

植物类中药活性蛋白成分研究进展

李晓波, 金鑫, 李妍, 刘忠*

(上海交通大学药学院, 上海 200030)

摘要: 从植物的蛋白质类成分中寻找新的药物是今后一个重要的发展方向。已有的研究表明, 植物蛋白具有多方面的生物活性。核糖体失活蛋白是植物中广泛存在的一类具有较好抗肿瘤活性的蛋白质, 通过干扰肿瘤细胞遗传信息链而诱导细胞凋亡; MAP30, PAP, GAP31 等植物蛋白通过影响病毒 DNA 复制表达而显示出抗 HIV 病毒活性; 多种植物蛋白还通过促进免疫细胞增殖、提高免疫细胞功能, 起到增强免疫调节的作用。此外, 在清除体内氧自由基、催化纤维蛋白原溶解等方面, 植物蛋白也显示出明显的活性。展望了植物蛋白在新药开发上的相关研究和前景。

关键词: 蛋白质; 生物活性; 核糖体失活蛋白; 中药

中图分类号: R282.710.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)06-0706-03

Recent advances in bioactive proteins from herbal medicine

L I X iao-bo, J N X in, L I Yan, L U Zhong

(School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030, China)

Key words: protein; bioactivity; ribosome-inactivating protein (RIP); Chinese materia medica

蛋白质是一类重要的高分子化合物, 存在于所有动物和植物的各种组织、细胞, 是生命存在的主要物质基础。迄今为止来源于动物的一些具有重要药理活性的蛋白已应用于临床。近年来的研究还发现植物中的某些蛋白质也具有较好的药理活性, 同时一些蛋白也是中药的一类重要有效成分。本文就此方面的研究进展按其活性进行了综述。

1 抗肿瘤活性

天花粉蛋白(trichosanthin, TCS)是从葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 的块根中提取的毒蛋白, 是由 247 个氨基酸组成的单链、碱性蛋白质, 属核糖体失活蛋白(ribosome-inactivating proteins, RIPs), 同时也是中药天花粉、栝楼的主要活性成分, 有较好的抗肿瘤活性。对 TCS 抗肿瘤作用机制的研究表明, TCS 能够诱导人白血病细胞株 HL-60、胃癌细胞株 MKN-45 和黑色素瘤细胞凋亡^[1-3]。蓖麻毒素(ricin)是从大戟科植物蓖麻 *Ricinus communis* L. 的种子(蓖麻籽)中分离到的蛋白, 其毒性是目前所发现的植物毒素中最强的毒素之一。Ricin 是由分别含 263 和 259 个氨基酸的 A、B 两条链组成的糖蛋白, A 链为活性链, 用于制备免疫毒素进行癌症的靶向治疗^[4]。研究证明 ricin 能够影响细胞内的磷酸化状态, 并激活细胞内有丝分裂原激活蛋白激酶(MAPK)^[5]; 诱导人外周血单核细胞或 U937 细胞产生肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和细胞白介素 1β (IL- 1β)^[6]。葫芦科植物苦瓜 *Momordica charantia* L. 为药食同源的中药, 从其种子中分离获得了多种活性蛋白, 研究较多的 MAP30 是一种相对分子质量为 30 000 的碱性糖蛋白。苦瓜中活性蛋白

不仅具有抗肿瘤作用^[7], 还可将苦瓜蛋白(momordin)与单克隆抗体^[8]或与叶酸^[9]偶联制成免疫毒素用于肿瘤治疗。槲寄生为常用中药, 从中分离到的多种蛋白质成分很小的剂量即表现出抗癌活性, 其抗癌机制主要是干扰细胞遗传信息, 表现出对 DNA 水平选择性抑制作用, 对恶性 Hela 细胞、良性羊膜细胞有特效^[10]。相思子毒素(abrin)是从豆科植物相思子 *Abrus precatorius* L. 中分离得到的细胞毒性蛋白, 对小鼠艾氏腹水瘤细胞、L1210 白血病、B16 黑色素瘤和 Lewis 肺癌均有明显的抑制作用^[11]。研究表明多数 RIPs 皆具有较强的抗肿瘤活性。

芦荟为百合科多年生常绿、肉质草本植物, 目前对芦荟的利用不仅限于入药, 在化妆品、食品上也展示了充分的前景。从中华芦荟、库拉索芦荟和木立芦荟的叶肉组织中分离得到的 3 个凝集素 Lec1, Lec2 和 Lec3, 体内、体外实验均能抑制肿瘤细胞的繁殖, 其中 Lec3 抑制作用最强^[12]。但结构与性质还有待于进一步的研究。

2 抗病毒活性

目前临床应用的抗 HIV 药物多为化学合成, 往往不良反应大, 易产生耐药性。从传统中药和植物资源中寻找新的抗 HIV 药物或先导化合物是国内外新药研究中活跃的领域。RIPs 除抗肿瘤活性外, 还具有广谱的抗病毒的活性。采用病变抑制法和放射免疫法在 3 种细胞培养系统上测定 TCS 对病毒的抑制作用表明, 当 TCS 浓度在 0.001~10 μ g/mL 时对乙型肝炎、柯萨奇 B2、麻疹、腺病毒 3 型、单纯疱疹病毒 I 型、水泡性口炎病毒和乙型肝炎病毒有明显的抑制作

* 收稿日期: 2003-09-22

作者简介: 李晓波(1963—), 女, 博士, 教授, 1991—1998 年赴日留学攻读学位, 主要从事生药学、植物分子生物学研究。

Tel: (021)62932500 E-mail: xbli@mail.sjtu.edu.cn

用,且抑制活性随浓度升高而增加^[13];显著抑制HIV-1急性感染中p24抗原的表达,减少HIV抗原阳性细胞数^[14];但TCS自身的核糖体抑制作用性质决定了其抗HIV-1活性^[15]。MAP30具有N-糖苷酶活性、破坏DNA拓扑结构活性及抑制HIV-1整合酶活性,能特异地作用于病毒DNA影响其复制表达;不仅天然型MAP30对许多类型病毒感染的细胞非常有效,而且基因重组表达的MAP30具有与天然产物同样的功能和特性^[16]。从美洲商陆*Phytolacca americana* L.不同组织和季节分离得到的PAP I(春叶)、PAP II(夏初)、PAP III(夏末)、PSP-S(种子)和PAP-R(根)等多种蛋白也具有广谱抗病毒作用,尤其对于HIV病毒^[17,18]。除上述的TCS、MAP30、PAP外,从老鼠拖瓜*Trichosanthes ovigera* Bl.、大叶木鳖子*Momordica macrophylla* Gagn.等植物根中得到的粗提蛋白也有显著抑制HIV增殖的作用^[15]。此外,从丝瓜*Luffa cylindrica* L.种子中获得的丝瓜毒素(luffin),石竹科植物肥皂草*Saponaria officinalis* L.种子、根、叶均能提取到的肥皂草毒素(saporin),苦瓜籽蛋白(momorcharin)和大戟科的多花白树*Gelonium multiflorum* L.种子中获得的GAP31蛋白等对HIV-1整合酶均具有强抑制作用^[19]。

3 免疫调节活性

TCS通过改变不同功能的T细胞的比例,起到增强体液免疫功能的作用^[3]。槲寄生凝集素(mistletoe lectin)对细胞免疫和体液免疫有促进作用,可增强人体外周NK细胞的功能,激发外周血巨噬细胞活性及造血母细胞活性,诱导β内啡肽水平的升高,减低细胞分裂时姊妹染色体间的交换从而具有稳定DNA,促进DNA修复的作用^[10]。从中药白头翁*Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel的根中得到一种糖蛋白能明显增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬中性粒细胞的作用,并可诱导巨噬细胞产生一氧化氮^[20]。白花蛇舌草*Odenlandia diffusa* (Willd.) Roxb.为茜草科一年生草本植物,有清热解毒和利尿的功效。有报道白花蛇舌草提取物ODE能够促进小鼠脾细胞的增殖,增强小鼠和人的NK细胞对肿瘤细胞的特异性杀伤活性,增强B细胞抗体的产生以及单核细胞的细胞因子的产生,增强单核细胞对肿瘤细胞的吞噬功能,研究还证实ODE的主要成分为糖蛋白^[21]。芦荟凝集素对淋巴细胞转化功能具有明显的促进作用^[12]。灵芝-8是从多孔菌科真菌赤芝*Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst.的菌丝体中提取到的活性蛋白,体内实验证明该蛋白通过调解抗体的产生及对黏附分子的影响而发挥免疫抑制作用;对灵芝子实体和破壁孢子粉提取的蛋白进行小鼠脾淋巴细胞转化实验研究表明,来自孢子粉的灵芝蛋白促淋巴细胞增殖作用较强,且呈现剂量依赖效应^[22]。含多种蛋白成分的中药黄芪*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.提取物AME能够促进人外周血单核细胞(PBMC)的增殖,提高杀伤性T细胞(CTL)活性,增强外周血黏附单核细胞(PBAM)对肿瘤细胞的吞噬和产生细胞因子的功能^[23]。由于AME为多组份,还需进行进一步的分离以及结构分析研究。

4 其他

槲寄生凝集素可诱导人体内超氧化物歧化酶(SOD)的释放及体内氧自由基的清除^[10]。从苦瓜籽中得到的2种RIPs蛋白均具有类SOD活性^[24]。茜草*Rubia cordifolia* L.中分离得到的糖蛋白QC初步研究证明为一种由多种糖残基组成的多分支的杂多糖蛋白,具有明显的清除自由基的活性^[25]。

豆豉纤溶酶具有较强的催化纤维蛋白原溶解的作用,因而有望成为一种新型抗血栓药物或预防血栓病的保健食品^[26]。中药浮萍为浮萍科植物紫萍*Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid.的干燥全草,有报道从中发现一种能溶解纤维蛋白的抗血栓蛋白酶^[27]。

5 总结与展望

5.1 植物RIPs: RIPs是广泛存在于植物界的一类蛋白质,迄今为止已从350余种植物中筛选到110多种RIPs,植物RIPs根据其肽链数目的不同分为I型和II型两种,I型RIPs由一条多肽链组成,称单链蛋白,已经纯化过的RIPs大多数是单链蛋白质,如TCS、美洲商陆毒蛋白(PAP)和苦瓜毒蛋白等。II型RIPs由A、B两条多肽链借助二硫键连接而成,仅在大戟科、豆科、豆番莲科、忍冬科、桑寄生科、樟科发现过,如蓖麻毒蛋白、相思子毒蛋白和香樟毒蛋白等。RIPs种类繁多,性质稳定,来源方便,制备也较方便和安全。

各种抗体和毒素结合的免疫毒素制品成为当今先导药物设计的热点。目前导向药物的主流是在单克隆抗体上连接各种“弹头药物”,借助抗体选择性结合到肿瘤细胞表面使毒素将肿瘤细胞杀死。“弹头药物”包括放射性同位素、小分子抗癌药和毒蛋白3类。这其中来自植物的毒素也成为目前追踪的热点之一。RIPs与单克隆抗体、激素、生长因子等交联制成免疫毒素在肿瘤治疗、艾滋病治疗以及骨髓移植等方面有着令人鼓舞的前景。

RIPs具有抗肿瘤、抗病毒活性,尤其是能抑制HIV复制及用于免疫毒素制备的特性,因而继续探索植物RIPs仍然是植物活性蛋白研究的重要方面。但是目前像苦瓜籽蛋白那样,一种蛋白集3种酶活性(N-RNA糖苷酶活性、DNA酶活性、类SOD酶活性)于一身的RIPs只有少数几种,因而寻求各种RIPs新的活性及应用也显得尤为必要。

5.2 已知蛋白的活性研究:据文献报道从许多植物已分离出蛋白质成分,但其活性未知,这为我们寻找活性蛋白提供了捷径。如白头翁茎中获得的毒蛋白以及人参蛋白、红花蛋白、草乌毒蛋白、天门冬糖蛋白、枸杞糖蛋白、板蓝根和泽泻仙蛋白等,它们的药理活性需进一步的实验研究。在研究中可以采用一种类推方法,如已知槲寄生毒素具有强抗癌活性,从同科属植物入手,如白槲寄生、柿寄生、柄果槲寄生和枫香槲寄生等,寻找含有抗癌活性的蛋白成分;再如栝楼根的天花粉蛋白具有抗癌、抗菌等多种活性,同科属的王瓜根也含有蛋白质,是否有抗癌活性,很值得探讨。总之,植物蛋白成分的药理活性已展示了充分的利用前景,有待于不断深入探索。

References

- [1] He X H, Zeng Y Y, Sun H, et al. Induction of apoptosis in human leukemic HL-60 cells by trichosanthin [J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理学杂志), 2001, 17 (3):

- 200-203.
- [2] Tu S P, Jiang S H, Qiao M M, *et al.* Induction of apoptosis by trichosanthin in gastric cancer cell MKN-45 [J]. *Cancer (癌症)*, 2000, 19(12): 1105-1108.
- [3] Bi L Q, Li H J, Zhang Y H. Effect of trichosanthin of cell cycle and apoptosis of murine melanoma cell [J]. *Chin J Integrated Tradit West Med (中国中西医结合杂志)*, 1998, 18(1): 35-37.
- [4] Schnell R, Staak O, Borchmann P, *et al.* A phase I study with an anti-CD30 ricin A-chain immunotoxin (K14-dgA) in patients with refractory CD30+ Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(6): 1779-1786.
- [5] Dong J Y, Yao L B, Peng X X, *et al.* Effect of ricin on mitogen activated protein kinase of hepatoma [J]. *Chin J Biochem Mol Biol (中国生物化学与分子生物学报)*, 2000, 16(6): 798-802.
- [6] Federico L, Mana C M. Ricin induces the production of tumour necrosis factor- α and L-1 β by human peripheral-blood mononuclear cells [J]. *Biochem J*, 1993, 294: 517-520.
- [7] Kim J H, Ju E M, Lee D K, *et al.* Induction of apoptosis by momordin I in promyelocytic leukemia (HL-60) cells [J]. *Anticancer Res*, 2002, 22(3): 1885-1889.
- [8] Bolognesi A, Tazzari P L, Oliveri F, *et al.* Evaluation of immunotoxins containing single-chain ribosome-inactivating proteins and an anti-CD22 monoclonal antibody (OM124): *in vitro* and *in vivo* studies [J]. *Br J Haematol*, 1998, 101(1): 179-188.
- [9] Leamon C P, Deprince R B, Hendren B W. Folate-mediated drug delivery: effect of alternative conjugation chemistry [J]. *J Drug Target*, 1999, 7(3): 153-169.
- [10] Gong Z N, Zhang S Q, Chen G X, *et al.* Structure and biological functions of the anticancer proteins from mistletoes [J]. *Chin J Biochem Pharm (中国生化药物杂志)*, 2001, 22(5): 259-261.
- [11] Ramnath V, Kuttan G, Kuttan R. Antitumour effect of abrin on transplanted tumour in mice [J]. *India J Physiol Pharmacol*, 2002, 46(1): 69-77.
- [12] Tian B, Wang G L, Fang H J. Characterization of lectins from *Aloe* species and their influences on growth of animal cells [J]. *Mod Chem Ind (现代化工)*, 2002, 22(8): 33-37.
- [13] Yang X K, Chen Z L, Duan S M. Antiviral activities of TKP isolated from *Trichosanthes kirilowii* [J]. *Chin J Virol (病毒学报)*, 1990, 6(3): 219-223.
- [14] Zheng Y T, Ben K L, Jin S W. Anti-human immunodeficiency virus activity of proteins from 17 species of plants [J]. *Virol Sin (中国病毒学)*, 1998, 13(4): 312-320.
- [15] Wang J H, Nie H L, Tam S C, *et al.* Anti-HIV-1 property of trichosanthin correlates with its ribosome inactivating activity [J]. *FEBS Lett*, 2002, 531(2): 295-298.
- [16] Wang X Y, Gao L X. Research progress on antiviral of MAP30 from *Momordica charantia* [J]. *Amino Acids Biotech Res (氨基酸和生物资源)*, 2000, 22(2): 6-11.
- [17] Rajamohan F, Venkatachalam T K, Irvin J D, *et al.* Pokeweed antiviral protein isoforms PAP-I, PAP-II, and PAP-III depurinate RNA of human immunodeficiency virus (HIV)-1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 260(2): 453-458.
- [18] Uckun F M, Chelstrom L M, Tuel-Ahlgren L, *et al.* TXU (anti-CD7) pokeweed antiviral protein as a potent inhibitor of human immunodeficiency virus [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998, 42(2): 383-388.
- [19] Au T K, Collins R A, Lam T L, *et al.* The plant ribosome inactivating proteins luffin and saporin are potent inhibition of HIV-1 integrase [J]. *FEBS Lett*, 2000, 471: 169-172.
- [20] Dai L, Wang H, Chen Y. The immune-enhancing effect of PcGA- α glycoprotein isolated from dried root of *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Rege [J]. *Chin J Biochem Pharm (中国生化药物杂志)*, 2000, 21(5): 230-232.
- [21] Shan B E, Zhang J Y, Du X N, *et al.* Immunomodulatory activity and anti-tumor activity of *Oldenlandia diffusa* *in vitro* [J]. *Chin J Integrated Tradit West Med (中国中西医结合杂志)*, 2001, 21(5): 370-374.
- [22] Ye B P, Wang Q H, Zhou S J, *et al.* Isolation of proteins from *Lingzhi* and study on its immune activity [J]. *Pharm Biotechnol (药物生物技术)*, 2002, 9(3): 150-152.
- [23] Wang R T, Shan B E, Li Q X, *et al.* Extracorporeal experimental study on immunomodulatory activity of *Astragalus membranaceus* extract [J]. *Chin J Integrated Tradit West Med (中国中西医结合杂志)*, 2002, 22(6): 453-456.
- [24] Fu M H, Tian J. Isolation, purification and oxidation of ribosome inactivated proteins from seeds of *Momordica charantia* L. [J]. *Chin J Biochem Pharm (中国生化药物杂志)*, 2002, 23(3): 134-136.
- [25] Wang H X, Wang B J, Ma B P, *et al.* Isolation, purification, and structure investigation of glycoprotein QC from *Rubia cordifolia* L. [J]. *Bull Acad Mil Med Sci (军事医学科学院院刊)*, 1998, 22(4): 277-280.
- [26] Yan J Q, Tong Y, Zang Y A. Purification and characterization of the fibrinolytic enzyme in fermented soya beans [J]. *Pharm Biotechnol (药物生物技术)*, 2000, 7(3): 149-152.
- [27] Choi H S, Sa Y S. Fibrinolytic and antithrombotic protease from *Spirodela polyrrhiza* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2001, 65(4): 781-786.

小檗碱药理作用研究进展

郑洪艳¹, 徐为人^{2*}

(1. 天津医科大学, 天津 300070; 2. 天津药物研究院, 天津 300193)

小檗碱(berberine, Ber)又名黄连素,是存在于6科(小檗科、罂粟科、毛茛科、芸香科、防己科、鼠李科)植物中异喹啉类生物碱,最初作为清热解毒药和抗菌药应用于临床。Ber作为抗菌药在临床上已应用多年,其疗效确切,是一种广谱抗菌药物,对多种革兰氏阳性、阴性菌以及真菌、霉菌、病毒、原虫、线虫具有抑制杀灭作用^[1]。随着对Ber研究的不断深入发现其对心脑血管系统、血糖、肿瘤及肝脏等多方面具有

药理作用,本文就近年来Ber药理作用的研究作一综述。

1 抗炎和免疫调节作用^[2,3]

Ber能够抑制实验动物的急慢性炎症。皮下注射Ber 4, 8 mg/kg能抑制二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀,抑制率达73.9%和84.1%;*po* Ber对角叉菜胶引起的大鼠足趾肿胀、慢性棉球肉芽肿也有明显的抑制作用。另外*sc* Ber 20, 50 mg/kg对组胺引起的大鼠皮肤毛细血管通透性增加有抑制

* 收稿日期: 2003-09-24

作者简介: 郑洪艳(1976—),女,山东潍坊人,在读硕士研究生,研究方向为生化药理与新药筛选。

* 通讯作者 Tel: (022)23003529 E-mail: xwr@tj.cnuninet.net