

• 研究报告 •

中国南海总合草苔虫中 新的抗癌活性成分 Bryostatin19[△]

林厚文 易杨华 李文林 姚新生* 吴厚铭**
(中国人民解放军第二军医大学药学院,上海 200433)

摘要 自我国南海采集的总合草苔虫中,经多种层析方法分离到一种新的大环内酯化合物,应用化学方法和现代光谱技术(UV, IR, ESI-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D-NMR)确定了它的化学结构,并命名为 bryostatin19。体外抗癌活性试验表明,该化合物对 U937 单核细胞白血病细胞株有极强的杀灭作用,(ED₅₀=2.8 × 10⁻³ μg/ml),同时对 HL-60 早幼粒白血病和 K562 红白细胞白血病等细胞株均有显著的抑制作用。

关键词 总合草苔虫;抗癌活性;草苔虫内酯 19

海洋苔藓动物俗称苔藓虫、草苔虫,属真体腔动物,是海洋底栖动物的重要组成之一。最常见的种是总合草苔虫 *Bugula neritina* (Linnaeus),也称多室草苔虫。我国沿海从渤海到南海的西沙群岛的多盐海域都有。该体呈红褐色或紫褐色,呈草丛状,每支有个虫两列,交互排列。其群体常附着在船底、渔排浮桶及网箱等海洋水下设施上,是海洋主要污损物之一^[1]。草苔虫除了是底栖鱼类、软体动物所喜食物的饵料,其药物用途一直没有被发现。直到 1986 年,美国亚利桑那州大学 Pettit 研究小组在对海洋动物的广泛开拓性研究中,首次注意到了草苔虫中的抗癌活性的单体 bryostatin1,并用 X 衍射法确定了它的结构为大环内酯类化合物。到目前为止,已从中得到 18 个活性单体, bryostatin1 ~ 18^[1,2]。其中 bryostatin1 已在美国经 FDA 批准进入 II 期临床试验,是极有希望的新型抗癌药物。

1 材料与方法

样品自我国南海海域采集,经杭州大学生物系蔡如星教授鉴定为总合草苔虫 *Bugu-*

la neritina。新鲜采集的样品,洗净,置阴凉通风处阴干,用 CH₂Cl₂ 冷浸提取,提取物混悬于 MeOH:H₂O(9:1)溶液中,用正己烷萃取,含水甲醇层再加水至 MeOH:H₂O(4:1),用 CCl₄ 萃取,得 CCl₄ 萃取部分。经多次 Sephadex LH-20 凝胶柱层析和硅胶柱层析,最后再经高效液相层析制备。色谱条件为: Waters 510 高效液相层析仪, Bondapak C₁₈ 层析柱(9mm × 500mm),洗脱剂为 80% MeOH/H₂O,流速 2ml/min,检测波长为 228nm。

2 结果与讨论

2.1 经上述方法,得到 5 个大环内酯类单体: COM20, ATR42, ATR52, ATR35 和 ATR30。利用光谱方法(IR, UV, ESI-MS, 2D-NMR),鉴定了 COM20 的结构,为一新的大环内酯类化合物,命名为 bryostatin19。另外,自非抗癌活性部分分得 4 个化合物: H-1, H-2, H-3, ATR20。其中 H-1 为棕榈酸, H-2 为 Δ^7 -胆甾烯-3 β -醇, H-3 为胆甾醇类。体外抗癌实验表明, bryostatin19 对 U937 单核细胞白血病细胞株有极强的杀灭作用

* 沈阳药科大学(沈阳 110015)

** 上海有机化学研究所(上海 200032)

[△]国家自然科学基金资助项目(编号 29672050)

($ED_{20} = 2.8 \times 10^{-3} \mu\text{g/ml}$), 同时对 HL-60 早幼粒细胞白血病和 K562 红白细胞白血病等细胞株均有显著的抗癌活性。

bryostatin 19: 白色细针晶; 熔点 $140 \sim 142^\circ\text{C}$; 分子式 $\text{C}_{45}\text{H}_{66}\text{O}_{17}$; 元素分析: 实测值 C: 61.0%, H: 7.7%, 理论值 C: 61.5%, H: 7.51%, $\text{UV}\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 228. $7\text{IR}\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3457(OH), 2950(CH_3, CH_2), 1795($\text{C}=\text{O}$), 五

元内酯环), 1740($\text{C}=\text{O}$), 1600, 1290, 1245, 1160; ESI-MS: $902(\text{M} + \text{Na} + \text{H})^-$, 推算出分子量为 878。采用高分辨核磁共振仪 (600MHz) 测定了该化合物的 DQFCOSY、HMQC、TOCSY、NOESY 等二维相关谱, 确定了该化合物的所有的碳原子和氢原子的信号归属(见表 1), 化学结构如下:

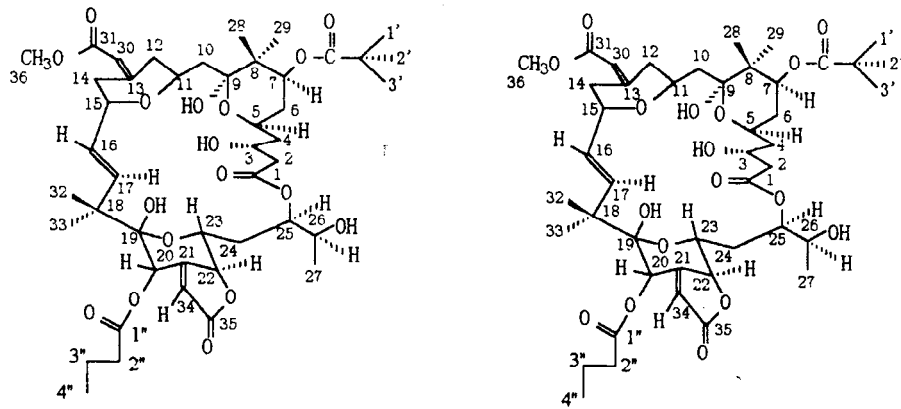


表 1 bryostatin 19 的 ^1H 和 ^{13}C 核磁共振谱数据 (600MHz, CDCl_3)

序号	^1H ppm	^{13}C ppm	序号	^1H ppm	^{13}C ppm
1		172.51	22	4.47(d, $J=8.9\text{Hz}$)	81.34
2	2.50(d, $J=12.0\text{Hz}$)	41.93	23	3.76(m)	69.06
3	4.06(Brs)	68.32	24 α	2.37(m)	32.95
4 α	1.60(Brd, $J=15.0\text{Hz}$)	39.38	24 β	1.88(m)	
4 β	2.00(Brt, $J=15.0, 13.0\text{Hz}$)		25	5.06(ddd, $J=9.2, 5.3, 3.0\text{Hz}$)	72.87
5	4.22(Brt, $J=11.9\text{Hz}$)	65.77	26	3.86(m)	69.57
6 α	1.72(ddd, $J=12.0, 7.0\text{Hz}$)	33.15	27	1.23(d, $J=6.6\text{Hz}$)	19.19
6 β	1.44(m)		28	1.04(s)	21.21
7	5.13(dd, $J=11.9, 4.6\text{Hz}$)	72.27	29	0.95(s)	17.04
8		41.28	30	5.71(s)	114.61
9		101.79	31		166.79
10 α	1.67(d, $J=14.8\text{Hz}$)	42.12	32	1.04(s)	21.03
10 β	2.10(dd, $J=14.8, 7.9\text{Hz}$)		33	1.15(s)	24.49
11	3.86(Brt, $J=6.3\text{Hz}$)	71.25	34	5.83(s)	114.30
12 α	2.09(d, $J=1.48\text{Hz}$)	44.01	35		171.90
12 β	2.19(dd, $J=18.2, 7.9\text{Hz}$)		36	3.71(s)	51.10
13		156.23	1'		177.51
14 α	3.68(d, $J=19.0\text{Hz}$)		2'		39.04
14 β	1.9(d, $J=19.0\text{Hz}$)		3'	1.20(s)	27.16
15	4.15(m)	78.17	4'	1.20(s)	27.16
16	5.43(dd, $J=15.8, 8.3\text{Hz}$)	132.58	5'	1.20(s)	27.16
17	5.72(d, $J=15.8\text{Hz}$)	136.37	1''		172.10
18		45.24	2''	2.43(t, $J=7.6\text{Hz}$)	36.13
19		101.57	3''	1.70(m)	18.28
20	5.83(s)	68.61	4''	0.98(t, $J=7.6\text{Hz}$)	13.74
21		166.75			

2.2 bryostatin19 体外抗癌活性试验 采用台盼蓝排染法,于 96 孔板中每孔加入 1.2×10^5 /ml 浓度的肿瘤悬浮细胞,加入不同浓度的药物,作用 72h 后,用台盼蓝计数活细胞数,计算抑制率。结果见表 2。

表 2 bryostatin19 对几种白血病细胞株的抑制率(%)

细胞株	浓度($\mu\text{g/ml}$)					ED ₅₀	评价
	100	10	1	0.1	0.01		
HL-60		34	36	40	32		+
U937	100	98	98	91	85	2.8×10^{-3}	+++
K562		75	60	60	65		+

本项研究表明在我国南部海域生长的草苔虫中亦含有具有显著抗癌活性的大环内酯类成分,而且资源丰富。研究结果将为开发利用我国海洋药物资源提供了科学依据,对新的高效抗癌药物的研制具有重要价值。

参考文献

- 1 Pettit, G *et al.* Isolation and structure of bryostatins 14 and 15. *Tetrahedron*, 1991; 47: 3601
- 2 Pettit, G R *et al.* Antineoplastic agents 340. Isolation and structural elucidation of bryostatin 16 ~18. *J Nat Prod*, 1996; 59: 286

BRYOSTATIN19: A NEW ANTINEOPLASTIC COMPONENT FROM *BUGULA NERITINA* IN THE SOUTH CHINA SEA

Lin Houwen, Yi Yanghua, Li Wenlin, *et al.*

(School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

ABSTRACT A new bryostatin was isolated from *Bugula neritina* growing in the south China sea by various chromatography. Its structure was elucidated by chemical evidence and spectroscopic data (UV, IR, ESI-MS, ¹HNMR, ¹³CNMR, 2DNMR) and named as bryostatin 19. The new compound showed a significant antineoplastic activity against U937 (ED₅₀ = 2.8×10^{-3} $\mu\text{g/ml}$), HL-60 and K562 leukemia cells *in vitro*.

KEY WORDS *Bugula neritina*; antineoplastic activity; bryostatin 19

· 书 讯 ·

《生化药物研究》一书出版

由王凤山和凌沛学主编张天民主审的《生化药物研究》一书精选了张天民教授和他的合作者近 20 年来有关生化药物的论文,已由人民卫生出版社出版。该书内容涉及肝素、硫酸软骨素、玻璃酸等多糖类物质,胸腺素等蛋白质及肽类药物,超氧化物歧化酶等酶类药以及鱼油多不饱和脂肪酸等脂类药物的制备、性质研究、检验方法、制剂、药理作用和临床应用等。该书具有系统性和实用性,对从事生化药物研究、教学和生产的有关人员都具有参考价值。该书为 16 开精装本,90 余万字,每册 65 元(含邮资),欲购者请与山东省生物药物研究所(地址:济南山大路 264 号,邮编 250014)联系(联系人:贺艳丽)。