

- 1971, 31(11): 6407-6408.
- [28] 江纪武. 拉汉药用植物名称和检索手册 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1990.
- [29] 刘米达夫. 世界的民间药 (日) [M]. 东京: 广川书局, 1973.
- [30] Simon J E, Chadwick A F, Craker L E. Herbs an indexed bibliography [M]. Archon books, Hamden, CT, 1984.
- [31] Ellis B E, Towers, Neil C H. Biogenesis of catechol in *Gaultheria*. [J]. Phytochemistry, 1969, 8(8): 1415.
- [32] Samba M K, Rajendra B M. Chemical investigation of the leaves of *Gaultheria fragrantissima* [J]. Indian J Pharm, 1972, 34(5): 125.
- [33] Dey K L. The indigenous drugs of India [J]. International book distributors (India), 1984.
- [34] Wollenweber Eckhard, Kohorst, Gisela, Naturforsch Z C. Novel epicuticular leaf flavonoids from *Kalmia* and *Gaultheria* (Ericaceae) [J]. Biosci, 1984, 39C(7-8): 710.
- [35] 谢笑龙, 黄南, 吴芹. 透骨草香药酒长期毒性的研究 [J]. 贵阳中医学院学报, 1998, 20(2): 59-61.
- [36] 杨基森, 马家骥, 杨璐, 等. 透骨香油载体吸附及其稳定性研究 [J]. 中国中药杂志, 1998, 23(1): 29-32.

苦瓜中植物蛋白的研究概况

欧力, 孔令义

(中国药科大学天然药物化学教研室, 江苏南京 210009)

摘要: 苦瓜是常见的蔬菜, 也有着广泛的药用价值。其中蛋白类成分是极具特色的活性成分, 总结了苦瓜中植物蛋白的研究概况

关键词: 苦瓜; 植物蛋白; 药理活性

中图分类号: R282.71; R284

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2001)10-0949-03

Review of protein and polypeptide of *Momordica charantia*

OU Li, KONG Ling-yi

(Department of Natural Medical Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu 210009, China)

Key words *Momordica charantia* L.; plant protein; pharmacological activity

苦瓜 *Momordica charantia* L. 是葫芦科 (Cucurbitaceae) 苦瓜属植物, 又称癞葡萄和锦荔枝, 其中最具有代表性的活性成分是蛋白及多肽, 如核糖体失活蛋白、类胰岛素多肽等。笔者综述了苦瓜中植物蛋白的研究概况。

1 核糖体失活蛋白 (RIP, ribosome inhibitor protein)

RIP 是一类使核糖体失活从而抑制细胞中蛋白合成的碱性蛋白。许多科研人员从苦瓜中分离纯化了此类蛋白, 虽本质相同, 但侧重不一, 命名也各异, 分述如下。

1.1 苦瓜定 (momordin) 苦瓜抑制剂 (momordin charantia inhibitor): 这是 1980 年 Barbieri 等从苦瓜中最早分离得到的一种 RIP, 为兔子网织红细胞裂解物蛋白合成的强抑制剂 ($ID_{50} = 1.8 \text{ ng/mL}$)。1989 年, 由 Montecucchi 报道了 N 端序列^[1]。1994 年 Husain 对其晶体结构做了研究^[2]。

Barbieri 及 Stripe 随后的工作主要集中在免疫毒素的构建及应用。80 年代 Stripe 等将 momordin 与抗 Thy 1.1 的单克隆抗体及与可识别血浆细胞相关抗原的单克隆抗体 8A 偶联, 构建了免疫毒素。90 年代, 同一研究组将 momordin 与抗 CD₃ 单克隆抗体偶联, 体外可抑制外周血单核细胞 (PM-BC) 及人 T 细胞蛋白和 DNA 的合成。体内也能抑制 JUKAT 白血病 nu/nu 小鼠肿瘤的发展, 其有效率达到 80%

($P < 0.01$), 可用于 CD₃ 的白血病及淋巴瘤的治疗^[3]。1996 年, 他们将 momordin 与可识别人膀胱癌细胞 (T₂ 细胞株) 表达的糖蛋白 gp54 的单克隆抗体偶联 2 h 即可保证 T₂ 细胞与免疫毒素结合及内吞。纳克级即可抑制 50% 蛋白的合成, 而没有偶联的蛋白与非相关抗体偶联的免疫毒素及针对 gp54 的细胞均不显示毒性^[4]。同年, 又构建了抗 CD₃₀ 免疫毒素用于霍奇森氏病及作用于 D430B 细胞^[5]。

1998 年 Bolognesi 将 momordin 与抗 CD₂₂ 单克隆抗体偶联^[6], CD₂₂ 表达的细胞株 Dauudi EHM, BJAB Raji BM21 等均受抑制, IC_{50} 及 IC_{90} 分别为 5×10^{-15} ~ $7.6 \times 10^{-11} \text{ mol/L}$ 和 5×10^{-14} ~ $5 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$, 即使高浓度对 CD₂₂ 不表达的细胞株 h160 也无影响。浓度为 10^{-9} mol/L 时, 骨髓细胞受抑制少于 40%。

由于大分子化合物偶联上叶酸可通过叶酸受体的介导将大分子不受破坏地导入细胞, 而肿瘤细胞膜上叶酸受体又比正常细胞多, 因此 Leamon 构建了 momordin 与叶酸的靶向免疫毒素用于抗肿瘤^[7]。

1990 年, Barbieri 还研究了 momordin 其同聚物及其 IgG 偶联物的药代动力学^[8]。

1.2 MAP30 (Momordica Anti-HIV Protein): 为 1990 年

② 收稿日期: 2001-02-08

作者简介: 欧力 (1970-), 男, 湖南长沙人, 理学硕士。1991-1995 年在湖南中医学院中药系学习, 1995-1998 年在湖南中医学院附属医院工作, 1998-2001 年在中国药科大学天然药物化学专业攻读硕士学位。现为中国科学院上海有机化学研究所博士研究生。研究方向: 天然产物结构与功能研究。Tel: (025) 5391289 E-mail: lykong@yionline.com

Lee-Huang 等从苦瓜果实的种子及果实中纯化得到的碱性蛋白^[9], 分子量为 30 000故名 MAP30, 此蛋白能抑制 CEM- γ S 病灶合胞体的形成, 病毒核心蛋白的生成及逆转活性, ID₅₀ 分别为 0.83, 0.22, 0.33 nmol/L。

进一步研究表明, MAP30作用于病毒繁殖的急性感染及慢性感染的复制期, 还有抗肿瘤、拓扑失活、抑制病毒整合及非细胞系统的核糖体失活作用^[10]。同时, MAP30还能增强地塞米松、吡哆美辛抗 HIV 的作用^[11]; 与疱疹病毒 (HSV) 一起培养可抑制其生长^[12]。近年发现 MAP30能影响乳腺癌细胞抗原 her2 的表达, 可作用于雌激素型高度转移的乳腺癌 (MDA-MB-231), 将 MDA-MB-231 人乳腺癌细胞转移至严重免疫缺陷的小鼠 (SCID MICE) 中, 导致小鼠严重肿瘤转移, 所有的小鼠 46 d 全死于肿瘤, 而经 MAP30 治疗 (10 mg/inj) 的显著地提高了存活率, 20%~25% 的小鼠 96 d 未发现肿瘤^[13]。

1.3 Momorcharins 这是 1984 年 Yeung 从苦瓜子中得到的具有引产活性的蛋白, 译作苦瓜子蛋白, 后证明也是一种 RIP, 叶国杰等人经纯化得到此蛋白。1991 年 Yeung 克隆了 α -Momorcharin 的 cDNA^[14]。1994 年 Xiong^[15] 对 β -Momorcharin 晶体学做了初步的研究。1996 年, 证明 Momorcharins 具有核酸酶活性^[16]。

Yeung 研究表明 Momorcharins 具有广泛的药理活性, 能导致早期及中期流产、致畸、抗肿瘤、免疫抑制、核糖体失活及抗 HIV 作用^[17]。1999 年, Zheng 进一步发现 α -Momorcharin 具抗 HIV 活性, 可显著抑制 HIV-1 急性期复制, 但对慢性感染的 T 淋巴细胞无效^[18]。

1.4 r-Momorcharin 这是一种分子量小于 11 500 的 RIP^[19]。在兔网织红细胞裂解液中抑制蛋白合成, 使肝核糖体与其培养, 显示其作用位点在 4324 位腺苷, 是 28S rRNA 高度保守的环区。

2 类胰岛素多肽 (Insulin-like peptide/insulinomimetic peptide)

苦瓜民间常用来降低血糖、治疗糖尿病, 对其活性成分的研究表明多种物质在起作用, 而多肽是其中不容忽视的活性成分。1974 年 Khanna 首次发现苦瓜中存在类胰岛素多肽 P-insulin^[20], 其后进行了药理研究, 发现 P-insulin 对正常沙鼠、猴及糖尿病人注射有降低血糖作用, 随后又证明其口服同样有效。同期, 国内张世荣等从苦瓜中分离出分子量分别为 8 000~6 000, 2 500~2 000, 1 200~800 的 3 种组分, 均能降低高血糖模型小鼠和正常小鼠的血糖水平 (下降范围 25%~40%), 而且能抑制^[21]。胰岛素与肝细胞膜受体和胰岛素抗血清的结合, 其中分子量 2 500~20 000 的组分在纳克级即有明显效果。3 种组分经蛋白酶处理后, 其生物活性立即消失^[21]。

80 年代, Ng 等对苦瓜中类胰岛素做了深入研究, 发现苦瓜中存在多种类胰岛素的物质^[17, 22, 23], 这些成分可以抑制脂肪细胞的脂肪分解及促进脂肪合成。1986 年, 他们从苦瓜种子中纯化得到一种与半乳糖结合的植物凝集素, 相对分子

量为 124 000, 由 3 个亚基组成, 经热、胰蛋白酶、糜蛋白酶、半乳糖酶等处理, 其抗脂肪分解的活性均消失, 说明蛋白结构的完整性是维持其活性的前提^[24]。1987 年, Ng 等又纯化得到两个分子量均为 8 000 的多肽, 两个多肽有关类似的氨基酸组成, 但它们在阳离子交换柱上色谱行为及其聚丙烯酰胺凝胶电泳行为有着较大的差异^[25]。

1993 年, 陈随军报道了从苦瓜果实中分出的降血糖蛋白 PA^[25], 其等电点为 5.4~5.6, 分子量在 38 000 左右。

3 其它

3.1 蛋白酶抑制剂: 1989 年及 1995 年, Miura 和 Hamato 从苦瓜中分离出丝氨酸蛋白酶抑制剂 MCTH, MCTHI, MCTHI', MCTIHI, BGIT 及弹性蛋白酶 MCEI, MCEI-II, MCEIHI, MCEI-IV^[26]。2000 年 Fong 克隆表达了 MCTHI 的基因^[27], Zhu 对 MCTI-A 与胰蛋白酶复合物的结构做了晶体学研究^[28]。

3.2 凝集素 (Lectin): 凝集素是较早从苦瓜中纯化得到的蛋白, 事实上, Momorcharins 就是糖蛋白, 也有学者发现苦瓜凝集素与 RIP 在序列上有一定的同源性。

通过化学修饰表明, Trp 残基是苦瓜凝集素中糖的结合部位, 应用荧光淬灭及时间分辨技术研究发现 Trp 残基处于疏水的内环境^[29]。

3.3 核糖核酸酶 (Ribonuclease MCI): 1991 年, Ide 报道了 Ribonuclease MCI 的全序列, 次年 De 对其晶体结构进行了研究。Numata 等通过定点诱变分析了其活性残基, 将 His34, His88 突变为 Ala 则催化活性完全消失, His83, Glu84, Lys87 的改变均导致活性下降。用单磷酸核苷酸 CpU 分析 His83, Glu84, Lys87 的突变对酶活性改变的动力学参数, 突变型与野生型的 K_m 值大约一致, 而 K_{cat} 值降低了大约 6~25 倍, 表明了 His83, Glu84, Lys87, His34, His88 与催化活性有关^[30]。

综上所述, 苦瓜作为我国人民常用蔬菜, 来源丰富, 其蛋白及多肽类成分又具有抗肿瘤、降血糖等多种活性, 而我国肿瘤及糖尿病的发病率日趋上升, 因而开发苦瓜中活性成分有着巨大的现实意义和经济效益。

参考文献:

- [1] Montecucchi P C, Lazzarin A M, Barbieri L *et al*. N-terminal sequence of some ribosome inactivating protein [J]. *Int J Pept Protein Res*, 1989, 33: 263-267.
- [2] Husain J, Tickle I J, Wood S P. Crystal structure of momordin, a type I ribosome inactivating protein from the seeds of momordica charantia [J]. *EFBS Lett*, 1994, 342: 154-158.
- [3] Porro G, Bolognesi A, Caretto P. Different cytotoxic activity and intracellular fate of an anti-CD3-momordin immunotoxin in normal compared to tumor cells [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 1993, 36: 346-350.
- [4] Battelli M G, Polito L, Bolognesi A. Toxicity of ribosome-inactivating proteins-containing immunotoxins to a human bladder carcinoma cell line [J]. *Int J Cancer*, 1996, 65: 485-490.
- [5] Tazzari P L, de Totero D, Bolognesi A. An Epstein-Barr virus-infected lymphoblastoid cell line (D430B) that grows in SCID-mice with the morphologic features of a CD30 anaplastic large cell lymphoma, and is sensitive to anti-CD30 immunotoxins [J]. *Haematologica*, 1999, 84: 988-995.
- [6] Bolognesi A, Tazzari P L, Olivieri F. Evaluation of immunotoxins containing single-chain ribosome-inactivating proteins

- and an anti-CD2 monoclonal antibody: in vitro and in vivo studies [J]. Br J Haematol, 1998, 101: 179-188.
- [7] Leamon C P, DePrince R B, Hendren R W. Folate-mediated drug delivery: effect of alternative conjugation chemistry [J]. J Drug Target, 1999, 7: 157-169.
- [8] Wawrzynczak E J, Cumber A J, Henry R V. Pharmacokinetics in the rat of a panel of immunotoxins made with abrin A chain, ricin A chain, gelonin and momordin [J]. Cancer Res, 1990, 50: 7519-7526.
- [9] Lee-Huang S, Huang P L, Nara P L. MAP30: a new inhibitor of HIV-1 infection and replication [J]. FEBS Lett, 1990, 272: 12-18.
- [10] Lee-Huang S, Huang P L, Huang P L. Inhibition of the integrase of human immunodeficiency virus type 1 by anti-hiv plant proteins MAP30 and GAP31 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995, 92(19): 8818-8822.
- [11] Bouninbaier A S, Lee-Huang S. Potentiation of anti-HIV activity of anti-inflammatory drugs, dexamethasone and indomethacin, by MAP30, the antiviral agent from bitter melon [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1995, 208(2): 779-785.
- [12] Bouninbaier A S, Lee-Huang S. The activity of plant-derived antiretroviral proteins MAP30 and GAP31 against herpes simplex virus *in vitro* [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1996, 219(3): 923-929.
- [13] Lee-Huang S, Huang P L, Sun Y. Inhibition of MDA-MB-231 human breast tumor xenografts and HER2 expression by anti-tumor agents GAP31 and MAP30 [J]. Anticancer Res, 2000, 20: 653-659.
- [14] Ho W K, Liu S C, Shaw P C. Cloning of the cDNA of alpha-momorcharin: a ribosome inactivating protein [J]. Biochim Biophys Acta, 1991, 1088(2): 311-314.
- [15] Xiong J P, Xia Z X, Zhang L. Crystallization and preliminary crystallographic study of betamomorcharin [J]. J Mol Biol, 1994, 238(2): 284-285.
- [16] Mock J W, Ng T B, Wong R N, *et al.* Demonstration of ribonuclease activity in the plant ribosome inactivating proteins alpha- and beta-momorcharins [J]. Life Sci, 1996, 59(22): 1853-1859.
- [17] Ng T B, Chan W Y, Yeung H W. Proteins with abortifacient, ribosome inactivating, immunomodulatory, antitumor and anti-AIDS activities from cucurbitaceae plants [J]. Gen Pharmacol, 1992, 23(4): 579-590.
- [18] Zheng Y T, Ben K L, Jin S W. Alpha-momorcharin inhibits HIV-replication in acutely but not chronically infected T-lymphocytes [J]. Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao, 1999, 20(3): 239-243.
- [19] Pu Z, Lu B Y, Liu W Y, *et al.* Characterization of the enzymatic mechanism of gamma-momorcharin, a novel ribosome-inactivating protein with lower molecular weight of 11, 500 purified from the seeds of bitter melon [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1996, 229(1): 287-294.
- [20] Khanna P, Jain S C, Panangariya A. Hypoglycemic activity of polypeptide-P from a plant source [J]. J Nat Prod, 1981, 44: 648-655.
- [21] 张世荣,姚文贞. 苦瓜降糖肽I 分离纯化和特性 [J]. 生物化学及生物物理学报, 1980, 4: 391.
- [22] Ng T B, Wong C M, Li W W. Peptides with antilipolytic and lipogenic activities from seeds of the bitter melon [J]. Gen Pharmacol, 1987, 18(3): 275-281.
- [23] Ng T B, Li W W, Yeung H W. Effect of ginsenosides, lectins and Momordica charantia insulinlike peptide on corticosterone production by isolated rat adrenal cells [J]. J Ethnopharmacol, 1987, 21(1): 21-29.
- [24] Ng T B, Wong C M, Li W W. Isolation and characterization of a galactose binding lectin with insulinomimetic activities from the seeds of the bitter melon Momordica charantia (Family Cucurbitaceae) [J]. Int J Pept Protein Res, 1986, 28(2): 163-172.
- [25] 王敬文,陈随军,龚维桂,等. 植物降血糖活性蛋白新组分 PA 及制备 [P]. 中国专利: 1102188A, 1995-05-03.
- [26] Hamato N, Koshiba T, Pham T N. Trypsin and elastase inhibitors from bitter melon seeds: purification, amino acid sequences and inhibitory activities of four new inhibitors [J]. J Biochem, 1995, 117(2): 432-437.
- [27] Sato S, Kamei K, Tamiguchi M. Cloning and expression of the Momordica charantia trypsin inhibitor II gene in silkworm by using a baculovirus vector [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2000, 64(2): 393-398.
- [28] Zhu Y, Huang Q, Qian M. Structure of the complex formed between bovine beta-trypsin and MCTI-A, a trypsin inhibitor of aquash family, at 1.8-Å resolution [J]. J Protein Chem, 1999, 18(5): 505-509.
- [29] Padma P, Komath S S, Swamy M J. Fluorescence quenching and time-resolved fluorescence studies on Momordica charantia seed lectin [J]. Biochem Mol Biol Int, 1998, 45: 911-922.
- [30] Numata T, Kashiba T, Hino M. Expression and mutational analysis of amino acid residues involved in catalytic activity in a ribonuclease MCI from the seeds of bitter melon [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2000, 64(3): 603-605.

苍耳属中倍半萜内酯的研究进展

张晓琦,叶文才^(*),赵守训

(中国药科大学天然药物化学教研室,江苏 南京 210009)

摘要: 介绍了近年来苍耳属植物中倍半萜内酯化合物的研究概况,包括准确的结构式、植物来源及波谱数据。由于其具有多种活性,尤其是抗肿瘤、抗癌活性,故倍受重视。

关键词: 苍耳属;植物来源;倍半萜内酯

中图分类号: R282.71

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2001)10-0951-03

Progress in studies on sesquiterpene lactones from *Xanthium* L.

ZHAN G Xiao-qi, YE Wen-tai, ZHAO Shou-xun

(*) 收稿日期: 2000-12-13

作者简介: 张晓琦 (1974-)男, 1996年毕业于山东医科大学药学院药学专业, 现在中国药科大学攻读药物化学博士学位。研究方向: 天然产物活性成分研究与新药开发。Tel (025) 5322132 E-mail: xqzhang74@hotmail.com

* 通讯联系人, Tel (025) 5322132