

- gy employing the fingerprint of Chinese materia medica [J]. *J Tradit Med Mater* (中草药), 2001, 24: 235-239.
- [4] Qin H L, Shang Y J, Zhao W, *et al.* Identification of chinese gold thread (*Coptis chinensis*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(1): 48-50.
- [5] Xie P S. On the feasibility of application of chromatographic fingerprint identification to herbal medication [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, 22(6): 391-395.
- [6] Liu L J, Zhang Q B, Zhang S J. Study on HPLC-FPS analysis of *Radix Acanthopanax Sentiocsi* and comparative study on its different sources [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23(11): 781-783.
- [7] Jia X B, Shi Y F, Chen Y, *et al.* Study on HPLC fingerprint of compound Renshen Injection [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(4): 243-245.
- [8] Zhou X Y, Zhang L X, Zhang L, *et al.* Study on HPLC fingerprint analysis of *Flas Carthami* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(5): 325-327.
- [9] Li K, Wang S D, Song B S. Fingerprint of Chinese materia medica and its effects on development of Chinese materia medica [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(11): 961-963.

海绵动物的生物活性产物及其药理作用

巫志峰, 许东晖*, 梅雪婷, 许实波

(中山大学药学院 药物药理研究室, 广东 广州 510275)

摘要: 概括来源于海洋海绵动物中新发现的 36 种生物活性次生代谢产物, 阐述其化学成分及药理作用的研究进展。其化学成分具有生物碱、甾醇、萜类、大环内酯、肽类等。经药效评价且有抗菌、抗病毒、抗肿瘤以及心血管活性等药理作用。这些具明显药理作用的生理活性化合物, 作为新药先导化合物进行研究开发, 具有良好的应用前景。

关键词: 海绵动物; 生物活性产物; 先导化合物

中图分类号: R282.74 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)11-附 10-06

Pharmacological effects of bioactive products from animal of marine sponge

WU Zhi-feng, XU Dong-hui, MEI Xue-ting, XU Shi-bo

(Section of Drugs and Pharmacology, College of Pharmacy, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Key words animal of marine sponge; bioactive products; leading compounds

海绵 (marine sponge) 属于多孔动物门 (Porifera), 是最原始的低等多细胞海洋动物, 全世界约有 10 000~15 000 种, 我国也有 5 000 种左右^[1]。海绵的固着生活方式, 缺乏有效的物理性防御, 由此产生的海绵化合物, 具有显著的生物活性, 包括抗菌、抗肿瘤 (细胞毒性)、抗真菌、抗病毒 (甚至抗 HIV)、抗炎、心血管等活性, 尤其是细胞毒性化合物超过 10%, 显著高于其他海洋动物 (2%), 陆生植物 (<1%) 或微生物 (<1%)。据 1997-2000 年 CA 收录关于海绵研究的 684 篇论文中, 活性物质研究的论文占总数的 41.7%, 发现抗肿瘤活性的报道占 52.6%, 有 150 篇之多, 涉及到的活性物质约 307 种; 抗 HIV 活性物质的研究论文累计 8 篇, 发现了 15 种具有体外抗 HIV 活性的天然物质^[1]。

本文通过 Medline 联机检索查新后, 选取了具研究代表性, 并有进一步研究或开发价值的新化合物 36 种, 分别阐明其来源、化学成分和药理作用, 系统地概括具生物活性的海绵天然产物的研究进展和学术动态, 这对于研究开发新药具有学术意义。

1 氟化硅酸钾 (K_2SiF_6)

从穆氏软海绵 *Halichondria moorei* 中分离所得。经 X 光和原子吸收光谱分析, 发现其体内有大量的氟化物, 确定该海绵抗炎成分为 K_2SiF_6 。在不同海域分别采集到两批这种海绵进行定性分析表明: 该海绵干品的氟含量为 11.5% 和 9.75%, 换算成 K_2SiF_6 分别为 22.2% 与 18.7%; 按湿品计算, 两批海绵平均含 K_2SiF_6 为 6%。有很好的消炎作用, 新西兰海岸的毛利人, 自古以来用这种海绵外敷伤口。

2 二倍半萜烯类化合物 (manoolide, MLD)

二倍半萜烯类物质 manoolide (MLD) 采自栖息于太平洋西加罗林群岛附近水深 20~35 m 处的海绵 *Luffariella variabilis*, 分子式为 $C_{25}H_{36}O_6$, 为不定形固体物。结构新颖, 与已知的镇痛药如吗啡、内啡肽、水杨酸盐及吲哚美辛等结构上无相关性。MLD 对磷脂酶 A 磷脂酶 C 鸟氨酸脱羧酶及醛糖还原酶等多种酶具有抑制作用, 对细胞膜上 Ca^{2+} 通道有阻滞作用, 对环氧酶 (COX) 与脂氧酶有双重抑制作用, 是一种具有重要开发研究价值的海洋天然产物。

2.1 抗炎作用

2.1.1 对磷脂酶的抑制作用: 体外实验证明, MLD 具有显

* 收稿日期: 2003-03-11

基金项目: 国家海洋 863 课题资助 (2001 AA624080)

作者简介: 巫志峰, 中山大学药学院天然产物药理学研究方向硕士生。

* 通讯作者 Tel (020) 84113651 E-mail: Lsdl@zsu.edu.cn

著抗菌作用,对脓链霉菌及金黄色葡萄球菌的活性尤为明显。对磷脂酶 A_2 (PLA₂)具有抑制作用。

2.1.2 对致炎二十碳烯酸的调节作用:研究表明,PLA₂为其生物合成的促酶,MLD不仅对 PLA₂有直接抑制作用,而且对致炎的前列腺素 E_2 (PGE₂)和白三烯 C_4 (LTC₄)的合成亦有作用。体外实验表明:MLD能抑制小鼠巨噬细胞的释放,抑制巨噬细胞内 PGE₂的生物合成,且具有剂量依赖关系;还能抑制巨噬细胞对 LTC₄的释放。小鼠体内药理实验证明,MLD抑制小鼠扭体反应,小鼠体内的镇痛作用,不完全是抑制二十碳烯酸的结果,可能与对其他致炎介质如补体、组胺等的释放抑制有关。

2.1.3 钙通道阻滞作用:Wheeler在几种细胞株中证实了MLD具有强有力的钙通道阻滞作用,MLD为一种强效的Ca²⁺动员抑制剂,推断MLD的钙抑制作用可能与其抗炎、抗增生的药理作用有关。

2.1.4 抑制内皮松弛因子的释放:现已证实,内皮松弛因子(endothelium-derived relaxant factor, EDRF)为一种脂类物质,受花生四烯酸(AA)代谢物的控制。MLD可能通过抑制5脂氧酶(5-LO)而呈现抑制EDRF合成及释放的作用,此种抑制作用不可逆,也可能与钙通道阻滞有关。

2.2 药效评价

2.2.1 潜在的 PLA₂抑制剂:目前尚无无特异性 PLA₂抑制剂用于临床。MLD为共价结合型 PLA₂抑制剂,其抑制作用很强,以其结构中的母核可望合成一种交联型 PLA₂抑制剂。

2.2.2 潜在的 COX和 5-LO双重抑制剂:对炎症的研究表明,一种理想的抗炎药该是 COX和 5-LO的双重抑制剂。迄今已有 BW775G 苯洛芬(Benoxaprofen)及替美加定(Timegadine)等双重抑制剂,但MLD为目前发现的唯一具此种作用的海洋天然产物,作用比 BW775G强。

2.2.3 可作为抗炎药物开发研究:MLD的异构体 secomanolide,以及从另一海域采得的 *Luffariella variabilis* 中得到两个结构类似的化合物 luffariellin A和 B,它们的抗炎效应几乎相同。

3 二倍半萜 scalarane 衍生物

我国的沐浴角骨海绵 *Spongia officialis*及杯叶海绵 *Phyllispongia foliascens*中均含有该类化合物,是萜类家族中最少的一族。Scalarane是由一个醋酸仲醇酯和一个环外双键的五元环内酯结合起来的二倍半萜。有抗炎作用,其衍生物有持续性降压效果;另有抗假丝酵母细胞活性;以及中等强度的细胞毒性:对KB细胞的 IC₅₀为 20 μ g/ml。

4 海绵高度氧化甾醇(contignasterol)

从新几内亚巴布亚岛海绵 *Petrosia contignata*中获得高度氧化甾醇。具有抗炎活性,预期很快进入临床试验阶段。

5 海绵核苷

从海绵 *Dasyohalina cyathina*的粗提物及加勒比海海绵 *Cryptethia crypta*中分离得到。是腺苷(adenosine)和 2-脱氧腺苷,另一类核的腺苷为甲氧基衍生物——海绵素(spongosine)。此外还从 *Anisodoris nobilis*中分离得到了 dondo-

sine,化学名为 *N*-甲基异鸟嘌呤(*N*-methylisoguanosine),adenosine (A),doridosine (D),spongosine (S)对心血管系统有相似的作用,只是作用的强度不同。(1)减慢心率和减弱心肌收缩力,作用强度为: A> D> S 舒张冠脉血管,增加冠脉流量。作用强度为: A> S> D;(2)降低麻醉大鼠和豚鼠的血压,作用强度为 D> S。

6 甲基多孔海绵素(aplysinopsin)

从海绵 *Aplysinopsis* sp.分离得到的 aplysinopsin 的甲基同系物,是一种新颖的海洋天然产物。甲基多孔海绵素是一种抗抑郁剂,小鼠或大鼠 po 后,可阻止 tetra-benzamine (丁苯喹啉或四苯喹,安定药)的作用,用 5-HT 作研究基质时,甲基多孔海绵素是效应很强的单胺氧化酶活性的短期抑制剂,体内实验证明,可增加小鼠脑中 5-HT 浓度。它还是一种 [³H]-5-HT 神经吸收的弱抑制剂和从预先标记的突触小体中,5-HT 诱导释放 K⁺ 的激动剂。

7 阿布特海绵素(aaptamine)

由海绵 *Aaptos aaptos* 中提取分离得到,能特异性地阻断去甲肾上腺素引起的离体兔动脉血管条的收缩活动,是较强的 α 受体阻滞剂。

8 喀拉胺(keramadine)

由海绵 *Agelas* sp.中分离所得,keramadine 能特异性地对抗由 5-羟色胺引起的离体兔动脉血管收缩。有趣的是,由海绵 *Hymeniacidon* sp.提取分离的 hymenidin 为 keramadine 的碳骨架反式异构体,也有对抗 5-羟色胺的作用。而 hymenidin 碳骨架环化了的 hymemim,则表现有 α 受体阻滞作用。

9 光溜海绵素(xestospongin)

Xestospongin是从海绵 *Xestopongia exgua* 中提取分离的生物碱类物质,具有扩张血管的作用,狗离体血管条实验证实,对不同部位血管条的活性大小不同。其活性大小顺序为脑基底动脉>冠状动脉>肾动脉>股动脉。

10 海绵自主素(autonomium)

从真海绵属的 *Verogia fistularis*获得,具有非常特殊的结构——由乙酰胆碱的季胺头部和肾上腺素的苯乙胺部连接而成。其结构特殊性决定了其生理活性的特殊性:(1)具有 α β 肾上腺素能活性。对麻醉狗表现出短暂的升压及随之而来的平均动脉压下降的双向反应,这种作用可被 α β 受体阻滞剂所阻滞;(2)离体实验表明,具有致痉挛作用,阿托品的抗组胺药都不能完全阻断这种反应;(3)能兴奋中枢神经系统,可使小鼠的自由活动明显增加。这种二元自主神经活性物质在自然界中还是很少见的。

11 阿糖胞苷(arabioside cytarabine, Ara-C)

从我国南海岁氏豆莢软珊瑚 *Lobophytum chevalieri*及佳丽鹿角珊瑚 *Acropora pulchra* 中可提得。Bergmann 和 Burke 自 20 世纪 50 年代于隐南瓜海绵 *Cryptethia crypta* 中发现了胸腺嘧啶核苷(简称海绵胸苷),此后又分离出海绵尿苷及海绵核苷,它们均属于阿拉伯糖苷类似游离状态存在于海绵组织中,为胸腺嘧啶、胸腺嘧啶脱氧核苷等。这些化合物

的发现为人们合成核苷类药物提供了天然模式。在此基础上,后来合成了 *D*-阿拉伯糖胞嘧啶,即现在的 Ara-C,能通过抑制 DNA 聚合酶而干扰 DNA 的合成。临床主要治疗急性白血病及消化道癌,对单纯疱疹性结膜炎亦有效。目前应用最广的抗癌药氟尿嘧啶 (fluorouracil, 5-FU) 是据此设想合成的。

12 大田软海绵酸 (okadaic acid, OA)

OA 是从软海绵属中分离得到的 C_{38} 长链脂肪酸的多醚衍生物。能抑制致癌基因,使它逆转为正常表现型,但其同族物也可作为肿瘤促进剂,现已成为研究生命科学极有价值的工具药物。现已用人工培养原甲藻提取获得,但仍不能商业化规模生产。

13 软海绵酸 (halichondrin B)

三浦半岛海绵 *Halichondria okadai* 提取物通过硅胶和 Sephadex LH20 柱色谱分离得到 3 种抗肿瘤活性成分,即 okadai, norhalichondrin A 及 halichondrin B^[2]。抗肿瘤试验表明,okadai 对 P388 白血病细胞和 L1210 白血病细胞的 IC_{50} 分别为 7×10^{-3} 和 $1.7 \times 10^{-2} \mu g/mL$ 。但是剂量大于 0.12 mg/kg 对小鼠产生毒性反应;norhalichondrin A 和 halichondrin B 对 B16 黑色素瘤具有抑制作用, IC_{50} 分别为 5.2 和 0.09 $\mu g/mL$;对接种了 B16 黑色素瘤细胞和 P388 白血病细胞的小鼠,当注射 norhalichondrin A 与 halichondrin B 的海绵活性物质剂量为 500 $\mu g/kg$ 时,则能延长小鼠生命率分别达 244% 和 236%。

14 海绵多羟基链四烯内酯 (discodermolide)

Discodermolide 是 Pomponi 小组于 1987 年从深海海绵 *Discodermia dissoluta* 中首次分离的抗肿瘤成分,属于一种多羟基链四烯内酯化合物 (polyhydroxylated alkatetraene lactone)。其抗肿瘤作用机制与紫杉醇 (Taxol) 类似,抗有丝分裂效应比 Taxol 强 100 倍,目前已经由 Novartis 公司进行临床试验^[3]。

15 海绵酪氨酸代谢物 (aerophysinin 1)

由海绵 *Verongia aerophoba* 分离所得的一种酪氨酸代谢物。Aerophysinin 1 能选择性地抑制上皮细胞生长因子受体 (EGFR) 酪氨酸蛋白激酶 (PTKs) 的磷酸化作用,对高表达的乳腺癌、肺癌有极强的抑制作用。当其浓度为 0.25~0.5 mmol/L 时,即可使肿瘤细胞死亡,然而其浓度高达 10 倍时,对正常成纤维细胞亦无影响,该化合物现已进入 I 期临床试验。

16 海绵双溴化酪氨酸代谢物 (psammaphysins)

由海绵 *Druinella purpurea* 产生的双溴化酪氨酸代谢产物,即 Psammaphysin A~C,对人结肠癌 HCT116 细胞系均呈中等程度的细胞毒性作用。加勒比海绵 *Aplysina lacunosa* 产生的溴酪氨酸衍生的生物碱,即 11-oxoaerothionin (11 氧硫重) 对人结肠癌 HCT116 细胞系有抑制作用,抑制浓度范围为 0.01~0.1 $\mu g/mL$ 。

17 深水浙皮海绵吡啶生物碱 (dercitin)

从巴哈马群岛深水浙皮海绵 *Dercitus* sp. 分离的吡啶生

物碱,即 dercitin 药理作用具有: (1) 离体条件在 1×10^9 mol/L 就具有细胞毒性,可抑制人及小鼠的白血病、肺癌、结肠癌细胞的生长,其 IC_{50} 为 63~150 mmol/L,作用机制可能是作为核酸的插入剂以及干扰 DNA、RNA 的生物合成。(2) 在动物实验中,dercitin 可延长 p338 腹水瘤的寿命 [剂量为 5 mg/kg 时,治疗组比对照组值 (T/C) 为 170,即可延长 70% 的寿命],并对 B₁₆ 黑色素瘤细胞及 Lewis 肺癌细胞有抑制活性,其作用机制与瘤药物的作用机制相同。(3) 在寻找对固体瘤特异的癌症化学治疗剂时,dercitin 有望成为一种可被系统修饰的主体化合物。(4) 抗 DNA 病毒活性:对单纯疱疹病毒 (HSV-1), EC_{50} = 5 mol/L; 抗 RNA 病毒活性:对小鼠冠状病毒 (murine coronavirus),浓度为 1 mol/L 时 100% 抑制,在 5 mg/L 时,有抗 HIV 作用;还有抗肿瘤作用,因毒性较大, Taraporewala 等已对其进行了结构改造。

18 海绵倍半萜化合物 (phyllactones)

从南沙群岛海绵 *Phyllospongia ofliascens* 获得的 5 种倍半萜化合物,即 phyllactones A~E 对 KB 细胞系有中等程度细胞毒作用, IC_{50} 为 20 $\mu g/mL$ 。

19 海绵二萜化合物 (styxanol)

海绵 *Myrmekiodermastys* 产生的二萜类系列化合物,即 styxanol 1~7 组份中 1,3,6 化合物,对小鼠 P388 白血病细胞系及人 A549 肺癌细胞系均有中等程度的细胞毒作用。

20 海绵含内酯环三萜化合物

从海南岛附近采集的海绵 *Stelletta tenuis* 中分离得到一种含一个内酯环的三萜。对 p388 白血病细胞具有很强的毒性,表现出来的 ED_{50} 为 0.001 $\mu g/mL$ 。从海绵 *Rhabdastrella golbostillata* 中分离的一种三萜化合物,合成了它的甲酯,其相对和绝对立体构型通过 ^1H-NMR , $^{13}C-NMR$ 和 CD 光谱得以确定,具有很强的抗肿瘤活性与免疫功能。

21 海绵鲨肝醇

多次从海绵中得到的鲨肝醇,具有升高白血球的作用。

22 海绵鞘类脂糖苷化合物

从海绵 *Iotrochota ridley* 中得到的一个新型骨架的鞘类脂糖苷化合物。具有强的细胞毒性,在我国还未见有关这类化合物的报道^[4]。

23 海绵杂环类化合物

从日本采集的蒂壳海绵属海绵中可分离到 5 种新的多功能杂环多肽 theopederins A~E; 从新西兰山海绵属 *Mycale* sp. 及冲绳群岛蒂壳海绵属 *Theomella* sp. 中提取出相似杂环类化合物,即 mycalamide A、B 及 onnamide。Theopederins 的结构与从新西兰采集的一种山海绵属海绵中分离的 mycalamide A 及从冲绳岛采集的蒂壳海绵属海绵中分离的 onnamide A 的结构类似。

Theopederin 对 p388 鼠白血病细胞具有强烈的细胞毒性,其 IC_{50} < 1 ng/mL。最有潜力的 theopederin A,其体内抗 p388 的试验结果表明其有显著的抗肿瘤活性 (剂量为 0.1 mg/kg 时,治疗组比对照组值为 205)。

Mycalamide 及 onnamide 两种化合物在体外均有潜在

的细胞毒活性,在体内对多种白血病和实体瘤模型系统有抗肿瘤活性,这对此类抗肿瘤试剂的潜在作用提供了另外的证据。对 P388肿瘤细胞系,HL-60 HT29 A549人肿瘤细胞系以及 B16黑色素瘤、Lewis 肺癌、M5076卵巢癌等皆有抑制作用,并能使 ras (癌基因)转化的 NRK 细胞系回复突变至正常细胞,并抑制 p21-ras 的蛋白合成。

24 海绵多环生物碱 (manzamine)

Manzamine 可从多种海绵获得,如日本海域海绵 *Amphimedon* sp. 和菲律宾海域海绵 *Xestospongia ashmorica*, 是一系列 β 吡啶化合物,分子中具独特的多环体系。从海绵 *Amphimedon* sp. 分离的 6 羟基-曼赞碱 A 和 3,4-二氢化-曼赞碱 A 对革兰氏阳性藤黄八叠球菌有强抗性 (MIC 为 1.25 和 4.0 μ g/mL)。从菲律宾海域海绵 *Xestospongia ashmorica* 分离的 manzamine 衍生物对 L1578y 鼠淋巴瘤细胞有细胞毒性作用 (ED₅₀ 1.6~1.8 mg/mL)。

25 海绵吲哚生物碱 (makaluvamines)

从海绵兹兹阿属 (*Zyzzya*) 属中提取所得的 makaluvamine 化合物,是吡咯并吲哚苯醌生物碱 (pyrroloimino-quinone),属吲哚生物碱 (indole alkaloids)。Makaluvamine A, C, D, E, F, I, N 等分离自菲律宾海绵 *Zyzzya fuliginosa*; makaluvamine P 分离自瓦努阿图群岛 (西南太平洋岛国) 海绵 *Zyzzya cf. fuliginosa*^[5]。

Makaluvamines 具有相当大细胞毒活性,它能抑制 DN A 拓扑异构酶 II 的活性,并使 DN A 双链断裂,抑制人结肠癌 HCT 116 细胞系的生长,以及延长人卵巢癌荷瘤小鼠的寿命。Makaluvamine F 和 A 是对 HCT116 细胞系细胞毒性最强的。Makaluvamine A 和 C 能减少人类实体瘤的大小。Makaluvamine N 能抑制拓扑异构酶 II (topoisomerase II) 的催化活性。而且 makaluvamine C 显示可产生蛋白质相关的 DN A 双链断裂, makaluvamine A 通过中性过滤洗提 (neutral filter elution) 使 DN A 双链断裂,机制类似于 4'-(9-acridinylamino)-methanesulfon-m-anisidide (m-AMSA)。Makaluvamine P 显示对 KB 细胞在 1×10^{-3} mol/L 浓度范围有细胞毒性以及抗氧化活性^[5]。

26 海绵咪唑醇 (girodazole)

从海绵 *Pseudaxinyssa cantharella* 中提取所得,其化合物的分子式为 3-amino-1-[4-(2-amino-1H-imidazolyl)]-propanol, 2HCl。其药理作用为: (1) 体内试验表明,可抑制小鼠移植肿瘤包括白血病 (P388, L1210, ip) 和实体瘤 MA 16/C 乳腺癌、M5076 细胞肉瘤 (MA 16/C mammary adenocarcinoma, M5076 histiocytosarcoma, sc/fv); 体外试验以相同细胞毒性抑制 P388 肿瘤细胞系 (P388 和 P388/DOX 细胞) 的生长,而且体内试验保留对 P388/DOX 细胞的抗肿瘤活性。Girodazole 化学结构独特,为临床应用的抗肿瘤药物或处于临床试验阶段的新化合物。其作用机制是抑制延长或终止阶段的蛋白质合成。(2) 该化合物已进行 I 期临床试验。临床试验中,giroline 对 12 个患难愈固体瘤的晚期病人每 3 个星期 3~15 mg/m² 的剂量进行 24 h 静注。限制剂量的毒

性反应是迟发性低血压和衰弱。最大耐受量 (MTD) 为 15 mg/m²。而且在所有剂量水平下的静注皆有报告短暂恶心和呕吐,在 3 mg/m² 以上的剂量水平的大多数病人可观察轻微可逆的凝血素时间和部分促凝血酶原激酶激活时间的延长,并未观察到抗肿瘤活性,其毒性反应阻止了在癌症病人进一步评价。

27 海绵脂肪酸 (calyculins)

从日本 Sagami 海湾海绵 *Discodermia calyx* 提取所得以及从海绵 *Theonella swinhoe* 提取的 calyculin 的衍生物,主要活性成分是 calyculin A (CL-A) 化合物,从中又发现其去磷基衍生物 dephosphonocalyculin A; CL-A 独特的分子结构组成是一个八甲基多羟基二十八碳脂肪酸,连有两个 γ 氨基酸^[6]。

药理作用显示 calyculin A 能抑制小鼠 L1210 和 P388 白血病细胞系的增殖,更能特定地抑制蛋白磷酸酶 I 和蛋白磷酸酶 II A (PP-I 和 PP-2A) 的活性 (IC₅₀ 分别为 0.5~1 和 2 nmol/L)。Dephosphonocalyculin A 也能抑制 PP-I 和 PP-2A 的活性 (IC₅₀ 分别为 3.0 和 8.2 nmol/L),其抗 P388 白血病细胞系的细胞毒性试验的 IC₅₀ 为 18 ng/mg^[6]。

新发现的 calyculin 衍生物显示对多种来自不同物种和组织的细胞系具有依赖剂量的细胞毒性, ID₅₀ 范围是 20~90 ng/mL。但不影响对多种药物呈抗性的 HELA 亚克隆 (sub-clone) 的成活力,且不阻止抗血清诱导的霍奇金氏淋巴瘤细胞系 (Hodgkin's lymphoma cell line) HDLM-2 的凋亡。佛波酯和脂多糖诱导的这些细胞的分化以后可观察到单核细胞系 MONOMAC-6 的药物敏感性降低。但是,非分裂的外周血细胞也可抵抗以这种 calyculin 衍生物的作用,提示该细胞毒性化合物选择性地作用于增殖细胞而非正常静止细胞,有开发成新型药物的潜力^[7]。

28 蜂海绵毒素 (halitoxin)

从蜂海绵属 (*Haliclona*) 多种海绵中提得,是由吡啶联结而成的相对分子质量 500~1 000 或 25 000 以上的混合物,具有抗癌、抗菌及溶血活性,对鼻咽癌细胞的有效抑制浓度为 7 μ g/mL。

29 贪婪偃海绵倍半萜氢酯化合物 (avarol, avarone)

从贪婪偃海绵 *Dysidea avara* 中分离出的 avarol 和 avarone 是一类新型倍半萜氢酯化合物。Avarone 是 avarol 的衍生物。

30.1 显著免疫增强作用: avarol 在体外对 L5178Y 鼠淋巴瘤系统具有很强的抑制活性,在浓度为 0.9 mol/L 时细胞生长抑制率为 50%,该品为抗有丝分裂和抗诱变剂的倍半萜,在体外 0.1 μ g/L 可抑制 HIV 复制,通过抑制逆转录酶 (RT) 作用来抑制 HIV 在 H₉ 细胞中的复制,当 avarol 浓度为 1 mg/L 时,对此酶活性抑制率为 63%,而 avarone 可抑制 86%,并可抑制 HIV gag 基因产物 p17, p24 的表达,最有效的浓度为 1 mg/L。但其正常细胞毒活性,并有细胞保护作用。在人体外周血淋巴细胞中产生 γ -干扰素诱导作用。

30.2 毒性低治疗指数高,可通过血脑屏障: avarol 和

avarone 不仅具有毒性低、治疗指数高的特点,还因其脂溶性高,可透过血脑屏障,满足中枢神经系统病变患者的需要。avarol 的结构变体在其他海洋生物中亦可发现,例如偃海绵科 (Dysidea) 海绵, Thai 科海绵等。

30 红海海绵碘化六异戊二烯氢醌 (toxiusol)

从红海海绵 *Toxidona toxius* 分离出碘化六异戊二烯氢醌化合物 (sulfated hexaprenoid hydroquinones), 同时还分离得到结构类似物 shaagrocol B, shaagrocol C, toxicol A 和 toxicol B 等, 其药理作用: (1) 这些化合物均具有抑制 HIV-1, HIV-2 型逆转录酶 DNA 合成的 RNA 活性, 而不影响核糖核酸酶 (RNase H) 活性。 (2) toxiusol 对依赖 RNA 的 DNA 聚合酶抑制作用最显著, IC_{50} 为 1.5 mmol/L , IC_{95} 为 4.6 mmol/L , 而依赖 DNA 的 DNA 聚合酶抑制作用则明显不如 RNA 的敏感, IC_{50} 为 6.6 mmol/L , IC_{95} 为 41.6 mmol/L 。该作用方式表明 toxiusol 可以有效识别逆转录酶的两种 DNA 聚合酶的活性, 可供开发为新型高选择性的抗逆转录酶药物, 因为逆转录酶的依赖 RNA 的 DNA 聚合酶活性是一种独特的性能, 即只在病毒感染的哺乳动物细胞中, 才有明显程度的表达。 (3) 现已证明 toxiusol 对多种病毒 (reverse transcriptases, RT) 有抑制作用, 即人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV-1)、马传染性贫血病毒 (equine infectious anemia virus)、鼠白血病病毒 (murine leukemia virus); 它还影响 DNA 聚合酶的活性, 即 α -DNA 聚合酶, β -DNA 聚合酶和大肠杆菌 DNA 聚合酶 I 对其作用机制研究表明, toxiusol 可能是通过其极性基团以高亲和力 ($K_i = 1.2 \text{ mmol/L}$) 非竞争不可逆结合 HIV-1 逆转录酶。

31 海绵胍类生物碱 (batzelladines)

从加勒比海海绵 *Batzea* sp. 中分离的一系列新多环胍类生物碱。其药理作用有: (1) 应用可溶性 CD_4 重组体和 HIV-1 的 gp120 重组体的酶联免疫吸附试验 (ELISA), 应用 ELISA 和基于细胞的方法, 均证明 batzelladine A, B 具有潜在的抑制 CD_4 /gp120 结合的活性, 因此, 对 HIV 的治疗有潜在的作用。 (2) 测试可溶 CD_4 对固定 gp120 的结合, batzelladine A, B 的 IC_{50} 分别是 29 和 $31 \mu\text{mol/L}$ 。测试 gp120 对正性 T_4 细胞 CD_4 分子的结合, batzelladine A, B 的 IC_{50} 分别是 10 和 25 mmol/L 。 (3) HIV-1 是艾滋病的诱发病毒, 首先必须侵染宿主细胞才能自我复制。艾滋病治疗剂潜在的分子靶点是 HIV-1 病毒在宿主 T 细胞的结合位点。结合是通过 HIV-1 表面糖蛋白 gp120 和 CD_4 受体与 T 细胞的相互作用而发生。Batzelladines 的作用机制是阻止病毒 HIV-1 表面糖蛋白 gp120 和人类 T_4 细胞的 CD_4 受体的选择性结合, 从而避免 T_4 细胞的感染。若 T_4 细胞的不断感染会导致免疫功能的丧失, 极易发生各种机会的感染, 即 AIDS 前兆。

32 海绵大环内酯 (altohyrtins, cinachyrolide, spongistatins)

Altohyrtins 分离于海绵 *Hyrtios altum*, cinachyrolide 分离于 *Cinachyra* sp., spongistatins 分离于 *Spongia* sp.^[8], 三者具有相同的碳架, 带两个螺缩酮部分和一个卤原子。现

已实现对 altohyrtins A 和 C 的人工合成。具有强烈的细胞毒性。altohyrtins A~C 和去乙酰基-altohyrtin 对 KB 细胞的 IC_{50} 分别为: 0.01, 0.02, 0.4 和 0.3 ng/mL; 对 L1210 的 IC_{50} 分别为: 0.1, 0.03, 1.3 和 2.3 ng/mL。

33 海绵缩酚酸环肽 (arenastatins A)

从琉球半岛附近海绵 *Dysidea arenaria* 得到的缩酚酸环肽 (depsipeptide) 与美国 FDA 临床试验 I 期药物 cryptophycin 1 结构相似, 具极强的细胞毒性, 对 KB 细胞的 IC_{50} 为 5 pg/mL ; 对抗鼠白血病 P388 的抗肿瘤活性 ip 较 iv 效果明显。

34 海绵多聚乙酰 (callystatin A)

Callystatin A 是从日本西南海域海绵 *Callyspongia truncata* 和另一种海绵 *Stelletta* sp. 分离得到的多聚乙酰, 在同一海域的一种海鞘中也可分离得到, 提示其可能由共生微生物产生, 现可人工合成^[9]; 结构与多种已知具抗肿瘤活性的化合物 (leptomycin, kazusamycin, anguinomycin, leptofuranin) 相似; 具极强的细胞毒性, 对 KB 细胞的 IC_{50} 为 10 pg/mL 。

35 海绵多羟基甾醇乙酸酯 (agosterol A)

Agosterol A 是从日本 Kii 半岛沐浴海绵属海绵 *Spongia* sp. 分得的多羟基甾醇乙酸酯, 具有可逆转多药物抗药性 (reversing multidrug resistance)^[10]。

36 海绵动物活性产物作为新药先导化合物的发展前景

从海绵来源的化合物, 极有希望为新药研制提供大量高活性的先导化合物。其生物活性物质的发现以每年上百种的速度递增, 各国制药企业已对此投入大量资金和人员, 以加速其开发成为新药。但迄今为止, 能够顺利进行商业开发的海绵药物寥寥无几, 更鲜见进入临床应用的化合物, 多数停留在体外实验的阶段, 进入体内实验的活性物质只有几种 (表 1)。唯一获得 FDA 批准应用于人体 II 期临床试验的海绵药物是从隐南瓜海绵提取的天然产物, 再开发得到的阿糖胞苷 Ara-A, C^[11]。

从海绵来源化合物研制新药的过程存在种种困难, 首先是来源种属生物分类的问题。提取的化合物经筛选试验证明具有活性, 但来源种属鉴定困难而且不甚可靠, 传统的特征分类方法已不能满足要求, 故尚需分子生物学的鉴定手段支持。另一重大难题在于来源的可持续性, 海绵体内的活性物质含量非常低。以 halichodrin B 为例, 从 1 t 湿重海绵最终仅可提取获得 310 mg 的纯品^[12]。同时, 捕捞海绵资源有限, 还要破坏海洋生态环境, 即使如此也不能满足临床前药理研究所需的药品量。所有这些, 今后的发展将有赖于化学合成、水产养殖、细胞和组织培养、培养异源受体的转基因菌等多种手段加以克服。另外, 对于采集的样品缺乏足够的药理筛选, 挖掘其生物活性, 也妨碍了海洋天然产物研制成新药。令人欣慰的是, 不少制药企业、研究机构已通过高通量筛选技术, 应用于这些天然产物的筛选之中。因此, 大量来源于海绵的天然产物, 研制成新药必将获得成功, 这是具有极大开发前景的天然产物新领域。

表 1 海绵生物活性产物开发现状
Table 1 R& D status of marinesponge-derived bioactive products

现 状	化合物	来源海绵品种	活性作用
体外活性	数以百万计	—	—
体内活性	manoalide	<i>Luffariella varia-bilis</i>	抗炎、工具药
	contignaterol	<i>Petrosia contignata</i>	抗炎
	异同源软海绵素 (isohomohalichondrin B)	大田软海绵 <i>Hali-chondria okadaia</i>	抗肿瘤
	spongistatins /altohyrtins	<i>Hyrtios altum</i>	抗肿瘤
	贪婪偃海绵醇 (avarol)	贪婪偃海绵 <i>Dysidea avara</i>	抗病毒
临床前	浙皮海绵内酯 (discodermolide)	深水浙皮海绵 <i>Discodermia dissoluta</i>	抗肿瘤
I期临床	软海绵素 (hali-chondrin B)	大田软海绵	抗肿瘤
	agelaspin	<i>Agelas mauritiana</i>	抗肿瘤
II期临床	Ara-A (Vidarabine [®])	隐南瓜海绵 <i>Cryptothia crypta</i>	抗病毒
	Ara-C (Cytarabine [®])	隐南瓜海绵	抗肿瘤

References

[1] Zhang X Y, Zhao Q Y, Xue S, *et al.* Bioactive compounds from marine sponges and cell culture of marine sponges [J]. *Chin J Biotechnol* (生物工程学报), 2002, 18(1): 10-16.
[2] Hu Z, Ma R T, Yu L J. The research progress in okadaic

acid [J]. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物杂志), 2001, 79(1): 46-50.
[3] Fan X, Yan X J. The front-line of marine drugs research abroad and developmental strategy for China [J]. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物杂志), 1999, 18(2): 42-45.
[4] Tian C L, Deng S Z, Wu H M. The research in chemical components of marine sponges *Iotrochota ridley* [J]. *Guangzhou Chem* (广州化学), 1998(1): 36-38.
[5] Casapullo A, Azella K, Prazzella L, *et al.* Makaluvamine P, a new cytotoxic pyrrolimoquinone from *Zyzya cf. fuliginosa* [J]. *J Nat Prod Rep*, 2001, 64(10): 1354-1356.
[6] Volter K E, Blaik C J, Franki D, *et al.* The solution structures of calyculin A and dephosphonocalyculin A by NMR [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1999, 9(5): 717-722.
[7] Steube K G, Jennaka B K, Stanley N, *et al.* A new calyculin derivative from the sponge *Theonella swinhoei* is novel and potent inhibitor of tumor cell proliferation [J]. *Anti-cancer Res*, 1998, 18(1A): 129-137.
[8] Uckun F M, Mao C, Jan S T, *et al.* Spongistatins as tubulin targeting agents [J]. *Curr Pharm Des*, 2001(7): 1291-1296.
[9] Luiz C D, Paulo R R M. Synthesis of C13-C22 fragment of the marine sponge polyketide callistatin A [J]. *Tetrahedron Lett*, 2002, 43(2): 185-187.
[10] Murakami N, Sugimoto M, Morita M, *et al.* Synthesis and evaluation of 4-deacetoxyagosterol A as a MDR-modulator [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2000, 10(22): 2521-2524.
[11] Fusetani N. *Drugs from the Sea* [M]. Basel: Karger Press, 2000.
[12] Ronald O, Johannes T, Rene H W. Cultivation of marine sponges [J]. *Mar Biotechnol*, 1999, 1: 509-532.

益母草的化学、药理和临床研究进展

阮金兰^{1,2}, 杜俊蓉¹, 曾庆忠¹, 钱忠明¹

(1. 香港理工大学 传统中医药基础产品研究与开发中心, 香港 九龙; 2. 华中科技大学同济医学院药学院, 湖北 武汉 430030)

摘要: 查阅近 20 年有关文献, 对益母草的化学成分、药理作用、临床应用研究进展进行综述。益母草主要含有生物碱类、黄酮类、二萜类、脂肪酸类、挥发油类等化合物; 药理作用研究证明其具有调经止血、保护心肌缺血再灌注损伤、抗血小板聚集、降低血液黏度等作用; 在临床上常用来治疗流产后出血、冠心病、心肌缺血、高黏血症、痛经等疾病。益母草具有广泛的药理活性, 对其药效学物质基础进行深入研究和开发, 将具有重要意义。

关键词: 益母草; 化学成分; 药理作用

中图分类号: R282.71 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)11-附 15-05

Advance in studies on chemical components, pharmacological effect and clinical application of *Leonurus japonicus*

RUAN Jin-lan^{1,2}, DU Jun-rong¹, TZANG Alexander HC¹, QIAN Zhong-ming¹

(1. Developmental Center of TCM based Products, Hong Kong Polytechnic University, Kowloon, China;
2. College of Pharmacy, Tongji Medical Center, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Key words *Leonurus japonicus* Houtt.; chemical components; pharmacological effect

收稿日期: 2002-12-06

基金项目: 香港理工大学 ITRS 研究基金 (G12 XX-93A)

作者简介: 阮金兰 (1952-), 男, 湖北当阳人, 教授, 博士生导师, 1986 年赴美国伊利诺依大学研修, 1997 年赴美国俄亥俄州立大学研修, 2002 年赴香港理工大学研修, 主要从事中药与天然药物化学研究。
Tel (027) 83691961 Fax: (027) 83693335 E-mail jinlan5952@hotmail.com