

海洋生物中抗肿瘤活性成分的研究进展

ADVANCES IN STUDIES ON ANTINEOPLASTIC SUBSTANCES OF MARINE ORGANISMS

杨文鸽

(宁波大学 315211)

从 20 世纪 60 年代开始,“向海洋要药”成为沿海国家药学研究的新方向,各国学者用现代科学方法从海洋生物中分离和鉴定出了许多结构新颖、作用独特的天然物质,其中有 5 000 多种具抗病毒、抗肿瘤、抗凝血等药理作用,从而成为研制开发新药的基础。而从海洋活性物质中筛选攻克肿瘤的特效药,无疑是国内外科学家研究的热点。美国国立肿瘤研究所每年筛选 30 000 个新的抗肿瘤化合物,约 5% 来自海洋生物。业已证实,约 10% 的海洋动物提取物有抗 P₈₈ 白血病及 KB 细胞活性,3.5% 的海洋植物提取物有抗癌或细胞毒活性。本文对近几年来海洋生物中抗肿瘤活性成分的研究作一综述,并对其开发与利用进行展望。

1 海洋生物中的抗肿瘤活性成分

1.1 海洋微生物

自海洋假单胞菌中分离到抗生素硝吡咯菌素之后,人们开始在海洋微生物中寻找新的抗癌药,并且已把目光转向海洋微生物的培养、发酵技术及其代谢产物的研究上,目前日本在这方面的研究处于领先地位。冈见发现的一株黄杆菌属(*Flavobacterium*)海洋细菌能产生一种胞外多糖,已定名为 Marinactin,具有 75%~95% 的肿瘤抑制率,能延长携带各种哺乳动物肿瘤小鼠的寿命,显著增加脾脏抗体形成细胞。在体外它能刺激淋巴细胞的转化作用,活化巨噬细胞,已在日本作为治疗肿瘤的佐剂上市^[1]; K. Custafson 等从海洋细菌中分离得到大环内酯类化合物 Macclactins, Trichoharzin, 具有抗病毒、抗肿瘤、抗菌及细胞毒性^[2]; Chondramides A-D 是从粘球菌 *Chondromyces* 中发现的一类新型缩酚酸肽,对体外多

种人癌细胞有极强的细胞毒性,如 KB3-1(颈部肉瘤),K-562,HL-60 和 PKK2 等,半数抑制浓度 IC₅₀ 为 3~60 μg/ml,是一种强效抗癌剂。此外,从日本海北部 3 000 多米深的海底泥里分离到一株 *Alteromonas haloplanktis* 的海洋细菌,在海水配制的培养基中进行发酵(20℃),能产生一种可以抑制肿瘤细胞的离子载体类代谢产物^[1]。

1.2 海藻

夏威夷大学在几百种蓝绿藻中发现了大量的细胞毒素,其中以伪枝藻科和真枝藻科产生的细胞毒素最多,如 Patterson 等从 *Scytonema pseudohumani* 中分离到的 Scytopycin B 以及从 *Tolythrix conglutinata* var. 和 *Scytonema nimbile* 中得到的 Tolytoxin 都是一种伪枝藻毒素,对 KB 细胞、植入大鼠腹膜内的 P₈₈ 白血病和路易斯肺癌细胞具强烈的抑制作用。90 年代以来, Koehn 1992 年从委内瑞拉水域的巨大鞘丝藻 *Lyngbya majuscula* 中分离得到两种新颖的脂肽 Microcadin A, B, 在体外有明显的抗小鼠 P₈₈ 白血病细胞活性,IC₅₀ 为 0.4 μg/ml; 从蓝藻 *S. nimbile* BY8-1 K 中发现的 3 种类似伪枝藻毒素的大环内酯(Scytopycin-type macrolides), 6 种异氰类化合物(Mrablene isonitriles A-F), 5 种亚胺类化合物(Mrabimides A-E) 和约 24 种肽类衍生物在一定剂量下都能杀死 KB 细胞^①; 在实验室培养的甲藻 *Amphidinium* sp. 中分离出一系列大环内酯化合物,其中含 15,19 个碳原子的 Amphidinolide J, K 对 L₁₂₁₀ 白血

① 刘发义. 中国第 5 届海洋与湖沼药物学术开发研讨会论文集(上册), 1998, 113~119

收稿日期:1999-12-10;修回日期:2000-03-06

病细胞的 IC_{50} 分别为 2.7, 1.65 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 对 KB 细胞的 IC_{50} 分别为 3.9, 2.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 含 15 个碳原子的 Amphidinolide O, P 具有一定的细胞毒性。

从鼠尾藻 *Sargassum thunbergii* 中得到的两种多糖 Gl V A, B 具抗癌活性, 静滴 Gl V A 可显著抑制切除了原发灶的小鼠肺肿瘤转移, 并使外周巨噬细胞、白细胞及肺内巨噬细胞数量增加, 静注 Gl V A 可激活巨噬细胞并抑制肺癌转移, Gl V A 可降低荷瘤小鼠肝细胞微粒体中苯胺化酶及氨基吡啉脱甲基酶的活力, 使其他化疗药物 (5-FU) 在组织中浓度得以提高。目前的各项研究表明 Gl V A 有可能成为一种临床上用于治疗肿瘤转移的新剂。

1992 年 Boyd^[3] 小组首次从海洋红藻松香藻中分离到 Halomon, 药理研究表明它不仅独特的作用机制, 而且对不敏感的癌细胞系具有选择性活性, 目前已进入临床前药理评估阶段。

1.3 海绵动物与腔肠动物

海绵是一类最原始最低等的多细胞动物, 它的长久不腐烂现象提示海绵中存在极强的细胞毒性物质。利用海绵的核苷类物质作为基本骨架, 进行人工修饰得到阿糖胞苷, 在临床上用于治疗白血病, 这是利用海洋生物中天然活性物质创制新药的首例。来自海绵 *Luffinella canabillis* 的 Mancealide 属倍半萜烯类化合物, 既有抗炎活性, 又有抗肿瘤性, 目前该药物已被美国 FDA 批准并在美国癌症研究院 (NCI) 的主持下进行临床试验; 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, 药理研究表明其抗肿瘤作用机制与紫杉醇类似, 抗有丝分裂效应比 Taxol 强 100 倍, 目前已经由 Novartis 公司进行临床实验^[3,9,10]。此外在海绵中还提取了数百个结构新颖的化合物, 其中不少是药物先导化合物, 许多具有明显的细胞毒性和抗肿瘤活性。

如在 *Lithistida*, *Chonistida*, *Axnellida* 等目海绵中得到了一系列具抗癌的活性环肽与脂肽, 如 Jaspamide 能抑制原白血细胞自我更新能力, 可为严重的脊髓白血病患者提供有用的治疗方法, Polydiscamide A, Phakellistatins 及 Aciculitins A-C 分别对肺癌 A₅₄₉ 细胞、P₃₈₈ 白血病及 HCT₁₆ 细胞有抑制作用^[11]; Acosta AL. 等研究指出, 加勒比海海绵 *Aplysina lacunosa* 产生的溴酪氨酸衍生的生物碱 11-oxoacerothionin 对人

结肠癌 HCT₁₆ 细胞有抑制作用^[2]; 曾陇梅等从我国南海海绵 *Phyllospongia pliasens* 中分离得到 5 个晶状二倍半萜, 其中 Phyllofonone-B 具有细胞毒性, 对 P₃₈₈ 白细胞的 IC_{50} 为 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 来源于 *Luffinella* 属海绵的二倍半萜 Luffinolides A-E 均为无色油状物, 对 L₁₂₁₀ 细胞均有一定活性, 其中 A, B, E 活性较强, IC_{50} 为 1.1 ~ 1.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ^[5]。

不同种类的珊瑚中含有多种抗肿瘤活性物质^[2], 由南海西沙群岛水域采集的软珊瑚 *Clavulana virdis* Guoy and Caird 中分离到 5 种具不饱和内酯环的二萜化合物, 可直接杀死艾氏腹水瘤细胞和抑制 S₈₀ 腹水瘤细胞; Michael 等注意到海葵毒素 ApA, ApB 为含有 3 对二硫键的 49 肽, 具有极强的抗肿瘤活性; Pettit 等由沙海葵中分离出 4 种能抑制 P₃₈₈ 淋巴细胞白血病 PS 的小肽 Palystatin A-D, 它们对体外 PS 瘤系细胞毒的半数有效浓度 ED_{50} 分别为 0.0023, 0.020, 0.0018 和 0.022 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 用 K_2CO_3 和 2 mol/L HCl 水解从南海鳞灯芯柳珊瑚 *Juncellin squamata* 分离出的 Juncellin A (JA) 分别得到二羟基产物 JA1 和四羟基产物 JA2。药理实验显示: 在 30 ~ 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时, JA1 和 JA2 具有抑制 A₅₄₉ 细胞生长的活性, 而对正常人细胞的生长无影响。

1.4 软体动物

美国学者 Pettit 等^[12] 从截尾海兔 *Dolabella auricularia* 中分离到一系列抑癌活性很高的海兔毒素小肽 Dolastatin 1-15, 是目前已知来源的抗肿瘤剂中活性最强的一类。研究得最多的是 Dolastatin 3, 10, 15, 其中以 Dolastatin 10 最具医学发展潜力, 它是一种四肽, 其中 3 个为特殊氨基酸, 体外试验表明 Dolastatin 10 对白血病肿瘤 (P₃₈₈ 和 L₁₂₁₀)、B₁₆ 黑色素瘤、LOX 人黑色素瘤及 M₅₀₇₆ 子宫瘤等有非常好的疗效, 其中对 P₃₈₈ 白血病细胞的 IC_{50} 仅为 0.04 ng/ml, 现已被美国 FDA 批准进入临床试验阶段; 同时 Pettit 等还对 Dolastatin 10 和 15 进行了全合成、结构修饰和构效关系研究, 修饰产物 Aunstatin PE 和 LU 03793 已分别在日本和欧洲进入临床实验研究。黑斑海兔 *Aplysia kurodai* 中分离出的 Aphyranin 对 Ehrlich 肿瘤小鼠有一定抗肿瘤活性, 在紫色液体中得到的糖蛋白化合物 Aphyranin P 是一种细胞溶解因子, 剂量为 3 ~ 25 mg/ml 时能在 2 h 内抑制肿瘤细胞的合成, 在 18 h 内溶解所有的实验性肿瘤细胞, 延长 MM₁₆ 腹水瘤小鼠的存活时间, 但不

破坏 PBC, WBC; 脱溴海兔毒素取自长尾背肛海兔的消化腺, 具有抗肿瘤、抗白血病的活性, 用 $1.5 \mu\text{g}$ 剂量对患 P₃₈₈ 肿瘤的小鼠给药, 小鼠生命可以延长 67%^①

Sasaki 等从虾夷盘扇贝中分离出 3 种对小鼠 S₁₈₀ 肉瘤均有很强抑制作用的成分-DG1, DG2, DG3, 其中 DG1 能激活宿主巨噬细胞, 20 ng/ml 的肿瘤抑制率达 99.3%。乌贼墨的抗肿瘤作用, 最早是日本青森产业技术中心和弘前大学发现的, 随后他们又从中分离得到了一种全新结构的黏多糖, 该黏多糖可明显抑制甚至消除大鼠的移植纤维恶性肿瘤, 使生存率提高到 60%~80%; 我国学者吕昌龙等也发现乌贼墨及其提取物可提高肿瘤坏死因子 α (TNF α) 和白细胞介素 1 (IL-1) 的分泌水平, 增加 NK 细胞的杀伤活性, 发现乌贼墨对 Meth A, S₁₈₀ 两种肉瘤的抑制率分别为 95%, 71%, 并一定程度地抑制移植瘤的形成^[6]。此外从普通蛤中提取的蛤素, 扇贝边、长砗磲中提取的糖蛋白, 鲍鱼及蝶螺、紫贻贝、牡蛎等提取物都显示一定的抗肿瘤活性。

1.5 苔藓动物与棘皮动物

苔藓虫素 Bryostatins 是 Pettit 在 P₃₈₈ 跟踪下从总合草苔虫 *Bugula neritina* 中分离得到的, 属大环内酯化合物, 药理实验表明, Bryostatins 对白血病人血液中分离的急性白血病细胞、慢性淋巴细胞性白血病细胞及 HL₆₀ 或 U₉₃₇ 白血病细胞均有明显的诱导分化作用, 并抑制其生长; 在动物试验中对小鼠 P₃₈₈ 白血病, B₆ 黑色素瘤和 M₅ 子宫瘤有良好的疗效。它既有抗肿瘤的作用, 同时又有促进造血的功能, 这种双重活性是已使用的化疗药物所不具备的。目前国内外已分离到 19 个 Bryostatin 类似物, 其中 Bryostatin 19 是姚新生等从分布于我国海域的同种生物中发现的, 而 Bryostatin 1 和 4 已被 FDA 批准并进入临床试验阶段^[9]。总合草苔虫广泛分布于我国渤海到南海的西沙群岛多盐水域, 资源丰富, 非常值得开发研究。

酶解刺参体壁得到的酸性黏多糖, 经腹腔或静脉给药, 能显著抑制小鼠的移植性肿瘤, 尤其对 MA₇₃₇ 乳腺癌疗效达 88%, 对小鼠淋巴瘤 Li₀₁, Lewis 肺癌和小鼠肉瘤 S₃₇ 的抑制率分别为 51%, 66%, 49%, 并具有抑制癌细胞转移和肿瘤生长的功能; 从海胆中分离得到的糖蛋白分子量 4 000 kD 以上, 含糖量 35%~38%, 当剂量为 1.0×10^{-5} 时, 能有效抑制小鼠 P₃₈₈

的生长。

1.6 尾索动物

海鞘是与脊索动物种属亲近的原索动物, 业已证实, 海鞘中含有各种具细胞毒性和抗肿瘤活性的物质, 这些化合物大多属于环肽、生物碱、聚醚类、萜类以及多硫化物。

柄海鞘 *Styela clava henkman* 提取物 ES 对小鼠 S₁₈₀ 实体瘤有明显的抑制作用, 且表现出明显的剂量效应, 当剂量为 5.0×10^{-5} 时, 抑制率达 72.14%, 远高于 2.5×10^{-5} 剂量时的 10.12%^[7]。Rinehart 等从加勒比海的海鞘 *Caribbean tunicates* 中分离出 5 种具抗肿瘤、抗病毒活性的环肽 Dideamin A-E, 组分中含有较多罕见的氨基酸。其中研究得最多的是环七肽 Dideamin B, 这是在 L₁₂₁₀ 细胞毒性的跟踪下分离到的, 1991 年开始的临床试验表明它对非何杰金淋巴瘤和脑胶质母细胞有一定疗效, 但对变态前列腺癌、子宫颈鳞状细胞癌、骨髓瘤和卵巢癌等疗效欠佳并有明显的恶心、呕吐等副作用。为此 Rinehart 对 Dideamin B 和类似物进行了合成、结构修饰和构效关系等系统研究, 发现去氢 Dideamin B 的活性较 Dideamin B 强 20 倍, 并且毒性较小^[8], 这为抗癌药物的开发提供了有利的条件。

红树海鞘 *Ecteinascidia turbinata* 的提取物 Ecteinascidin (简称 Et) 729, 743 属于生物碱类, 有多种活性, 包括体外对肿瘤细胞的细胞毒活性、体内抗肿瘤活性以及免疫调节作用。在体外试验中, Et729, 743 对鼠 P₃₈₈ 白血病细胞株的 IC₅₀ 分别为 0.93, 1.3 ng/ml。Et743 的 I 期临床试验表明其安全剂量为 50~1 800 $\mu\text{g}/\text{m}^2$, 其 II 期临床试验目前正由 NCI 主持下进行。此外 1997 年 Freyer 等从 *Mcronesian ascidian* 中提取的具有 DNA 损伤诱导活性的嘧啶生物碱 Pseudodistomins DF, Ford 等从红 *Didemnum* 种海鞘中发现的吡咯丫啶生物碱 Plakinidine D 也具细胞毒性^[8]。

1.7 鱼类与甲壳动物

鲨鱼软骨中有一种多肽类活性物质, 能阻止肿瘤毛细血管的生长, 对肺癌、肝癌、乳腺癌、消化道肿瘤、子宫颈癌、骨癌等有治疗作用; 鲨肝中的角鲨烯

① 黄庆文、陈芳进。中国第五届海洋与湖沼药物学术开发研讨会论文集(上册), 1998, 225~229。

也可以防止癌细胞向肺部转移,而且副作用少。拟海龙血 *Syngathoides biaculeatus* 的水提取物可增加人正常淋巴细胞的转化,对人瘤细胞株 HeLa, E-CA₀₉, HCT₈ 的抑制率分别为 45%, 32%, 27%。鱼油富含 ω -3-PUFA, Fernandes 等研究表明:鱼油对乳腺癌、实验性胰腺癌和前列腺癌的生长和转移有抑制作用;对投喂化学致癌剂 N-甲基-N-亚硝酸脲的白鼠,再用 DHA 乙酯强制性胃内授予,发现有明显的抗肿瘤效果。

此外甲壳动物富有的甲壳质、壳聚糖及其衍生物的抑癌作用已被许多学者所证明, Murata 等发现硫酸化甲壳质作用于 B16-BL6 黑色素瘤小鼠模型,能明显抑制肿瘤的血管形成。

2 海洋抗肿瘤药物研究的展望

以上是近年来较为令人瞩目的海洋生物抗肿瘤活性成分,此外还有大量新发现的活性物质正在研究之中。抗肿瘤活性成分研究的最终目的是开发成药物,并使其商品化。然而这是一个十分复杂、投资巨大的工程,需要许多学科、许多部门的通力合作。目前的研究虽然取得了很大的成就,并且已有一些成分进入了临床实验阶段,但除了以海绵尿苷和海绵胸苷为模型化合物改造合成的抗肿瘤药品阿糖胞苷用于临床外,几乎没有天然的海洋抗肿瘤产物进行较大规模的商品化生产^[5]。尽管如此,海洋抗肿瘤药物开发利用的前景仍然是十分广阔的,这是因为:(1)开发海洋抗癌药的资源日益丰富。海洋生物种类繁多,尚有许多种类还未开发,研究具有很大的物种选择余地,而且有些海洋生物可以通过人工培养的方法来大量获得,更可喜的是基因工程在海洋药物中的研究成果为药物的开发提供了新的思路。如秦松等从蓝藻中克隆了别藻蓝蛋白基因,并运用重组 DNA 技术,获得了能高效表达并生产活性重组别藻蓝蛋白的 *Escherichia coli* 菌株 P。美国、加拿大、日本都已制定了利用海

洋生物的计划,试图通过生物技术改造、培养微生物来生产药理成分。此外具抗肿瘤活性的 Dide m n i n B, Dolastatin 10, Ecteinasidin 743 等化学合成物、结构修饰物已成功获得,这些都为海洋生物抗肿瘤药物的开发利用提供了充足的资源。(2)海洋研究开发的投入不断加强,科技力量日益强大。当前世界各国都十分关注海洋的开发,从海洋生物中获取药物已达成共识,直接参与开发的公司也越来越多,如美国约有 80 家,日本有数十家,这不仅增加了资金的投入,也解决了从实验研究进入工业化生产的中试基地。我国政府也把海洋生物技术的研究列入国家高新技术研究发展计划,1998 年一批包括抗肿瘤、抗病毒药物等海洋生物技术项目已经启动实施。这些都为海洋抗肿瘤药物的产业化提供了有利的条件。

因此我们有理由相信,21 世纪海洋抗肿瘤药物的开发与利用有十分广阔的前景。

参考文献

- 1 韦成礼,李玲等.生物技术通报,1998,2:1~4
- 2 董志峰,李新萍等.海洋科学,1998,1:16~20
- 3 范晓,严小军等.中国海洋药物,1999,18(2):42~45
- 4 汤海燕,汪洪武等.江西师范大学学报,1997,21(2):146~150
- 5 石建功,范晓.中国海洋药物,1999,18(3):55~58
- 6 吕昌龙,赫捷等.中国海洋药物,1999,18(2):32~34
- 7 耿越.华中师范大学学报,1999,33(1):123~125
- 8 董志峰,程云等.生物工程进展,1999,2:32~36
- 9 William F.. *Marine biotechnology*, 1997,15:339~341
- 10 TerHE, KowalskiRJ, HamelE.. *Biochemstry*, 1996,35:243~250
- 11 Be wley CA, He H Y.. *J. Am Chem Soc*, 1996,118(18):4314~4321
- 12 Pettit, GR, Sriranga m, J.K. Bar Roczy, J.. *Anti-cancer Drug Design*, 1995, 10:529~544