

海洋微生物抗肿瘤天然产物研究进展*

田树红¹ 黄惠琴¹ 鲍时翔^{1**} 符健²

(中国热带农业科学院热带生物技术研究所 海口 571101) (海南医学院药理教研室 海口 571101)

摘要 近年来,海洋微生物已成为抗肿瘤天然产物研究的热点,目前从海洋微生物中发现了大量新的抗肿瘤天然产物。文章综述了近几年从海洋微生物(海洋放线菌、真菌和细菌)中分离得到的抗肿瘤活性天然产物的研究进展。

关键词 海洋微生物,海洋放线菌,海洋真菌,海洋细菌,抗肿瘤活性物质

中图分类号 Q93 **文献标识码** A **文章编号** 0253-2654(2007)04-0799-05

Research Progress on Antitumor Natural Products Produced by Marine Microbes*

TIAN Shu-Hong¹ HUANG Hui-Qin¹ BAO Shi-Xiang^{1**} FU Jian²

(Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Science, Haikou 571101)

(Laboratory of Pharmacology, Hainan Medical College, Haikou 571101)

Abstract Marine microbes are becoming the hotspot in recent research and a lot of antitumor natural products produced by marine microbes have been discovered. This review summarized research progress on the bionative compounds with antitumor activity from marine actinomycetes, fungi and bacteria.

Key words Marine microorganism, Marine actinomycete, Marine fungus, Marine bacterium, Antitumor bioactive compound

肿瘤严重威胁着人类的健康和生命。目前,全世界每年新增癌症病人 2040 万,死亡人数达 600 万之多。我国是癌症高发区,近年来每年新增癌症病人 160 万,死亡 120 万。随着科学技术的迅速发展,研究领域的不断扩大,从 1967 年在美国首次召开了国际海洋药物学术会议之后,海洋药物的发展越来越受到世界各国的重视,海洋微生物抗肿瘤药物成为海洋药物发展中的研究热点。

海洋微生物资源丰富,具有独特的代谢和生理特性,其次级代谢产物的化学结构独特,为人类提供了陆地微生物所不能提供的活性代谢产物。特别是结构新颖的抗肿瘤天然产物越来越受到国内外研究者的重视,近年来每年都有数十种新的天然产物被发现。其中一些源于海洋微生物的化合物已经进入了临床前和临床试验(表 1)。本文从海洋放线菌、海洋真菌和海洋细菌 3 个方面介绍了近几年海洋微生物抗肿瘤活性物质所取得的进展。

1 源于海洋放线菌的抗肿瘤天然产物

海洋放线菌最先成为海洋微生物抗肿瘤活性物质研究的焦点,是最有经济价值和生物技术价值的原核生物之一^[1]。表 2 列举了 2003~2006 年从海洋放线菌中获得的抗肿瘤天然产物。

Thiocoraline^[2]是源于海洋放线菌 *Micromonospora marina* 的抗肿瘤制剂。通过流式细胞仪分析,发现 Thiocoraline 能诱导结肠癌细胞 LoVo 和 SW620 的细胞分裂停留在 G1 期,并能降低肿瘤细胞由 S 期向 G2 期和 M 期转变的水平。体外实验中还发现, Thio coraline 虽然不能抑制 DNA-拓扑异构酶 II,也不能诱导 DNA 裂解,但能通过降低 DNA 聚合酶的浓度来抑制 DNA 的合成,使 DNA 无法复制。2001 年, Thiocoraline 人工合成成功,目前已进入临床前试验。

Fuchao Li 等^[3]于 2005 年从海洋放线菌 *Streptomyces* sp. 中分离到化合物 chinikomycin A 和 chinikomycin B。chinikomycin A 在体外对乳腺癌、黑

* 国家自然科学基金(No. 30460152)和中国热带农业科学院科技基金(No. Rhy0618)资助项目

** 通讯作者 Tel: 0898-66890695, E-mail: bsxhqq@yahoo.com.cn

收稿日期: 2006-12-04, 修回日期: 2007-01-26

色素瘤和肾癌具有选择性抑制作用,IC₅₀ 分别为 2.41μg/mL、4.15μg/mL 和 4.02μg/mL。chinikomycin B 在体外对乳腺癌有抑制作用,IC₅₀ = 3.04μg/mL。

Rajendra 等^[4]于 2004 年从海洋放线菌 *Streptomyces* sp. 中分离到新化合物 Trioxacarcins A。Trioxacarcins A 对肿瘤细胞株 HT-29、SF-268、H-460、LXFA、526L、LXFL 529L、MCF-7、MEXF514L、PC3M 和 RXF631L 都显示了较强的抗肿瘤活性。其中,对

SF-268、H-460、LXFL529 L 和 MCF-7 的 IC₇₀ 都小于 0.0003 μg/mL,对 MEXF514L 的 IC₇₀ = 0.002 μg/mL。另外,S S Mitchell 从分离于海洋沉积物的链霉菌 *S aureovorticillatus* 发酵产物中分离到天然产物 Aureovorticillactan^[5],K Stritzke 从新几内亚巴布亚岛附近的海洋沉积物分离的链霉菌中获得化合物 Caprolactones^[6],这些化合物都有望在肿瘤治疗临床前和临床试验中发挥积极的作用。

表 1 海洋微生物抗肿瘤天然产物在临床前和临床试验中的现状

化合物	来源	化合物类型	作用位点	临床应用
Thiocoraline	<i>Micromonospora marina</i>	醛酸多肽	DNA-聚合酶	临床前
Salinosporamide A	<i>Salinispora</i> sp.	双环 γ-内酰胺-β 内酯	20S 蛋白酶体	临床前
DMMC	<i>Lyngbya majuscula</i>	环状醛酸多肽	微管蛋白	临床前
Curacin A	<i>Lyngbya majuscula</i>	噻唑脂质	微管蛋白	临床前
Dehydrodidemnin B	<i>Trididemnum solidum</i>	环状醛酸多肽	鸟氨酸脱羧酶	临床Ⅱ期
Dolastatin 10	<i>Cyanobacterium</i>	线状缩氨酸	微管蛋白	临床Ⅱ期
NPI-0052	<i>Salinispora tropica</i>	β 内酯	蛋白酶体	临床Ⅰ期

表 2 2003 ~ 2006 年从海洋放线菌中获得的抗肿瘤天然产物

化合物	来源	参考文献
Trioxacarcins A	<i>Streptomyces</i> sp.	4
Salinosporamide A	<i>Salinispora tropica</i>	9
Mecherchamycins	<i>Thermoactinomyces</i> sp.	8
IB-00208	<i>Actinomadura</i> sp.	28
3 β-disubstituted indoles	<i>Streptomyces</i> sp.	29
Aureovorticillactam	<i>Streptomyces aureovorticillatus</i>	5
Caprolactones	<i>Streptomyces</i> sp.	6
Chinikomycins	<i>Streptomyces</i> sp.	3
Chloro-dihydroquinones	MAR4	30
Diazepinomicin	<i>Micromonosproa</i> sp.	7
Marinomycins A-D	<i>Marinispora</i>	31

Diazepinomicin(ECO-4601)是 Charan RD 等^[7]从小单孢菌 *Micromonosproa* sp. 中分离得到的抗肿瘤化合物,该化合物具有广泛的体外细胞毒性,已经证明在小鼠体内具有抗神经胶质瘤、乳腺癌、前列腺癌作用。

2005 年 Kaneo Kanoh 等^[8]报道了从海洋高温放线菌 *Thermoactinomyces* sp. YM3-251 中分离得到具有抗肿瘤活性的天然产物 mecherchamycin A 和

mecherchamycin B。同年,MaldonadoLA 等^[9]从新分离到的海洋放线菌 *Salinispora tropica* 中分离出一种新的抗肿瘤活性天然产物 salinosporamide A(NPI-0052)。salinosporamide A 能激活蛋白酶体抑制剂,诱导骨髓瘤细胞凋亡,作用机制和已批准上市的抗肿瘤药物硼替佐米(Bortezomib)相同^[10],可导致细胞死亡,并于 2006 年进入治疗人类癌症的临床试验^[1]。Virginie Caubert 于 2006 年报道了他们通过焦谷氨酸甲基化人工合成了 salinosporamide A。

2 源于海洋真菌的抗肿瘤天然产物

海洋真菌的代谢途径复杂,代谢产物种类繁多(70% ~ 80% 都具有生物活性^[11]),对肿瘤细胞的作用机制可能有别于来源于海洋原核生物的天然产物,是发现海洋新药的重要化学资源。表 3 给出了 2004 ~ 2006 年从海洋真菌中获得的抗肿瘤天然产物。

抗肿瘤活性物质 Sansalvamide A 是从海洋真菌 *Fusarium* sp. 中获得的一种环状醛酸多肽。一个 Sansalvamide A 分子由 4 个疏水氨基酸(苯丙氨酸,2 个亮氨酸和缬氨酸)和 1 个羟基酸(2-羟基-4 酞酸)构成。有趣的是,由于 N-甲基化能提高缩氨酸的选择性,Liu S^[12]等在 2005 年报道了他们合成的

12 种 Sansalvamide A 的 N-甲基化缩氨酸衍生物。体外细胞毒实验结果表明,这些 Sansalvamide A 衍生物对肿瘤细胞的抑制率要强于 Sansalvamide A。

2004 年,T Yamada^[13]、M Tsuda^[14] 和 R J adulco^[15] 分别从海洋真菌 *Periconia byssoides*、*Periconia citrinum* 和 *Leptosphaeria* sp. 中获得了结构新颖的抗肿瘤天然产物。其中,Peribysins A、C 和 D 能有效抑制白血病细胞株 HL60,citrinadin A 能抑制 LI210 和 KB。R Jadulco 及其合作者分离到的

communesin B 和新的化合物 communesins C 和 D 对人类多种类型的白血病株都具有抑制作用。

2006 年 6 月,Kralj A^[16]报道了从地中海绿藻分离的真菌 *Emericella nidulans* var. *acristata* 中获得的两个具有较强细胞毒活性的新化合物 arugosins G 和 H,IC₅₀ = 5.5μg/mL。tropolactonesA-D 是由 Cueto M 等^[17]于 2006 年从海洋真菌 *Aspergillus* sp. 中分离到的,tropolactones A-C 在体外对肿瘤细胞株 HCT-116 的 IC₅₀ 分别为 13.2μg/mL、10.9μg/mL 和 13.9μg/mL。

表 3 2004 ~ 2006 年从海洋真菌中分离的抗肿瘤天然产物

化合物	结构类型	来源	抗肿瘤细胞株	参考文献
Peribysins A、C 和 D	倍半萜类	<i>Periconia byssoides</i>	HL60	13
Citrinadin A	生物碱	<i>Periconia citrinum</i>	LI210、KB	14
leptosins	吲哚衍生物	<i>Leptoshaeria species</i>	P388	15
arugosins G 和 H	异戊烯聚酮	<i>Emericella nidulans</i> var. <i>acristata</i>	HL60	16
tropolactones A-D	类萜	genus <i>Aspergillus</i>	HCT-116	17
rostratins A-D	二硫化物	<i>Exserohilum rostratum</i>	HCT-116	32
trichoderide A	环肽类	<i>Trichoderma reesei</i>	A375-S2	33

3 源于海洋细菌的抗肿瘤天然产物

可培养的海洋细菌(包括蓝细菌)广泛分布于海水、海洋沉积物、海洋藻类和无脊椎动物表面或组织内,在开发海洋医药品资源方面呈现出活跃的迹象,为大批量发酵生产生物活性代谢物提供了条件。表 4 总结了 2003 ~ 2006 年从海洋细菌中获得的抗肿瘤天然产物。

表 4 2003 ~ 2006 年从海洋细菌中获得的抗肿瘤天然产物

化合物	化学结构类型	抗肿瘤细胞株	IC ₅₀ (μg/mL)
B-1	多糖	U937	63.2
Ulongapeptin	鳍醛酸多肽	HU	0.63
Tasipeptins A & B	鳍醛酸多肽	HU	0.82 ~ 0.93
Tasiamide B	苏氨酸	HU	0.80
anthracycline	醌类	MU	0.06
Salinosporamide A	生物碱	NCI 60	0.0025
Palau 'amide	苏氨酸	HU	0.013
Mixirin A、B、C	苏氨酸	HU	0.68
Micromide	生物碱	HU	0.26
Belamide A	甲基化线性四肽	HCT-116	0.74

auricularia 提取液中获得不到 1mg 抗肿瘤活性的物质。但由于这种活性物质含量太低以及当时技术条件的限制,直到 15 年后才确定了它的结构,命名为 Dolastatin 10(表 1)。随后 Luesch H 等^[18]证实了 Dolastatin 10 来源于海兔提取液中的藻青菌 *Symploca*。Dolastatin 10 是一种有效的长春碱在微管蛋白上结合位点的非竞争性抑制剂,对微管的聚合有强烈影响,并且能够水解微管蛋白依赖的鸟嘌呤核苷三磷酸盐^[19]。接下来进一步研究证实了 Dolastatin 10 结合在力索新(Rhizoxin)美登素(Maytansine)位点^[20],可替换微观蛋白上的鸟嘌呤核苷三磷酸盐位点^[21]。但是,由于 Dolastatin 10 在临床试验中导致了 40% 的肿瘤患者发生中度的周围神经病变,并且对荷尔蒙难以控制的腺癌脑转移和周期性发生的铂金斯卵巢癌没有治疗效果^[22],所以没被以单一制剂用于临床试验。

2001 年,Gerwick WH 从 1600Kg 的印度洋海兔 *D. auricularia* 的提取液中获得了 6.2mg 的 Dolastatin 15。在最初的生物测定试验中,Dolastatin 15 对 P388 的 ED₅₀ = 2.4 × 10⁻³ μg/mL。然而,许多跟 Dolastatin 15 有关的苏氨酸已被证明来源于海洋藻青菌^[23]。但是,和 Dolastatin 10 相比,Dolastatin 15 直

接结合在微管蛋白的长春碱结合位点上,再加上 Dolastatin 15 在结构和化学合成方面的复杂性,阻碍了它在临床试验中的应用。

2003年,Masahiro Matsuda等^[24]从海洋细菌 *Pseudomonas* sp. 中分离得到磷酸盐多糖 B-1。B-1 对多种不同的人类肿瘤细胞株都具有抑制作用,能诱导 U937 发生细胞凋亡, $IC_{50} = 63.2 \mu\text{g/mL}$ 。

2006年,T Luke Simmons^[25]和 Han B^[26]分别从海洋藻青菌 *Symploca* sp. 和 *Lyngbya majuscula* 中分离到抗肿瘤化合物 Belamide A 和 Aurilides B 和 C。Belamide A 是 *Symploca* sp. 产生的对 HCT-116 具有细胞毒活性($IC_{50} = 0.74 \mu\text{g/mL}$)的主要代谢物,具有高度甲基化的四肽。Aurilides B 和 C 对人类肺癌细胞株 NCI-H460 和鼠成神经原瘤细胞株 neuro-2a 的 IC_{50} 均在 $0.01 \mu\text{g/mL} \sim 0.13 \mu\text{g/mL}$ 之间。其中 Aurilides B 对 NCI60 具有高水平的细胞毒性($IC_{50} = 10 \text{ng/mL}$)对白血病、肾和前列腺癌细胞也具有较强的抑制作用。

4 存在的问题与展望

虽然通过海洋放线菌的次级代谢产物生产抗肿瘤药物还处于初级阶段^[27],但值得肯定的是,从海洋放线菌产生的次级代谢物中发现抗肿瘤先导化合物已经取得了让人满意的成绩,其发展潜力不可忽视。独立培养的研究表明,极具物种多样性的海洋稀有放线菌的 16S rDNA 不同于陆地放线菌,培养这些放线菌可为发现新的次级代谢产物提供新的来源。海洋放线菌具有的基因和代谢多样性为探索新的活性次级代谢产物提供了宝贵的资源。

过去从海洋真菌中分离的抗肿瘤活性天然产物比从海洋细菌和海洋放线菌中分离的要少,这可能和海洋真菌在海洋中的地理分布、生理特性以及培养技术等因素有关。但随着对这些因素的不断认识以及对海洋微生物筛选范围的不断扩大,近几年从海洋真菌中获得的抗肿瘤活性物质呈上升趋势。

近年来,从海洋藻青菌中发现了许多结构新颖又具有细胞毒活性的天然产物,有的已经进入了临床试验阶段。这对海洋细菌抗肿瘤活性物质的开发利用提供了更为广阔的资源。

海洋微生物虽然能产生大量活性天然产物,但

目前还没有一个天然产物能进入药物市场。新的抗肿瘤药物的发展必须为临床前和临床阶段提供充足的化合物。来自不同国家的天然产物化学家与理论药理学家和药物产业协作,报道了一系列新颖的药理学先导化合物。但是,化合物不易分离,可获得的化合物纯品的数量也十分有限,再加上在临床前或临床试验期间可能存在的一些对人体的毒副作用和不稳定性。这些问题使得大多数海洋微生物抗肿瘤活性物质的研究仅停留在新化合物的发现上,只有少量化合物能进入临床试验阶段,阻碍了海洋微生物抗肿瘤药物在临床试验中的发展进程。为此,我们要加强交流与合作,尽量避免相同菌株的筛选和相同化合物的分离鉴定等基础工作的重复,加快海洋微生物抗肿瘤天然产物对肿瘤细胞作用机制的研究以及在临床上的应用。

另外,除了需要发展新的可培养海洋微生物的分离技术外,还需要不断地改进海洋微生物抗肿瘤先导化合物的合成方法,以便在此基础上合成抗肿瘤活性强、分子结构简单并易于合成的化合物。在将来,转基因技术将和生物合成技术一样,将为海洋微生物抗肿瘤药物的发展提供广阔的途径。

参考文献

- [1] Lam Kin S. Current Opinion in Microbiology, 2006, **9**: 245 ~ 251.
- [2] E Erba, D Bergamaschi, S Ronzoni, et al. Journal of Cancer, 1999, **80**: 971 ~ 980.
- [3] Fuchao Li, Rajendra P Maskey, Song Qinet, et al. J Nat Prod, 2005, **68**(3): 349 ~ 53.
- [4] Rajendrap Maskey, Elisabeth Helmke, Oliver Kayser, et al. J. Antibiot, 2004, **57**: 17 ~ 23.
- [5] Mitchell SS, Nicholson B, Teisan S, et al. J Nat Prod, 2004, **67**: 1400 ~ 1402.
- [6] Stritzke K, Schulz, Laatsch H, et al. J Nat Prod, 2004, **67**: 395 ~ 401.
- [7] Charan RD, Schlingmann G, Janso J, et al. J Nat Prod, 2004, **67**: 1431 ~ 1433.
- [8] Kaneo Kanoh, Yoshihide Matsuo, Kyoko Adachi, et al. J. Antibiot, 2005, **58**(4): 289 ~ 292.
- [9] Maldonado LA, Fenical W, Jensen PR, et al. Int J Syst Evol Microbiol, 2005, **55**: 1759 ~ 1766.
- [10] Chauhan D, Catley L, Li G, et al. Cancer Cell, 2005, **8**: 407 ~ 419.
- [11] 李艳华, 张利平. 微生物学通报, 2003, **30**(3): 113 ~ 114.
- [12] Liu S, Gu W, Lo D, et al. J Med Chem, 2005, **48**(10): 3630 ~

- [13] Yamada T , Iritani M , Minoura K , *et al.* Org Biomol Chem , 2004 , **2** (14) : 2131 ~ 2135 .
- [14] Tsuda M , Kasai Y , Komatsu K , *et al.* Org Lett , 2004 , **6** (18) : 3087 ~ 3089 .
- [15] Hayashi H , Matsumoto H , Akiyama K . Biosci Biotechnol Biochem , 2004 , **68** (3) : 753 ~ 756 .
- [16] Kralj A , Kehraus S , Krick A , *et al.* J Nat Prod , 2006 , **69** (7) : 995 ~ 1000 .
- [17] Cueto M , MacMillan JB , Jensen PR , *et al.* Phytochemistry , 2006 , **67** (16) : 1826 ~ 1831 .
- [18] Luesch H , Moore RE , Paul VJ , *et al.* J Nat Prod , 2001 , **64** : 907 ~ 910 .
- [19] Bai R , Pettit GR , Hamel E . J Biol Chem , 1990 , **265** : 17141 ~ 17149 .
- [20] Jordan A , Hadfield JA , Lawrence NJ , *et al.* Med Res Rev , 1998 , **18** : 259 ~ 296 .
- [21] Bai R , Pettit GR , Hamel E . Biochem Pharmacol , 1992 , **43** : 2637 ~ 2645 .
- [22] T Luke Simmons , Eric Andrianasolo , Kerry McPhail , *et al.* Molecular Cancer Therapeutics , 2005 , **4** (2) : 333 ~ 342 .
- [23] Gerwick WH , Tan LT , Sitachitta N . The alkaloids San Diego Academic Press , 2001 , 75 ~ 184 .
- [24] Masahiro Matsuda , Takao Yamori , Mikihiro Naitoh , *et al.* Mar. Biotechnol , 2003 , **5** : 13 ~ 19 .
- [25] T Luke Simmons , Kerry L McPhail , William H Gerwick , *et al.* Tetrahedron Letters , 2006 , **47** : 3387 ~ 3390 .
- [26] Han B , Gross H , Goege DE , *et al.* J Nat Prod , 2006 , **69** (4) : 572 ~ 575 .
- [27] Blunt JW , Copp BR , Munro MHG , *et al.* Nat Prod Rep , 2005 , **22** : 15 ~ 61 .
- [28] Malet-Cascón L , Romero F , Espliego-Vázquez F , *et al.* J Antibiot , 2003 , **56** (3) : 219 ~ 225 .
- [29] Sanchez Lopez JM , Martinez Insua M , Perez Baz J , *et al.* J Nat Prod , 2003 , **66** : 863 ~ 864 .
- [30] Soria-Mercado IE , Prieto-Davo A , Jensen PR , *et al.* J Nat Prod , 2005 , **68** (6) : 904 ~ 910 .
- [31] Kwon HC , Kauffman CA , Jensen PR , *et al.* J Am Chem Soc , 2006 , **128** : 1622 ~ 1632 .
- [32] Tan RX , Jensen PR , Williams PG , *et al.* J Nat Prod , 2004 , **67** (8) : 1374 ~ 1382 .
- [33] Sun Y , Tian L , Huang YF , *et al.* Pharmazie , 2006 , **61** (9) : 809 ~ 810 .