doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2015.05.012

Renieramycins 类生物碱的分离提取及其生物活性研究进展*

陈瑞蛟 孔庆胜△ 综述

(济宁医学院山东省出生缺陷研究与转化协同创新中心,山东 济宁 272067)

摘 要 Renieramycins 生物碱对多种人体癌细胞具有显著的抗癌活性,有希望成为极具潜力的抗癌新药。本文简要介绍了四氢异喹啉生物碱的分类,详细综述了 Renieramycins 生物碱的分离、活性、结构特点。

关键词 四氢异喹啉生物碱;Renieramycin;生物活性

中图分类号:O629 **文献标识码**:A **文章编号**:1000-9760(2015)10-344-05

海洋双四氢异喹啉生物碱是一大类结构复杂,种类众多的天然产物,包括 Renieramycins、Saframycins、Ecteinascidins 等[1-2]。此类生物碱及其类似物具有显著的抗肿瘤、抗菌等活性,在化学、生物学、医学等研究领域受到广泛关注[3]。其中 Ecteinascidin 743 (ET-743)自 2007 年开始率先在欧洲、韩国等成为治疗多种晚期软组织肿瘤的抗癌药物(药品名:Trabectedin;Yondelis)[4-5]。研究表明,在抗肿瘤活性上 ET-743 比目前临床上广泛使用的喜树碱、紫杉醇、阿霉素、博来霉素、丝裂霉素 C、顺铂及依托泊苷等著名抗癌药物高出 1～3 个数量级,且具有独特的多重作用机制。

1 Renieramycins 类生物碱的结构特点

1974 年,加拿大科学家 Kluepfel 等[6]从葡萄牙链霉菌 Streptomyces lusitanus AYB-1206 中分离得到了第一例具有抗肿瘤活性的四氢异喹啉类生物碱 Naphthyridinomycin。到目前为止,已经有 60 多个此类化合物被报道,虽然具有抗肿瘤活性的四氢异喹啉类生物碱结构复杂、数量繁多,但其在化学结构上有相似性和差别,根据其结构特点[1-2],可以将其分为 3 大家族:1)Saframycin 家族;2)Naphthyridinomycin 家族;3)Quinocarcin 家族。

Renieramycins 类生物碱属于第一类 Saframycin 家族,它的结构特点是[1-2]:1)含有 2 个四氢异喹啉结构单元;2)C1 位上的侧链不再是 Saframycins 类的酰胺基,而是含有酯基或者是游离羟基。从 1982 年至今,化学家从海洋生物中分离得到一系列具有此类似结构和良好生物活性的分子[1-2],从而引起了药物及有机化学家们的广泛关注。其中很多个化合物及其衍生物显示了很好的抗癌活性,如乳腺癌、直肠癌、肺癌等。见图 1。

* [基金项目]2013 年山东省自然科学基金(编号:ZR2013CM031),济宁医学院博士启动基金项目(编号:JY14QD03)

△ [通信作者]孔庆胜,E-mail:jnyxykqs@163.com

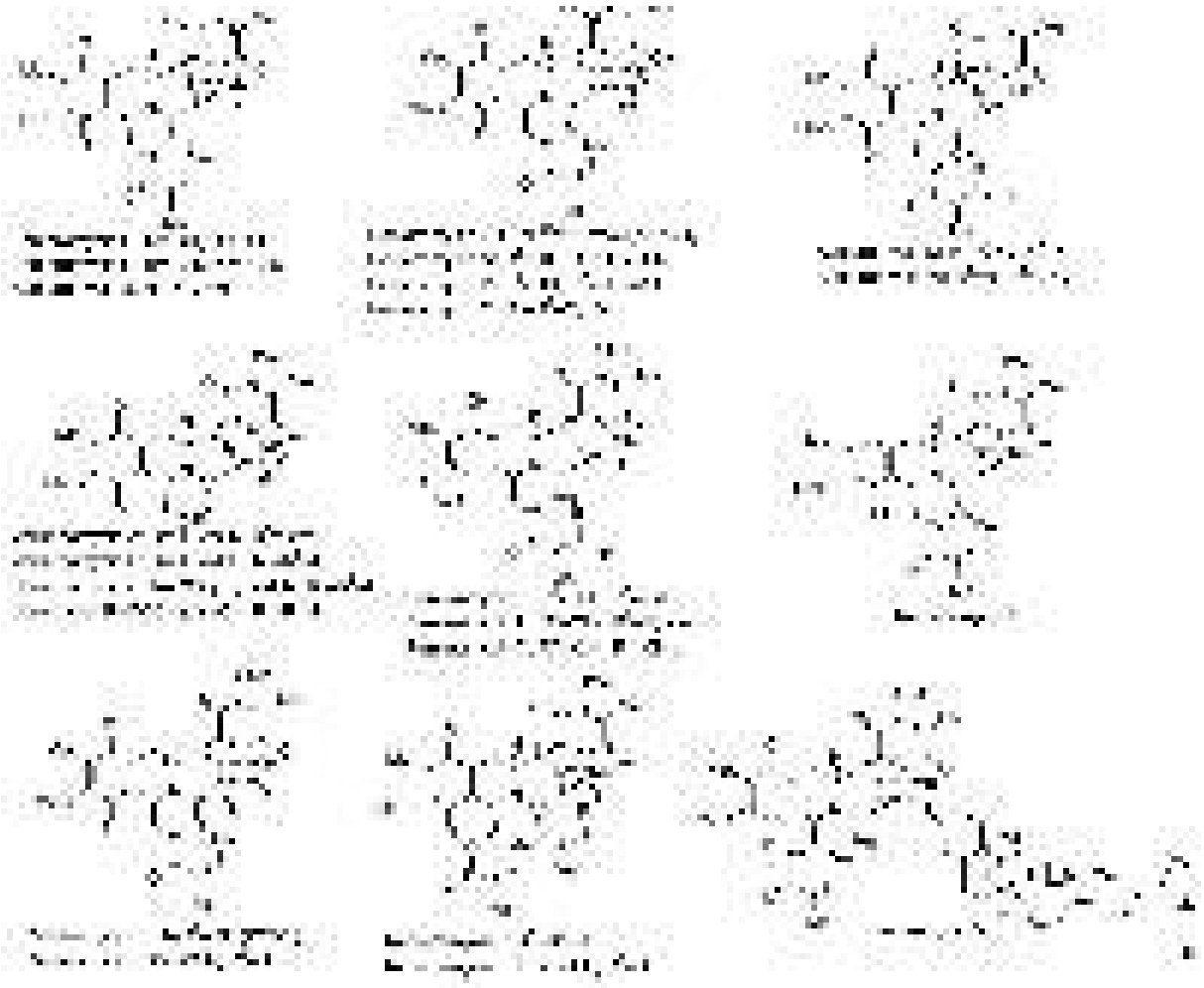

图 1 Renieramycins 类生物碱

2 Renieramycins 类生物碱的分离和生物活性

1982 年，Faulkner 等[7]从海绵体 Reniera sp. 中分离得到 4 个类似于 Saframycin 类的新化合物，并且把他们命名为 Renieramycin A，B，C，D。他们发现这 4 个新化合物具有抗菌活性，但是不能确定是否具有和 Saframycin A 一样的抗癌活性。

1989 年，Faulkner 等[8]从海绵体 Reniera sp. 中又分离了 2 个新化合物——Renieramycin E，F。这 2 个化合物很不稳定，特别是溶于氯仿并暴露在空气中或者是在柱色谱分离时，降解速度非常快。

1992年，Davidson[9]从深蓝色的 Fijian 海绵体 Xestospongia caycedoi. 中分离到 Renieramycin G。研究发现，Renieramycin G 的稳定性要好于 Renieramycin E，F，可能是由于它的 C21位是酰胺而不是 Renieramycin E，F 中的甲醇胺。虽然稳定性好了，但是它的活性却表现为中等强度。见表1。

表 1 Renieramycin G 的癌细胞毒性实验

细胞株	KB	LoVo
$IC_{50}/\mu g \cdot ml^{-1}$	0.5	1.0

注：KB：人类的鼻咽癌；LoVo：人类的结肠癌

1998 年，Parameswaran 等[10]从海绵体 Haliclona cribicutis 中分离到了 Renieramycin H，I。他们认为 Renieramycin H 是具有独特结构的双四氢异喹啉生物碱，区别于其他 Renieramycins 类生物碱的地方是在 C3-C4 之间存在一个双键，并且在桥头 C13 上连接一个羟基。

2000年，Pettit 等[11]在马尔代夫共和国的珊瑚礁通道上收集的蓝色海绵体 Cribrochalina 中分离得到了 Cribrostatin IV，它的结构与 Parameswaran 等分离报道的 Renieramycin H 很类似，在 C3-C4之间也存在一个双键。在生物活性方面，Cribrostatin IV 在微摩尔等量级上具有一定的细胞毒素和抗菌活性。结果见表2。

表 2 Cribrostatin IV 的癌细胞毒性实验

细胞株	BXPC-3	SK-N-SH	OVCAR-3	NCI-H460	FADU	DU-145	P388
$GI_{50}/\mu g \cdot ml^{-1}$	5.6	3.6	2.2	>10	0.26	>10	24.6

注：BXPC-3：人类的胰腺癌；SK-N-SH：神经母细胞癌；OVCAR-3：卵巢癌；NCI-H460：肺癌；FADU：咽癌；DU-145：前列腺癌；P388：老鼠的淋巴腺瘤

2001 年，Kubo 等[12]通过氢谱和碳谱对 Renieramycin H 进行分析研究，并且结合 Pettit 等分离得到 Cribrostatin IV 的波谱信息，发现 Parameswaran 等鉴定的结构是错误的，其实 Renieramycin H 和 Cribrostatin IV 是同一个化合物。Kubo 等对 Renieramycin H 的结构进行了修饰更正后，化学家们对于 Renieramycin I 结构的对与错至今仍存在争议。

2000 年，Fontana 等从太平洋裸鳃亚目动物 Jorunna funebris 的皮和黏液中分离得到一个新的双四氢异喹啉生物碱——Jorumycin。它与之前分离的 Renieramycins 类生物碱的区别在于 C1 位上的侧链由当归酰基变为乙酰基[3,13-14]。他们研究发现 Jorumycin 具有很好的抗癌活性。结果见表 3。

表 3 Jorumycin 的癌细胞毒性实验

细胞株	P388	A549	HT29	MEL28
$IC_{50}/\mu g \cdot ml^{-1}$	12.5	12.5	12.5	12.5

注：P388：老鼠的淋巴腺瘤；A549：人类的肺癌；HT29：人类的结肠癌；MEL28：人类的黑色素瘤

2003 年，Fusetani 课题组[15]从海绵体 Neopetrosia sp. 中分离出一个新的四氢异喹啉生物碱——Renieramycin P。它同后面 Saito 课题组分离出来的 Renieramycin N 结构很类似，区别就在于 C21 位上的取代基由氰基变为羟基。Fusetani 等研究表明，Renieramycin P 也具有很好的抗癌活性。结果见表 4。

表 4 Renieramycin P 的癌细胞毒性实验

细胞株	P388	3Y1	HeLa
$IC_{50}/\mu g \cdot ml^{-1}$	0.53	5.3	12.3

注：P388：老鼠的淋巴腺瘤；3Y1：成纤维癌；HeLa：人类的宫颈癌

随后，Saito 课题组[16]报道了从蓝色的泰国海绵体 Xestospongia sp. 中分离得到的 3 个新型的双四氢异喹啉生物碱——Renieramycin J，K，L，它们的特点是在 C21 位上连接了一个烷烃链。但是他们不能确切地证明这 3 个化合物到底是天然产物还是人造产物，因为这 3 个化合物很有可能在分离过程中与丙酮进行了分子交换。这种结果可以预测 Renieramycin J 可能是 Renieramycin E 与丙酮在 C21 位上进行反应生成的，根据这个结论，他们课题组对海绵体 Xestospongia sp. 先用 KCN 进行预处理，然后从处理后的海绵体 Xestospongia sp. 中分离得到了两个相对稳定的新化合物——Renieramycin M，N，通过 KCN 预处理，这样就可以使 C21 位上的羟基转化为氰基，这样的结构相对来说就比较稳定了。使用这种方法，他们分离出克级以上的 Renieramycin M 和 Ecteinascidin 770。但是，Renieramycin N 对光和氧气特别的敏感，很容易氧化成另一个新化合物 Renieramycin O。Saito 课题组对分离的几个化合物进行了活性探究，发现它们也具有很好的抗肿瘤活性。结果见表 5。

2004 年，Saito 课题组[17]通过深入研究，从 KCN 预处理过的海绵体 Xestospongia sp. 中又分离出 4 个 Renieramycins 类生物碱——Renieramycin O，Renieramycin Q，R，S。这 4 个新化合物与以前报道的 Renieramycins 类生物碱非常类似，区别最大的是 Renieramycin S，其 C18 位上第一次发现是游离的酚羟基。Saito 课题组并对它们的生物活性进行了深入研究，发现它们具有很好的抗癌活性，并且与自身的结构有很大的关联。结果见表 6。

2007 年，Saito 等[18]从 KCN 预处理过的泰国裸鳃亚目动物 Jorunna funebris 的外皮、内脏器官和附着卵的带状物中又分离出 3 个稳定的 Renieramycins 型的双四氢异喹啉生物碱——Jorunnamycin A-C。这 3 个化合物同 2000 年由 Fontana 课题组分离的 Jorumycin 结构类似，侧链从乙酰基变为游离羟基或者丙酰基。他们对这类化合物进行了生物活性研究。结果见表 7。

表 5 Renieramycin M-O 的癌细胞毒性实验(IC_{50}/nM)

细胞株	Renieramycin M	Renieramycin N	Renieramycin O	Saframycin A	Ecteinascidin 770
HCT116	7.9	5.6	28	0.4	1.2
QG56	19	11	40	5.5	3.9
NCI-H460	5.9	6.7	NT	2.1	0.64
DLD1	9.6	5.7	NT	0.6	2.4

注：HCT116、DLD1：人类的结肠癌；QG56、NCI-H460：人类的肺癌；NT＝not tested

表 6 Renieramycin M-O 的癌细胞毒性实验(IC_{50}/nM)

细胞株	Renieramycin M	Renieramycin N	Renieramycin O	Renieramycin Q	Renieramycin R	Renieramycin S
HCT116	7.9	5.6	28	59	23	15
QG56	19	11	40	71	29	26

注：HCT116：人类的结肠癌；QG56：人类的肺癌

表 7 Jorunnamycins 类化合物的癌细胞毒性实验(IC_{50}/nM)

细胞株	Jorunnamycin A	Jorunnamycin B	Jorunnamycin C	Jorumycin	Renieramycin M	ET-770
HCT116	13.0	455.0	1.5	0.57	7.9	0.40
DU145	29.0	448.0	0.32	0.49	NT	1.8
QG56	59.0	618.0	2.8	0.76	19.0	1.8

注：HCT116：人类的结肠癌；DU145：前列腺癌；QG56：肺癌；NT＝not tested

2009 年，Saito 课题组[19]通过对蓝色的泰国海绵体 Xestospongia sp. 深入研究，从其中又提取出 2 个新型的双四氢异喹啉生物碱——Renieramycin T，U。区别于其它 Renieramycins 类化合物的地方在于它们拥有 1 个高芳香性的 A 环，这两个化合物就像是 Renieramycins 和 Ecteinascidins 的杂交结构。他们研究发现这类化合物也具有不错的抗癌活性。结果见表 8。

表 8 Renieramycin T 的癌细胞毒性实验(IC_{50}/nM)

细胞株	Renieramycin T	Renieramycin M
HCT116	39	8.7
QG56	77	14
AsPC1	98	20
T47D	4.7	0.84

注：HCT116：人类的结肠癌；QG56：肺癌；AsPC1：胰腺癌；T47D：乳腺癌

2012 年，Saito 课题组[20]从蓝色的泰国海绵体 Xestospongia sp. 分出的小极性部分提取得到一个新型的 Renieramycins 类天然产物——Renieramycin V，它区别于其它 Renieramycins 类化合物的地方是 C14 位上连接一个甾醇醚，是此类生物碱中第一例与甾族化合物偶联在一起的化合物。虽然 Renieramycin V 的结构新颖，但是它对很多种人类癌细胞没有活性。结果见表 9。

表 9 Renieramycin V 的癌细胞毒性实验(IC_{50}/μM)

细胞株	Renieramycin V	Renieramycin M	Renieramycin O
HCT116	＞1	0.011	0.028
QG56	＞1	0.023	0.040
DU145	＞1	0.0029	NT

注：HCT116：人类的结肠癌；DU145：前列腺癌；QG56：肺癌；NT＝not tested

随后，Saito 课题组[21]报道了从经过 KCN 预处理的菲律宾海绵体 Xestospongia sp. 中提取了 3 个新的双四氢异喹啉天然产物——Renieramycin W，X，Y。第一次发现在 Renieramycin W 和 Renieramycin X 化合物的 C1 侧链上连接一个顺芷酰基，很明显看出它们俩分别是 Renieramycin M 和 Renieramycin T 的双键顺反异构体。而 Renieramycin Y 的特点是它的 A 环上拥有一个五取代的苯酚，这也是在这一家族中第一次出现。Renieramycin Y 化合物的分离提取更进一步证实了这一家族生物合成的正确性，骨架由 L-酪氨酸转化为 L-3-甲基-4 甲氧基-5 羟基-苯丙氨酸进一步演变而成。

3 总结和展望

在天然产物化学研究中，四氢异喹啉类生物碱

的研究是非常活跃的领域，也是寻找和发现天然抗癌、抗肿瘤药物先导性分子以及其它功能分子的重要源泉。本文对具有抗肿瘤活性的 Renieramycins 生物碱进行了分离和生物活性的综述。经研究发现多个 Renieramycin 类化合物表现出很强的抗肿瘤活性，很有可能成为潜在的抗肿瘤药物分子。由于大多数这类生物碱在天然生物中含量低，来源有限，限制了对其大规模的活性筛选，同时鉴于四氢异喹啉类生物碱的结构多样性及其高抗癌抗肿瘤的生物活性，有机化学家对它们产生了浓厚的兴趣[3]。

参考文献：

[1] Scott J D, Williams R M. Chemistry and biology of the tetrahydroisoquinoline antitumor antibiotics[J]. Chem Rev, 2002, 102(5): 1669-1730.

[2] Avendaño C, de la Cuesta E. Recent synthetic approaches to 6, 15-iminoisoquino [3, 2-b] 3-benzazocine compounds [J]. Chem Eur J, 2010, 16(32): 9722-9734.

[3] 陈瑞蛟. 四氢异喹啉生物碱 jorumycin 的全合成研究进展[J]. 济宁医学院学报, 2014, 37(1): 2-4.

[4] Molinski T F, Dalisay D S, Lievens S L, et al. Drug development from marine natural products[J]. Nat Rev Drug Discovery, 2009, 8(1): 69-85.

[5] Cuevas C, Francesch A. Development of Yondelis® (trabectedin, ET-743). A semisynthetic process solves the supply problem[J]. Nat Prod Rep, 2009, 26(3): 322-337.

[6] Kluepfel D, Baker H A, Piattoni G, et al. Naphthyridinomycin, a new broad-spectrum antibiotic[J]. J Antibiot, 1975, 28(7): 497-502.

[7] Frincke J M, Faulkner D J. Antimicrobial metabolites of the sponge Reniera sp[J]. J Am Chem Soc, 1982, 104(1): 265-269.

[8] He H Y, Faulkner D J. Renieramycins E and F from the sponge Reniera sp.: reassignment of the stereochemistry of the renieramycins[J]. J Org Chem, 1989, 54(24): 5822-5824.

[9] Davidson B S. Renieramycin G, a new alkaloid from the sponge Xestospongia caycedoi[J]. Tetrahedron Lett, 1992, 33(26): 3721-3724.

[10] Parameswaran P S, Naik C G, Kamat S Y, et al. Renieramycins H and I, two novel alkaloids from the sponge Haliclona cribricutis Dendy[J]. Indian J Chem, 1998, 37B, 1258-1263.

[11] Pettit G R, Knight J C, Collins J C, et al. Antineoplastic Agents 430. Isolation and Structure of Cribrostatins 3, 4, and 5 from the Republic of Maldives Cribrochalina Species[J]. J Nat Prod, 2000, 63(6): 793-798.

[12] Saito N, Sakai H, Suwanborirux K, et al. 13C NMR Spectral Assignment of 5-Hydroxy-1, 5-imino-3-benzazocin-4, 7, 10-trione Derivatives: The Revised Structure of Renieramycin H [J]. Heterocycles, 2001, 55(1): 21-28.

[13] Fontana A, Cavaliere P, Wahidulla S, et al. A New Antitumor Isoquinoline Alkaloid from the Marine Nudibranch Jorunna funebris[J]. Tetrahedron, 2000, 56(37): 7305-7308.

[14] Saito N, Tanaka C, Koizumi Y, et al. Chemistry of renieramycins. Part 6; Transformation of renieramycin M into jorumycin and renieramycin J including oxidative degradation products, mimosamycin, renierone, and renierol acetate[J]. Tetrahedron, 2004, 60(17): 3873-3881.

[15] Oku N, Matsunaga S, Van Soest RWM, et al. Renieramycin J, a highly cytotoxic tetrahydroisoquinoline alkaloid, from a marine sponge neopetrosia sp. [J]. J Nat Prod, 2003, 66(8): 1136-1139.

[16] Suwanborirux K, Amnuoypol S, Plubrukarn A, et al. Chemistry of Renieramycins. Part 3. Isolation and Structure of Stabilized Renieramycin Type Derivatives Possessing Antitumor Activity from Thai Sponge Xestospongia Species, Pretreated with Potassium Cyanide[J]. J Nat Prod, 2003, 66(11): 1441-1446.

[17] Amnuoypol S, Suwanborirux K, Pummangura S, et al. Chemistry of Renieramycins. Part 5. Structure Elucidation of Renieramycin-Type Derivatives O, Q, R, and S from Thai Marine Sponge Xestospongia Species Pretreated with Potassium Cyanide[J]. J Nat Prod, 2004, 67(6): 1023-1028.

[18] Charupant K, Suwanborirux K, Amnuoypol S, et al. Jorunnamycins A-C, new stabilized renieramycin-type bistetrahydroisquinolines isolated from the Thai nudibranch Jorunne fuhebris[J]. Chem Pharm Bull, 2007, 55(1): 81-86.

[19] Daikuhara N, Tada Y, Yamaki S, et al. Chemistry of renieramycins. Part 7; Renieramycins T and U, novel renieramycin - ecteinascidin hybrid marine natural products from Thai sponge Xestospongia sp[J]. Tetrahedron Lett, 2009, 50(29): 4276-4278.

[20] Saito N, Yoshino M, Charupant K, et al. Part 10: Structure of Renieramycin V, a Novel Renieramycin Marine Natural Product Having a Sterol Ether at C-14 Position[J]. Heterocycles, 2012, 84(1): 309-314.

[21] Tatsukawa M, Punzalan LLC, Magpantay HDS, et al. Chemistry of renieramycins. Part 13: Isolation and structure of stabilized renieramycin type derivatives, renieramycins W - Y, from Philippine blue sponge Xestospongia sp., pretreated with potassium cyanide[J]. Tetrahedron, 2012, 68(36): 7422-7428.

（收稿日期 2015-09-10）