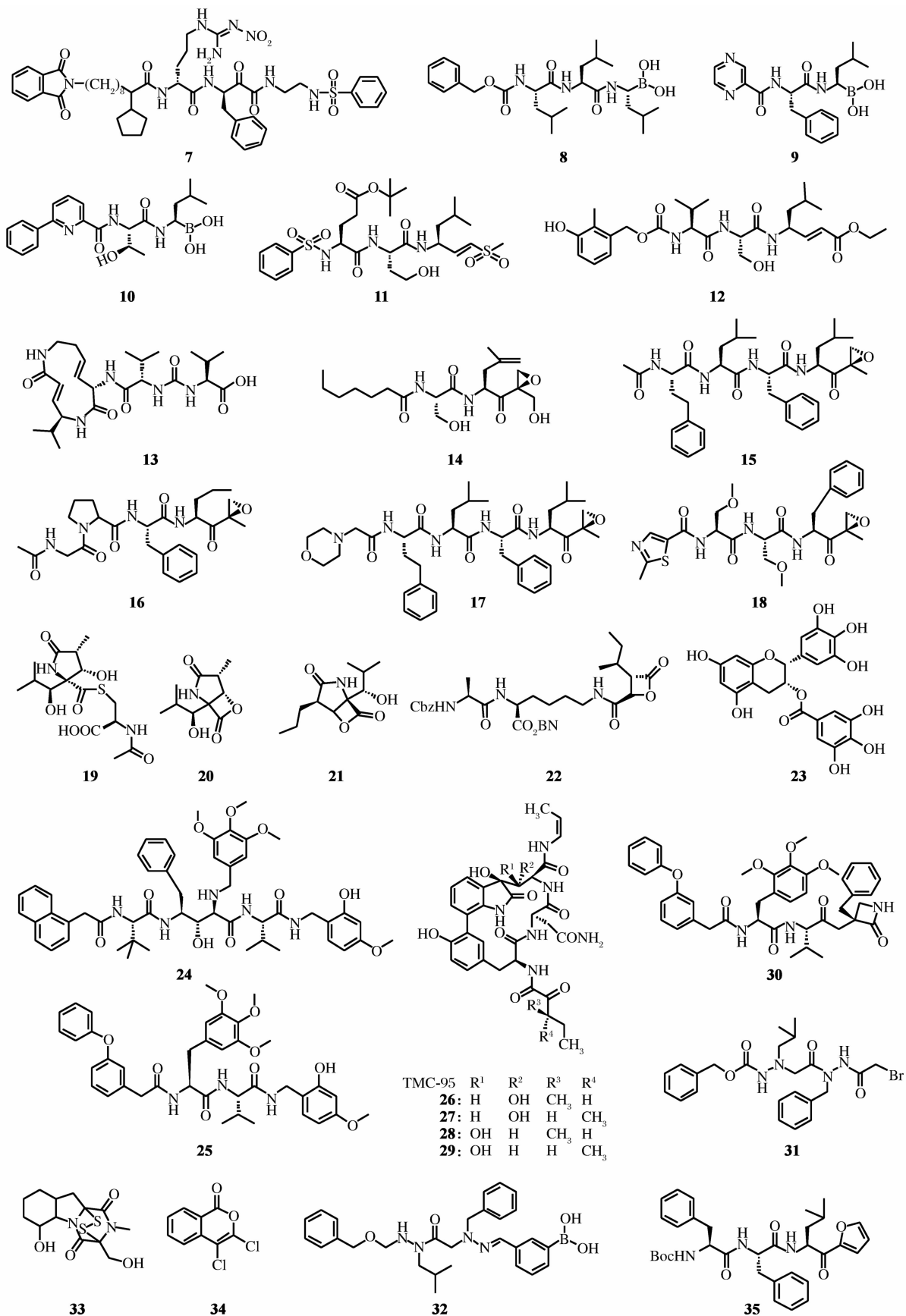


图 5 (续图) 典型蛋白酶抑制剂的化学结构

茶多酚类化合物具有预防癌症的活性。现已发现(-)-EGCG(**23**)有潜在的抑制蛋白酶体 CT-L 的活性,其抑制方式是时间依赖性的,且可逆;体外抑酶活性研究发现,这些化合物没有蛋白酶体亚基间的选择性^[36]。Huo 等^[39]报道了 EGCG 及其类似物的半合成。

3.8 非共价结合的抑制剂

这类抑制剂与以上几类抑制剂不同,不是和蛋白酶体的活性位点发生可逆或不可逆共价作用,而是与活性位点周围的特异性口袋发生微弱的非共价作用,如氢键、疏水作用、静电引力、范德华力等。目前主要包括以下 2 个系列:

3.8.1 以 2-氨基苄基 statine 结构为母核的拟肽类化合物 这类化合物通过堆积/疏水作用与 20S 蛋白酶体的 CT-L 活性位点周围的口袋发生作用。随后,同一研究组又设计了类似的化合物,主要为了降低化合物的相对分子质量,最后得到化合物 **24** 以及化合物 **25**^[40],均能在纳摩尔级浓度水平抑制蛋白酶体的活性。

3.8.2 环肽类化合物 TMC-95 A-D(**26-29**)是一系列由 *Apiospora montagnei* 产生的代谢产物,由经过修饰的氨基酸残基组成环状系统,它们是蛋白酶体的可逆性抑制剂^[41]。TMC-95A(**26**)可以在纳摩尔级抑制 CT-L 的活性。它同样可以抑制 T-L 和 PGPH 活性,但是对各种丝氨酸和半胱氨酸蛋白酶没有抑制活性。X 射线晶体衍射的结果表明,TMC-95A 与蛋白酶体的结合是一种非共价的结合模式,主要依靠小分子与蛋白主链间的氢键作用^[42]。

3.9 其他类型的抑制剂

其他类型的抑制剂包括 β -内酰胺(**30**)^[43]、卤甲基酮类化合物(**31**)、偶氮肽类化合物 PI-46(**32**)^[44]、gliotoxin(**33**)、3,4-二氯香豆素(**34**)以及本课题组报道的环氧酮类化合物(**35**)^[45]。

4 结语

虽然目前抗肿瘤药物很多,但是尚无一种令人满意的高效低毒品种。蛋白酶体抑制剂的出现,使得肿瘤的治疗又增加了一种途径。

2005 年 10 月 12 日美国 FDA 批准了第 1 个蛋白酶体抑制剂硼替佐米,用于治疗多发性骨髓瘤。该药已经在全世界 46 个国家上市,包括中国。这大大地鼓舞了对蛋白酶体的研究。现在已经出现多种类型的蛋白酶体抑制剂,然而上市的药物只有一个,蛋

白酶体的研究充满了机遇和挑战。

参 考 文 献

- [1] Tanaka K, Yoshimura T, Kumatori A, *et al.* Proteasomes(multi-protease complexes) as 20S ring-shaped particles in a variety of eukaryotic cells[J]. *J Biol Chem*, 1988, 263(31):16209 - 16217.
- [2] Kisselev AF, Goldberg AL. Proteasome inhibitors; from research tools to drug candidates[J]. *Chem Biol*, 2001, 8(8):739 - 758.
- [3] Yang YL, Kitagaki J, Wang HH, *et al.* Targeting the ubiquitin-proteasome system for cancer therapy[J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(1):24 - 28.
- [4] Groll M, Huber R, Moroder L. The persisting challenge of selective and specific proteasome inhibition[J]. *J Pept Sci*, 2009, 15(2):58 - 66.
- [5] Meiners S, Ludwig A, Stangl V, *et al.* Proteasome inhibitors: poisons and remedies[J]. *Med Res Rev*, 2008, 28(2):309 - 327.
- [6] Koegl M, Hoppe T, Schlenker S, *et al.* A novel ubiquitination factor, E4, is involved in ubiquitin chain assembly[J]. *Cell*, 1999, 96(5):635 - 644.
- [7] Karin M, Cao Y, Greten FR, *et al.* NF- κ B in cancer: from innocent bystander to major culprit[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(4):301 - 310.
- [8] King RW, Deshaies RJ, Peters JM, *et al.* How proteolysis drives the cell cycle[J]. *Science*, 1996, 274(5293):1652 - 1659.
- [9] Schubert U, Antón LC, Gibbs J, *et al.* Rapid degradation of a large fraction of newly synthesized proteins by proteasomes[J]. *Nature*, 2000, 404(6779):770 - 774.
- [10] Adams J. The development of proteasome inhibitors as anticancer drugs[J]. *Cancer Cell*, 2004, 5(5):417 - 421.
- [11] McNaught KS, Olanow CW, Halliwell B, *et al.* Failure of the ubiquitin-proteasome system in Parkinson's disease[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2001, 2(8):589 - 594.
- [12] Huang L, Chen CH. Proteasome regulators; activators and inhibitors[J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(8):931 - 939.
- [13] Mountz JD. Significance of increased circulating proteasome in autoimmune disease[J]. *J Rheumatol*, 2002, 29(10):2045 - 2052.
- [14] Hartley T, Brumell J, Volchuk A. Emerging roles for the ubiquitin-proteasome system and autophagy in pancreatic beta-cells [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 296(1):E1 - E10.
- [15] Mearini G, Schlossarek S, Willis MS, *et al.* The ubiquitin-proteasome system in cardiac dysfunction [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1782(12):749 - 763.
- [16] McCloskey SM, McMullin MF, Walker B, *et al.* The therapeutic potential of the proteasome in leukemia[J]. *Hematol Oncol*, 2008, 26(2):73 - 81.
- [17] Herrmann J, Soares SM, Lerman LO, *et al.* Potential role of the

- ubiquitin-proteasome system in atherosclerosis [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51(21):2003 – 2010.
- [18] Boname JM, Lehner PJ. Interactions between viruses and the ubiquitin-proteasome system [J]. *Protein Degrad*, 2008, 4: 145 – 168.
- [19] Seemüller E, Lupas A, Stock D, *et al.* Proteasome from *Thermoplasma acidophilum* – a threonine protease [J]. *Science*, 1995, 268(5210):579 – 582.
- [20] Lynas JF, Harriott P, Healy A, *et al.* Inhibitors of the chymotrypsin-like activity of proteasome based on di- and tri-peptidyl α -keto aldehydes (glyoxals) [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1998, 8(4):373 – 378.
- [21] Hines J, Groll M, Fahnestock M, *et al.* Proteasome inhibition by fellutamide B induces nerve growth factor synthesis [J]. *Chem Biol*, 2008, 15(5):501 – 512.
- [22] Vivier M, Rapp M, Papon J, *et al.* Synthesis, radiosynthesis, and biological evaluation of new proteasome inhibitors in a tumor targeting approach [J]. *J Med Chem*, 2008, 51(4):1043 – 1047.
- [23] Iqbal M, Chatterjee S, Kauer JC, *et al.* Potent α -ketocarboxyl and boronic ester derived inhibitors of proteasome [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1996, 6(3):287 – 290.
- [24] Lum RT, Nelson MG, Joly A, *et al.* Selective inhibition of the chymotrypsin-like activity of the 20S proteasome by 5-methoxy-1-indanone dipeptide benzamides [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1998, 8(3):209 – 214.
- [25] Papandreou CN, Logothetis CJ. Bortezomib as a potential treatment for prostate cancer [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(15):5036 – 5043.
- [26] Piva R, Ruggeri B, Williams M, *et al.* CEP-18770: A novel, orally active proteasome inhibitor with a tumor-selective pharmacologic profile competitive with bortezomib [J]. *Blood*, 2008, 111(5):2765 – 2775.
- [27] Groll M, Nazif T, Huber R, *et al.* Probing structural determinants distal to the site of hydrolysis that control substrate specificity of the 20S proteasome [J]. *Chem Biol*, 2002, 9(5):655 – 622.
- [28] Rydzewski RM, Burrill L, Mendonca R, *et al.* Optimization of subsite binding to the β 5 subunit of the human 20S proteasome using vinyl sulfone and 2-keto-1,3,4-oxadiazoles; synthesis and cellular properties of potent, selective proteasome inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2006, 49(10):2953 – 2968.
- [29] Marastoni M, Baldisserotto A, Cellini S, *et al.* Peptidyl vinyl ester derivatives; new class of selective inhibitors of proteasome trypsin-like activity [J]. *J Med Chem*, 2005, 48(15):5038 – 5042.
- [30] Mou K, Xu B, Ma C, *et al.* Novel CADD-based peptidyl vinyl ester derivatives as potential proteasome inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(6):2198 – 2202.
- [31] Groll M, Schellenberg B, Bachmann AS, *et al.* A plant pathogen virulence factor inhibits the eukaryotic proteasome by a novel mechanism [J]. *Nature*, 2008, 452(7188):755 – 758.
- [32] Groll M, Kim KB, Kairies N, *et al.* Crystal structure of epoxomicin; 20S proteasome reveals a molecular basis for selectivity of α' , β' -epoxyketone proteasome inhibitors [J]. *J Am Chem Soc*, 2000, 122(6):1237 – 1238.
- [33] Elfsson M, Splittgerber U, Myung J, *et al.* Towards subunit-specific proteasome inhibitors; synthesis and evaluation of peptide α' , β' -epoxyketones [J]. *Chem Biol*, 1999, 6(11):811 – 822.
- [34] Demo SD, Kirk CJ, Aujay MA, *et al.* Antitumor activity of PR-171, a novel irreversible inhibitor of the proteasome [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(13):6383 – 6391.
- [35] Zhou HJ, Aujay MA, Bennett MK, *et al.* Design and synthesis of an orally bioavailable and selective peptide epoxyketone proteasome inhibitor (PR-047) [J]. *J Med Chem*, 2009, 52(9):3028 – 3038.
- [36] Ooi H, Ishibashi N, Iwabuchi Y, *et al.* A concise route to (+)-lactacystin [J]. *J Org Chem*, 2004, 69(22):7765 – 7768.
- [37] Elliott PJ, Zollner TM, Boehncke WH. Proteasome inhibition; a new anti-inflammatory strategy [J]. *J Mol Med*, 2003, 81(4):235 – 245.
- [38] Groll M, Larionov OV, Huber R, *et al.* Inhibitor-binding mode of homobelactosin C to proteasomes; new insights into class I MHC ligand generation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(12):4576 – 4579.
- [39] Huo CD, Shi GQ, Lam WH, *et al.* Semi-synthesis and proteasome inhibition of D-ring deoxy analogs of (–)-epigallocatechin gallate (EGCG), the active ingredient of green tea extract [J]. *Can J Chem*, 2008, 86(6):495 – 502.
- [40] Furet P, Imbach P, Noorani M, *et al.* Entry into a new class of potent proteasome inhibitors having high antiproliferative activity by structure-based design [J]. *J Med Chem*, 2004, 47(20):4810 – 4813.
- [41] Tsukamoto S, Yokosawa H. Natural products inhibiting the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway, a target for drug development [J]. *Curr Med Chem*, 2006, 13(7):745 – 754.
- [42] Basse N, Piguel S, Papapostolou D, *et al.* Linear TMC-95-based proteasome inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2007, 50(12):2842 – 2850.
- [43] Imbach P, Lang M, García-Echeverría C, *et al.* Novel β -lactam derivatives; potent and selective inhibitors of the chymotrypsin-like activity of the human 20S proteasome [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(2):358 – 362.
- [44] Aubin S, Martin B, Delcros JG, *et al.* Retro hydrazine-azapeptoids as peptidomimetics of proteasome inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2005, 48(1):330 – 334.
- [45] Fu YQ, Xu B, Zou XM, *et al.* Design and synthesis of a novel class of furan – based molecules as potential 20S proteasome inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(4):1102 – 1106.