

海绵生物活性肽

赖毅东¹, 彭喜春²

(1. 东莞市质量计量监督检测所, 广东 东莞 523120) (2. 暨南大学食品科学与工程系, 广东 广州 510632)

摘要: 海绵生物是种类繁多的共生体,其生存环境复杂、代谢途径独特, 其次生代谢产物丰富多样。目前, 海绵生物活性肽的研究极为活跃。本文在分析海绵生物活性肽分子结构的基础上, 综述了从海绵中发现的肽具有各种生物活性, 包括抗肿瘤活性、抗病毒活性、抗菌活性以及其它很多种不同的活性。指出海绵动物是一个极大的药物库, 展望了海绵生物活性肽的应用前景。

关键词: 海绵; 生物活性; 肽

中图分类号: Q516; 文献标识码: A; 文章篇号:1673-9078(2007)08-0094-04

Bioactive Peptides from *Marine Sponge*

LAI Yi-dong¹, PENG Xi-chun²

(1. Dongguan Institute of Metrology and Quality Supervision Testing, Dongguan 523120, China)

(2. Department of Food Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: Marine sponge is a kind of symbionts with many species. It grows in a very complicated environment with a very special route of metabolism so there are abundant metabolites. The study on bioactive peptides from marine sponge is up and doing now. The analysis of the structure of bioactive peptide from marine sponge, the bioactivities of marine sponge, such as anti-tumour, anti-virus, anti-bacteria and so on, were reviewed. It was pointed out that marine sponge is an infinite storeroom of medicine. And the prospect of the application of bioactive peptides form marine sponge was viewed.

Key words: *marine sponge*; bioactive; peptide

海绵 (*marine sponge*) 是动物最早的祖先, 它们在地球上已生存了至少 5.6 亿年, 属于多孔动物门 (*Porifera*), 是最原始的低等多细胞海洋动物, 全世界约有 10000~15000 种, 我国也有 5000 种左右^[1]。它们大致可分为四纲: 寻常海绵纲 (*Demospongiae*)、六放海绵纲 (*Hexactinellide*)、钙质海绵纲 (*Calcarea*)、硬骨海绵纲 (*Sclerospongiae*), 其中寻常海绵纲占 95%^[2]。海绵生物种类的多样性, 代谢途径的独特性, 生存环境的复杂性以及共生体的不确定性, 决定了其次生代谢产物的丰富多样。人们从种类繁多的海绵中陆续发现了萜类、含氮化合物 (生物碱、氨基酸、核苷类、神经酰胺、环肽等)、聚醚类、大环内酯、过氧化合物、多烯多炔以及甾体等一系列生物活性化合物。这些化合物中, 许多具有广谱或特异性的抗肿瘤、抗病毒、抗微生物以及抑制各种生物酶等生理活性, 其中不少化合物具有临床应用前景。而有关生物活性肽的研发近年来极为活跃, 目前已有多种产品问世。来自海洋生物的活性肽尽管研发历史较短, 但因其具

收稿日期: 2007-04-29

通讯作者: 彭喜春 (1976-), 讲师, 博士, 主要从事功能生物分子与生物安全研究

有的独特生理功能而引起了广泛的关注, 成为活性肽领域的研究热点。本文对近年来在海绵动物中发现的生物活性多肽进行了介绍。

1 海绵生物活性多肽的结构

对海洋生物活性肽的命名主要有三种: 一是根据肽的来源来命名, 如海鞘多肽、海葵多肽、海绵多肽等等; 二是根据其生理活性来命名, 如抗菌肽、抗肿瘤肽、抗病毒肽等等; 三是根据其分子结构来命名, 如线形肽、环肽等^[3-5]。海绵多肽是存在于离海绵目、外射海绵目、石海绵目、软海绵目以及硬海绵目等海绵中的环肽化合物, 目前已分离得到近百种^[3,6]。

目前已经分离得到的海绵生物活性肽的结构主要有线形肽和环肽两种。线形肽一般按其分子量 (MW) 或所含氨基酸的个数不同加以分类。这类活性肽在海绵中比较少见, 一般是分子量比较小如从海绵 *Auleta* 属中获得的二肽 *Hemiasterlins*, 其结构见文献^[7]; 环肽是一种较线性多肽更为稳定的具有多种生理功能和医药价值的环状多肽。天然环肽中常含有非常见氨基酸, 如 D-氨基酸、 β -氨基酸及 α , β -二脱氢氨基酸等^[5,8]。根据环上所含成分的差异可以将其分为两大类: 均环肽

(Homodetic cyclopeptides) 和杂环肽 (Heterodetic cyclopeptides)。全部由氨基酸组成并且严格按肽键成环的称均环肽, 如Theonellamides Ia-Ie是一种环十三肽, 富含丙氨酸和一个封闭的N末端; Phakelstatin I是由 (Pro-D-Thr-Phe-Ile-Phe-Ser) 组成的环肽; Fenestins A是由 (L-Pro-L-Pro-L-Leu-L-Ile) 组成的环肽。主链由肽键组成, 而以其他官能团如二硫键、酯键、醚键、硫醚键等成环的以及含非氨基酸组成的假肽 (Depsipeptides or peptolides) 称为杂环肽, 相应结构见文献^[5,7-11]。

2 不同生物活性的海绵多肽的生物活性

2.1 抗肿瘤活性多肽

海洋抗肿瘤药物在海洋天然产物研究中一直起着主导作用, 目前发现的具有抗肿瘤活性的海洋生物活性物质主要来源于海洋中的动植物, 如海绵、珊瑚、海兔、海鞘、鲨鱼、海星、海葵、海胆和海藻等, 其中以海绵、海鞘和海藻最多。海洋抗肿瘤药物的作用机制一般为: (1) 干扰肿瘤细胞有丝分裂和微管聚合而直接杀伤肿瘤细胞; (2) 调节蛋白激酶C (PKC) 合成; (3) 抑制蛋白质合成; (4) 增强机体自动防御体系, 诱导白细胞介素2 (IL-2)、肿瘤坏死因子 (TNF)、干扰素 (INF) 等分泌; (5) 抑制肿瘤新生血管形成等等^[12]。

从琉球半岛附近海绵*Dysidea arenaria*得到的环形假肽 (depsipeptide) Arenastatin A与美国FDA临床试验I期药物Crytophycin 1结构相似, 具极强的细胞毒性, 对KB细胞的IC₅₀为5 pg/mL, 对抗鼠白血病P388的抗肿瘤活性ip较iv效果明显, 它能抑制微管聚合^[13]。Discodermins A-H及Polydiscamide A是一类来自海绵*Discodermia*的环肽, 它们是含13~14个罕见氨基酸的链, 同时还带有一个由苏氨酸跟C-端内酯化构成的大环。它们都具有一定的细胞毒性, 抗P338白血病细胞和A549人肺癌细胞系, 其IC₅₀为0.7 μg/mL^[11]。Discodermins A被认为能跟细胞质膜作用, 增加膜的渗透性^[14]。使用500 μg/mL从*Discodermi lakilensis*属海绵中分离得到的Discodermins A与1 μg/mL大田酸合用, 可使荷瘤小鼠的肿瘤数从4.7降至1.1, 具有显著的抑瘤作用^[3]; 还有从*Theonella*中分离得到的Keramamides B-D和Orbiculamide A也具有抗P338白血病细胞毒性 (IC₅₀=4.7 ng/mL)^[11]。

Geodiamolides A~F是从加勒比海海绵*Geodia* sp. 分离得到的一类由三个氨基酸形成的一个细胞毒性环肽, 这种环肽都含有一个单位的聚酮。与

Geodiamolides结构相似的Jaspamide是从*Jaspis*属海绵中分离出来的环肽, 具有杀伤线虫活性 (LD₅₀<1 μg/mL) 和细胞毒活性, 对喉上皮组织癌细胞的IC₅₀为0.32 μg/mL, 其结构的全合成已经完成^[3,6,11,15]。

从日本采集的蒂壳海绵属海绵中可分离到5种新的多功能杂环多肽Theopederins A~E与从新西兰山海绵属*Mycale* sp及冲绳群岛蒂壳海绵属*Theomella* sp中提取出杂环肽类化合物Mycalamide A, B及Onnamide A的结构类似。Theopederin对P388鼠白血病细胞具有强烈的细胞毒活性, 其IC₅₀<1 ng/mL。最有潜力的Theopederin A, 其体内抗P388的试验结果表明其有显著的抗肿瘤活性 (剂量为0.1 mg/kg时, 治疗组比对照组值为205); 而Mycalamide及Onnamide两种化合物在体外均有潜在的细胞毒活性, 在体内对多种白血病和实体瘤模型系统有抗肿瘤活性, 如对P388肿瘤细胞系, HL-60、HT29、A549人肿瘤细胞系以及B16黑色素瘤、Lewis肺癌、M5076卵巢癌等皆有抑制作用, 并能使ras (癌基因) 转化的NRK细胞系回复突变至正常细胞, 并抑制p21-ras的蛋白合成^[4,16-18]。

Junji等人从斐济群岛的Vanua Levu岛海域采集的海绵*Stylorella aurantium*中分离得到了一种结构很特别的环七肽Wainunuamide。这种环肽含有3个脯氨酸残基和1个组氨酸残基, 此结构以前只在藻青菌*Oscillatoria agardhii*中发现过, 在环肽当中是非常罕见的。研究表明, 其抗癌活性对于卵巢癌细胞A2780和白血病细胞K562的ID₅₀分别为0.47和0.45 μg/mL, 显示出了一定的抗癌活性^[8,19]。

从巴布亚新几内亚采集到的海绵*Halicionanigra*提取物中含有两个环六肽Haligramides A-B, 在美国国家癌症研究所 (NCI) 进行的60种肿瘤细胞系筛选实验中均显示出极特殊的敏感性^[20]。Boyd的研究小组从海绵*Auletta*属中获得的二肽Hemiasterlins C, 与先前从海绵*Siphonochalinaz*中分离获得的Hemiasterlins A和B是同一类物质, 其抑制癌细胞的活性很高^[7]。Phakellistatins是一类富含脯氨酸的环七肽, 其中Phakellistatin 2对P388鼠白细胞和黑色素瘤细胞系均有潜在抑制活性^[11]。

海绵抗肿瘤活性肽的开发已经在肿瘤治疗领域占一席之地, 许多新化合物被发现, 有些已经处于临床前及临床试验阶段。

2.2 抗病毒活性多肽

近年来的研究发现某些海绵能产生HIV-抑制肽。

从海绵*Theonella*中分离得到的Papuamides A-D由大量非常见氨基酸构成, 它们是首个报道含有3-羟

基亮氨酸及同源脯氨酸 (homoproline) 残基。其中, Papuamides A和B能抑制HIV-1病毒对T-淋巴原细胞的感染(EC_{50} 约为4 ng/mL)^[11,21]。

Callipeltin A是从一种生活在古苏格兰东海岸的海绵*Callipelta*属中, 分离得到新的环十肽。这种环十肽含有1个结构新颖环假肽, 3个非常见的氨基酸残基。临床试验表明, 其具有抗真菌和抗艾滋病活性, 特别是对HIV-1病毒表现出了强烈的抗病毒活性, 其 CD_{50} 与 ED_{50} 分别为0.29和0.01 $\mu\text{g/mL}$, 比高效抗HIV药物AZT还要高(CD_{50} 为0.52 $\mu\text{g/mL}$)^[8,21]。

从海绵*Sidonops microspinoso*分离到的另外一种抗HIV的代表物质为Micro-spinosamide, 它是一种含有13个氨基酸残基的新环假肽。天然活性肽中, 它首先被报道含有一个 β -羟基-*p*-溴丙苯酸残基, 这种肽能抑制HIV-1感染时引起的细胞病变^[11]。

2.3 抗菌活性肽

Capon等通过生物活性监测的方法在南澳大利亚海绵*Phoriospongia* sp和*Callyspongia bilamellata*中找到了两个新的杀线虫的杂环假肽Phoriospongins A和B。利用波谱法并与以往报道的海绵杂环假肽cycloolithistide A进行比较分析, 确定了Phoriospongins的结构(该结构是利用电雾离子化质谱Electrospray Ionization MS和HPLC分析其酸水解产物得到的)^[4]。

2002年爱尔兰学者Fusetani从海绵*Theonella swinhoei*中分离得到环假肽Nagahamide A具有抗菌和抗真菌性。从菲律宾群岛采集的*Theonella* sp.和*Microscleroderma* sp中分离得到环肽Microsclerodermins A-E具有抗真菌活性, 而从帕劳群岛采集的深海海绵*Microscleroderma* sp中分离出的环肽Microsclerodermins F-I同时具有细胞毒和抗真菌活性^[22]。另外, 一些海绵生物活性肽同时具有多种生物活性, 如Jaspamide同时具有抗肿瘤活性以及杀伤线虫活性和细胞毒性^[6]; Geodiamolides A, B也同时具有抗肿瘤活性和细胞毒性^[6]; Disodermin A和Polydiscamide A具有抗肿瘤活性和抑菌活性, 前者在浓度为3和1.6 $\mu\text{g/mL}$ 时可分别抑制枯草杆菌和奇异型杆菌(IC_{50} 在 $3.5 \times 10^{-7} \sim 7.0 \times 10^{-7}$ mol/L之间), 后者对枯草杆菌的MIC为3 $\mu\text{g/mL}$; Polydiscamide A及其衍生物被认为同时可以作为抗菌和抗肿瘤制剂^[11,14]。

其它来自海绵的抗真菌活性肽还有Aciculitins A-C、Discobahamin A和B以及Theonegramide等^[11]。

2.4 其它生物活性肽

2002年, Ciasullo报道了一种瓦努阿图群岛的海绵*Renieran* sp.的极性提取物具有免疫调节活性, 后来发

现其中含有一个环状三肽化合物 Renieramide。这一代谢产物是专利OF4949(抗癌制剂)家族中环肽的合成衍生物。这篇报道首次描述了从天然产物中分离得到这种代谢产物。Renieramide有一个十六元环的骨架, 连接一个特殊的联苯二乙醚的侧链^[4]。

Fusetani从海绵*Theonella*属中分离到的3个线性四肽, 其中Nazumamide A的结构为2,5-二羟基苯基-L-Arg-L-Pro-Ile- α -氨基丁酸, 实验证明其具有凝血酶抑制活性^[4]; Miraziridine A是从一种日本海绵*Theonella* aff. *Mirabilis*中提取到的, 它属于极为罕见的线性五肽, 能够抑制组织蛋白酶B的活性^[4]; 同样来自海绵*Theonella* sp.的Cyclotheonamides A和B能强烈地抑制多种蛋白酶尤其是凝血酶的活性, 是一类潜在的抗血栓环肽。其它来自海绵*Theonella* sp具有不同活性的多肽有Swinholide A, Bistheonellides, Theonellamide A-F和Theonellapeptolides等等^[11]。来自海绵*Halicolona nigra*的Haligramides A和B是六肽, 具有细胞毒性; 另外, Coleman等也从海绵*Cymbasteta*属中发现了具细胞毒活性的多肽物质, 其结构中含有各种甲基、苯基、叔丁基修饰的氨基酸^[4]。人们从海绵*D. herbacea*中得到的(-)-dysiherbaine属神经毒素, 已通过全合成确认了它们的立体化学结构^[4]。其它来自海绵、同时具有细胞毒性和抗繁殖活性的多肽有Hemiasterlin、Milnamide A和Jasplakinolide等等。Celenamides A~D是从东太平洋硬海绵目中分离得到的具乙酰化的多肽, 体外实验证明具有降低血色素的作用^[6]。

3 海绵生物活性肽研究的展望

自从1950年首次报道从海绵中分离到活性物质, 海绵便引起了人们更多的关注。据统计, 海绵是迄今为止海洋天然产物的最大来源, 从海绵中发现活性物质的概率相对于它在海洋生物中所占的比例以及其它海洋生物来说非常高。从海绵中发现的最引人注目的生物活性物质是抗肿瘤、抗菌和抗病毒(含HIV病毒)的物质。除此之外, 一些活性物质还具有特定的酶抑制剂活性、抗污损能力等。

人们对海绵活性多肽的研究已取得了很大的成绩, 也研制并开发成功了一些新药。可以相信, 随着研究的不断深入, 必将有更多的海绵生物活性肽被发现, 更多的生物活性被揭示, 海绵活性肽的应用也将不断扩大。然而已研究的海绵活性肽中大多为环肽, 虽然其作用都比较明确, 但因其结构复杂、活性成分含量低, 以及多含D型氨基酸、多种修饰基团、封闭

的N末端等特殊结构,给研制开发增添了诸多困难,更是工业化生产难以逾越的障碍。迄今为止,能够顺利进行商业开发的海绵药物寥寥无几,基本上没有进入临床应用的化合物,多数停留在体外实验(*in vitro*)的阶段,进入体内实验(*in vivo*)的活性物质只有几种。因此,利用现代生物技术(如基因工程、细胞工程、发酵工程等)大规模生产药用成分,为实验室药理测试、临床实验,乃至新药批准后的患者用药提供大量的样品,将是海洋生物学家和医药学家们应该共同思考和解决的重大课题。

参考文献

- [1] Zhang XY, Zhao QY, Xue S, et al. Bioactive compounds from marine sponges and cell culture of marine sponges [J]. Chin J Biotech (生物工程学报), 2002, 18 (1): 10-16
- [2] Xue S, Zhao Q Y, Zhang W, et al. Research of natural products from Chinese sponge [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2003, 15(4): 259-368
- [3] Zeng MY, Cui HY, Li BF. Progress in studies of marine bioactive peptides and their bioactivities [J]. Chin J Mar Drugs (中国海洋药物杂志), 2005, 24(1): 46-51
- [4] Yu R M, Yan C Y, Qu H Y, et al. Progress and perspective of studies on the bioactive polypeptide from marine products [J]. Mar Sci Bull (海洋通报). 2004, 23(3): 87-93
- [5] Aneiros A, Garateix A. Bioactive peptides from marine sources: pharmacological properties and isolation procedures [J]. J Chromatogra B, 2004, 803: 41-53
- [6] Liu YG, Li BF, Wang DF, et al. Progress of studies on the marine bioactive peptides [J]. Chin J Mar Drugs (中国海洋药物杂志), 2005, 24(3): 52-57
- [7] Gamble W R., Durso N A., Fuller R W, et al. Cytotoxic and Tubulin-Interactive Hemiasterlins from *Auletta* sp. And *Siphonochalina* sp [J]. Sponges Bioorg & Med Chem, 1999, 7:1611-1615
- [8] Bai W, Tian M Q, Ma Y P, et al. Progress of studies on bioactive peptides of marine natural products [J]. J Hainan Med Coll (海南医学院学报), 2005, 11(4): 346-349
- [9] Sun X W, Deng H Y, Tan H. Analysis methods and research of cyclopeptides [J]. Res & Dev World Sci Tech (世界科技研究与发展), 2005, 8: 72-78
- [10] Wang T, Xiang Q X, Li Z K, et al. Progress of studies on cyclopeptides [J]. Chem Res App (化学研究与应用), 2002, 14(1): 3-8
- [11] Mayer A M S, Gustafson K R. Marine pharmacology in 2001-2: antitumour and cytotoxic compounds [J]. Euro J Cancer, 2004, 40: 2676-2704
- [12] Tang H F, Yi Y H, Yao X S, et al. Review and prospect for study of marine antitumor substances [J]. Pharm Care & Res (药学服务与研究), 2002, 2(1): 7-16
- [13] Koiso Y, Morita K, Kobayashi M, et al. Effects of arenastatin A and its synthetic analogs on microtubule assembly [J]. Chemico-Biol Inter, 1996, 102(3): 183-191
- [14] Sato K, Horibe K, Amano K, et al. Membrane permeabilization induced by discodermin A, a novel marine bioactive peptide [J]. Toxicon, 2001, 39(2-3): 259-264
- [15] Terracciano S, Bruno I, Bifulco G, et al. Synthesis, solution structure, and bioactivity of six new simplified analogues of the natural cyclodepsipeptide jaspamide [J]. Bioorg Med & Chem, 2005, 13(17): 5225-5239
- [16] Wu Z F, Xu D H, Mei X T, et al. Pharmacological effects bioactive products from animal of marine sponge [J]. Chin Trad & Herb Drugs (中草药), 2003, 34(11): (supp)10-15
- [17] Gardiner J M., Mills R and Fessard T. Synthesis of model ring systems related to C10-C18 analogues of the mycalamides/theopederins [J]. Tetrahedron Lett, 2004(45): 1215-1217
- [18] Piel J, Hui D, Wen G, et al. Antitumor polyketide biosynthesis by an uncultivated bacterial symbiont of the marine sponge *Theonella swinhoei* [J]. Proc Nat Acad Sci, 2004, 101(46): 16222-16227
- [19] Tabudravu J, Morris L A, J Bosch J K, et al. Wainunamide, a histidine-containing proline-rich cyclic heptapeptide isolated from the Fijian marine sponge *Stylotella aurantium* [J]. Tetrahedron Lett, 2001, 42(52): 9273-9276
- [20] Rashid M A, Gustafson K R, Boswell J L, et al. Haligramides A and B, two new cytotoxic hexapeptides from the marine sponge *Haliclona nigra* [J]. J Nat Prod, 2000, 63(7): 956-959
- [21] Okamoto N, Hara O, Makino K. Stereoselective synthesis of (3S, 4R)-3,4-dimethyl-(S)-glutamine and the absolute stereochemistry of the natural product from papuamides and callipeltin [J]. Tetrahedron: Asymmetry, 2001, 12(9): 1353-1358
- [22] Woong S J, Kyu NK, Young S L, et al. Halocidin: a new antimicrobial peptide from hemocytes of the solitary tunicate, *Halocynthia aurantium* [J]. FEBS Lett, 2002, 521: 8