

从海洋中寻找酶类抑制剂

王克夷 (中国科学院上海生命科学院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031)

[摘要] 本文简要地综述了从海洋生物中发现的一些酶类的抑制剂。

[关键词] 海洋生物学; 酶类; 抑制蛋白类

[中图分类号] R 282.77 [文献标识码] A [文章编号] 0258-879X(2006)01-0001-04

Search for enzyme inhibitors from the ocean

WANG Ke-yi (Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institute for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

[ABSTRACT] Some enzyme inhibitors derived from the ocean were described briefly in this review.

[KEY WORDS] marine biology; enzymes; arrestins

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(1): 1-4]

在海洋中蕴藏着丰富的资源, 其中曾经最为人们注意的是硫酸化多糖^[1]。但是, 在海洋生物中也发现了许多酶类的抑制剂。这些抑制剂可能直接作为药物, 也可能作为一些开发新药的先导药物。

1 DNA 拓扑异构酶抑制剂

从海洋微藻——甲藻 (*Gymnodinium*) 中分离得到一种硫酸化的半乳聚糖 (GA3P)。它可以抑制人髓鞘样白血病 K562 细胞株中拓扑异构酶 I, 进而导致细胞凋亡^[2]。拓扑异构酶是在 DNA 复制和转录过程中使 DNA 双螺旋解旋所必需的, 因此, 此类酶的抑制剂长期以来被认为是癌症化学疗法中很有价值的靶分子。有学者对 8 种肿瘤的 38 个细胞株生长进行了抑制试验, 结果表明 GA3P 有中等程度的抑制作用, 故而认为 GA3P 可以作为潜在的化疗药物^[3]。

在海绵中还存在着一些其他类型的拓扑异构酶抑制剂, 但不是多糖, 而是小分子化合物。从印度尼西亚海绵 (*Plakinastrella* sp.) 中分离得到的是乙炔酸类^[4]。它是拓扑异构酶 II 抑制剂, 利用 P-388、A-549 和 MEL-28 等细胞株进行生物检定, 发现其细胞毒性 IC₅₀ 约 5 μg/ml, 浓度为 0.1 μg/ml 时可抑制拓扑异构酶 II 抑制剂, 此酶已被作为肺癌治疗的指示酶。这种乙炔酸类抑制剂已经被化学合成。在朝鲜海绵 (*Petrosia* sp.) 存在另一种环醇类化合物^[5], 是拓扑异构酶 I 抑制剂, 同时在体外对一些人实体瘤也呈现细胞毒性, 并抑制病毒 SV40 的生长。

2 蛋白酶抑制剂

在海洋中很多藻类中存在着类似于肝素的硫酸

化多糖, 能起到抗凝的作用。其中有些多糖的抗凝作用, 和肝素一样, 是通过与抗凝血酶 III 起作用的。然而, 从澳大利亚北昆士兰海域中一个新的海绵家族 (*Dysideidae*) 中可以分离得到一种具有强烈抗凝活性的肽类物质, 被命名为 dysinosin A, 被归属于由蓝细菌分离得到的 aeruginosin 类化合物家族^[6]。它是一个四肽类似物 (有 3 个肽键), 结构如图 1A。第一个肽键是由硫酸化甘油酸和 D-亮氨酸形成的, 第二个和第三个肽键分别由 5, 6-二羟基-8 氢吡啶-2-羧酸的吡啶环的亚氨基氮和其 2-羧酸与 D-亮氨酸的羧基与 3-氨基乙基-N-amino-Δ³-pyrroline 的氨基连接而成。此化合物对凝血酶和凝血因子 VII 都有强烈的抑制作用。在与凝血酶作用时, 它占有了凝血酶中底物结合部位的 P₁、P₂ 和 P₃ 的位置。两者复合物中存在着一些氢键方式的结合。此化合物的结构也通过合成得到了证实 (图 1B)。

日本东京南面采集到的海绵 (*Theonella swinhoei*) 中存在着一组丝氨酸蛋白酶抑制剂, 也是含有肽键的化合物^[7]。其中有一些特殊的氨基酸, 例如 vinylogous 酪氨酸和 α-酮基高精氨酸。这组化合物抑制的酶有胰蛋白酶和凝血酶, 作用的机制与 TPCK 的作用机制类似, 因为它们也有与碱性氨基酸相近的酮基。从日本西部采集到的一种 ascidian 中分离到基质金属蛋白酶 2 抑制剂^[8]。利用波谱学和化学方法解析了它的结构, 为 12-羟基-十八烷基硫酸钠。它对基质金属蛋白酶 2 抑制剂的 IC₅₀ 值为 9.0 μg/ml。在另一种海绵 *Theonella mirabilis*

[作者简介] 王克夷, 研究员, 博士生导师。

E-mail: keyiwang0717@gmail.com

中分离得到的一组能抑制半胱氨酸蛋白酶的酯肽(depsipeptide)类化合物 papuamide^[9]。它不仅抑制组织蛋白酶 B,而且能抑制 HIV,并呈现细胞毒性。见图 2。

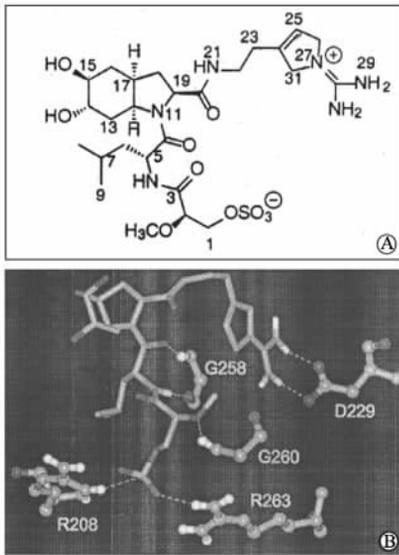


图 1 Dysinosin A 的结构(A)及其与凝血酶活性位点的相互作用(B)

Fig 1 Structure of dysinosin A(A) and its reaction with active site of thrombin(B)

3 糖苷酶抑制剂

从不同的海绵中能分离得到一些糖苷酶抑制剂。

从日本海绵(*Erylus nobilisi*)中分离得到的一种具有神经氨酸酶抑制活性的是三萜类皂苷^[10]。其苷原可以是结构不同的三糖或四糖;三糖为 L-Ara-D-GalU-D-GalU;四糖是 D-Gal-L-Ara-(D-Gal)-L-Ara(图 3)。这 2 种皂苷的完整结构如图 2 所示。它对产气荚膜杆菌的神经氨酸酶的 IC₅₀ 值为 0.46 μg/ml。具有 α 葡萄糖苷酶抑制活性的多乙酰酸是从日本海绵(*Callyspongia truncatai*)中分离得到的。其活性与其他的多炔类化合物相当^[11]。

4 激酶和磷酸酶的抑制剂

磷酸化和去磷酸化仍是当前信号转导研究中的热门话题。因此,激酶和磷酸酶的抑制剂是信号转导研究中有用的工具。

在西班牙采集到的褐藻(*Styopodium zonale*)中发现了两种新的三萜类化合物, stypoquinonic 酸和 atomaric 酸^[12]。它们都能抑制酪氨酸激酶(p56^{lck}), IC₅₀ 分别为 79.7 和 92.0 μg/ml。而且没有此类褐藻中其他物质所具有的抗菌和抗 HIV 逆转录酶的活性。

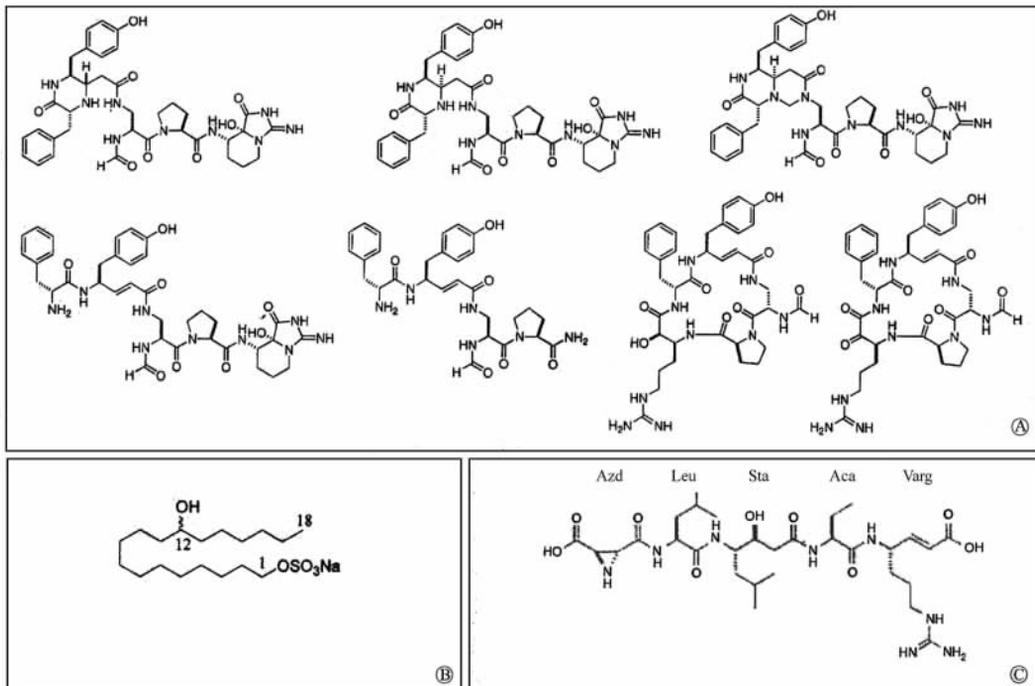


图 2 一些蛋白酶抑制剂的结构

Fig 2 Structures of some protease inhibitors

A: 含有 α-酮基高精氨酸的丝氨酸蛋白酶抑制剂; B: 12-羟基-十八烷基硫酸钠; C: Papuamide

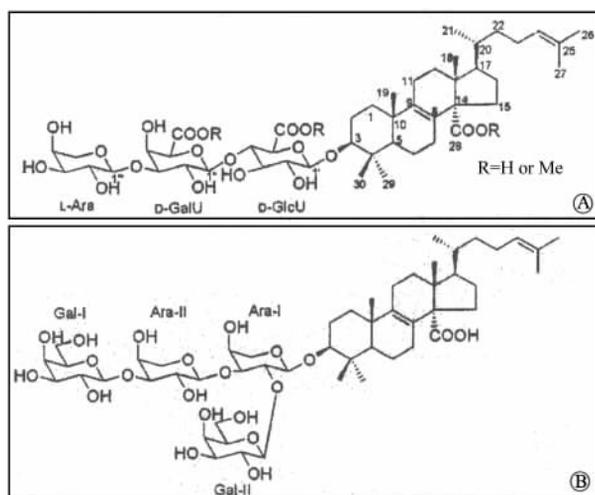


图3 皂苷类神经氨酸酶抑制剂的结构

Fig 3 Structure of neuraminidase inhibitor in saponins

在加勒比深水海绵 (*Batzella*) 中发现了另一些能抑制钙调磷酸酶 (calcineurin, CN) 磷酸酯酶和胱天蛋白酶 CPP32 肽酶活性的化合物, 而且对细胞株 P-338 和 A-549 均呈现细胞毒性^[13]。其中一个化合物的俗名为 discorhabdin P, 属于生物碱类。它对 CN 和 CPP32 的 IC_{50} 分别为 0.55 和 0.37 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 对 P-338 和 A-549 的 IC_{50} 分别为 0.025 和 0.41 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。另一组化合物为 secobatzelline, 其中化合物 1 对 CN 和 CPP32 的 IC_{50} 分别为 0.55 和 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 对 P-338 和 A-549 的 IC_{50} 分别为 0.06 和 0.04 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

5 其他酶类的抑制剂

牻牛儿基牻牛儿基是一种多萜类化合物, 它可以修饰一些蛋白质的 C 端的半胱氨酸, 促使修饰后的蛋白质定位到质膜的内侧。如白念珠菌等真菌性细胞壁的合成与此种修饰有关。而人的牻牛儿基牻牛儿基转移酶与真菌的牻牛儿基牻牛儿基转移酶无序列同源性, 因此, 真菌中这种酶的抑制剂有可能作为抗真菌药物。在海绵 *Petrosia corticata* Wilson 中发现了一类多炔酸可以抑制真菌的牻牛儿基牻牛儿基转移酶, 它们对白念珠菌的 IC_{50} 为 1.9~7.3 $\mu\text{mol}/\text{L}$ ^[14]。

脂氧合酶是另一类与炎症等多种疾病有关的酶, 它们作用后的产物是白三烯及相关产物。因此, 各种类型的脂氧合酶抑制剂均具有药用价值。从 2 种海绵 *Jaspis splendens* 和 *Suberea* sp. 分离得到了一些萜类的化合物 subersic 酸、jaspaquinol 和 jaspic 酸^[15], 对 15 脂氧合酶的 IC_{50} 分别为 15、0.3 和 1.4 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。

本文综述的内容归结在表 1 中。由表 1 不难看出, 在海洋中的酶类抑制剂多种多样, 不仅它们各自具有不寻常的专一性, 而且它们的结构同样变化多端。总之, 这一领域的研究值得深入、系统地进行, 不仅可以筛选和开发各种类型的药物, 而且能极大地丰富有机化合物库。

表 1 海洋来源的不同类型的酶类抑制剂

Tab 1 Different kinds of enzyme inhibitors derived from ocean organisms

酶所属的大类	酶所属小类	来源	化学属性
DNA 拓扑异构酶	拓扑异构酶 I	甲藻(一种微藻)	硫酸化半乳糖
	拓扑异构酶 II	印度尼西亚海绵	多炔酸
	拓扑异构酶 I	朝鲜海绵	环醇类
蛋白酶	凝血酶/凝血因子 VII	澳大利亚海绵	含有罕见氨基酸的小肽类
	丝氨酸蛋白酶	海绵	
	胱氨酸蛋白酶	日本海绵	酯肽类
糖苷酶	基质金属蛋白酶 2	日本海绵	烷基硫酸
	神经氨酸酶	日本海绵	皂苷类
	α -葡萄糖苷酶	日本海绵	多炔酸类
参与信号转导的激酶/磷酸酶	酪氨酸激酶	西班牙褐藻	三萜类
	钙调磷酸酶	加勒比海深水海绵	生物碱类
其他	双牻牛儿基转移酶	海绵	萜类
	脂氧合酶	海绵	多炔酸

[参考文献]

[1] 王克夷. 以糖为基础的新药研究现状和展望[M]//白东鲁, 陈凯先. 药物化学进展. 北京: 化学工业出版社, 2005. 197-248.

[2] Sogawa K, Yamada T, Sumida T, et al. Induction of apoptosis and inhibition of DNA topoisomerase I in K-562 cells by a marine microalgal polysaccharide[J]. Life Sci, 1999, 60: 227-231.

[3] Umemura K, Yanase K, Suzuki M, et al. Inhibition of DNA

- topoisomerase I and II, and growth inhibition of human cancer cell lines by a marine microalgal polysaccharide[J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66: 481-487.
- [4] Hoye RC, Baigorria AS, Danielson ME, et al. Synthesis of elenic acid, an inhibitor of topoisomerase II [J]. *J Org Chem*, 1999, 64: 2450-2453.
- [5] Kim DK, Lim YJ, Kim JS, et al. A cyclitol derivative as a replication inhibitor from the marine sponge *Petrosia* Sp. [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62: 773-776.
- [6] Carroll AR, Pierens GK, Fechner G, et al. Dysinosin A: a novel inhibitor of factor VIIa and thrombin from a new genus and species of Austrarian sponge of the family Dysideidae[J]. *J Am Chem Soc*, 2002, 124: 13340-13341.
- [7] Nakao Y, Masuda A, Natsunaga S, et al. Pseudotheonamides, serine protease inhibitors from the marine sponge *Theonell swinhoei*[J]. *J Am Chem Soc*, 1999, 121: 2425-2431.
- [8] Fujita M, Nakao Y, Natsunaga S, et al. Sodium 1-(12-hydroxy)-octadecanyl sulfate, an MMP2 inhibitor, isolated from a tunicate of the family *Polyclinidae*[J]. *J Nat Prod*, 2002, 65: 1936-1938.
- [9] Nakao Y, Fujita M, Warabi K. Miraziridine A, a cysteine protease inhibitors from the marine sponge *Theonell aff mirubilis* [J]. *J Am Chem Soc*, 2000, 122: 10462-10463.
- [10] Takada K, Nakao Y, Natsunaga S, et al. Nobiloside, a new neuraminidase inhibitory triterpenoidal saponin from marine sponge *Erylus nobilis*[J]. *J Nat Prod*, 2002, 65: 411-413.
- [11] Nakao Y, Uehara T, Natsunaga S, et al. Callyspongynic acid, a polyacetylenic acid which inhibits α -glucosidase, from the marine sponge *Callyspongia truncata*[J]. *J Nat Prod*, 2002, 65: 922-924.
- [12] Wessels M, Koenig GM, Wright AD. A new tyrosine kinase inhibitor from the marine alge *Styopodium zonale*[J]. *J Nat Prod*, 1999, 62: 927-930.
- [13] Gunasekera SP, McCarthy PJ, Longley RE, et al. Disphzbdin, a new enzyme inhibitor from deep-water Caribbean sponge of the genus *Batzella*[J]. *J Nat Prod*, 1999, 62: 173-175.
- [14] Nishimura S, Natsunaga S, Shibasaki M, et al. Corticatic acids D and E, polyacetylenic geranylgeranyl transferase type I inhibitor, from the marine sponge *Petrosia corticata*[J]. *J Nat Prod*, 2002, 65: 1353-1356.
- [15] Carroll J, Jonsoon EN, Ebel R, et al. Probing sponge-derived terpenoids for human 15-lipoxygenase inhibitors[J]. *J Org Chem*, 2001, 66: 6847-6851.
- [收稿日期] 2005-11-12 [修回日期] 2005-12-16
[本文编辑] 邓晓群

热烈祝贺我校吴孟超院士荣获国家最高科学技术奖

第四次全国科学技术大会已顺利召开,同时揭晓了2005年度国家科学技术奖获奖名单。中国科学院院士、中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院院长吴孟超,中国科学院院士、中国科学院大气物理研究所名誉所长叶笃正,获得2005年度国家最高科学技术奖。中共中央总书记、国家主席、中央军委主席胡锦涛向两位院士颁发了奖励证书和奖金,并表示了祝贺。

国家最高科学技术奖是我国目前级别最高的科学技术奖励,每年授予人数不超过2名,由国家最高领导人亲自颁奖。获奖者都是在当代科技前沿取得重大突破,或者在科技创新和科技成果转化中,创造巨大经济或社会效益。从2000年度国家科技奖励大会开始,迄今共有9人获此奖励。

吴孟超院士作为我国肝脏外科的主要创始人,曾首次提出中国人肝脏临床分为五叶四段的新理论;首创常温下间歇肝门阻断切肝法并突破手术禁区首先开展中肝叶切除手术;最早提出肝脏代谢理论的研究,首先提出局部切除新观点,使死亡率从70年代的14.5%下降到0.35%;确立肝癌高危人群准确定义,提出早期诊断合理程序并提出甲胎蛋白异质体鉴别诊断肝癌,使早期诊断符合率达98%;又建立无血切肝术,在国内较早开展肝动脉结扎法和栓塞法治疗中晚期肝癌;提出肝癌术后复发再切除和肝癌二期手术新观点,提高了疗效。近年在肝癌的免疫和基因治疗、肝癌疫苗、肝脏移植等研究中取得较大进展和提出综合治疗新观点,可采用与手术同时进行的介入、间质、免疫、导向、生物、基因和中医中药等措施,为肝癌综合治疗开创新局面。