·综 述·

5- 硝基呋喃类抗生素用于抗肿瘤治疗的研究进展

张凌凡[1]，丁子文[1]，冯静怡[2]，张 松[2]，张婧妍[2]，王俊龙[2]，倪 娜[1*]
（1. 中国医药工业研究总院药物临床研究中心，上海 200437；2. 上海瀛科隆医药开发有限公司，上海 200437）

摘要：5- 硝基呋喃类抗生素用于抗感染治疗的临床应用已有 60 多年的历史，近年来有研究发现，其在抗肿瘤治疗领域中有新的作用靶点和作用机制，且应用于抗肿瘤治疗中具有一定的临床效力。该文主要对近年来 5- 硝基呋喃类抗生素作为老药新用被应用于抗肿瘤治疗中的临床研究进展作一综述，以期为抗肿瘤治疗提供一定参考。

关键词：5-硝基呋喃类抗生素；乙醛脱氢酶抑制；抗肿瘤治疗
中图分类号：R730.5 **文献标志码**：A **文章编号**：1672-9188（2022）04-0476-04
DOI：10.13683/j.wph.2022.04.020

Research progress of 5-nitrofuran antibiotics in tumor treatment

ZHANG Lingfan[1], DING Ziwen[1], FENG Jingyi[2], ZHANG Song[2], ZHANG Jingyan[2], WANG Junlong[2], NI Na[1*]
(*1. Clinical Research Center, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200437, China;*
2. Shanghai Clinical Research Organization for Medicines, Shanghai 200437, China)

Abstract: 5-nitrofuran antibiotics have been used for anti-infection therapy for more than 60 years. In recent years, new targets and mechanisms of action of 5-nitrofuran antibiotics have been discovered in the field of anti-tumor therapy, so they have been applied to related research on anti-tumor therapy and proved to have a certain curative effect. This paper mainly reviewed the clinical research progress of 5-nitrofuran antibiotics, which used as old drugs in anti-tumor in recent years, in order to provide reference for the clinical treatment of tumors.

Key words: 5-nitrofuran antibiotics; acetaldehyde dehydrogenase inhibition; tumor treatment

抗肿瘤新药的研发及推广是一个漫长的过程，研发费用高、周期长，其临床疗效、安全性评估、耐药性及多种药物间的相互作用分析等均需做大量的基础和临床研究。因此，老药新用成为抗肿瘤治疗继创新药物研制的备选方案之一，且加快了药物的研发进程，增加研发效率的同时也延长了老药的生命周期，在一定程度上缩短了药物的发展历程。

5- 硝基呋喃作为一种前药，需经过硝基转移酶激活后，分别由偶氮还原酶和硝基还原酶催化硝基还原。偶氮还原反应产生稳定的代谢物，这些代谢物能够与细胞蛋白质共价结合发挥抗菌作用。60 多年来，5- 硝基呋喃一直被应用于细菌和锥虫感染所致的人兽共患病的治疗中[1]。但研究发现 5- 硝基呋喃类抗生素还可能是有效的抗肿瘤药物。Zhu 等[2] 发现，作为信号传导和转录激活蛋白（signal transducer and activator of transcription，STAT）3 抑制剂，5- 硝基呋喃类抗生素对恶性肿瘤细胞具有显著的生物学效力。研究人员随即探究硝基呋喃类抗生素在肿瘤治疗中的潜在作用，Sarvi 等[3] 发现乙醛脱氢酶（acetaldehyde dehydrogenase，ALDH）1 是包括硝呋嗪（nifuratine）和硝呋莫司（nifurtimox）在内的 5- 硝基呋喃类抗生素的选择性作用靶点，其能够抑制表达 ALDH1 的肿瘤细胞生长，在神经母细胞瘤和黑色素瘤中也表现出抗肿瘤活性。这一发现为后续研究和正在进行的临床研究提供了更多研究思路。本

收稿日期：2020-12-03
作者简介：张凌凡，硕士研究生，研究方向：临床药学。
通信作者：倪娜，副研究员，研究方向：临床药学。

文主要对近年来硝呋噻和硝呋莫司两个 5- 硝基呋喃类抗生素在抗肿瘤治疗中的研究进展作一概述，以期为肿瘤的临床治疗提供新的有效且经济的备选方案。

1 作用机制

5- 硝基呋喃类抗生素是具有抗肿瘤治疗潜力的前体药物。有研究显示，5- 硝基呋喃可被 ALDH 激活，而 ALDH 是在肿瘤干细胞亚群中高度表达的一类蛋白 [4]。相对于 ALDH1 低表达的细胞来说，ALDH1 高表达的细胞具有更强的致癌力，因此，ALDH1 是多种恶性肿瘤干细胞的标志物，其高表达是区分正常干细胞和恶性肿瘤干细胞的有力标志 [5]，在肿瘤的增殖侵袭中具有重要作用。常规黑色素瘤 (melanoma) 化疗，若使用 v-Raf 鼠科肉瘤病毒癌基因同源物 B1 (v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1，*BRAF*) 基因抑制剂治疗黑色素瘤，患者的肿瘤病灶和体外培养的黑色素瘤细胞系 ALDH1 高表达的细胞百分比增加，提示 *BRAF* 基因抑制剂可能会造成肿瘤干细胞的比例增加 [3,6-7]。相反，有研究发现，使用硝呋噻治疗黑色素瘤后，体外培养的黑色素瘤细胞系 ALDH1 高表达的细胞出现耗竭，肿瘤细胞系存活能力变差 [8]。提示硝呋噻等 5- 硝基呋喃类抗生素可能通过破坏 ALDH1 高表达的肿瘤细胞而发挥抗肿瘤作用。

ALDH 抑制作为一种抑制肿瘤干细胞活性的手段，在临床前研究中，抑制 ALDH 活性的化合物和抑制 ALDH1 转录的化合物，均已被证明可有效降低肿瘤干细胞的活性 [9]，然而 ALDH 抑制抗肿瘤效应持续时间短，无法长期作用于 ALDH 高表达的细胞系。与 ALDH 抑制不同，硝呋噻具有独特的双重前药机制，即被 ALDH1 激活的同时产生细胞毒性，致使其灭活，还抑制恶性肿瘤细胞中的 ALDH1 表达，且可杀灭其黑色素瘤细胞 [10]。提示 5- 硝基呋喃类抗生素可能通过使肿瘤干细胞减少而达到更持久的抗肿瘤效果。

2 抗肿瘤研发进展

目前，对 5- 硝基呋喃类抗生素的临床研究主要集中于硝呋噻和硝呋莫司两种药物，故本文主要介绍近年来两者的抗肿瘤研发进展。

硝呋噻作为一种广谱抗菌药，自 1966 年被发现以来一直被用于感染性腹泻的治疗。2008 年发现硝呋噻对 STAT3 具有显著抑制作用，故开始研究其潜在的抗肿瘤作用 [11]。大量研究结果表明，硝呋噻可诱导肿瘤细胞凋亡，亦可抑制肿瘤细胞生长 [8]；硝呋噻被发现是 ALDH1 的有效抑制剂，可选择性地杀灭 ALDH 高表达的肿瘤细胞 [10,12]。这两个里程碑式的发现有力地支持了硝呋噻具有作为靶向抗肿瘤药物的潜力。后经多项研究证实硝呋噻对于黑色素瘤、多发性骨髓瘤 (multiple myeloma)、结肠癌 (colon cancer) 和乳腺癌 (breast cancer) 等多种肿瘤均有良好的抗肿瘤活性 [13]。

2015 年，研究发现 STAT3 在黑色素瘤中起着重要的作用，并证实其是黑色素瘤治疗的理想靶点 [2,11]。该项研究中，硝呋噻被证实是 *STAT3* 基因表达的抑制剂。随后发现硝呋噻对多种黑色素瘤细胞株具有较强的抗增殖活性，可诱导细胞 G2/M 期阻滞和凋亡 [14-17]。此外，硝呋噻可通过下调磷酸化 Src 家族的蛋白酪氨酸激酶、磷酸化局部黏着斑激酶 (focal adhesion kinase，FAK)、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase，MMP)、MMP-9 和波形蛋白的表达，显著抑制黑色素瘤细胞的侵袭和迁移 [18-20]。在 A375 荷瘤小鼠的动物模型试验中，硝呋噻通过诱导细胞凋亡、减少细胞增殖、侵袭和迁移，显著抑制黑色素瘤生长，且无明显不良反应 [14]。上述研究结果表明，硝呋噻可抑制黑色素瘤的生长和转移。

目前将硝呋噻及其具有抗肿瘤特性的类似物用于抗肿瘤治疗，已在多项研究中开展，作为硝呋噻类似物的其他硝基呋喃衍生物硝呋莫司也同样具有抗肿瘤特性。硝呋莫司自 20 世纪 70 年代以来被用于治疗人类非洲锥虫病和恰加斯病（一种由克氏锥虫引起的寄生虫感染）。该药物通过还原成硝基阴离子自由基及过氧化氢和超氧化物自由基而发挥作用，寄生虫对该药的解毒能力较差 [21]。该药物被证明在体内外均能抑制肿瘤细胞的生长，并能用于儿科肿瘤的治疗。硝呋莫司的抗肿瘤作用表现在，可诱导神经母细胞瘤细胞中的葡萄糖代谢，将其产能方式从产乳

酸的糖酵解向氧化磷酸化转变，减少肿瘤细胞的能量获取，并降低 8 号染色体上 *N-myc* 基因的表达[22]。另有研究表明，硝呋莫司对神经肿瘤细胞具有抑制其生物活性的作用，尤其与 γ- 谷氨酰半胱氨酸合成酶抑制剂、丁硫氨酸磺酰亚胺联合使用时效果显著[23]。硝呋莫司还可在缺氧条件下抑制肿瘤细胞的生长。临床研究表明，硝呋莫司对儿童复发性神经母细胞瘤具有较好的治疗作用[1,21]。

3 用于抗肿瘤治疗的临床研究

2006 年，一项硝呋莫司治疗复发性难治性神经母细胞瘤患者的研究中，共纳入 14 例复发性难治性神经母细胞瘤患者。其中男性 9 例，女性 5 例，所有患者均曾接受过化学治疗。患者被分配至 3 个剂量递增的试验组，其中 20 mg/kg·d 组 3 例，30 mg/kg·d 组 6 例，40 mg/kg·d 组 5 例。14 例患者均完成了第 1 周期的研究，并进行了疗效评估。根据实体肿瘤的疗效评价标准（response evaluation criteria in solid tumors，RECIST）进行疗效评价，其中 6 例患者病情稳定，8 例患者病情进展。

上述 14 例患者中有 2 例患者完成第 1 周期硝呋莫司治疗后，因血样检测中血细胞数值未恢复至正常值而退出，剩余 12 例患者继续接受硝呋莫司联合拓扑替康（topotecan）和环磷酰胺（cyclophosphamide）的治疗，2 例完成了 2 个周期，10 例完成了研究所需的硝呋莫司联合治疗的 3 个周期并进行了评估。所有 14 例患者的平均无进展生存期为 9.1 个月。根据 RECIST 标准，3 例显示部分缓解（partial response，PR），5 例疾病稳定（stable disease，SD），2 例疾病进展（progressive disease，PD）。在 5 例 SD 患者中，3 例患者出现了相同的临床治疗效果，包括神经母细胞瘤体积缩小，尿儿茶酚胺和肌酐水平降低[21]。

2009 年有研究 1 例神经母细胞瘤患者使用硝呋莫司治疗 1 个周期后，发现肿瘤体积缩小。后研究其对神经母细胞瘤的抑制过程，发现硝呋莫司对降低神经母细胞瘤的细胞活性具有浓度依赖性，同时根据细胞形态学分析和对半胱氨酸蛋白酶 -3 的激活作用分析，证实肿瘤细胞死亡主要是由硝呋莫司的肿瘤抑制作用引起的[24]。

4 用于抗肿瘤治疗的安全性研究

5- 硝基呋喃类抗生素作为已使用多年的抗生素，其安全性已得到充分证明，考虑到肿瘤患者存在免疫系统各项指标较差的问题，且肿瘤治疗需要更高的给药剂量，故在抗肿瘤治疗中，肿瘤患者的安全性也值得被关注[25]。

一项硝呋莫司治疗复发性难治性神经母细胞瘤的研究显示，在第 1 周期中与硝呋莫司相关的非剂量限制毒性（dose limting toxicity，DLT）事件包括厌食症（n = 5）和肝酶变化，其中谷丙转氨酶异常（n = 5）和谷草转氨酶异常（n = 9）是最常见的毒性反应。在 20 和 30 mg/kg·d 剂量组中仅观察到 1 级和 2 级毒性，30 mg/kg·d 剂量组最常见的不良反应是厌食症（n = 4）、运动神经病变（n = 3）和胃痛（n = 2），而在 40 mg/kg·d 剂量组下发生了两种主要 DLT 反应，包括 3 级运动神经病变和肺出血。所有剂量均可观察到运动神经病变，但在 30 和 40 mg/kg·d 剂量组中更为常见。服用硝呋莫司后，所有中枢神经病变均消失[26]。

5 结语

目前成功上市的抗肿瘤药虽具有一定的临床疗效，但治疗费用昂贵且多药耐药是肿瘤治疗失败的主要原因，故老药新用成为研究者探索肿瘤治疗新方案的重要途径[27-29]。5- 硝基呋喃类抗生素可降低多发性肿瘤细胞的生存能力，同时对非转化细胞和正常细胞的影响相对较小，具有被开发为抗肿瘤药的潜力，但因肿瘤患者常需加大治疗剂量，故其安全性和耐药性问题仍有待进一步探究。

参考文献：

[1] Zuma NH, Aucamp J, N'Da DD. An update on derivatisation and repurposing of clinical nitrofuran drugs[J]. Eur J Pharm Sci, 2019, 140: 105092.

[2] Zhu Y, Ye T, Yu X, *et al*. Nifuroxazide exerts potent anti-tumor and anti-metastasis activity in melanoma[J]. Sci Rep, 2016, 6: 20253.

[3] Sarvi S, Crispin R, Lu Y, *et al*. ALDH1 bio-activates nifuroxazide to eradicate ALDH^{High} melanoma-initiating

cells[J]. Cell Chem Biol, 2018, 25(12): 1456-1469.

[4] Stevens M, Howe C, Ray AM, *et al*. Analogs of nitrofuran antibiotics are potent GroEL/ES inhibitor pro-drugs[J]. Bioorg Med Chem, 2020, 28(22): 115710.

[5] Marcato P, Dean CA, Giacomantonio CA, *et al*. Aldehyde dehydrogenase: its role as a cancer stem cell marker comes down to the specific isoform[J]. Cell Cycle, 2011, 10(9): 1378-1384.

[6] Kreso A, Dick JE. Evolution of the cancer stem cell model[J]. Cell Stem Cell, 2014, 14(3): 275-291.

[7] Kona FR, Buac D, Burger MA. Disulfiram, and disulfiram derivatives as novel potential anticancer drugs targeting the ubiquitin-proteasome system in both preclinical and clinical studies[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2011, 11(3): 338-346.

[8] Luo Y, Dallaglio K, Chen Y, *et al*. ALDH1A isozymes are markers of human melanoma stem cells and potential therapeutic targets[J]. Stem Cells, 2012, 30(10): 2100-2113.

[9] Zhou L, Ishizaki H, Spitzer M, *et al*. ALDH2 mediates 5-nitrofuran activity in multiple species[J]. Chem Biol, 2012, 19(7): 883-892.

[10] Misra SK, Wu Z, Ostadhossein F, *et al*. Pro-nifuroxazide self-assembly leads to triggerable nanomedicine for anti-cancer therapy[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2019, 11(20): 18074-18089.

[11] Nelson EA, Walker SR, Kepich A, *et al*. Nifuroxazide inhibits survival of multiple myeloma cells by directly inhibiting STAT3[J]. Blood, 2008, 112(13): 5095-5102.

[12] Duan H, Li Y, Lim HY, *et al*. Identification of 5-nitrofuran-2-amide derivatives that induce apoptosis in triple negative breast cancer cells by activating C/EBP-homologous protein expression[J]. Bioorg Med Chem, 2015, 23(15): 4514-4521.

[13] 傅国, 李宁毅. 硝基呋喃类和硝基咪唑类药物的研究进展[J]. 青岛大学医学院学报, 2003, 39(4): 486-488.

[14] Bailly C. Toward a repositioning of the antibacterial drug nifuroxazide for cancer treatment[J]. Drug Discov Today, 2019, 24(9): 1930-1936.

[15] Ye TH, Yang FF, Zhu YX, *et al*. Correction: inhibition of STAT3 signaling pathway by nifuroxazide improves antitumor immunity and impairs colorectal carcinoma metastasis[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(10): 722.

[16] Yang F, Hu M, Lei Q, *et al*. Nifuroxazide induces apoptosis and impairs pulmonary metastasis in breast cancer model[J]. Cell Death Dis, 2015, 6(3): e1701.

[17] Loh CY, Arya A, Naema AF, *et al*. Signal transducer and activator of transcription(STATs) proteins in cancer and inflammation: functions and therapeutic implication[J]. Front Oncol, 2019, 9: 48.

[18] Zhao T, Jia H, Cheng Q, *et al*. Nifuroxazide prompts antitumor immune response of TCL-loaded DC in mice with orthotopically-implanted hepatocarcinoma[J]. Oncol Rep, 2017, 37(6): 3405-3414.

[19] Said E, Zaitone SA, Eldosoky M, *et al*. Nifuroxazide, a STAT3 inhibitor, mitigates inflammatory burden and protects against diabetes-induced nephropathy in rats[J]. Chem Biol Interact, 2018, 281: 111-120.

[20] Li Q, Lin Q, Kim H, *et al*. The anti-protozoan drug nifurtimox preferentially inhibits clonogenic tumor cells under hypoxic conditions[J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(5): 1084-1095.

[21] Saulnier Sholler GL, Kalkunte S, Greenlaw C, *et al*. Antitumor activity of nifurtimox observed in a patient with neuroblastoma[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2006, 28(10): 693-695.

[22] Cabanillas Stanchi KM, Bruchelt G, Handgretinger R, *et al*. Nifurtimox reduces *N*-Myc expression and aerobic glycolysis in neuroblastoma[J]. Cancer Biol Ther, 2015, 16(9): 1353-1363.

[23] Bartel LC, de Mecca MM, de Castro CR, *et al*. Nifurtimox induced ultrastructural and biochemical alterations in rat heart[J]. Toxicol Lett, 2006, (164): S68.

[24] Saulnier Sholler GL, Brard L, Straub JA, *et al*. Nifurtimox induces apoptosis of neuroblastoma cells *in vitro* and *in vivo*[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2009, 31(3): 187-193.

[25] Shindano A, Marot L, Geubel AP. Nifuroxazide-induced acute pancreatitis: a new side-effect for an old drug?[J]. Acta Gastroenterol Belg, 2007, 70(1): 32-33.

[26] Saulnier Sholler GL, Bergendahl GM, Brard L, *et al*. A phase 1 study of nifurtimox in patients with relapsed/refractory neuroblastoma[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2011, 33(1): 25-30.

[27] Kong E, Zhu J, Wu W, *et al*. Nifurtimox inhibits the progression of neuroblastoma *in vivo*[J]. J Cancer, 2019, 10(10): 2194-2204.

[28] Olivera MJ, Fory JA, Olivera AJ. Therapeutic drug monitoring of benznidazole and nifurtimox: a systematic review and quality assessment of published clinical practice guidelines[J]. Rev Soc Bras Med Trop, 2017, 50(6): 748-755.

[29] Peterson RT. 5-Nitrofurans and cancer: teaching an old drug new tricks[J]. Cell Chem Biol, 2018, 25(12): 1439-1440.

(编辑：史琦琪)