

基因工程与海洋药物研究

GENETIC ENGINEERING AND MARINE DRUG RESEARCH

董志峰¹ 李新萍² 秦 松² 曾呈奎²⁽¹⁾ 中国生物工程开发中心 北京 100081)⁽²⁾ 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

海洋药物的历史可以追溯到两千多年前,《黄帝内经》中记载有以乌贼骨为丸,饮以鲍鱼汁治疗血枯。《神农本草经》、《本草纲目》等收集的海洋药物达百余种。近 30 a 来,海洋天然产物化学的研究取得了令人瞩目的成果,从种类丰富的海洋生物中分离出许多结构新颖、功能独特,具有抗肿瘤、抗病毒、抗菌、降压和抗凝血等生物活性的物质,使得海洋这一人类保健品的天然宝库更加引起世人的瞩目。与陆地生物相比,海洋生物往往具有许多独特的优点。不仅许多新颖的化学结构是陆地生物所不具有的,而且一种海洋生物常含有多种活性物质。如海绵中含有多种萜类、生物碱、脂类物质,具有细胞毒性和抗肿瘤活性。同一种蓝藻中也常含有多种有效成分,有的蓝藻中仅细胞毒性物质就达几十种。通常这些活性物质作用浓度甚微,而且其他毒副作用较低。

目前应用的海洋药物多为直接提取的天然成分或将其进行化学修饰后所得的化合物。许多天然成分在海洋生物中以微量形式存在,产量很低而且价格昂贵,如每克河豚毒素价值 170 000 美元。近 20 a 来,基因工程作为定向改造生物遗传物质的有效手段,已经在植物遗传育种和生物技术制药领域取得了很大的成功。尤其是医药生物技术,作为现代生物技术中起步最早、发展最快的一个分支,正在成为医药工业的一个新门类,而且已经形成颇具规模的产业。美国生物技术药品销售额,1993 年为 36.07×10^8 美元,1994 年为 42.38×10^8 美元,1995 年为 48.55×10^8 美元,年增长率分别为 18.9%,17.5% 和 14.8%。预计到 2000 年世界生物技术医药产品的总销售额将突破 600×10^8 美元,年增长率达 24.0%。对于许多具有独特药用价值但天然含量甚微的海洋生物活性物质,生物技术,尤其是基因工程具有重要的意义。

1 海洋生物活性物质的种类及分布

目前已发现的海洋生物活性物质广泛分布于海

洋微生物(包括海洋细菌、海洋真菌和海洋放线菌)、海洋植物和海洋动物中,化学结构丰富多样,许多分子结构新颖独特,是陆地生物所不具有的。这些海洋生物活性物质大多具有很强的生理活性,包括抗肿瘤、抗病毒、抗菌、降压、抗凝血等,具有广阔的药用前景。

1.1 抗生素类

多由海洋微生物(主要是细菌和放线菌)产生,已报道的抗生素有十几种,分属吡咯、酯类、醌类、糖苷和小肽类。福建沿海海泥中鲁特格斯链霉菌鼓浪屿亚种 *Streptomyces rutgersensis* subsp. *gulangyuensis* 含有 M inobiosamin 糖苷和由三个氨基酸残基组成的小肽,属春日霉素类,尤其对绿脓杆菌和一些耐药性革兰氏阴性细菌具有强的活性^[2]。另外,海洋真菌枝顶孢(*Actmonium chrysogenum*)也产生一种抗生素头孢霉素 C,已经用于医疗^[9]。从太平洋海绵中也提取到能抗金黄色葡萄球菌和链霉菌的抗生素。分离自海绵 *Stylotella agminata* 的水溶性六环二胍抗生素 Paluamine,对链球菌、杆菌有效,同时还是免疫抑制剂^①。

1.2 大环内酯类

从甲藻 *Amphidium* sp. 中分离出一系列大环内酯化合物 Amphidinolides,其中 3 种组分具有一定的细胞毒性。前沟藻 *Amphidium* sp. 中含有前沟藻内酯(Amphidinolide A),具有体外抗肿瘤活性^[8]。Custafson 等从海洋细菌中分离到大环内酯类化合物 Macrolactin,具有抗病毒、抗肿瘤和抗菌作用^[3]。来自海绵 *Theonella* sp. 的 Theom ezolid A 及 *Hyrtos altum* 的 Altolyrtin A, B, C, 5-desacetyl-altolyrtin A 具有抗肿瘤活性。Warshel 等(1987)认为,分离自海鞘 *Lisso-clinum bistratum* 的 Bistratemes 可以抑制 HL₆₀ 前髓系

① 姜自彬、李 华. 海洋天然产物与天然生化药物论文集,1996. 237~ 241
收稿日期:1997-04-20

白血病细胞系的生长, IC_{50} 为 424 nmol/L。由苔藓动物总合草苔虫 *Bugula neratina* 分离的 bryostatins 也是一类具有较高抗癌活性的大环内酯类化合物, 到目前为止, 已分离到 15 个活性单体, 其中两种经美国国立癌症研究所(NCI)的鉴定, 已投入临床试验, 是极有希望的新型抗癌药物^①。

1.3 萜类

从褐藻 *Dilophus ligulatus* 中分离到一种 Xenicane 型二萜 Dilopholide, 经检测对多种肿瘤细胞株有细胞毒作用。从加勒比褐藻棕叶藻 (*Styopodium zona le*) 中分离出一种磷-醌二萜棕叶藻酮 (Styopoldione), 可能具有抗肿瘤活性。从甲藻 *Amphidinium* sp. 中分离出一种丙二烯去甲萜类化合物, Apo-9'-fucoxanthinone, 具有细胞毒性。多种珊瑚、海绵中含有种类繁多的萜类活性物质, 具有细胞毒性和抗肿瘤活性, 包括半萜、倍半萜、二倍半萜等。从珊瑚 *Briareum asbestinum* 中得到具有细胞毒性的新环烯醚萜 Brianthein V。从南海西沙群岛水域采集的软珊瑚 *Clavularia viridis* Guoy and Gaimard 中分离到 5 种具不饱和和内酯环的二萜化合物, 可直接杀死艾氏腹水癌细胞, 对 S_{180} 腹水癌细胞也有显著抑制作用^[4]。由加勒比海柳珊瑚 *Pseudoplexaura porosa* 中提取的 14-deoxycrassin 及 Pseudoplexaurol 具有强的抗肿瘤作用^[11]。从海绵 *Hippospongia* sp. 中分离出含 21 个碳原子的呋喃萜 Untenosponin C, 具有抗肿瘤活性^②。在深色海绵 *Halichondriidae* sp. 中分离到一种新的二倍半萜氢醌硫酸钠盐 Halisulfate A 和 5 种新的二倍半萜硫酸钠盐 Halisulfate B-F, 其中 Halisulfate A 对葡萄球菌、芽胞杆菌和假丝酵母有强的抑制作用, 并具有强的抑制细胞分裂活性, Halisulfate B, C, D 的混和物具有抗炎活性, 同时 Kernan 等(1988)认为 Halisulfate C 的降解产物对葡萄球菌、大肠杆菌及两种海洋细菌 *Vibrio anguillarum* 和 *Benechea harveyi* 329 有抑制作用。Schmitz 等(1979)自海兔 *Aplysia agasi* 的消化腺中分离的 Aplysistatin 和 *Aplysia dactylomela* 的消化腺中分离的卤化倍半萜醇化合物 Deodactol 也显示了抗肿瘤活性。

1.4 生物碱

海绵中除含有多种萜类活性物质外, 还蕴含着多种生物碱类活性物质。如来自加勒比海海绵 *Ptilocaulis spiculifer* 和红海海绵 *Hemimycale* sp. 的多环生物碱 Ptilomyalin A 具有抗肿瘤、抗病毒、抗真菌活性。Acosta, Al. 等(1992)研究得出, 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 HCT₁₁₆ 细胞系有抑制作用。从海兔 *Dolabella avicularia* 得到的肽类生物碱 Dolaslatin 10, 具有较强的抗肿瘤活性。另外, 来自印度海洋蠕虫 *Cephalodiscus gilchristi* 的一系列双甾体生物碱 Cephalostatins 和来自地中海海鞘 *Anchinoe paupertas* 的胍类生物碱 Zarzissine, 都具有抗肿瘤活性^③。

1.5 聚醚类化合物

Vemura 等(1985)认为, 来自软海绵的 A-canthofolicin 和海绵 *H. okadai* 的 Norhalichondrin A, B 均属于聚醚类化合物, 具有抗肿瘤活性。其中 Norhalichondrin A, B 对 B₁₆ 黑色素瘤有抑制作用, IC_{50} 分别为 5.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 0.09 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

1.6 脂类

由大团扇藻 *Padina crassa* 中分离了 72-羟基岩藻甾醇, 具有明显的分化诱导活性^④。在蓝藻中发现了具有抗肿瘤活性和抗艾滋病毒的硫酯。来自海绵的固醇化合物 Aragusterol A, C 和 Bismasterol 具有抗肿瘤活性。从印度尼西亚海绵中分离到的几种脂肪酸具有弱的细胞毒性^⑤。高绪生等(1990)指出, 海胆生殖腺中含有大量的二十烷酸, 是一种预防心血管疾病的药物。海洋鱼类普遍含有二十碳五烯酸(EPA), 具有防治心血管疾病的功效。

1.7 多糖类

褐藻含有活性硫酸酯多糖。来自鹿角菜 *Pelvetia fastigiata* 及墨角藻 *Fucus disticus* 的硫酸酯多糖可以在体外与乙肝病毒(HBV)作用。石花菜多糖具有抗病毒作用。藻酸双酯钠(PSS)生产早已形成产业化。从海绵 *Phytophthora parasitica* 细胞壁中得到的 β -1 \rightarrow 3/1 \rightarrow 6 多糖可以提高腹腔巨噬细胞对肿瘤细胞的吞噬力^⑥。文献[1]和马冈江等(1982)认为从海参 *Stichopus japonicus selenka* 中提取的酸性粘多糖具有广谱的抗肿瘤作用, 对 MA₇₃₇ 乳腺癌的疗效十分显著, 对 S_{180} 肉瘤的抑制作用也很明显^[1]。此外, 李嘉和等(1986)曾指出, 从鲨鱼 *Cetorhinus maximus* 和鲸鲨 *Rhincodon typus* Smith 的软骨中分离出的鲨鱼酸性粘多糖 6-硫酸软骨素具有抗肿瘤、抗凝血、降血脂等作用。

1.8 肽类和蛋白质

肽类和蛋白质是海洋生物中含量极其丰富的一类活性物质。蓝藻中含有的多种小肽和环肽, 具有细胞毒性、抗真菌活性和抗病毒活性, 如六肽 Westiel-

① 林厚文、易杨华, 海洋天然产物与天然生化药物论文集萃, 1996, 176-178

lamide 具有细胞毒性, Laxaphycins 是一类具有抗菌活性和细胞毒性的环肽。由蓝藻铜锈微囊藻 *Microcystis aeruginosa* 分离得到的多肽 Aeruginosin 98-A, B, C, 可抑制血液蛋白酶活性, 同时表现出轻度的细胞毒作用^①。最近发现 3 种环肽 Nodularins 含有结构特殊的氨基酸, 精氨酸含量较高, 有多甲基取代现象, 具有细胞毒性^[8]。在蓝藻和红藻中普遍存在的藻胆蛋白, 是藻胆体的主要成分, 在藻类的光形态建成中可能起光敏色素的作用。藻胆蛋白通常可分为藻红蛋白(PE)、藻蓝蛋白(PC)、藻红蓝蛋白(PEC)和别藻蓝蛋白(APC)四大类, Annalisa 等(1990)认为它们在肽链的折迭方式上与球蛋白有相似之处。其亚基很可能具有类似 EPO 作用^[3]。利用与之结合的藻胆蛋白的光谱学性质, 藻胆蛋白可以在医疗诊断、免疫组织化学等领域被用作荧光探针^[5]。曾繁杰等(1986, 1992)称, 条斑紫菜中 R-藻红蛋白能与胰岛素抗体产生特异的免疫反应, 坛紫菜中所含的 R-藻蓝蛋白可以刺激人的 B 细胞增殖分化, 提高机体免疫力。来自蓝藻的藻蓝蛋白被证明具有抗肿瘤活性(JP58065216A830418; US Patent pending, ref. p1150-726-A82679, App. 15Sep. 1982)。

海洋被囊动物海鞘及多孔动物海绵均含有多种具有细胞毒性和抗肿瘤活性的物质, 多为小肽和环肽。Rinchart 等(1981)从加勒比海海鞘 *Trididemnum* sp. 中分离到具有抗肿瘤和抗病毒活性的 3 种环肽类化合物, 即膜海鞘肽 Didemnin A、B 和 C, 对 L₁₂₁₀ 白血病细胞有强的细胞毒作用, 在小鼠肿瘤模型中显示了抗 P₃₈₈ 白血病和 B₁₆ 黑色素瘤的作用, 其中以 Didemnin B 的抗肿瘤作用最强, 对上述 3 种瘤型的 ID₅₀ 为 0.001 1 μg/ml。膜海鞘肽类化合物既有显著的抗肿瘤活性, 又是潜在的抗病毒物质和免疫调节剂, 可望研制成新的抗癌药物, 目前已经开始临床。从中国南海海鞘 *Lissoclinum patella* 中分离了一种环肽 Patellamide A, 具有抗肿瘤作用。海兔中也含有抗肿瘤的环肽、缩酚肽和直链肽。沙蚕体腔内含有沙蚕毒素 Nereistoxin, 属含硫氮的杂环肽, 可能开发成作用于心脏和神经的新药。软体动物芋螺(Conus)分泌的芋螺毒素(Conotoxin)是一类含有 10~30 个氨基酸残基的神经毒素肽, 富含二硫键, 结构及功能多样, 每一种芋螺毒素都有其特定的药理学作用范围和生物学活性^①。Michael(1992)等注意到海葵毒素 ApA、ApB 为由 49 个氨基酸残基组成的多肽, 含有三对二硫键, 具有极强的抗肿瘤活性和冠状动脉收缩作用。Pettit 等(1982)由沙海葵 *Paltheoa liscia* 中分离出的 4 种低分

子量肽类 Palystatin A、B、C、D, 其中 A 和 B 为糖肽, C 和 D 为相应的肽, 对 P₃₈₈ 血癌细胞系有体外抑制作用。Anne 等(1984)认为在鲨鱼软骨中含有肽类血管生成抑制因子, 能显著抑制肿瘤细胞周围的血管生长, 使肿瘤细胞得不到氧和营养物的供应, 而使肿瘤细胞逐渐死亡, 对于防治恶性肿瘤具有重要意义。日本虾夷扇贝 *Patinopecten yessoensis* 中也含有具有很强抑瘤作用的糖蛋白^②。

2 海洋药物基因工程研究策略

海洋药物基因工程, 是指利用分离自海洋生物的有药用价值的基因或以规模化养殖的海洋生物作为表达受体进行遗传操作, 从而大量获得高值廉价的药物。根据其供体基因和表达受体的不同, 可以分为三个方面:

2.1 将海洋药物基因转入陆地微生物、植物或动物中表达

浩瀚的海洋蕴含着丰富的生物活性物质, 为开发基因工程药物提供了一个天然基因库。在纷繁多样的海洋生物活性物质中, 具有基因工程应用潜力的主要是一些分子量大小适当的直链肽, 它们由单个基因编码, 易于进行遗传操作, 分子太小的短肽和环肽则由于其构象的不稳定性、合成途径或翻译后加工过程的特殊性而难以采用。在将药物目的基因重组入适当的载体后, 借鉴日以成熟完善的微生物基因工程、植物基因工程和正在发展完善的动物基因工程的方法, 可在陆地微生物、植物或动物中表达。

2.2 将来自陆地的药物基因转入海洋生物中表达

海洋占地球表面积的 71%, 在人口增长而耕地日趋减少的今天, 开发海洋、利用海洋已经成为刻不容缓的任务。海洋生物的养殖业正在蓬勃发展中, 某些海藻的养殖, 如海带, 已经形成宏大的产业, 在产量上即使相对于某些高产的陆地作物也具有很大的优势。因此, 海洋生物有希望作为来自陆地的药物基因的理想表达受体。海洋可作为一个天然的工厂, 生产人们所需要的药物。

2.3 将海洋药物基因转入海水养殖生物中表达

① 钟明鼎、魏开华等。海洋天然产物与天然生化药物论文集萃, 1996, 185~188
② 顾谦群、王长云等。海洋天然产物与天然生化药物论文集萃, 1996, 502~504

海洋生物中具有许多有独特生理活性的物质,是具有理想疗效的抗肿瘤、抗病毒、抗菌药物,但其含量甚微,价格昂贵,不能满足大多数疾病患者的需求。将这些稀有昂贵的药物基因转入产业化的海水养殖生物中表达,不仅可以获得药物,还可以促进多种优良性状的优化组合,培育海水养殖新品种,带动现代海水养殖业向纵深发展。

3 海洋药物基因工程研究现状及展望

3.1 海洋药物基因工程研究现状

近几年来,随着海洋开发步伐的加快和基因工程技术的广泛应用,海洋药物基因工程逐渐成为一个崭新而有前景的研究领域。已经从海洋生物中克隆了有开发价值的药物基因,并转入细菌中得到表达。秦松等从蓝藻中克隆了别藻蓝蛋白(APC)基因,并运用重组DNA技术,获得了基因重组APC(RAPC)的高效表达,得到了能生产活性重组APC的*E. coli*菌株P₁。该菌株P₁及其制备方法已经于1996年10月经中国专利局审查^①,于1997年8月公开。利用*E. coli* P₁进行高纯度RAPC的生产具有独到的优势,在发酵和分离纯化方面较直接由藻类提取更加简便有效。研究表明,RAPC对小鼠S₁₈₀肉瘤具有显著的抑制效果^②。以ICR小鼠S₁₈₀肉瘤为模型,以环磷酸胺为阳性对照,灌胃或注射剂量为20 mg/kg/d,以生理盐水为空白对照,以RAPC为处理组,灌胃处理组设大、中、小三个剂量,剂量分别为13.4 mg/kg/d、6.7 mg/kg/d、3.4 mg/kg/d,腹腔注射给药组设中、小两个剂量,剂量分别为6.7 mg/kg/d、3.4 mg/kg/d。接种瘤细胞24 h后开始灌胃或腹腔注射给药,每日一次,连续给药10次。灌胃处理组大、中、小三个处理组抑瘤率分别为60.1%、58.0%、45.8% ($P < 0.01$),阳性对照组为78.0% ($P < 0.01$);腹腔注射给药组中、小两个剂量组抑瘤率分别为64.3%、48.9% ($P < 0.01$),阳性对照组为74.9% ($P < 0.01$),结果表明RAPC对小鼠S₁₈₀肉瘤有显著的抑制作用。进一步的研究工作将就RAPC对其他瘤型的抑制效果进行试验,并对其抑瘤作用进行药理学方面的研究。从腔肠动物海葵中分离的海葵毒素是近年来研究较多的一类海洋生物毒素,具有强烈的刺激心肌作用。其中Anthopleurin A、B(ApA、ApB)均为含有49个氨基酸残基的多肽,其序列已被测定,ApB的强心作用较ApA高十几倍。Gallagher等人工合成了ApB基因,并与*E. coli* T₄噬菌体基因-9构建嵌合基因,在*E. coli*中成功地表达

了ApB与基因-9产物构成的融合蛋白,纯化后经二硫键的修饰及蛋白酶酶切除去基因-9产物,所得ApB的产量可以达到1 mg/L培养液,且重组蛋白在氨基酸组成、氨基酸序列、二级结构、高压液相层析迁移率及生物活性方面均与天然ApB相同。另外,Michael等(1992)还合成并表达了ApB基因的突变形式GR-ApB基因,其产物的氨基末端较天然ApB增加了一个甘氨酸残基和一个精氨酸残基,但其生物活性及专一性也与天然ApB相同,这一工作为ApB精细结构的分析及定位突变奠定了基础。在青岛海葵中除分离到与ApA、ApB相对应的成分外,还发现一个含量极低而活性远高于ApB的未确定成分,对其进行氨基酸分析与序列分析表明,该活性多肽的化学结构与ApA、ApB均不同,介于两者之间。根据所测得的海葵毒素氨基酸序列,人工合成了海葵毒素基因,并运用DNA克隆技术导入细菌中,将其在大肠杆菌中以融合蛋白的形式、在枯草杆菌中以分泌蛋白的形式进行了表达,均得到了有天然活性的海葵毒素,目前正在分离纯化工艺及药效学毒理学方面的研究^③。

3.2 海洋药物基因工程研究展望

海洋生物肽和蛋白如海葵毒素、芋螺毒素、藻胆蛋白等,均可分离得到其基因,对其进行修饰或改造后,用作供体基因。对于一些构象不稳定的小肽,也可采取构建融合蛋白的办法,稳定其构象,但又不影响其活性。这些工作都需要对于该活性肽的结构与功能及其相互间的关系有深入的研究,并在此基础上进行修饰改造,保持或进一步改善活性部位的功能,同时使其结构更利于基因表达和翻译后加工修饰,折迭成有活性的构象形式。

作为现代生物技术先驱的微生物发酵工程,经过不断发展,已经形成了一整套成熟完善的发酵、后处理及分离纯化工艺。微生物遗传操作在分子遗传学和基因工程技术的创立和发展中曾经起到关键性的作用,一些微生物,如大肠杆菌、枯草杆菌、酵母,是良好的外源基因表达系统。对于海洋药物基因而言,可以将细菌和酵母作为首选表达系统,一旦构建能产生活性产物的基因工程菌,即可进行深度药物开发。近年来,陆地高等植物基因工程的迅速发展,转化系统不

- ① 秦松、李新萍、姜鹏、王希华、曾呈奎。能生产活性重组藻胆蛋白的微生物及其制备方法,1996。中国专利局专利申请号96120236.X。
- ② 李新萍、秦松、窦昌贵等。面向二十一世纪生药学学科发展战略研讨会论文集(待发表)。
- ③ 黄伟达、王维荣、王京端、尚诚,1996,天然产物与天然生化药物论文集萃,57~59。

断完善,因此可以将陆地高等植物作为海洋药物基因的表达受体。以海洋生物作为反应器,将分离自海洋的药物基因,再导入高产稳产海水养殖生物中,可能更利于基因整合表达。

海洋药物基因工程的研究,不仅可以从大规模生产的受体生物中分离纯化单一成分的目的产物作为药物,而且可以直接以海产品为口服型药物,如口服疫苗。近年来,基因工程疫苗的研究取得了令人瞩目的进展。乙肝病毒(HBV)表面蛋白基因已在土豆和香蕉中得到表达,并口服免疫小鼠,检测到抗体的产生^[6]。重组的细菌抗原基因在转基因植物中进行了生产,口服免疫小鼠也产生了免疫反应^[12]。美国的McGarvey等已利用转基因番茄表达了狂犬病病毒外壳蛋白,用作口服疫苗^[10]。开展海洋基因工程疫苗研究,一方面可以将与人类疾病相关的病原体基因转入海水养殖生物中表达,生产疫苗;另一方面还可以针对水产养殖中的病害,培育鱼、虾、贝抗病品种促进海水养殖业的发展。

另外,海洋药物基因工程不仅仅是开发利用现有的天然海洋生物活性物质作为药物,更重要的是通过对海洋药物独特的结构和功能的研究,阐明其作用机理,利用化学修饰或半合成手段,甚至据此从头设计全新的药物分子,提高疗效并降低药物的毒副作用,以便更好地满足人们的需求。

4 海洋药物基因工程研究的意义

海洋是生命的摇篮。在科学技术飞速发展的今天,人们又将关注的目光投向海洋。海洋中生活着丰富多样的海洋生物,蕴含着多种具有独特功效的生物活性物质。向海洋要药物,不仅仅是原有的海洋生物

活性物质利用现代生物技术高效、廉价生产,克服含量甚微、不易纯化等局限性,更重要的是应用基因工程、蛋白质工程技术,增强某些活性物质的功能,克服毒副作用,并在深入研究其结构与功能的基础上,针对特定的受体设计全新的药物分子。

基因工程应用于海洋药物的研究,为人类开发利用海洋生物资源提供了崭新的思路,展示了美好的前景。海洋生物,这一天然药物宝库与现代基因工程技术的结合必将使海洋药物研究与开发跨入一个新的时代。

参考文献

- 1 陈菊娣等。中国海洋药物,1994,1(49):24~26
- 2 中国海洋年鉴编纂委员会。中国海洋年鉴(1991~1993),北京:海洋出版社,1993,227
- 3 汤国枝、张鹤云等。南京大学学报,1994,30(2):337~380
- 4 许实波等。中国海洋药物,1994,1(49):1~5
- 5 Alexander N. Glazer. *J. Appl. Phycol.* 1994, 6: 105~112
- 6 Anne Simon Moffat. *Science*, 1995. 268(5): 658~660
- 7 Gregory M. L. Patterson and Linda K. Larsen *et al.*. *J. Appl. Phycol.* 1994, 6: 151~157
- 8 Jeff Elhai. *J. Appl. Phycol.*, 1994. 6: 177-186
- 9 Liberra, K. *et al.*. *Pharmazie*, 1995. 50(9): 583~588
- 10 McGarvey, P. B. *et al.*. *Bio/Technology*, 1995, 13(13): 1484~1487
- 11 Rodriguez AD *et al.*. *Experientia*, 1993, 49(2): 179~181
- 12 Tariq A. Haq and Hugh S. Mason *et al.*. *Sci.*, 1995, 268: 714~716