

天然来源的 α -葡萄糖苷酶抑制剂的研究进展

Research progress of α -glucosidase inhibitors derived from natural products

卜同^{1,3}, 陈雷^{1,2,3}, 林秀坤¹

(1. 中国科学院海洋研究所, 山东青岛 266071; 2. 哈尔滨工业大学海洋学院, 山东威海 264209; 3. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

中图分类号: X382.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2010)02-0092-04

α -葡萄糖苷酶(α -glucosidase, EC 3.2.1.20)是一类能够催化碳水化合物非还原末端的 α -1,4-糖苷键水解并释放出葡萄糖的酶, 包括麦芽糖酶、异麦芽糖酶、蔗糖酶和海藻糖酶等。它在动物体内许多代谢途径中有重要意义, 包括糖蛋白和糖脂的合成后加工、小肠内碳水化合物的降解等。目前, α -葡萄糖苷酶抑制剂主要有从天然产物中分离和人工合成两种途径。从自然资源中分离合适的 α -葡萄糖苷酶抑制剂能够帮助人们寻找结构新颖的有疾病治疗潜力的先导化合物。近年来的研究表明, α -葡萄糖苷酶与糖尿病、艾滋病、恶性肿瘤、溶酶体贮积症等疾病的发生机制有重要关系, 是治疗这些疾病的潜在靶点。因此, 对 α -葡萄糖苷酶抑制剂的研究具有重要意义。

1 天然来源的 α -葡萄糖苷酶抑制剂的研究

目前, 天然产物中 α -葡萄糖苷酶抑制剂的来源主要有 3 个: 微生物、植物和海洋无脊椎动物。人们已经从天然产物中分离出许多抑制活性强、结构新颖的 α -葡萄糖苷酶抑制剂。

1.1 微生物来源的 α -葡萄糖苷酶抑制剂

从微生物的次级代谢产物中分离 α -葡萄糖苷酶抑制剂的研究开始较早, 目前已经有药物用于临床。最成功的例子是从放线杆菌 *Actinoplanes* SE 50/110 次级代谢产物中分离到的假四糖-阿卡波糖(Acarbose)。此化合物单独使用时不会刺激内源胰岛素的分泌, 能够有效降低餐后血糖并避免血糖过低, 已在 1995 年得到 FDA 批准用于治疗 II 型糖尿病^[1]。1982 年, Balitz 等^[2]在 *Streptomyces lavendulae* 发酵液

中分离得到的米格列醇(Miglitol), 结构与葡萄糖类似, 是 α -葡萄糖苷酶的竞争性抑制剂, 已成为临床上经常使用的 II 型糖尿病治疗药物。在微生物 *Streptomyces* Mano-NJ 和 *S. lavendulae* SF-425 共同培养的发酵液中也分离到米格列醇^[3]。最近, Kim 等^[4]从添加了人造氨基酸的红曲霉发酵液中分离出一种红曲霉色素, 为 H-青霉胺衍生物, 抑制 α -葡萄糖苷酶的 IC₅₀ 达到 50.9 μ mol/L。

国内也有学者从微生物代谢产物中分离提取 α -葡萄糖苷酶抑制剂。郑裕国等^[5]从井冈霉素酶解产物分离得到井冈酶胺, 是一种氨基环醇, 能够显著抑制 α -葡萄糖苷酶的活性。研究表明, 井冈酶胺结构与 α -D-葡萄糖类似, 具有假氨基糖类糖水解酶抑制剂的核心结构, 但与 α -葡萄糖苷酶的结合效率更高, 因此是该酶的竞争性抑制剂。杨宁国等^[6]也在醪糟发酵液中分离到作用特点与阿卡波糖类似的 α -葡萄糖苷酶抑制剂。在原浓度下, 不同产地的醪糟发酵液对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果基本相同; 在醪糟发酵的过程中, 发酵液对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果保持稳定, 均在 60% 以上, 且在发酵的第 60 ~ 66 小时内抑制效果最好。

1.2 植物来源的 α -葡萄糖苷酶抑制剂

植物一直是药物开发的重要来源, 很多药物直接或间接来自于植物, 国内外的研究者已经从植物

收稿日期: 2008-10-15; 修回日期: 2009-07-02

作者简介: 卜同(1982-), 女, 山东泰安人, 硕士研究生, 主要从事天然药物研究, 电话: 0532-82898893, E-mail: butong0823@gmail.com; 林秀坤, 通信作者, 电话: 0535-82898916, E-mail: linxiukun@qdio.ac.cn

中提取出许多种能够抑制 α -葡萄糖苷酶活性的化合物或粗提物, 这些化合物主要是生物碱类、类黄酮类、萜类和多酚类等化合物及其衍生物。

许多结构上相似的单环或多羟基双环吡咯烷类生物碱具有竞争性抑制 α -葡萄糖苷酶的作用。日本学者 Shibano 等^[7]在风铃草属植物 *Lobelia chinensis* 中分离出 2 种新型的吡咯烷生物碱 radicamines A 和 B, 对 α -葡萄糖苷酶有显著的抑制活性, IC_{50} 分别达到 7 $\mu\text{mol/L}$ 和 9.3 $\mu\text{mol/L}$ 。这两种多羟基的生物碱都有一个芳香环, 推测该芳香环是可能的活性位点。

Kawabata 等^[8]从薄荷属植物 *Origanum majorana* 中分离出 5 种植物中比较罕见的 6-羟基类黄酮, 全都具有抑制 α -葡萄糖苷酶的作用, 其中最强抑制活性成分的 IC_{50} 为 12 $\mu\text{mol/L}$ 。研究表明 5,6,7-羟基对于化合物的活性最为关键。Tchinda 从喀麦隆豆科植物 *Millettia conraui* 的茎中分离出一种具有显著抑制 α -葡萄糖苷酶特性的新型异黄酮^[9]。日本学者首次从日本温带绣球类植物 *Spiraea cantoniensis* 中分离出具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性的黄酮醇咖啡酰甙, 通过比较化合物的结构和活性发现, 咖啡酰甙结构可能是抑制葡萄糖苷酶的作用位点^[10]。

Choudhary 等^[11]从伞形植物蒙古大茴香 *Ferula mongolica* 的根中以 α -葡萄糖苷酶为靶向分离出 8 种倍半萜衍生物, 其抑制酶活的 IC_{50} 分别为 56.06, 32.21, 63.68, 79.87, 82.41, 20.50 和 9.31 $\mu\text{mol/L}$, 这是首次发现倍半萜类衍生物具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性。

许有瑞等^[12]从甘草中分离出甘草酚和甘草次酸, 其中甘草酚表现为快速的非剂量依赖性的非竞争性抑制剂, IC_{50} 为 0.26 mg/L , 而甘草次酸却表现出快速的剂量依赖性的不可逆抑制类型, IC_{50} 为 102.4 mg/L 。Shaheen 等^[13]从 *Myrtus communis* L. 中分离出 3 种新的酰基苯酚, 有一种抑制 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 达到 35.4 $\mu\text{mol/L}$ 。

另外, Jong-Anurakkun 等^[14]从中国芦荟中分离出芦荟油 A (aloesin A), 抑制 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 为 11.94 mmol/L , 解释了芦荟具有潜在治疗糖尿病效果的原因。Lam 等^[15]从 *Syagrus romanzoffiana* 种子的乙醇提取物中分离出 7 种二苯乙烯(苷), 其中 2 种抑制 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 分别达到 6.5 $\mu\text{mol/L}$ 和 4.9 $\mu\text{mol/L}$ 。印度有用夹竹桃科植物 *Nerium indicum* 的叶子降低餐后血糖的传统, Ishikaw 等^[16]在其水提物中分离出 α -葡萄糖苷酶的非竞争性抑制剂绿原酸

3-*O*-caffeoylquinic acid 和它的异构体, 从而解释了其作用机理。Oe 等^[17]从印度植物 *Salacia reticulata* 的水提物中分离出一种新型的硫代环多醇, 具有明显的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。

中国学者也从植物中筛选到大量的 α -葡萄糖苷酶抑制剂, 已经从五味子、虎杖、绿茶、小球藻等植物中提取出具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性的粗提物, 其中大部分能够降低糖尿病大鼠的餐后血糖。

1.3 海洋无脊椎动物来源的 α -葡萄糖苷酶抑制剂

海洋中蕴含着丰富的资源, 在半个多世纪的研究中, 人们从海洋生物中发现了大量结构新颖、具有较高生物活性的萜类、含氮化合物(生物碱、苷类、神经酰胺、环肽等)、大环内酯等化合物。多年来, 海绵动物一直是海洋天然产物研究领域发现新化合物的绝对数量最多的一类海洋生物, 且许多新化合物对 α -葡萄糖苷酶有明显的抑制活性^[18]。Nakao 等^[19]在海绵 *Penares* sp. 中分离到 Penarolide sulfates A1 和 A2, 具有较强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, IC_{50} 分别为 1.2 和 1.5 mg/L , 推测活性可能来源于结构中的硫酸盐基团, 但此化合物对 β -葡萄糖苷酶和 β -乳糖酶没有作用。一起分离出来的 penasulfate A 是它们的同系物, 只是 *L*-脯氨酸被 2-甲基哌啶酸代替, 具有比 A1 和 A2 更强的抑制活性($IC_{50}=0.14 \text{ mg/L}$)。他们还在日本海绵 *Callyspongia truncate* 中分离出聚乙烯酸 Callyspongynic acid, 其抑制 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 达到 0.25 mg/L , Nakao 认为活性可能来自连接在炔基上的羧基和烯丙基^[20]。Takada 等^[21]从海绵 *Penares schulzei* 中分离出 3 种生物碱类的 α -葡萄糖苷酶抑制剂 Schulzeines A-C, IC_{50} 从 48 nmol/L 到 170 nmol/L 。脱硫的 A 和 B 仍然具有明显的抑酶活性。三种化合物均含有两个氨基酸和一个 C28 脂肪链, 链的末端有一个硫酸盐基团。

2 α -葡萄糖苷酶抑制剂与疾病

2.1 α -葡萄糖苷酶与糖尿病

糖尿病(Diabetes Mellitus)是一种因胰岛素分泌绝对或相对不足, 导致以高血糖为特征的内分泌代谢性疾病, 患者中 90% 以上为 II 型糖尿病。目前, 临床上用于 II 型糖尿病治疗的口服药物主要有双胍类、 α -葡萄糖苷酶抑制剂类、噻唑烷二酮类和非磺脲类胰岛素分泌促进剂等^[22]。 α -葡萄糖苷酶位于小

肠上皮细胞,此酶的抑制剂能延缓或抑制葡萄糖在小肠内的消化、吸收,进而控制餐后高血糖的发生,因此在临床上可单独或与磺脲类、双胍类、胰岛素联合使用。目前临床上用于治疗糖尿病的药物中,阿卡波糖(Acarbose)和米格列醇(Miglitol)都是以小肠上皮的 α -葡萄糖苷酶为靶点的葡萄糖苷酶抑制剂^[23]。

2.2 α -葡萄糖苷酶与艾滋病

α -葡萄糖苷酶抑制剂也是 HIV 病毒的潜在抑制剂。HIV 病毒外壳由双层脂层和一种 *env* 蛋白组成,*env* 蛋白包括糖蛋白 GP41(穿膜)和 GP120,后者存在于病毒表面,与 GP41 连接。在 GP120 的合成中, α -葡萄糖苷酶催化未成熟蛋白在其 N 端连接上 Glc3Man9GlcNAc2 残基,这个糖残基的作用是使病毒在感染初期被 T4 淋巴细胞的 CD4 受体识别。GP120 的抗原性调节依赖于蛋白表面糖基化的范围和可变性,因此有可能成为治疗艾滋病药物的设计中的一个可以利用的靶点^[24]。

2.3 α -葡萄糖苷酶与溶酶体贮存病

溶酶体贮存病(lysosomal storage diseases)是由于溶酶体内编码糖水解酶的基因突变造成的鞘糖脂堆积而引发的细胞功能紊乱病变,常伴有神经变性过程。常见的此类疾病有戈谢病(Gaucher's disease)、蓬佩病(Pompe disease)等。此类疾病的治疗方法很少,大部分的研究集中在增加酶的含量来补充其基因缺陷造成的不足,包括骨髓移植,酶替换和基因治疗,一种可选的治疗方法是减少底物,即通过减少鞘糖脂的合成来减少其在溶酶体内的贮积。临床上已经用一种亚胺基糖类 α -葡萄糖苷酶抑制剂脱氧野尻霉素(N-butyl-1-deoxynojirimycin)来治疗戈谢病^[25]。

蓬佩病是一种典型的溶酶体贮存病。患者体内过量糖原的聚集会显著地降低心肌和骨骼肌的力量。出现这种症状的婴儿往往因为心肌活力不足而夭折,年长的患者常需要人工辅助呼吸。这种状况的发生是由于 α -葡萄糖苷酶的活力降低造成的。Hug 等^[26]证明含有酸性麦芽糖酶的黑曲霉(*Aspergillus niger*)提取物能够增加肝脏内 α -葡萄糖苷酶的活性,从而降低蓬佩病患者肝糖原含量。

2.4 α -葡萄糖苷酶与癌症等其他疾病

糖蛋白的合成后加工是在内质网膜腔内发生的,新生蛋白合成后在葡萄糖苷酶和糖基转移酶的共同作用下连接上糖基。首先, α -葡萄糖苷酶切断 Glc(1-2)Glc 键,释放出十四聚糖 Glc3Man9GlcNAc2 残基。然后,寡糖转移酶催化十四聚糖 Glc3Man9-GlcNAc2 连接到新生蛋白 N 端的天冬氨酸上,从而完成了蛋白质 N 端的糖基化。这个连接在蛋白质 N 端的寡糖残基在许多细胞代谢过程中起到关键作用,比如免疫应答,细胞内识别(包括受精),细胞分化等。同样,这个寡糖基在某些疾病的发生和控制中也有重要作用,比如炎症的发生和恶性肿瘤的转移^[27]。

3 展望

对于从自然界中分离 α -葡萄糖苷酶抑制剂,微生物、植物和海洋无脊椎动物各有优势。微生物种类多样,其次级代谢产物具有极大的化学结构多样性和复杂性,且微生物来源的天然化合物常具有与动物系统相类似的物质。在过去的几十年里,微生物已经在制药工业中具有举足轻重的地位。随着高通量高内涵筛选平台的建立和发展,将有更多结构新颖的活性化合物从微生物中分离出来。

世界上 80%的人口以天然药物为医疗保健的基本资源,在中国,印度等国家,先人留下了大量的经验和文献资料,这将指导我们有针对性的选题和药物开发。另有人提出应重视那些生存环境特殊(如海拔、气候、阳光、恶劣环境等)的植物产生的次级代谢产物。

海洋物种丰富多样,由于海洋生态环境的特殊性(高压、高盐、缺氧、闭光),使得海洋生物在生命过程中代谢产生一些结构特殊、生物活性显著的次生代谢产物。尽管到目前为止还没有一个药品出现,但是有很多海洋天然产物来源的药物正在进行不同程度的临床前或临床研究,有望在不久的将来成为药品上市。尽管人们对海洋生物次生代谢产物的化学和生物功能的研究刚刚起步,但有人估计,随着科学技术的飞速发展,仪器设备越来越先进,以目前的速度,再过 20 年可能采集到的海洋生物将基本都被研究过了^[28]。作者认为,海洋微生物作为新的天然产物来源具有巨大的潜力。由于生存环境的原因,很多海洋微生物的代谢产物的化学结构,生物活性均与陆地微生物有明显不同,这些次级代谢产物将成为

海洋微生物作为新药药源的重要基础。随着实验室培养技术的发展,人们对海洋微生物的关注日益广泛,海洋微生物将成为分离和纯化各种活性物质的重要资源库。

参考文献:

- [1] Campbell R K, Campbell L K, White J R. Insulin lispro: its role in the treatment of diabetes mellitus[J]. **The Annals of Pharmacotherapy**, 1996, **30**(11): 1 263-1 271.
- [2] Balitz D M, Bush J A, Bradner W T, *et al.* Isolation of lavendamyacin a new antibiotic from *Streptomyces lavendulae*[J]. **The Journal of Antibiotics**, 1982, **35**(3): 259-265.
- [3] Niwa T, Tsuruoka T, Goi H. Novel glycosidase inhibitors, nojirimycin B and *D*-mannonic-*d*-lactam B[J]. **The Journal of Antibiotics**, 1984, **37**(12): 1 579-1 586.
- [4] Kim J H, Kim H J, Park H W, *et al.* Development of inhibitors against lipase and alpha-glucosidase from derivatives of monascus pigment[J]. **FEMS Microbiology Letters**, 2007, **276**(1): 93-98.
- [5] 郑裕国, 申屠旭萍, 沈寅初,等. Inhibition of Porcine Small Intestinal Sucrase by Validamine[J]. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, 2005, 13: 429-432.
- [6] 杨宁国, 鲁战会, 李里特, 等. 醪糟发酵液对 α -葡萄糖苷酶抑制作用及其性质研究[J]. **Food Science and Technology**, 2006, 31: 14-17.
- [7] Shibano M, Tsukamoto D, Kusano G. A new pyrrolizidine alkaloid, broussonetine N, as an inhibitor of glycosidase, from *Broussonetia kazinoki* SIEB. and absolute stereostructures of broussonetines A and B[J]. **Chemical and Pharmaceutical bulletin**, 1999, **47**(6): 907-908.
- [8] Kawabata J, Mizuhata K, Sato E. 6-Hydroxyflavonoids as α -glucosidase inhibitors from marjoram (*Origanum majorana*) Leaves[J]. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, 2003, **67**(2): 445-447.
- [9] Tchinda A T, Khan S N, Fuendjiep V. alpha-glucosidase inhibitors from *Millettia conraui*[J]. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 2007, 55: 1 402-1 403.
- [10] Yoshida K, Hishida A, Iida O. Flavonol caffeoylglycosides as alpha-glucosidase inhibitors from *Spiraea cantoniensis* flower[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2008, 56: 4 367-4 371.
- [11] Choudhary M I, Baig I, Nur-e-Alam M. New α -glucosidase inhibitors from the Mongolian Medicinal plant *Ferula mongolica*[J]. **Helvetica Chimica Acta**, 2001, **84**(8): 2 409-2416.
- [12] Xu you-rui, Ni Jingman, Meng Qinggang, *et al.* α -Glucosidase inhibitors from *Glycyrrhiza uralensis* Fisch[J]. **Journal of Chinese Medicinal Materials**, 2005, 28: 890-891.
- [13] Shaheen F, Ahmad M, Khan S N. New α -glucosidase inhibitors and antibacterial compounds from *Myrtus communis* L.[J]. **European Journal of Organic Chemistry**, 2006, 3: 2 371-2 377.
- [14] Jong-Anurakkun N, Bhandari M R, Hong G. [alpha]-Glucosidase inhibitor from Chinese aloes[J]. **Fitoterapia**, 2008, **79**(6): 456-457.
- [15] Lam S H, Chen J M, Kang C J. alpha-Glucosidase inhibitors from the seeds of *Syagrus romanzoffiana*[J]. **Phytochemistry**, 2008, 69: 1 173-1 178.
- [16] Ishikawa A, Yamashita H, Hiemori M. Characterization of inhibitors of postprandial hyperglycemia from the leaves of *Nerium indicum*[J]. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, 2007, 53: 166-173.
- [17] Oe H, Ozaki S. Hypoglycemic effect of 13-membered ring thiocyclitol, a novel alpha-glucosidase inhibitor from Kothala-himbutu (*Salacia reticulata*) [J]. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, 2008, 72: 1 962-1 964.
- [18] Sipkema D, Franssen M C R, Osinga R. Marine sponges as pharmacy[J]. **Marine Biotechnology**, 2005, 7: 142-162.
- [19] Nakao Y, Maki T, Matsunaga S. Penarolide sulfates A(1) and A(2), new alpha-glucosidase inhibitors from a marine sponge *Penares* sp.[J]. **Tetrahedron**, 2000, 56: 8 977-8 987.
- [20] Nakao Y, Uehara T, Matunaga S. Callyspongynic acid, a polyacetylenic acid which inhibits alpha-glucosidase, from the marine sponge *Callyspongia truncata*[J]. **Journal of Natural Products**, 2002, 65: 922-924.
- [21] Takada K, Uehara T, Nakao Y. Schulzeines A-C, new alpha-glucosidase inhibitors from the marine sponge *Penares schulzei*[J]. **Journal of the American Chemical Society**, 2004, 126: 187-193.
- [22] Silvio E. Inzucchi. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes[J]. **JAMA**, 2002, 287: 360-372.
- [23] Rabasa-Lhoret R, Chiasson L. Potential of alpha-glucosidase inhibitors in elderly patients with diabetes mellitus and impaired glucose tolerance[J]. **Drugs and aging**, 1998: **13**(2): 131-137.
- [24] Challand R, Young R J. Antiviral Chemotherapy spectrum[J]. **Oxford**, 1997: 68-86..
- [25] Platt F M, Jeyakumar M, Andersson U. Inhibition of substrate synthesis as a strategy for glycolipid lysosomal storage disease therapy[J]. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, 2001, 24: 275-290.
- [26] Hug G, Schubert W K, Soukup S. Treatment related observations in solid tissues, fibroblast cultures and amniotic fluid cells of type II glycosgenosis, Hurler disease and metachromatic leukodystrophy[J]. **Birth Defects Original Article Series**, 1973, 9(2): 160-163.
- [27] Schweden J, Borgmann C, Legler G. Characterization of calf liver glucosidase I and its inhibition by basic sugar analogs[J]. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 1986, **248**(1): 335-340.
- [28] 郭跃伟. 海洋天然产物和海洋药物研究的历史、现状和未来[J]. **自然杂志**, 2009, **31**(1): 27-32.

(本文编辑: 康亦兼)