

国外海洋抗肿瘤活性物质的研究与开发

李盛英 郑忠辉

(细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘 要: 海洋生物是抗肿瘤活性物质的重要来源。近十几年来, 已从不同的海洋生物中分离鉴定了许多结构新颖的抗肿瘤活性物质, 显示出诱人的研究开发前景。本文综述了目前国外从海洋动物、海洋植物和海洋微生物抗肿瘤活性物质的研究开发进展。

关键词: 抗肿瘤活性物质; 海洋动物; 海洋植物; 海洋微生物

中图分类号: Q178.53 文献标识码: A 文章编号: 1001-6392(2003)02-0076-07

海洋覆盖着地球表面积的 71%, 是生命的发源地。据统计, 已知的海洋生物大约有 300 000 种^[1], 而且这些已知种可能仅仅只占有海洋生物种类的一小部分, 海洋生境所具有的这种物种多样性构成了抗肿瘤天然药物资源化学多样性的基础。同时, 海洋环境具有高盐、高压、低温、寡营养等迥异于陆地环境的特点, 海洋生物也随之产生了与陆地生物不同的代谢途径和机体防御机制。因此, 从海洋生物及其代谢产物中筛选和提取具有特异化学结构的天然活性物质成为抗肿瘤药物开发的重要来源。

海洋生物抗肿瘤活性物质的研究始于 50 多年前 Bergman 的开拓性工作^[2]。早期, 由于受采样、分离纯化、化学结构鉴定等技术限制, 活性物质的开发工作仅限于近海、潮间带的一小部分海洋生物资源的开发, 而且开发工作进展缓慢, 成果不多。近年来, 随着深海生物采集、海洋生物大规模人工养殖、色谱分析分离、核磁共振等技术的进步, 以及“高通量筛选 (High throughput screening)”^[3]、基因工程等新兴技术的采用, 使海洋抗肿瘤活性物质的生物资源开发进入了黄金时期。本文主要综述了从海洋动物、海洋植物及海洋微生物中分离提取抗肿瘤活性物质的研究开发状况。

1 海洋动物

地球上已知的生物种类有 70% 属于动物界, 海洋动物虽然只占有所有动物种类的一小部分, 但却涵盖了超过 90% 的门^[4]。对于抗肿瘤天然活性物质的筛选, 获得新活性物质的数量正比于采集样品数、样品生物多样性和选用筛选方法数量 (即 ‘Hits’ Samples × ‘Biodiversity of Samples’ × Assays^[5]), 而跨“门”筛选获得新活性物质的机率明显高于在同“门”中不同种类间的筛选。因此, 海洋动物在“门”这一分类阶元上的极度丰富使从中开发新的抗肿瘤活性物质的几率大大提高。如图 1 所示, 在美国国立癌症研究所 (NCI) 对

收稿日期: 20020122; 收修改稿日期: 20020313

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30070024) 资助

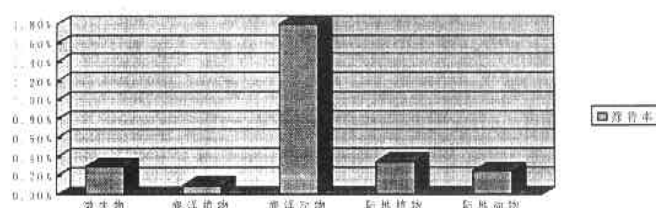


图1 NCI对不同生物抗肿瘤活性物质筛得率

Fig 1 The hit rates of samples with antitumor activity in the NCI's preclinical screen

不同生物抗肿瘤活性物质筛得率中，海洋动物的抗肿瘤活性物质筛得率（1.8%）远高于微生物（0.3%）、海洋植物（0.1%）、陆地植物（0.35%）和陆地动物（0.25%）^[5]。从已进行较多研究的海洋动物来看，海绵、海鞘等海洋无脊椎动物是抗肿瘤活性物质的重要来源。目前从海绵、海鞘中就已筛选分离到十几种抗肿瘤候选新药。

1990年 Kreuter 等从海绵 *Verongia aerophoba* 中提取的酪氨酸代谢物 Aeroplysinin 能抑制表皮细胞生长因子受体（EGFR）酪氨酸蛋白激酶的磷酸化作用，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。而且其浓度高达 10 倍时，对正常成纤维细胞亦无影响，该化合物已进入二期临床试验^[6]。

海鞘是海洋抗肿瘤活性物质的重要来源之一。1978年从加勒比海采集到属于 Didemnidae 科的一种海鞘 *Trididemnum solidum*，其提取物有抑制病毒的作用及对小鼠 L₁₂₁₀ 白血病细胞有显著的细胞毒作用。1981年 Rinehart 等分离得到了有抗病毒和抗肿瘤活性的 3 个环肽类化合物，即 Didemnin A, B, C^[7]，其中 Didemnin B 的活性最强，对 DNA 单纯疱疹病毒和的抑制剂量为 0.05 μmol/L，对白血病细胞 L₁₂₁₀ 的 IC₅₀ 为 7.5 × 10⁻⁴ μg/mL，在 0.1 μg/mL 量时，对乳腺癌、卵巢癌具有明显的细胞毒活性。在临床试验中，不同实体瘤和 non-Hodgkin 淋巴瘤患者每 3 周静脉注射 1 次 Didemnin B，可以观察到明显的抗肿瘤效果。同时 Didemnin B 还具有明显的免疫抑制活性，体内活性较已经临床应用的环孢菌素 A 强 1 000 倍。目前，此药已进入二期临床试验，有望成为新型抗癌药物^[8]。

从地中海地区采集到的一种海鞘 *Aplidium albicans* 中分离到的 Aplidine (dedydrodidemnin B) 是一种蛋白质合成抑制剂，能够使肿瘤细胞周期停止在 G₁ 期，该药已经进入二期临床试验，并且表现出比 Didemnin B 更强的抗肿瘤活性，有望于近期开始三期临床试验^[9, 10]。

Ecteinascidin 743 是一种分离自海鞘 *teinascidia turbinata* 的四氢异喹啉生物碱，目前已经进入二期临床试验。Ecteinascidin 743 能够对 DNA 小沟中的鸟嘌呤残基进行选择性的烷基化作用，能与核蛋白发生相互作用，并且可以显著提高肿瘤细胞的 p53 表达水平，是一种十分有效的有丝分裂拮抗剂。其对 L₁₂₁₀ 白血病细胞和小鼠 P388 细胞的 ID₅₀ 分别为 0.000 9 μg/mL 和 0.003 8 μg/mL，在临床试验中表现出对软组织瘤和乳腺癌有很好的疗效^[10-12]。

2000年 Noriko U.sata 和 Nobuhiro Fusetani 通过对 Polyclinidae 科的一种未鉴定的海鞘的乙醇抽提物采用 ODS 急骤层析法和过 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱的方法，经过反复的 HPLC 分离得到了 2 个新的二环氨基乙醇类化合物 Amaminols A, B，对小鼠 P388 白血病细

对海洋微生物资源的认识和开发还存在着严重不足，同时也意味着海洋微生物资源有巨大的开发潜力。

海洋微生物天然药物筛选的主要来源是自由海水、海洋底泥和海洋动植物共附生微生物。Bernan 等的研究结果显示：自由海水中活性菌株筛得率为 10%，海洋底泥为 27%，共附生微生物为 48%^[19]。从中可以看出，从海洋动植物共附生微生物中筛选分离抗肿瘤活性物质的可能性要更高，这是因为海洋共附生微生物为了协助宿主生长代谢或给宿主提供化学保护，往往会形成更加丰富多样的代谢途径，产生更多的活性物质^[19,20]。另外，许多原来认为是由海洋动植物产生的活性物质后来被证实是由其共生或共栖菌产生的。例如：1996 年 Bewley 等证明从 *Theonella swinhoei* 中分离的两种代谢物其实是由其共生菌产生的^[21]。1994 年 Oclarit 等从海绵 *Hyatella* sp. 制备的匀浆中分离到一株 *Vibrio* sp.，其发酵产物肽类抗生素 andrimid 也曾在该海绵的抽提物中发现^[22]。因此，共附生微生物正受到越来越多研究者的重视。

海洋细菌是海洋微生物抗肿瘤活性物质的一个重要来源。主要集中在假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、弧菌属 (*Vibrio*)、微球菌属 (*Micrococcus*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、肠杆菌属 (*Enterobacterium*) 和别单胞菌属 (*Alteromonas*)。放线菌主要包括链霉菌属 (*Streptomyces*) 和小单胞菌属 (*Micromonaspora*)。

1997 年 Canedo 等报道从海洋底泥中分离到一种芽孢杆菌 *Bacillus* sp. PHM-PHD-090，从该菌株的发酵液中分离到一种新的异香豆素 PM-94128，其对肿瘤细胞 P388, A-549, HT-29 及 MEL-28 表现出很强的细胞毒活性， IC_{50} 均为 0.05 $\mu\text{mol/L}$ 。PM-94128 抑制蛋白质合成的 IC_{50} 为 0.1 $\mu\text{mol/L}$ ，抑制 DNA 合成的 IC_{50} 为 2.5 $\mu\text{mol/L}$ ^[23]。

Macrolactins A 是由从 1 000 m 深海底泥中分离出的一株革兰氏阳性菌 C-237 在常压下发酵产生的一种大环内酯化合物，其在体外对小鼠黑素瘤细胞 B16-F10 的 IC_{50} 为 3.5 $\mu\text{g/mL}$ ^[24]。

海洋放线菌和海洋真菌也是海洋微生物抗肿瘤活性物质的主要来源。Federica Sponga 等对约 40 000 株来自全球不同海域的海洋微生物的研究结果表明：对于能产生活性物质的放线菌，31% 属于链霉菌 (*Streptomyces*)，69% 属于稀有放线菌 (主要是小单胞菌属：*micromonosporas*)。而产活性物质的真菌则分别来自 *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cephalosporium*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Geotricum*, *Fasarium*, *Gliomastix*, *Humicola*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Pestalotia*, *Phoma*, *Plectosphaerella*, *Scopulariopsis*, *Stachybotrys*, *Trichoderma* 等属^[18]。

Thiocoraline 是一种具有显著抗肿瘤活性的缩酚酸肽 (depsipeptide)，是从生长于印度洋靠近莫桑比克海岸的软珊瑚上分离到的一株小单胞菌 *Micromonospora* sp. 所产生的，其对肿瘤细胞 P388, A-549, HT-29 及 MEL-28 的 IC_{50} 分别为 0.002, 0.002, 0.01 及 0.002 $\mu\text{g/mL}$ ，并可显著抑制 DNA 及 RNA 的合成。进一步的抗肿瘤机理研究表明，Thiocoraline 具有细胞周期阻滞作用，但不抑制拓扑异构酶及 DNA 断裂，最主要的抗肿瘤机理可能在于抑制 DNA 聚合酶。Thiocoraline 目前已经进入临床前期试验^[25]。

Tapiolas 等人在采集于加利福尼亚海沟的一种珊瑚 *Pacifigugia* sp. 的表面分离到的链霉菌的培养物中发现了结构新颖的 Octalacions A 和 B。这两种化合物分别是寡霉素 A 的 20-羟

基衍生物和肠菌素的 5-脱氧衍生物,是含有少见的八元环的内酯官能团的 19 碳酮基化合物。Octalacions A 在体外有抗 B16-F17 鼠黑素瘤和 HCT-116 人胃癌细胞活性,其 IC_{50} 值分别为 0.0072 g/mL, 0.5 g/mL^[26]。

盐屋链霉菌 *Streptomyces sioyaensis* SA-1758 是从海洋底泥中分离到的,该菌株可代谢产生一种结构新颖的生物碱 Altemicindin。此化合物在体外对肿瘤细胞株 L1210 及 IMC 肉瘤细胞的 IC_{50} 分别为 0.84 g/mL 和 0.82 g/mL, 且还有微弱的抗菌活性,但是体内毒性较高, LD_{50} 为 0.3 mg/kg^[27]。

1994 年, Cheng 等报道从海绵 *jaspis* aff. *Johnstoni* 分离到一株未鉴定真菌,从中分离到 3 种同属氯化倍半萜家族的化合物 chloriolins A, B, C^[28], 这 3 种化合物与以前从陆生植物腐生真菌 *Coriolus consors* 中分离到的革盖菌素 (coriolin B) 和二氢革盖菌素 C (dihydrocoriolin C) 结构相似。从海洋微生物中分离到氯化的革盖菌素衍生物说明卤化在海洋天然产物中比陆地天然产物更加普遍^[29]。在这 3 种化合物中, chloriolin B 对人乳腺癌细胞 T-47D 和中枢神经系统肿瘤细胞 SNB-75 表现出良好的细胞毒活性。

4 结 语

20 世纪 50 年代以来,世界各国才逐渐重视海洋生物天然产物的开发和利用。近十几年来,已从不同的海洋生物中分离到许多新型的抗肿瘤天然药物,其中已有十几种抗癌疗效高、毒性低的海洋生物天然药物或其结构改造化合物进入临床试验,显现出诱人的前景。中国是一个海洋大国,海洋生物资源丰富,但是国内有关海洋抗肿瘤活性物质的研究水平却相对落后,了解该领域的国外研究进展、加强我国该领域的研究和开发工作,对于有效利用海洋生物资源,开发出具有我国自主知识产权的抗肿瘤新药有着十分重要的理论意义和实际价值。

参考文献:

- [1] Sherly A P. The bioprocess-technological potential of the sea [J]. *Biotechnology*, 1999, 70:5-13.
- [2] Bergman W, Feeney R J. Nucleosides of sponges [J]. *J. Org. Chem.*, 1951, 16:981-987.
- [3] Yarbrough G G, Taylor D P, Rowland R *et al.* Screening microbial metabolites for new drugs--theoretical and practical issues [J]. *J. Antibiot.*, 1993, 46:535-544.
- [4] May R M. How many species are there on earth [J]. *Science*, 1988, 241:1441-1449.
- [5] Murray H G, Munro, John W B *et al.* The discovery and development of marine compounds with pharmaceutical potential [J]. *Biotechnology*, 1999, 70:15-25.
- [6] Kreuter M H, Leake R E, Rinaldi F *et al.* Inhibition of intrinsic protein tyrosine kinase activity of EGF-receptor kinase complex from human breast cancer cells by the marine sponge metabolite (+)-aeropylsinin-1 [J]. *Comp. Biochem. Physiol. B.*, 1990, 97(1):151-158.
- [7] Rinehart K L, Gloer J B, Cook J C *et al.* Structures of the Didemmins, Antiviral and Cytotoxic Depsipeptides from a Caribbean Tunicate [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, 103:1857-1859.
- [8] Lee I H, Zhao C Q, Cho Y *et al.* Clavanins, alpha-helical antimicrobial peptides from tunicate hemocytes [J]. *FEBS Lett.*, 1997, 400:158-162.

- [9] Urdiales J L, Morata P, Nunez de Castro I *et al.* Antiproliferative effect of dehydrodidemin B (DDB), a depsipeptide isolated from Mediterranean tunicates[J]. *Cancer Lett*, 1996, 102:31-37.
- [10] Gilberto S, Adriana Brondani da Rocha, Robert G S *et al.* Marine organisms as a source of new anticancer agents[J]. *Oncol.*, 2001, 2:221-225.
- [11] Erba E, Bergamaschi D, Bassano L *et al.* Ecteinascidin-743 (ET-743), a natural marine compound, with a unique mechanism of action[J]. *Eur. J. Cancer*, 2001, 37:97-105.
- [12] Rinehart K L. Antitumor compounds from tunicates[J]. *Inc. Med Res Rev.*, 2000, 20(1):525-528.
- [13] Noriko U Sata, Nobuhiro Fusetani. Amaminol A and B, new bicyclic amino alcohols from an unidentified tunicate of the family Polyclinidae[J]. *Tetrahedron Lett*, 2000, 41: 489-492.
- [14] 缪辉南, 戴建凉. 海洋生物抗肿瘤活性物质的研究进展[J]. *生物工程进展*, 1995, 15:8-14.
- [15] Gerwick W H, Roberts M A, Proteau P J *et al.* Structure of curacin A, a novel antimitotic, antiproliferative, and brine shrimp toxic natural product from the marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula*[J]. *J. Org. Chem.*, 1994, 59:1 243-1 245.
- [16] Shingo H, Kazutomo S, Takashi Y *et al.* Antitumor effects of *Marginisporum crassissimum* (Rhodophyceae), a marine red alga[J]. *Cancer Lett.*, 2001, 167:145-150.
- [17] Carbonnelle D, Pondaven P, Morancais M *et al.* Antitumor and antiproliferative effects of an aqueous extract from the marine diatom *Haslea ostrearia* (Simonsen) against solid tumors: lung carcinoma (NSCLC-N6), kidney carcinoma (E39) and melanoma (M96) cell lines[J]. *Anticancer Res.*, 1999, 19(1A): 621-624.
- [18] Federica Sponga, Linda C, Ameriga L *et al.* Biodiversity and potentials of marine-derived microorganisms[J]. *Biotechnology*, 1999, 70: 65-69.
- [19] Fenical W. Chemical studies of marine bacteria: developing a new resource[J]. *Chem. Rev.*, 1993, 93: 1 673-1 683.
- [20] Jensen P R, Jenkins K M, Porter D *et al.* Evidence that a new antibiotic flavone glycoside chemically defends the sea grass *Thalassia testudinum* against zoospore fungi. *J. Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, 64(4) :1 490-1 496.
- [21] Bewley C A, Holland N D, Faulkner D J. Two classes of metabolites from *Theonella swinhoei* are localized in distinct populations of bacterial symbionts[J]. *Experientia*, 1996, 52(7):716-722.
- [22] Oclarit J, Okada H, Ohta S *et al.* Anti-bacillus substance in the marine sponge, *Hyattella* species, produced by an associated *Vibrio* species bacterium[J]. *Microbios*, 1994, 78: 7-16.
- [23] Canedo L M, Fernandez Puentes J L, Baz J P *et al.* PM-94128, a new isocoumarin antitumor agent produced by a marine bacterium[J]. *J. Antibiot.*, 1997, 50:175-176.
- [24] Gustafson K, Roman M, Fenical W. The macrolactins, a novel class of antiviral and cytotoxic macrolides from a deep-sea marine bacterium[J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, 111: 7 519-7 524.
- [25] Romero F, Espliego F, Baz J P *et al.* Thiocoraline, a new depsipeptide with antitumor activity produced by a marine *Micromonospora*. taxonomy, fermentation, isolation and biological activities[J]. *J. Antibiot.*, 1997, 50: 734-737.
- [26] Tapiolas D M, Roman M, Fenical W. Octalactins A and B: cytotoxic eight-membered-ring lactones from a marine bacterium, *Streptomyces* sp[J]. *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113: 4 682-4 683.
- [27] Takahashi A, Ikeda D, Nakamura H *et al.* Altemicidin, a new acaricidal and antitumor substance. Taxonomy, fermentation, isolation and physico-chemical and biological properties[J]. *J. Antibiot.*, 1989, 42: 1 556-1 561.
- [28] Cheng X C, Varoglu M, Albert L *et al.* Chloriolins A-C, chlorinated sesquiterpenes produced by fungal cultures separated from a Jaspis marine sponge[J]. *J. Org. Chem.*, 1994, 59:6 344-6 348.
- [29] Gribble G W. Naturally occurring organohalogen compounds—a survey[J]. *J. Nat. Prod.*, 1992, 55: 1 353-1 395.

作者简介：李盛英(1978—)，男，硕士研究生。研究方向为海洋微生物抗肿瘤药物。

Discovery and Development of Marine Antitumor Products

LI Shengying, ZHENG Zhonghui

(The Key Laboratory of Ministry of Education for Cell Biology and Tumor Cell Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)

Abstract : Research on modern marine natural products began approximately 50 years ago. Today the marine environment is likely to be a prolific source of new natural antitumor products. Over the past decade, several new experimental antitumor products derived from marine sources have entered preclinical and clinical trials. In this review, the natural antitumor products derived from marine animals, marine plants and marine microorganisms are briefly discussed.

Key words : antitumor products; marine animals; marine plants; marine microorganisms

////////////////////////////////////
(上接 68 页)

[2] 江苏省海岸带和海涂资源综合调查委员会. 江苏省海岸带和海涂资源综合调查[M]. 北京: 海洋出版社, 1986.

[3] 江苏省滩涂研究所. 江苏滩涂研究[M]. 北京: 海洋出版社, 1992.

[4] 江苏省沿海滩涂开发利用管理局, 江苏省统计局. 发展中的江苏滩涂经济[M]. 北京: 海洋出版社, 1995

作者简介: 吴曙亮(1963—), 男, 1984年毕业于北京大学, 高级工程师, 南京大学在职研究生。主要从事遥感技术应用研究工作。

Remote-Sensing Analysis of the Tidal Flat Resource and Its Developing Trend in Jiangsu Province

WU Shuliang^{1,2}, CAI Zejian²

(1. Department of Earth Sciences, Nanjing University, Nanjing 210093, Jiangsu, China ; 2. Geological Survey of Jiangsu Province, Nanjing 210018, Jiangsu, China)

Abstract: It is quite efficient to apply the remote-sensing technology to investigating the tidal flat resource, which is enormous and complex. Based on the remote-sensing digital images of three different times taken by satellites, the authors analyze the characteristics of the tidal flat resource in Jiangsu Province, including its total quantity, distribution, developing trend and applying prospects for application. The results show that in Jiangsu Province, the tidal flat resource tends to decrease, because the area of the beach which has been utilized is larger than that which has been reproduced. Therefore, better management should be emphasized when utilizing the tidal flat resource.

Key words: Jiangsu; tidal flat resource; developing trend; remote sensing; prospects for application