

环二肽的研究进展

杨子娟^{1,2}, 向 兰¹, 邢 杰¹, 郑毅男²

(1. 山东大学药学院, 山东 济南 250012; 2. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118)

摘要:环二肽是由两个氨基酸通过肽键环合形成的、自然界中最小的环肽化合物,具有多种生物活性。对近年来在自然界中发现的天然环二肽类化合物进行综述,重点介绍了环二肽的类型、在自然界中的分布、理化性质、波谱特征以及生物活性。

关键词:环二肽;理化性质;波谱特征;生物活性

中图分类号:R914.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1674-5515(2009)02-0073-09

Research advances in cyclic dipeptides

YANG Zi-juan^{1,2}, XIANG Lan¹, XING Jie¹, ZHENG Yi-nan²

(1. School of Pharmacy, Shandong University, Jinan 250012, China; 2. School of Chinese Material Medica, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Key words: cyclic dipeptides; physico-chemical properties; spectral characters; bioactivity

环二肽(cyclic dipeptides),又名2,5-二氧哌嗪(2,5-dioxopiperazines)或2,5-二酮哌嗪(2,5-diketopiperazines),由两个氨基酸通过肽键环合形成,是自然界中最小的环肽。自然界中存在的环二肽一般由 α -氨基酸(常为L-氨基酸)形成相对稳定的六元环。许多环二肽是动植物中生来就有的,也有一些是通过发酵或者是在食品加工过程中形成的。随着人们对环二肽的深入研究,发现该类化合物具有多种生物活性,这引起了许多学者的极大兴趣。笔者重点对环二肽类化合物的类型、在自然界的分布、理化性质、波谱特征和生物活性进行综述。

1 环二肽的类型及其在自然界的分布

迄今为止,在自然界中发现许多结构简单的天然环二肽类化合物(表1)。如在微生物的发酵液或培养基中发现了许多由常见氨基酸残基或类似物组成的简单环二肽^[1-27];在大型真菌如冬虫夏草^[25-26]和构菌^[27]的发酵菌丝中含有简单环二肽;在植物中也陆续发现了许多简单环二肽类化合物^[28-38],如在双子叶植物桑科桑叶^[28]、马齿苋科植物马齿苋地上部分^[29]、商陆科植物多蕊商陆的根^[30]、石竹科金铁锁的根^[31-32]和繁缕的全草^[33]、木兰科植物五味子的果实^[34]、五加科植物三七的根^[35],以及单子叶植物天南星科掌叶半夏的块茎^[36]、百合科植物麦冬的块根^[37]和知母的根茎^[38]中发现了多种结构简单的环二

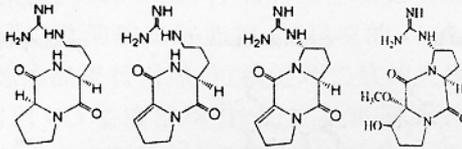
肽;此外,在动物或其分泌物中也发现有简单环二肽类物质的存在^[39-44],其中从哺乳动物中发现的环(组氨酸-脯氨酸)[Cyclo(His-Pro)]为第一个内源性环二肽类化合物。

由于海洋微生物生活在低温、高压、寡营养、高盐的海洋环境,能产生出结构新颖多样、活性独特的天然产物,因此引起了许多科学家的关注。海洋微生物是环二肽类化合物丰富的资源,到目前为止,从海洋细菌、海洋放线菌、海洋真菌、红树林叶内生真菌的代谢产物中已分离出大量的环二肽类化合物。在青霉菌(penicillium)、曲霉菌(aspergillus)、粘帚霉菌(gliocladium)、嗜热子囊菌(thermoascus)和念珠菌(candida)等真菌中,发现了一类结构高度修饰的有毒环二肽类化合物,即环多硫哌嗪二酮类(epipolythiodio-xopiperazines)物质。最常见且最稳定的环多硫哌嗪二酮类物质是环二硫哌嗪二酮类化合物^[45-46],见图1。在这类化合物中最知名的就是胶霉毒素(gliotoxin),它最早来源于纓粘帚霉*Gliocladium fimbriatum*的次生代谢产物。作为免疫抑制剂,胶霉毒素可引起体外细胞凋亡和坏死细胞死亡。由于环多硫哌嗪二酮类化合物可能是癌症等疾病的潜在治疗剂,因此引起了科学家对这类化合物的极大兴趣。2005年Gardiner^[45]等对环多硫哌嗪二酮类化合物进行了详尽的综述和报道。

表1 结构简单的天然环二肽类化合物

分布	化合物名称	来源
细菌	Cyclo(Ala-Gly) ^[1] , Cyclo(Ala-Ile) ^[2-3] , Cyclo(Ala-Leu) ^[1-3] , Cyclo(Ala-Pro) ^[1] , Cyclo(Ala-Val) ^[3] , Cyclo(Δ Ala-Val) ^[4] , Cyclo(Gly-Leu) ^[1, 5-6] , Cyclo(Gly-Phe) ^[1, 6] , Cyclo(Gly-Pro) ^[1] , Cyclo(Gly-Tyr) ^[6] , Cyclo(Ile-Leu) ^[3] , Cyclo(Ile-Pro) ^[2, 7] , Cyclo(Ile-Val) ^[8] , Cyclo(Leu-Pro) ^[1-2, 7-9] , Cyclo(Leu-Val) ^[2-3, 9] , Cyclo(Met-Pro) ^[7] , Cyclo(Phe-Pro) ^[4, 7, 9-10] , Cyclo(Pro-Tyr) ^[4-7, 9] , Cyclo(Pro-Val) ^[2, 7-8] , Cyclo(4-OH-Pro-Leu) ^[1, 5-6] , Cyclo(<i>cis</i> -4-OH- <i>D</i> -Pro- <i>L</i> -Phe) ^[5] Cyclo(<i>trans</i> -4-OH- <i>L</i> -Pro- <i>L</i> -Phe) ^[5-6, 10] Cyclo(<i>cis</i> -4-OH- <i>D</i> -Pro- <i>L</i> -Tyr) ^[6] Cyclo(<i>trans</i> -4-OH- <i>L</i> -Pro- <i>L</i> -Tyr) ^[6]	海洋细菌芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i> sp. ^[1] 海洋细菌 F8712 发酵物 ^[2] 海洋细菌枯草杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> 110 ^[3] 绿脓假单胞杆菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 、奇异变形杆菌 <i>Proteus mirabilis</i> 、弗罗因德氏枸橼酸杆菌 <i>Citrobacter freundii</i> 、聚团肠杆菌 <i>Enterobacter agglomerans</i> 、荧光假单胞杆菌 <i>Pseudomonas fluorescens</i> 、产碱假单胞杆菌 <i>Pseudomonas alcaligenes</i> ^[4] 从海绵 <i>Ircinia variabilis</i> 分离的细菌 ^[5] 从地中海寄居蟹皮海绵 <i>Suberites domuncula</i> 中分离的细菌 ^[6] 从海绵分离的绿脓杆菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^[7] 海洋沉积物中的喜盐芽孢杆菌 <i>Halobacillus litoralis</i> ^[8] 土壤恶臭假单胞杆菌 <i>Pseudomonas putida</i> ^[9] 植物乳杆菌 <i>Lactobacillus plantarum</i> ^[10]
放线菌	Cyclo(Ala-Gly) ^[11] , Cyclo(Ala-Ile) ^[12] , Cyclo(Ala-Leu) ^[12] , Cyclo(Ala-Phe) ^[12-13] , Cyclo(Ala-Pro) ^[14] , Cyclo(Ala-Val) ^[12, 14] , Cyclo(Arg-Gly) ^[15] , Cyclo(Asp-Gly) ^[15] , Cyclo(Gly-Leu) ^[12-13] , Cyclo(Gly-Pro) ^[11, 13, 15] , Cyclo(Gly-Phe) ^[11-13, 15] , Cyclo(Gly-Tyr) ^[12] , Cyclo(Ile-Val) ^[11] , Cyclo(Leu-Pro) ^[12-13] , Cyclo(Leu-Tyr) ^[11] , Cyclo(Leu-Val) ^[11] , Cyclo(Phe-Pro) ^[12] Cyclo(Pro-Tyr) ^[12-14] , Cyclo(Pro-Val) ^[12-13] , Cyclo(4-OH-Pro-Phe) ^[12] , Cyclo(4-OH-Pro-Leu) ^[12] , 白诺氏菌素 (Albonoursin) [Cyclo(Δ Phe- Δ Leu)] ^[16]	海洋放线菌 S1001 ^[11] 海洋放线菌 11014 ^[12] 海洋放线菌 H2003 ^[13] 海洋白浅灰链霉菌 <i>Streptomyces albogriseolus</i> (A2002) ^[14] 链霉菌 S227 ^[15] 诺尔斯链霉菌 <i>Streptomyces noursei</i> ^[16]
真菌	Cyclo(Ala-Leu) ^[17-18, 25] , Cyclo(Ala-Phe) ^[3, 19] , Cyclo(Ala-Trp) ^[20] , Cyclo(Ala-Val) ^[19, 25] , Cyclo(Asn-Ile) ^[26] , Cyclo(Gly-Phe) ^[3, 17, 21] , Cyclo(Gly-Pro) ^[19, 22, 25] , Cyclo(Ile-Leu) ^[22, 27] , Cyclo(Ile-Phe) ^[22] , Cyclo(Ile-Pro) ^[3] , Cyclo(Ile-Val) ^[26] , Cyclo(Leu-Leu) ^[18] , Cyclo(Leu-Pro) ^[25, 27] , Cyclo(Leu-Thr) ^[25] , Cyclo(Leu-Tyr) ^[17, 19, 21, 23] , Cyclo(Phe-Phe) ^[23] , Cyclo(Phe-Pro) ^[17] , Cyclo(Phe-Val) ^[22] , Cyclo(Pro-Tyr) ^[3] , Cyclo(Pro-Val) ^[22, 25] , Cyclo(Tyr-Tyr) ^[18, 26] , Cyclo(Val-Val) ^[22] , Cyclo(dehydrohistidyl-1-tryptophyl) ^[24]	南海海洋真菌 2516 ^[17] 红树林秋茄树 <i>Kandelia candel</i> 内源真菌 1947 ^[18] 红树林内生真菌 1356 ^[3] 红树林海榄雌 <i>Avicennia marina</i> 内源真菌 2524 ^[19] 海洋红藻 <i>Lomentaria catenata</i> 中的曲霉 <i>Aspergillus</i> sp. ^[20] 红树林秋茄树内生真菌 1893 ^[21] 红树林真菌草酸青霉 <i>Penicillium oxalicum</i> ^[22] 红树林 <i>Avicennia marina</i> 内源真菌 2534 ^[23] 未鉴定的真菌 Fb956 ^[24] 虫草发酵菌丝 ^[25] 冬虫夏草 <i>Cordyceps sinensis</i> (BERK.) SACC. 菌丝体 ^[26] 构菌 <i>Flammulina velutipes</i> (Fr.) Sing 发酵菌丝体 ^[27]
植物	Cyclo(Ala-Ala) ^[31] , Cyclo(Ala-Ile) ^[29-31, 35-36] , Cyclo(Ala-Leu) ^[29-31, 35-36] , Cyclo(Ala-Phe) ^[35-36] , Cyclo(Ala-Pro) ^[32, 35] , Cyclo(Ala-Tyr) ^[29] , Cyclo(Ala-Val) ^[31, 35] , Cyclo(Gly-Pro) ^[36] , Cyclo(Ile-Leu) ^[28, 33, 35, 37] , Cyclo(Ile-Phe) ^[29, 34] , Cyclo(Ile-Pro) ^[29] , Cyclo(Ile-Tyr) ^[29] , Cyclo(Ile-Val) ^[35] , Cyclo(Leu-Phe) ^[29, 34] , Cyclo(Leu-Pro) ^[29, 34] , Cyclo(Leu-Ser) ^[35] , Cyclo(Leu-Thr) ^[35] , Cyclo(Leu-Tyr) ^[29, 35-36, 38] , Cyclo(Leu-Val) ^[35-36] , Cyclo(Phe-Phe) ^[34] , Cyclo(Phe-Pro) ^[29, 34] , Cyclo(Phe-Tyr) ^[29, 35, 37] , Cyclo(Phe-Val) ^[29, 34-35] , Cyclo(Pro-Pro) ^[32, 36] , Cyclo(Pro-Tyr) ^[30] , Cyclo(Pro-Val) ^[29, 32, 35] , Cyclo(Tyr-Val) ^[33, 36]	桑科桑 <i>Morus alba</i> L. 叶 ^[28] 马齿苋科马齿苋 <i>Portulaca oleracea</i> L. 地上部分 ^[29] 商陆科多蕊商陆 <i>Phytolacca polyandra</i> Batalin 根 ^[30] 石竹科金铁锁 <i>Psammisilene tunicoides</i> W. C. Wu et C. Y. Wu 的根 ^[31-32] 石竹科繁缕 <i>Stellaria media</i> (L.) Cyr. 全草 ^[33] 木兰科北五味子 <i>Schizandra chinensis</i> Baill 果实 ^[34] 五加科三七 <i>Panax notoginseng</i> (Burk.) F. H. Chen 的根 ^[35] 天南星科掌叶半夏 <i>Pinellia pedatisecta</i> Schott 块茎 ^[36] 百合科麦冬 <i>Ophiopogon japonicus</i> (L. f.) Ker-Gawl 块根 ^[37] 百合科知母 <i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge 根茎 ^[38]

续表 1

分布	化合物名称	来源
动物	Cyclo(Arg-Phe)的盐酸盐 ^[39] , Cyclo(Gly-Pro) ^[43] , Cyclo(His-Pro) ^[44] , Cyclo(Leu-Phe) ^[41] , Cyclo(Ser-Tyr) ^[42] , verpacamides A-D ^[40] ;	南海软珊瑚 <i>Sinularia</i> sp. ^[39] 海绵 <i>Axinella vaceleti</i> ^[40] 蚂蚁 <i>Pachycondyla apicalis</i> ^[41] 穿山甲 ^[42] 华北大黑鳃金龟 ^[43] 人,其他哺乳动物 ^[44]
		左侧 4 个结构所代表的化合物来源于海绵 <i>Axinella vaceleti</i>

注:Ala-丙氨酸,Arg-精氨酸,Asn-天冬酰胺,Asp-天冬氨酸,Gln-谷氨酰胺,Gly-甘氨酸,His-组氨酸,Ile-异亮氨酸,Leu-亮氨酸,Met-甲硫氨酸,Phe-苯丙氨酸,Pro-脯氨酸,Ser-丝氨酸,Thr-苏氨酸,Trp-色氨酸,Tyr-酪氨酸,Val-缬氨酸

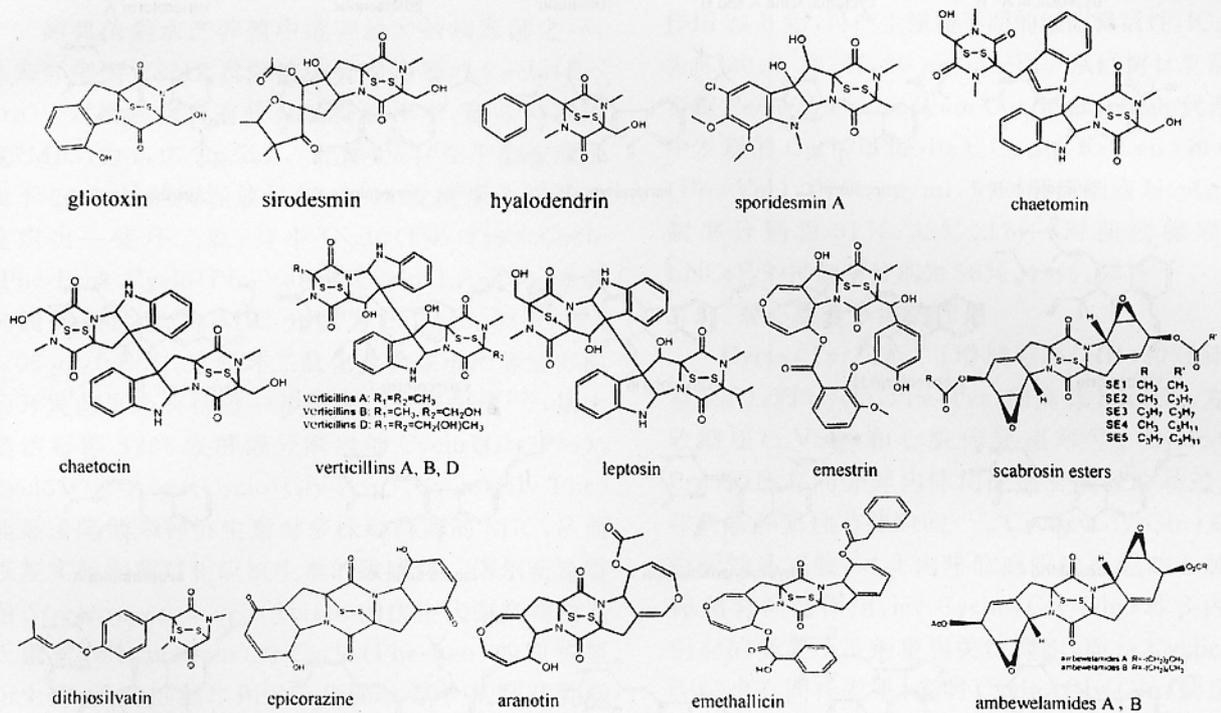


图 1 常见的环二硫嘧啶二酮类化合物

此外,在海洋放线菌 *Salinispora arenicola* 和曲霉 *Aspergillus* sp. 中还发现了异戊烯化的环二肽:一类是烟曲霉 *Aspergillus fumigatus* Fres. 中环(L-色氨酸-L-脯氨酸)的异戊二烯衍生物^[47-49],另一类是异刺孢曲霉素(isoechinulin)类型的环二肽^[21, 50-52]。异戊烯化的环二肽的结构见图 2。

2 理化鉴别及波谱特征

2.1 理化性质

环二肽一般呈弱碱性,微溶于水,易溶于乙醇、甲醇、氯仿、二甲基亚砷等有机溶剂中,呈白色或无色的结晶或粉末,熔点通常高于 200 ℃。大多数环二肽系左旋的。脯氨酸是唯一通过自然的生化途径形成了羟胺键的成肽基团,使得含有脯氨酸残基的环

二肽具有一定的特殊性。含有脯氨酸基团的环二肽一般颜色较深,呈淡黄色或黄色,熔点也比较低,通常在 200 ℃以下^[32]。检测环二肽的存在常用一些强氧化剂,如荧光指示剂、10%或 30%硫酸水溶液、香草醛-硫酸试剂、茴香醛-硫酸试剂和碘化铋钾试剂等,对于不同试剂的检测呈现不同颜色的斑点。此外,也可用茚三酮试剂显色的薄层原位化学反应方法(浓盐酸,110 ℃,2 h)进行鉴别^[53]。

2.2 波谱特征

环二肽中二酮嘧啶环上由于存在杂原子,其质谱中 C_α-CO 键开裂为优势开裂,得到的碎片离子峰相对丰度较大,有的形成了基峰;环的开裂也可通过 C_α-C_β 和 NH-CO 键的断裂而被打开,得到典型的

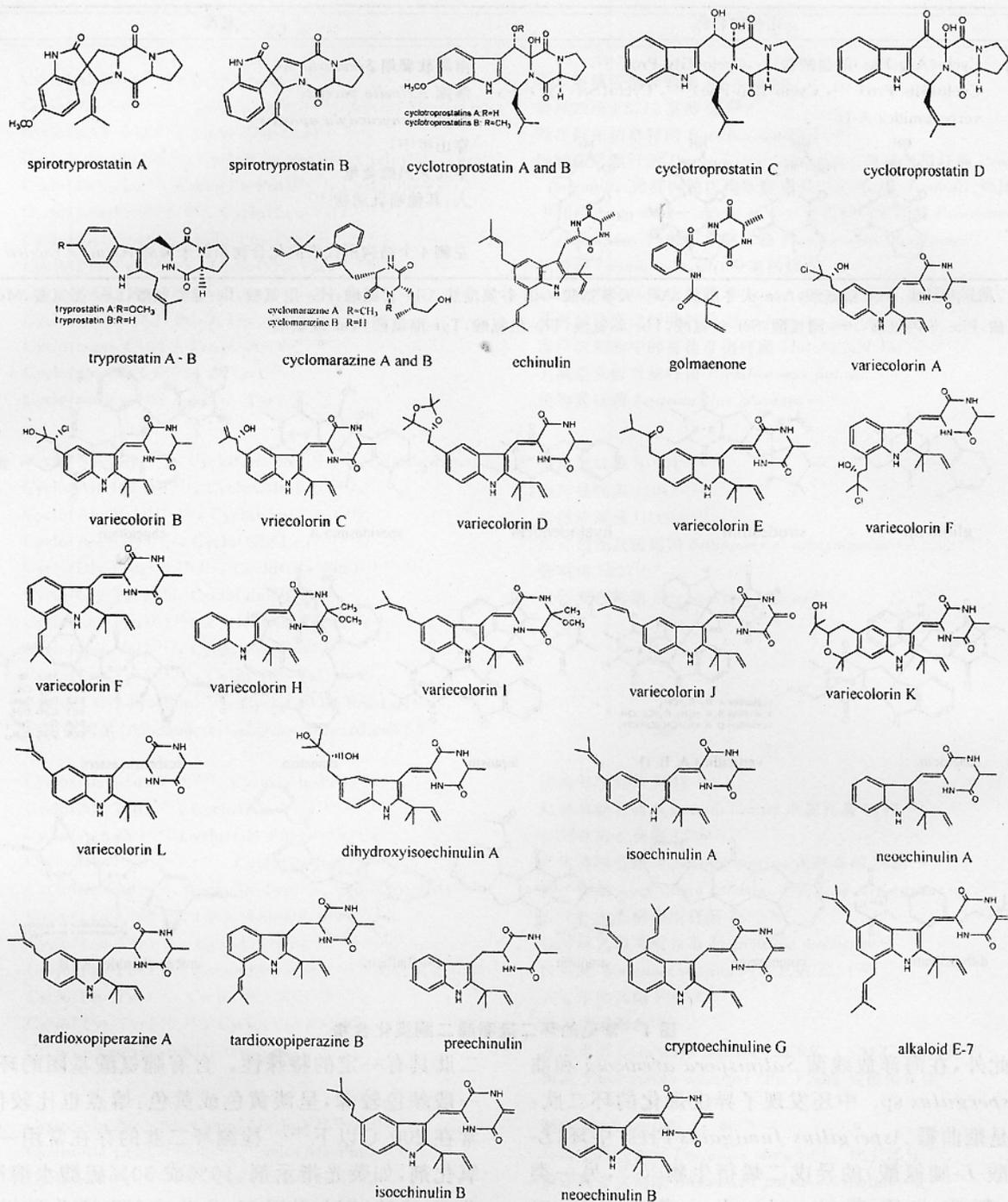


图2 异戊烯化的环二肽类化合物

具有共振结构的较稳定的碎片峰($H_2N^+ = CH-R$)。根据环二肽类化合物的质谱裂解规律,利用液-质联用技术可进行环二肽类化合物的快速筛选和鉴定,如利用ESI-MS-MS从鸡精(egg essence)^[54]、马齿苋^[29]和烟曲霉^[55]中已鉴定了多个环二肽。

环二肽的红外光谱在 $3\ 400 \sim 3\ 200\ cm^{-1}$ 和 $1\ 700 \sim 1\ 650\ cm^{-1}$ 显示NH和C=O的吸收峰;在

紫外光谱中,由于二酮哌嗪母核中没有共轭结构,所以大多数环二肽都没有明显的紫外吸收,而多呈现末端吸收,但如果分子中包含有色氨酸残基等发色团时,在220、270、290 nm有最大吸收^[20];在核磁共振谱中,¹H-NMR低场区($\delta\ 7.8 \sim 8.3$)一般出现两个酰胺质子信号,¹³C-NMR谱中低场区($\delta\ 165 \sim 170$)处通常有两个酰胺羰基碳信号。

2.3 绝对构型

自然界中存在的环二肽一般由 *L*-氨基酸形成相对稳定的六元环,但有些环二肽是由 *D*-氨基酸和 *L*-氨基酸环合而成。其绝对构型的确定主要有两种方法,一是通过 HPLC 法,利用手性柱或氨基酸分析仪分析环二肽的酸水解产物,与相应的 *D*-或 *L*-氨基酸的标准品进行对照,可确定环二肽的立体构型,或者利用 CD 谱确定构型^[56];二是可利用 X 单晶衍射的方法来确定环二肽的绝对构型^[57]。

3 生物活性

3.1 抑菌

鳗弧菌是水产养殖中危害最大的病原菌之一,从海洋细菌 F8712 发酵液中分离得到的 Cyclo(Ile-Pro)^[2]对鳗弧菌具有较好的抑制作用,最低抑制浓度(MIC)为 0.07 μg/mL。此外,从存在于渤海湾水面下 20 m 处的海泥放线菌 11014 发酵液中提取并鉴定出一些环二肽,其中 Cyclo(Pro-Tyr)、Cyclo(Phe-Pro)、Cyclo(Pro-Val)和 Cyclo(Leu-Pro)具有抗鳗弧菌的作用, MIC 分别为 0.07、0.03、0.05、0.05 μg/mL^[58]。这些环二肽化合物在水产养殖方面的开发前景还有待进一步研究。另有报道^[15],从土壤链霉菌 S227 发酵液分离出的 Cyclo(Gly-Pro)、Cyclo(Gly-Arg)、Cyclo(Gly-Asp)、Cyclo(Gly-Phe)能显著降低多种抗生素对多株耐药菌的 MIC,从而恢复实验细菌对相应抗生素的敏感性。诺尔斯链霉菌 *Streptomyces noursei* Hazen 的次生代谢产物白诺氏菌素(albonoursin)为 Cyclo(Phe-Leu)的四脱氢衍生物,具有抗菌作用^[16]。Strom 等^[10]从胚芽乳酸杆菌菌株的培养液中分离得到的 Cyclo(*L*-Phe-*L*-Pro)和 Cyclo(*L*-Phe-*trans*-4-OH-*L*-Pro),具有广谱的抗菌活性。

3.2 抗癌

从烟曲霉培养液的次级代谢产物中分离的环二肽生物碱 spirotryprostatin A 和 spirotryprostatin B^[47]、cyclotroprostatin A~D^[48]、tryprostatin A 和 tryprostatin B^[49],抑制哺乳动物热敏乳腺癌细胞 tsFT210 在细胞周期 G₂ 期的分裂。胶霉毒素 0.15 mg/L 有明显的细胞毒活性,对小鼠乳腺癌细胞 tsFT210 增殖的抑制率为 99.1%^[59]。从海洋放线菌 11014 中分离得到的 Cyclo(4-OH-Pro-Phe)质量浓度为 5 μg/mL 时,体外对小鼠 tsFT210 细胞的抑制率为 48%^[12]。从海洋放线菌 H2003 代谢产物中分离得到的 Cyclo(*L*-Leu-*L*-Pro)对小鼠 tsFT210 细

胞株具有弱的抗肿瘤活性,当其浓度为 0.952 mmol/L 时,对 tsFT210 细胞的抑制率为 43%^[13]。2006 年,刘睿等^[11]从海洋放线菌 S1001 发酵物中分离的 Cyclo(Gly-Pro)、Cyclo(Leu-Tyr)、Cyclo(Val-Ile)浓度为 10 μmol/L 时,对人慢性髓原白血病 K562 细胞表现出了一定的抑制活性,抑制率分别为 15.4%、19.3%、18.6%。

从虫草发酵菌丝中分离到的 Cyclo(*L*-Gly-*L*-Pro)具有抗癌和增强免疫活性^[25];从冬虫夏草培养液中分得的新天然环二肽 Cyclo(Gln-Ile)对小鼠成纤维细胞 L-929、皮肤黑色素瘤细胞 A375、宫颈癌细胞 HeLa 作用 24 h 后,可产生强弱不同的细胞毒活性, IC₅₀ 分别为 6.30、9.16、61.10 μg/mL^[26]。从红树林真菌草酸青霉 *Penicillium oxalicum* Currie et Thom 代谢产物中发现的 Cyclo(Phe-Ile)、Cyclo(Ile-Leu)和 Cyclo(Pro-Val),在 50 μg/mL 时对肝癌细胞 HepG₂ 的抑制率分别为 31%、32%、17%,对前列腺癌细胞 LNCaP 的抑制率分别为 50%、43%、53%^[22]。

3.3 对心血管系统的作用

Cyclo(Tyr-Tyr)可增加心率(HR)和冠脉血流量(CF);而 Cyclo(Phe-Tyr)则降低 HR、CF、左心室收缩压(LVSP)和心脏传导速率^[60]。Cyclo(Trp-Pro)的所有同分异构体均能显著减轻心动过速、心律失常和窦性节律时间^[61]。Cyclic(Gly-Gln)是一种内源性环二肽,对 β-内啡肽或吗啡引起的心肺呼吸抑制有抑制作用,即 Cyclic(Gly-Gln)对 β-内啡肽引起的低血压呈剂量相关性抑制,而 ia Cyclic(Gly-Gln)也有同样效果,说明 Cyclic(Gly-Gln)能穿透血脑屏障^[62]。Lucietto 等^[63]的研究表明,Cyclo(His-Ala)和 Cyclo(His-Gly)能使离体老龄鼠的 HR、CF 和 LVSP 均降低,这可能与环二肽对离子通道的作用有关。Cyclo(His-Phe)能够逐渐降低 HR 和 CF; Cyclo(His-Tyr)能显著增加 HR,但对 CF 无影响^[64]。一些含芳环的环二肽是乙酰辅酶 A 抑制剂,可用于治疗动脉硬化及相关疾病^[19]。

Cyclo(His-Ala)和 Cyclo(His-Gly)在 100 μmol/L 时,不仅降低离体大鼠心脏 HR、CF 和 LVSP;还可显著抑制凝血酶活性,且在最低浓度(0.0125 mmol/L)分别使血纤维蛋白的形成速率下降了 63.3%、36.7%;虽然 Cyclo(His-Ala)对血小板凝集无显著作用,但 Cyclo(His-Gly)可显著抑制凝血酶诱导的血小板凝集, IC₅₀ 为 0.0662 mmol/L^[63]。Cyclo(His-Tyr)能抑制腺苷二磷酸二氢酶

(ADP)诱导的血小板黏附和凝集,显著延长血凝时间^[64]。以上结果表明含组氨酸的环二肽是一类有潜力的抗血栓药物。

3.4 保护神经元及改善脑功能

促甲状腺激素释放激素(TRH)是一种内源性神经三肽,广泛分布于中枢神经系统,起着内源性兴奋性神经递质或调节物的作用,是内源性的阿片受体拮抗剂之一。TRH给以急性脊髓损伤动物,可明显改善其神经功能。但由于TRH半衰期短,有副作用,限制了它的临床应用。在动物体内,Cyclo(His-Pro)是TRH通过焦谷氨酰氨酶降解后的代谢产物,是人们从哺乳动物中发现的第一个内源性环二肽类化合物。2003年Faden等^[65]发现与Cyclo(His-Pro)结构类似的环二肽(图3-1),在体内和体外实验中均具有神经保护作用。陆续的研究发现,人工合成的3个环二肽(图3-2~4)能减少直接的物理创伤和营养因子缺乏所导致的神经细胞死亡,其中化

合物2和4能够抑制谷氨酸神经毒性和 β -淀粉样蛋白诱导的神经细胞损伤,抑制谷氨酸诱导的细胞内钙离子的升高。这些环二肽下调了大鼠脑损伤后皮层和海马中继发性损伤因子(细胞循环蛋白、水通道蛋白、组织蛋白酶和钙激活蛋白酶)mRNA的表达,上调脑内神经营养因子、缺氧诱导因子、热激蛋白等,并且显著促进脑损伤小鼠的运动功能和认知功能的恢复,减小斑块的体积,从而抑制脑损伤,表明它们有潜力成为临床治疗脑损伤的药物^[66]。Cyclo(Acp-Ala)(图3-5)是脑功能改善促智药物,它的许多衍生物具有明显的增强记忆的活性,可延长雌鼠的记忆保留时间;这些衍生物结构中环戊烷环和L-Ala的存在,是其抗健忘活性必需的基团^[67]。另有报道称^[44],Cyclo(Gly-Leu)具有神经保护功能,有效抑制嘌呤霉素诱导的健忘症。在大鼠脑中发现的内源性环二肽Cyclo(Gly-Pro),具有抗健忘和促进记忆作用^[68]。

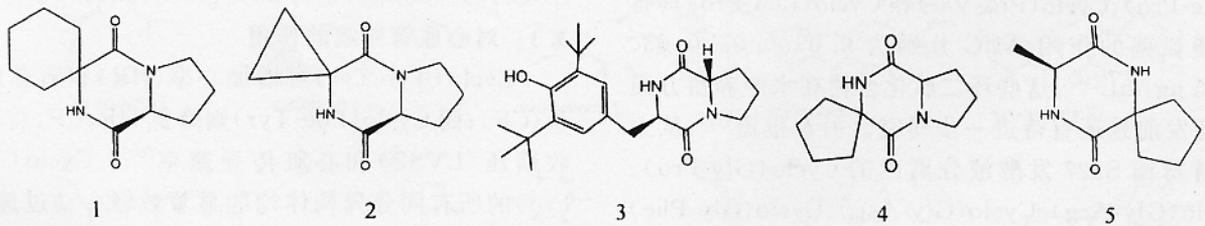


图3 具有神经元保护作用的环二肽类化合物的结构

3.5 脱瘾与解毒

环二肽在动物体内表现出神经递质类活性。内源性环二肽Cyclo(His-Pro)通过类似于多巴胺能的机制调节机体各项功能。实验表明^[69],Cyclo(His-Pro)在嗜酒小鼠和不嗜酒小鼠脑组织中量的高低顺序为:嗜酒小鼠<嗜酒与不嗜酒小鼠杂交后代一代品系<不嗜酒小鼠。摄入外源性Cyclo(His-Pro)时,嗜酒小鼠主动饮酒量呈剂量相关性减低,而不嗜酒小鼠减少了对酒精的偏爱,表明Cyclo(His-Pro)可能对人类酗酒有抑制作用。此外,Cyclo(Gly-Gln)也属于内源性环二肽,具有神经递质类活性。当给鼠icv和ip Cyclo(Gly-Gln)时,显著抑制对尼古丁的摄取和对含有尼古丁的场所的偏爱,而直线肽在同样剂量下却无效,说明Cyclo(Gly-Gln)对脱瘾性脑综合征有治疗意义^[70]。

3.6 其他

内源性环二肽Cyclo(His-Pro)能调控食欲及能量代谢^[71],而且与锌具有显著的协同抗糖尿病作

用^[72]。从蚂蚁毒腺中分离的苦味成分环二肽Cyclo(D-Phe-L-Leu)和Cyclo(L-Phe-L-Leu),这种毒腺具有自卫和进攻的功能^[41]。

4 结语

环二肽类化合物在自然界广泛存在,目前对环二肽类化合物的生物学意义及药理活性的研究还比较少,其在抗生素、抗肿瘤剂、抗凝血剂、神经保护剂、益智剂以及脱瘾剂等药物的研发中是否具有-定的应用价值,仍有待深入研究。

参考文献

- [1] 姚 遥,田 黎,李 娟,等. 海洋细菌 *Bacillus* sp. 中环二肽类代谢产物的研究[J]. 中国药物化学杂志, 2007, 17(5): 310-313.
- [2] 艾 峰,许强芝,杨 好,等. 东海微生物中6种环二肽类天然活性物质的分离和鉴定[J]. 第二军医大学学报, 2006, 27(1): 22-24.
- [3] 周世宇,林永成,吴雄宇,等. 海洋真菌与细菌发酵物中的环二肽[J]. 微生物学通报, 2002, 29(3): 59-62.
- [4] Holden M T G, Chhabra S R, De Nys R, et al. Quorum-

- sensing cross talk; isolation and chemical characterization of cyclic dipeptides from *Pseudomonas aeruginosa* and other gram-negative bacteria [J]. *Mol Microbiol*, 1999, 33(6): 1254-1266.
- [5] De Rosa S, Mitova M, Tommonaro G. Marine bacteria associated with sponge as source of cyclic peptides [J]. *Biomol Eng*, 2003, 20(4/6): 311-316.
- [6] Mitova M, Tommonaro G, Hentschel U, et al. Exocellular cyclic dipeptides from a ruegeria strain associated with cell cultures of *Suberites domuncula* [J]. *Mar Biotechnol*, 2004, 6(1): 95-103.
- [7] Jayatilake G S, Thornton M P, Leonard A C, et al. Metabolites from an antarctic sponge-associated bacterium, *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *J Nat Prod*, 1996, 59(3): 293-296.
- [8] Yang L, Tan R X, Wang Q, et al. Antifungal cyclopeptides from *Halobacillus litoralis* YS3106 of marine origin [J]. *Tetrahedron Lett*, 2002, 43(37): 6545-6548.
- [9] Degrassi G, Aguilar C, Bosco M, et al. Plant growth-promoting *Pseudomonas putida* WCS358 produces and secretes four cyclic dipeptides; cross-talk with quorum sensing bacterial sensors [J]. *Curr Microbiol*, 2002, 45(4): 250-254.
- [10] Strom K, Sjogren J, Broberg A, et al. *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo (*L*-Phe-*L*-Pro) and cyclo (*L*-Phe-*trans*-4-OH-*L*-Pro) and 3-phenyllactic acid [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68(9): 4322-4327.
- [11] 刘睿, 朱天骄, 朱伟明, 等. 海洋放线菌 S1001 中抗肿瘤活性成分的研究 [J]. *中国抗生素杂志*, 2006, 31(1): 36-39.
- [12] 李德海, 顾谦群, 朱伟明, 等. 海洋放线菌 11014 中抗肿瘤活性成分的研究 I 环二肽 [J]. *中国抗生素杂志*, 2005, 30(8): 449-453.
- [13] 李冬, 朱伟明, 顾谦群, 等. 海洋放线菌 H2003 代谢产物中环二肽成分及其抗肿瘤活性的初步研究 [J]. *海洋科学*, 2007, 31(5): 45-48.
- [14] 古静燕, 刘红兵, 崔承彬, 等. 海洋来源白浅灰链霉菌中环二肽类化合物的分离与结构鉴定 [J]. *中国海洋大学学报*, 2005, 35(4): 618-620.
- [15] 夏振强. 链霉菌 S227 抗耐药性化合物研究 [D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2004.
- [16] Lautru S, Gondry M, Genet R, et al. The albonoursin gene cluster of *S. noursei*; biosynthesis of diketopiperazine metabolites independent of nonribosomal peptide synthetases [J]. *Chem Biol*, 2002, 9(12): 1355-1364.
- [17] 尹文清, 林永成, 周世宁, 等. 南海海洋真菌 2516 号中的环二肽成分 [J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2002, 41(4): 56-58.
- [18] 陈光英, 朱峰, 林永成, 等. 南海红树林内生真菌 1947 号次级代谢产物的研究 [J]. *化学研究与应用*, 2007, 19(1): 98-99.
- [19] 李厚金, 林永成, 刘晓红, 等. 红树林内生真菌 2524 号的肽类成分 (I) [J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2002, 41(1): 110-112.
- [20] Li Y, Li X F, Kim S K, et al. Golmaenone, a new diketopiperazine alkaloid from the marine-derived fungus *Aspergillus* sp [J]. *Chem Pharm Bull*, 2004, 52(3): 375-376.
- [21] 陈光英, 刘晓红, 温露, 等. 南海红树林内生真菌 1893 代谢产物研究 [J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2003, 42(1): 49-52.
- [22] 刘海滨, 高昊, 王乃利, 等. 红树林真菌草酸青霉 (092007) 的环二肽类成分 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2007, 24(8): 474-478.
- [23] 朱峰, 林永成, 周世宁, 等. 南海红树林内生真菌 2534 号代谢产物的研究 [J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2003, 42(1): 52-54.
- [24] Sohn M J, Hur G M, Byun H S, et al. Cyclo (dehydrohistidyl-*L*-tryptophyl) inhibits nitric oxide production by preventing the dimerization of inducible nitric oxide synthase [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 75(4): 923-930.
- [25] 张平. 虫草属真菌研究进展 [J]. *生物学杂志*, 2003, 20(6): 43-45.
- [26] Jia J M, Ma X C, Wu C F, et al. Cordyceptide A, a new cyclodipeptide from the culture liquid of *Cordyceps sinensis* (BERK.) SACC [J]. *Chem Pharm Bull*, 2005, 53(5): 582-583.
- [27] 康洁, 陈若芸. 构菌发酵菌丝体化学成分的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2003, 28(11): 1038-1040.
- [28] 倪丽, 张现涛, 殷志琦, 等. 桑叶中水溶性成分的研究 [J]. *中药材*, 2006, 29(2): 134-136.
- [29] Xing J, Yang Z J, Lv B B, et al. Rapid screening for cyclo-dopa and diketopiperazine alkaloids in crude extracts of *Portulaca oleracea* L. using liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commu Mass Spectrom*, 2008, 22(9): 1415-1422.
- [30] 熊江, 周俊, 戴好富, 等. 多蕊商陆的化学成分 [J]. *云南植物研究*, 2002, 24(3): 401-405.
- [31] 丁中涛, 周俊, 谭宁华. 金铁锁中的四个环二肽 [J]. *中草药*, 2000, 31(11): 803-805.
- [32] 丁中涛, 保志娟, 杨雪琼, 等. 金铁锁根中的三个环二肽 [J]. *中国中药杂志*, 2003, 28(4): 337-339.
- [33] 胡永美, 汪豪, 叶文才, 等. 繁缕中的水溶性化学成分 [J]. *中国药科大学学报*, 2005, 36(6): 523-525.
- [34] 汪有初, 周俊, 谭宁华, 等. 五味子的环二肽及其合成 [J]. *药学学报*, 1999, 34(1): 19-22.
- [35] 王双明, 谭宁华, 杨亚滨, 等. 三七环二肽成分 [J]. *天然产物研究与开发*, 2004, 16(5): 383-386.
- [36] 秦文娟, 孔庆芬, 范志同, 等. 掌叶半夏化学成分的研究 [J]. *中草药*, 1984, 15(11): 10-12.
- [37] 程志红, 吴弢, 余伯阳. 麦冬块根化学成分的研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2005, 17(1): 1-3.

- [38] 沈莉, 戴胜军, 赵大洲. 知母中的生物碱[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(1): 39-41.
- [39] 龙康候, 林永成, 林源华, 等. 中国软珊瑚化学成分的研究(二十四)[C]. 中山大学学报(自然科学)论丛, 1990, 9(3): 77-82.
- [40] Vergne C, Boury-Esnault N, Perez T, et al. Verpacamides A—D, a sequence of C₁₁N₅ diketopiperazines relating cyclo (Pro-Pro) to cyclo (Pro-Arg), from the marine sponge *Axinella vacceleti*; possible biogenetic precursors of pyrrole-2-aminoimidazole alkaloids [J]. Org Lett, 2006, 8(11): 2421-2424.
- [41] Lopez L C, Morgan E D. Explanation of bitter taste of venom of ponerine ant, *Pachycondyla apicalis* [J]. J Chem Ecol, 1997, 23(3): 705-712.
- [42] 马雪梅. 穿山甲化学成分的研究[J]. 药学学报, 1988, 23(8): 588-592.
- [43] 王惠, 张兴, 米宏彬. 华北大黑鳢龟性信息素组分的分离与鉴定[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2002, 30(2): 91-95.
- [44] Prasad C. Bioactive cyclic dipeptides [J]. Peptides, 1995, 16(1): 151-164.
- [45] Gardiner D M, Waring P, Howlett B J. The epipolythiodioxopiperazine (ETP) class of fungal toxins; distribution, mode of action, functions and biosynthesis [J]. Microbiology, 2005, 151(4): 1021-1032.
- [46] Williams D E, Bombuwala K, Lobkovsky E, et al. Ambewelamides A and B, antineoplastic epidithiapipeperazinediones isolated from the lichen *Usnea* sp. [J]. Tetrahedron Lett, 1998, 39(52): 9579-9582.
- [47] Cui C B, Kakeya H, Osada H. Novel mammalian cell cycle inhibitors, spirotryprostatins A and B, produced by *Aspergillus fumigatus*, which inhibit mammalian cell cycle at G₂/M phase [J]. Tetrahedron, 1996, 52(39): 12651-12666.
- [48] Cui C B, Kakeya H, Osada H. Novel mammalian cell cycle inhibitors, cyclotroprostatins A—D, produced by *Aspergillus fumigatus*, which inhibit mammalian cell cycle at G₂/M phase [J]. Tetrahedron, 1997, 53(1): 59-72.
- [49] Cui C B, Kakeya H, Okada G, et al. Tryprostatins A and B, novel mammalian cell cycle inhibitors produced by *Aspergillus fumigatus* [J]. Antibiotics, 1995, 48(11): 1382-1384.
- [50] Schultz A W, Oh D C, Carney J R, et al. Biosynthesis and structures of cyclomarins and cyclomarazines, prenylated cyclic peptides of marine actinobacterial origin [J]. J Am Chem Soc, 2008, 130(13): 4507-4516.
- [51] Talapatra S K, Mandal S K, Bhaumik A, et al. Echinulin, a novel cyclic dipeptide carrying a triprenylated indole moiety from an anacardiaceae, a cucurbitaceae and two orchidaceae plants: detailed high resolution 2D-NMR and mass spectral studies [J]. J Indian Chem Soc, 2001, 78(10/12): 773-777.
- [52] Wang W L, Lu Z Y, Tao H W, et al. Isoechinulin-type alkaloids, varicolorins A—L, from halotolerant *Aspergillus varicolor* [J]. J Nat Prod, 2007, 70(10): 1558-1564.
- [53] 周俊, 谭宁华. 植物环肽的薄层化学识别新方法及其在植物化学研究中的应用[J]. 科学通报, 2000, 45(10): 1047-1051.
- [54] Chen Y H, Liou S E, Chen C C. Two-step mass spectrometric approach for the identification of diketopiperazines in chicken essence [J]. Eur Food Res Technol, 2004, 218(6): 589-597.
- [55] Furtado N A J C, Vessecchi R, Tomaz J C, et al. Fragmentation of diketopiperazines from *Aspergillus fumigatus* by electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS) [J]. J Mass Spectrom, 2007, 42(10): 1279-1286.
- [56] Fleischhauer J, Joachim G, Kramera B, et al. Calculation of the circular dichroism spectrum of cyclo(L-tyr-L-tyr) based on a molecular dynamics simulation [J]. Biophys Chem, 1994, 49(2): 141-152.
- [57] Cairra M R, Buyukbingol E, Adejare A, et al. Crystal structure of the dipeptide cyclo (glycyl-L-glutamine) [J]. Anal Sci, 2002, 18(10): 1175-1176.
- [58] Faouzi F, Victoriano V, Josh Luis S, et al. DD-diketopiperazines: antibiotics active against *Vibrio anguillarum* isolated from marine bacteria associated with cultures of *Pecten maximus* [J]. J Nat Prod, 2003, 66(10): 1299-1301.
- [59] 赵文英, 顾谦群, 朱伟明. 海洋来源真菌烟曲霉中胶霉毒素类成分研究[J]. 化学研究, 2007, 18(3): 10-13.
- [60] Kilian G, Jamie H, Brauns S C, et al. Biological activity of selected tyrosine-containing 2, 5-diketopiperazines [J]. Pharmazie, 2005, 60(4): 305-309.
- [61] Jamie H, Kilian G, Dyason K, et al. The effect of the isomers of cyclo(Trp-Pro) on heart and ion-channel activity. J Pharm Pharmacol, 2002, 54(12): 1659-1665.
- [62] Unal C B, Owen M D, Millington W R. Cyclo (Gly-Gln) inhibits the cardiorespiratory depression produced by β -endorphin and morphine [J]. Brain Res, 1997, 747(1): 52-59.
- [63] Lucietto F R, Milne P J, Kilian G, et al. The biological activity of the histidine-containing diketopiperazines cyclo (His-Ala) and cyclo(His-Gly) [J]. Peptides, 2006, 27(11): 2706-2714.
- [64] McClelland K, Milne P J, Lucietto F R, et al. An investigation into the biological activity of the selected histidine-containing diketopiperazines cyclo (His-Phe) and cyclo (His-Tyr) [J]. J Pharm Pharmacol, 2004, 56(9): 1143-1153.
- [65] Faden A I, Fox G B, Di X, et al. Neuroprotective and nootropic actions of a novel cyclized dipeptide after controlled cortical impact injury in mice [J]. J Cereb Blood Flow

- Metab, 2003, 23(3): 355-363.
- [66] Faden A I, Movsesyan V A, Knoblach S M, et al. Neuroprotective effects of novel small peptides *in vitro* and after brain injury [J]. Neuropharmacology, 2005, 49(3): 410-424.
- [67] Hlinak Z, Vinsova J, kasafirek E. Effect of alaptide, its analogues and oxiracetam on memory for an elevated plus-maze in mice [J]. Eur J Pharmacol, 1996, 314(1/2): 1-7.
- [68] Gudasheva T A, Boyko S S, Akparov V K H, et al. Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolylglycine in rat brain [J]. FEBS Letters, 1996, 391(1/2): 149-152.
- [69] Prasad C. Role of endogenous cyclo(His-Pro) in voluntary alcohol consumption by alcohol-preferring C57BL mice [J]. Peptides, 2001, 22(12): 2113-2117.
- [70] Gökaltay G, Cavun S, Levendusky M C, et al. Glycyl-glutamine inhibits nicotine conditioned place preference and withdrawal [J]. Eur J Pharmacol, 2006, 530(1/2): 95-102.
- [71] Kow L M, Pfaff D W. The effects of the TRH metabolite cyclo(His-Pro) and its analogs on feeding [J]. Pharmacol Biochem Behav, 1991, 38(2): 359-364.
- [72] Song M K, Hwang I K, Rosenthal M K, et al. Anti-hyperglycemic activity of zinc plus cyclo(his-pro) in genetically diabetic goto-kakizaki and aged rats [J]. Exp Bio Med, 2003, 228(11): 1338-1345.

(收稿日期 2008-07-25)

植物抗肿瘤药物研究概况 VII

顾关云^{1,2} 蒋 昱¹

[1. 复旦大学上海医学院, 上海 200032; 2. 如新(中国)日用保健品公司, 上海 201203]

摘要: 现已研究的、来源于天然植物的抗肿瘤剂分布于 70 余种 300 余种植物中, 具有不同的化学类别与结构特征, 常见的有生物碱、黄酮、萜类等, 为研发抗肿瘤新药提供大量先导化合物。对茄科、梧桐科、野茉莉科、山矾科、茄苳科、紫杉科、杉科、瑞香科、榆科的抗肿瘤植物研究进展进行概述。

关键词: 细胞毒; 抗肿瘤植物; 抗肿瘤剂; 生物活性成分; 抗促癌剂

中图分类号: R282.710.5 R979.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-5515(2009)02-0081-10

(上接《国外医药·植物药分册》2008年第6期)

57 茄科 Solanaceae

57.1 洋金花^[1-2]

洋金花(又名白花曼陀罗) *Datura metel* L. 系灌木状一年生草本植物, 原产印度, 现广布世界温带地区, 中国各地野生或栽培。从该植物地上部分的甲醇提取物中分离和鉴定 3 个新的醉茄内酯苷, 拟名 daturametelin H~J (1~3), 还分得已知的 daturaturin A (4) 和 7, 27-二羟基-1-氧醉茄-2, 5, 24-三烯内酯 (5)。化合物 1~5 对人结肠直肠癌 HCT-116 细胞系的抗增殖实验显示, 醉茄内酯的非苷化合物 5 具最强的活性, IC_{50} 为 $3.2 \mu\text{mol/L}$ ^[1]。

从该植物花的甲醇提取物中分离和鉴定了 10 个新的醉茄内酯 withametelin I~P (1~8)、1, 10-*seco*-withametelin B (9)、12 β -hydroxy-1, 10-*seco*-withametelin B (10), 以及 7 个已知的醉茄内酯。化合物 1, 3, 4 和 6 对肺癌 A549、胃癌 BGC-823 和白血病 K562 等癌细胞系显示细胞毒活性, IC_{50} 为 $0.05 \sim 3.5 \mu\text{mol/L}$ ^[2]。

57.2 酸浆属

酸浆属 *Physalis* L. 植物约 100 余种, 广布于全球, 大部分产于美洲温带和热带地区, 中国有酸浆 *P. alkekengi* L. 等 5 种植物。

57.2.1 苦蕒^[3-7]

Magalhaes 等^[3] 自苦蕒(又名灯笼泡) *P. angulata* L. (简称 Pa) 地上部分分得酸浆苦素 (physalin) B 和 D。这 2 个化合物体外对几种癌细胞系具相当的细胞毒活性, IC_{50} 分别为 $0.58 \sim 15.18, 0.28 \sim 2.43 \mu\text{g/mL}$ 。体内实验证实酸浆苦素 B 和 D 对荷 S_{180} 细胞的小鼠具抗肿瘤活性。Kuo 等^[4] 从 Pa 分得一具新骨架的醉茄内酯 physanolide A 和 2 个新的化合物酸浆苦素 U 和 V。继之又分得 7 个新醉茄内酯 withangulatin B~H 和酸浆苦素 W, 以及 14 个已知化合物 physaprun A、withaphysanolide、dihydrowithanolide E、withaphysalin A 和酸浆苦素 B、D、F、G、I、J、T 等^[5]。这些化合物具广谱细胞毒活性, withangulatin B、酸浆苦素 B、D 和