

国家“863”计划资源环境技术领域

第三届海洋生物高技术论坛



海洋生物高技术论坛

FORUM FOR MARINE BIOTECHNOLOGY

论文集

(中册)

COLLECTION OF THESIS

福建·厦门, 2005.08

国家“863”计划资源环境技术领域
第三届海洋生物高技术论坛

福建·厦门

2005.08

目 录

海洋天然产物、生物制品、药物、功能基因、水产品加工

1. 我国南海海洋生物的化学多样性和生物活性研究..... 林文翰 (1)
2. 生物学高通量检测技术..... 王明伟 (9)
3. Suberretisteroids A-E, Five Novel Polyoxygenated 24-Ketal Steroids from the South China Sea Gorgonian *Subergorgia reticulata*.....
..... Wen Zhang, Yue-Wei Guo*, Margherita Gavagnin, Ernesto Mollo, Guido Cimino (12)
4. Cuparene-Derived Sesquiterpenes from the Chinese Red Alga *Laurencia okamura* Yamada
..... Shui-Chun Mao, Yue-Wei Guo* (24)
5. A normal mucin-binding lectin from the sponge *Craniella australiensis*
..... Chuannan Xiong, Wei Li*, Han Liu, Wei Zhang, Xuefang Bai, Yuguang Du (30)
6. Sarcophytonolides A-D, Four New Cembranolides from the Hainan Soft Coral *Sarcophyton* sp
..... Rui Jia, Yue-Wei Guo*, Ernesto Mollo, Guido Cimino (36)
7. 中国南海海绵提取物 Renierol 抗痛风的实验研究
..... 尚雁君, 郭跃伟, 黄才国, 贾睿, 许强芝, 魏善建, 焦炳华 (43)
8. 南海柳珊瑚抗肿瘤活性物质的研究..... 漆淑华*, 张偲, 李翔, 李庆欣 (47)
9. 红树植物中苯乙醇苷及其生物活性的研究..... 张偲*, 吴军, 漆淑华, 南海函, 陈畅 (51)
10. 中国南海海藻中新化学成分及其抗肿瘤活性..... 徐石海*, 廖小健, 杨剑平, 李筱铃 (56)
11. 中国红树植物木果楝中 6 个有拒食活性的新型 Phragmalin 柠檬苦素.....
..... 吴军*, 肖强, 张偲 (58)
12. 棕环海参中的生物活性皂苷研究..... 张淑瑜, 易杨华*, 李玲, 汤海峰, 孙鹏, 吴飞 (68)
13. 聚酮类化合物的异源生物合成..... 董晓毅, 王梁华, 焦炳华 (72)
14. 海洋天然环酯肽 Obyanamide 及其类似物的合成 李英霞, 张伟, 李春霞, 宋妮 (78)
15. Chemical constituents of clerosterol derivative, linear diterpene, and related metabolites from marine green alga *Codium fragile* (Codiaceae)
..... Shuai-Wen Yin, Chang-Yun Wang, Xiao-Ming Li, Bin-Gui Wang* (79)
16. 紫伪翼手参中的生物活性皂苷研究.....
..... 张淑瑜, 易杨华*, 李玲, 汤海峰, 刘宝姝, 闫冰, 张诗龙 (83)
17. 红色奴卡氏菌细胞壁骨架对 CCl₄ 诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用.....
..... 陶俊, 王颖, 刘煜, 余江河, 连炜, 吴梧桐, 叶波平* (87)
18. 黄疣海参化学成分研究..... 巫军, 易杨华*, 邹峥嵘, 李玲, 刘宝姝 (96)
19. 黑乳海参中皂苷类生物活性成分研究..... 巫军, 易杨华*, 邹峥嵘, 李玲, 刘宝姝 (98)
20. 南海海绵 *Craniella australiensis* 化学成分研究 张红军, 林厚文*, 王增蕾 (102)
21. 多皱软海绵 *Halichondria rugosa* 化学成分研究 张红军, 林厚文*, 王增蕾 (110)

22. 糙海参中三萜皂苷活性成分的研究.....李玲*, 易杨华, 闫冰, 汤海峰, 孙鹏, 张淑瑜 (118)
23. Purification and characterization of sea bream pepsinogens and pepsins.....Zhou Qiong, Fu Xiao-ping, Weng Ling, Su Wen-jin, Cao Min-jie* (129)
24. 文蛤糖肽 (MGP0501) 体外抗癌活性研究.....吴杰连, 张铂, 黄春洪, 朱学春, 吴梧桐 (134)
25. A β -Galactose-Specific Lectin Isolated from the Sea Worm *Chaetopterus variopedatus* Possesses Anti-HIV-1 Activity Jian-Hua Wang, Jing Kong, Wei Li, Valentina Molchanova, Irina Chikalovets, Natalia Belogortseva, Pavel Luk'yanov, Yong-Tang Zheng (140)
26. 海洋微藻毒素及活性肽研究进展.....宋东辉, 施定基, 张越男, 邓元告, 赵兴贵 (141)
27. 赤魃软骨中新生血管抑制因子的提取技术及活性的初步研究.....罗红宇, 徐佳品 (145)
28. A Novel Serine Protease Isolated From Sea Snake T7 Phage Display Library Shiyong Chen, Jun Gu* (149)
29. 海蜇毒素的纯化及生物活性研究.....李鹏程*, 于华华, 李翠萍, 邢荣娥, 刘松 (160)
30. 锯缘青蟹一种新的阴离子肽 Scygonadin 的分离、鉴定与抗菌特性.....王克坚*, 黄文树, 杨明, 李少菁, 王桂忠 (167)
31. 海南产芋螺毒素研究进展.....罗素兰*, 长孙东亭, 张本 (174)
32. 河鲀毒素的生物效应.....黄致强*, 黄海燕 (181)
33. 尺寸均一的壳聚糖载药微球的制备和应用.....王连艳, 马光辉*, 苏志国 (185)
34. 凝胶色谱柱 TSK-GEL G4000 PWXL 用于氧化降解壳聚糖产物分子量分布分析与氨基葡萄糖组分含量测定.....郝红元, 杜金凤, 张岐*, 葛庆凯 (193)
35. Characterization of principal nutritional components of jellyfish (*Rhopilema esculentum*) in three different parts Liu Xiguang, Yu Hua, huaLiu Song, Xing Rong, Li Pengcheng* (198)
36. 海藻多糖对酪氨酸酶活性和黑素合成的抑制作用.....康琰琰, 张美英, 邢少璟, 熊盛, 王一飞*, 朱艳梅 (206)
37. 中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 蜕皮抑制激素在大肠杆菌中的表达与分离纯化.....张继泉, 李富花, 吴长功, 王在照, 相建海* (210)
38. Molecular cloning and characterization of the chitinase from Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis* Jiquan Zhang, Fuhua Li, Jianhai Xiang* (219)
39. n-3 PUFA 甘油酯的酶法合成和结构分析.....章超桦*, 刘书成, 洪鹏志, 吉宏武 (228)
40. 用海洋破囊壶菌研制重组廿二碳六烯酸.....许友卿, 丁兆坤* (238)
41. Analysis of angiotensin-I-converting inhibitory peptides from *Bacillus* sp. SM98011 protease-hydrolyzed marine shrimp *Accedes chinensis* He Hai-Lun, Chen Xiu-Lan, Sun Cai-Yun, Zhang Yu-Zhong*, Zhou Bai-Cheng (241)
42. Using capillary electrophoresis for high throughput and rapid screening of marine organism hydrolysates enriched with peptides containing angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity He Hai-Lun, Chen Xiu-Lan, Wu Hao, Sun Cai-Yun, Zhang Yu-Zhong, Zhou Bai-Cheng (254)

43. 中国毛虾 ACE 抑制肽的酶法制备及其降低 SHR 血压的效果 曹文红, 章超桦, 吉宏武, 洪鹏志 (263)
44. 壳寡糖诱导植物抗病性机理的初步研究 赵小明*, 杜昱光, 陈娅斐, 白雪芳 (271)
45. 裙带菜硫酸多糖的制备及其性质研究 门晓媛, 王一飞*, 康琰琰, 朱艳梅, 朱良 (280)
46. 酶促反应制备壳寡糖及壳寡糖分析 杨菊林, 韩宝芹*, 刘万顺 (290)
47. Effect of enzymatic fish frame protein hydrolysate on denaturation of bighead carp fish (*Aristichthys nobilis*) mince during frozen storage Xue Chang-hu*, Xue Yong, Li Zhao-jie (295)
48. 长叶蜈蚣藻多糖的结构及其抗凝血活性 王顺春*, 施松善, 崔健, 王峥涛, 胡之璧 (303)
49. 糖类的生物信息学资源 张剑波*, 周永达, 时春娟, 王克夷 (308)
50. 5 种海洋动物多糖的分离纯化和生物学活性分析 徐红丽, 郭婷婷, 傅莉, 冯伟华, 焦炳华 (309)
51. 贻贝多糖 MPs 的分离纯化和理化性质、组分研究 王俊, 徐红丽, 张建鹏, 刘军华, 冯伟华, 焦炳华 (313)
52. 贻贝多糖对大鼠睾丸支持细胞增殖作用的研究 张建鹏, 王俊, 徐红丽, 刘军华, 冯伟华, 焦炳华 (319)
53. 东海近江牡蛎多糖的提纯和生物学活性研究 王俊, 姚滢, 张建鹏, 刘军华, 冯伟华, 焦炳华 (323)
54. 海螵蛸多糖的分离纯化及生物学活性研究 魏江洲, 徐红丽, 李扬, 王顺春, 焦炳华, 冯伟华 (325)
55. 海洋生物毒素药源产业工程化平台建设的建议和设想 易瑞灶, 许晨, 许建中, 洪专 (331)
56. 海产胶原蛋白的制备及其在生物医学工程领域的应用研究 钱卫平*, 董健, 陆璐, 陆祖宏 (335)
57. 与海洋生物相关的先进功能材料 钱卫平*, 陆祖宏 (337)
58. 利用海洋多糖开发皮肤组织修复医用生物膜材料 倪思亮, 陈西广*, 钟德玉, 霍光, 刘成圣, 孟祥红, 于乐军, 王令充 (338)
59. 褐藻多糖稀土配合物的生物活性研究 汪东风*, 苏琳, 于丽娜, 孙继鹏, 罗轶, 薛长湖 (346)
60. 海藻肥对番茄抗旱性的影响 韩丽君*, 孙锦 (356)
61. 兔角膜内皮细胞载体的体外培养及移植的研究 位晓娟, 刘万顺*, 韩宝芹, 陈列欢 (362)
62. 人角膜内皮细胞系的建立 樊廷俊*, 付永锋, 王晶, 赵君, 刘万顺, 丛日山, 汤志宏, 韩宝琴, 于秋涛, 郭瑞超 (367)
63. 抗肿瘤真菌多糖 YCP 单克隆抗体制备和免疫分析法建立 赵虎, 高向东*, 谭仁祥 (375)
64. 玉足海参糖胺聚糖治疗缺血性脑中风的药效学研究 蒋毅*, 赵专友, 徐旭, 陈任重, 汪寄宇, 黄育明 (377)

65. r-sHSA 对 CCl₄ 致小鼠急性肝损伤的保护作用 王颖, 赵艳景, 叶波平*, 冯颖, 吴梧桐 (378)
66. 海燕皂苷的祛痰镇咳平喘作用研究 郭承华, 韩宝芹, 刘万顺*, 董新伟, 刘传琳, 杨艳 (385)
67. 蓝藻基因工程制备防治对虾白斑综合症药物的研究 邓元告, 施定基, 张春莉, 宋东辉, 赵兴贵, 张越男 (389)
68. 一种来自海蚯蚓 (*Arenicola cristata*) 新的具有抗肿瘤活性的烯醇式碘化甾醇 Arenicolsterol A 沈先荣*, 陈彬, 孔继烈, 蒋定文, 贾福星 (392)
69. Antidiabetic effect of S-8300 in alloxan-diabetes Fengjie HUANG, Boping YE, Wutong WU* (399)
70. Partial hepatectomy-induced Liver proteome changes in shark, *Chiloscyllium plagiosum* Boping YE, Yanan HU, Rui LIU, Wutong WU*, Min WANG, Jianguo JI (407)
71. Identification of differentially expressed transcripts in regenerated hepatic tissues of Shark, *Chiloscyllium plagiosum* Boping YE, Yanjing ZHAO, Shan BIAN, Ying WANG, Rui LIU, Wutong WU* (409)
72. 抗生素 FR-008 发酵生产工艺初步研究 毛相朝, 杨亮, 沈亚领*, 魏东芝* (411)
73. 海洋生物毒素——一类重要的新药研究先导化合物 缪宇平*, 马凌波 (416)
74. 海鞘醇 (SCI) 抗 HBV 活性及其在大鼠体内药代动力学初步研究 蔡程科, 李伯安, 李靖, 戚杨, 任天池, 雷海民, 程云* (417)
75. 海洋生物药用功能基因研究进展 陈尚武, 王磊, 杨文利, 姜孝, 董美玲, 钟肖芬, 彭立胜, 涂洪斌, 刘文华, 于文功, 徐安龙* (418)
76. 未来海洋 (微) 生物功能基因研究的若干关键技术 张治洲*, 李志勇, 白林泉, 樊春海, 胡钧 (425)
77. 深海沉积物 DNA/RNA 共提取方法 赵晶, 曾润颖* (429)
78. 低等海洋生物免疫系统起源的研究 董美玲, 于萃玲, 黄盛丰, 颜庆瑜, 徐安龙* (433)
79. 日本对虾两种新的 C 型凝集素的表达和功能研究 杨海杰, 罗田, 李钊, 徐洵 (438)
80. 海湾扇贝 g 型溶菌酶基因的重组表达及其产物活性分析 赵建民, 宋林生*, 李成华, 邹慧斌 (440)
81. 海湾扇贝大防御素基因的克隆、表达及其重组产物的抑菌活性分析 赵建民, 宋林生*, 李成华, 吴龙涛 (446)
82. 皱纹盘鲍外套膜组织 cDNA 表达文库的构建及质量鉴定 李静, 张文兵*, 麦康森 (447)
83. Molecular characterization of *Gracilaria lemaneiformis* (*Gracilariaceae*, *Rhodophyta*) strains in China Guangce Wang*, Wenjun Wang, Zhengquan Gao (453)
84. Identification of novel genes in the mantle of *Pinctada fucata* Shang-Feng Liu, Hai-Luo Liu, Jing Liu, Xiao-yan Wang, Zhao Wang* (471)
85. 牙鲆 MHCIIb 基因多态性及其与鱼体抗病力关系的研究 陈松林*, 张玉喜 (483)
86. Cloning and sequence analysis of dUTPase gene from *Rana grylio* virus Zhao Zhe, Zhang Qi-ya* (492)

87. cDNA cloning and characterization of a novel calmodulin like protein from pearl oyster *Pinctada fucata* Shuo Li, Liping Xie, Zhuojun Ma, Rongqing Zhang* (500)
88. Low genetic differentiation among widely separated populations of the pearl oyster *Pinctada fucata* Da Hui Yu*, Ka Hou Chu (517)
89. EST-based identification of genes expressed in the hypothalamus of male orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) Li Zhou, Bo Yao, Wei Xia, Chuang-Ju Li, Yang Wang, Yao-Hua Shi, Jian-Fang Gui* (529)
90. Characterization of a Ras-related Nuclear Protein (Ran protein) in Shrimp Fang Han, Wenlin Wu, Lei Wang, Jianyang Xu, Xiaobo Zhang* (541)
91. Characterization and expression of amphioxus β -MSP gene encoding an ancient and rapidly evolving protein in chordates Zhang Shicui*, Wang Yongjun, Liu Zhenhui Liu, Li Hongyan, Wang Lei (556)
92. 海湾扇贝 *Argopecten irradians* 肽聚糖识别蛋白 (PGRP) 基因的 cDNA 克隆及其表达特征研究 倪多娇, 宋林生*, 吴龙涛, 常亚青, 苏建国 (565)
93. 白氏文昌鱼 *Branchiostoma belcheri* 线粒体基因组研究 许群山, 王义权* (574)
94. 大黄鱼 mtDNA ND5 和 cytb 基因的克隆与序列分析 李明云*, 张祖兴, 朱俊杰 (583)
95. 海水养殖鱼类抗菌肽 hepcidin 基因的研究进展 王克坚*, 杨明, 任洪林, 黄文树, 周红玲, 邓尚龙, 陈君慧, 蔡灵, 蔡晶晶, 林志勇 (594)
96. 扇贝生物抗病功能基因的克隆与表达 宋林生 (603)
97. 文昌鱼基因组 BAC 文库的构建 王蔚, 徐怀亮, 宿兵, 王义权* (610)
98. 日本七鳃鳗功能基因组学研究 李庆伟, 马飞 (614)
99. 栉孔扇贝急性病毒性坏死症病毒 cDNA 文库的构建及部分序列分析 王崇明, 艾海新, 刘英杰, 王秀华, 李赟, 宋微波 (622)
100. 绿色巴夫藻 cDNA 文库的构建及 EST 序列分析 孔健, 孔文涛, 牛艳, 杨静, 张克炜 (626)
101. 鱼类虹彩病毒: 生化、分子生物学及功能基因组学研究进展 滕勇, 秦启伟* (630)
102. 鳗鲡一氧化氮合酶钙调蛋白结合区 cDNA 克隆及镉对鳗鲡一氧化氮、钙调蛋白的影响研究 谢骏, 王广军, 江涌, 余德光, 林浩然 (634)
103. 海南三亚斑节对虾野生种群线粒体 16S rRNA 基因和控制区序列的多态性研究 周发林, 姜永杰, 黄建华, 马之明, 江世贵* (640)
104. 海洋 POPs 降解功能性基因的克隆及应用 郑天凌*, 黄浙, 骆苑蓉, 曹晓星, 田蕴, 胡忠, Maskauim K (647)
105. 条斑紫菜 Delta5 脂肪酸去饱和酶基因部分序列的克隆和分析 周晓君, 茅云翔*, 徐民俊, 张学成 (653)
106. 条斑紫菜铁氧还蛋白亚基 I 基因 (Fd I) 克隆与序列分析 徐民俊, 茅云翔*, 张学成 (658)
107. 条斑紫菜超氧化物歧化酶全长基因序列分析 茅云翔*, 王荣, 周晓君, 庄筠昀 (662)

108. In silico screening for microsatellite markers from expressed sequence tags of *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) Yunxiang Mao*, Mengqiang Wang, Jingjie Hu, Xiaolong Wang, Yunyun Zhuang, Xuecheng Zhang, Pu Xu (668)
109. Bioinformatic analysis of expressed sequence tags from sporophyte of *Porphyra yezoensis* (Bagiaceae, Rhodophyta) Xu Minjun, Mao Yunxiang*, Zhou Xiaojun, Sui Zhenghong (680)
110. 半滑舌鳎群体遗传结构的 AFLP 与线粒体 DNA 序列变异分析 韩志强, 庄志猛*, 刘进贤, 高天翔, 王志勇 (691)
111. Molecular cloning and characterization of a peritrophin from Chinese shrimp(*Fenneropenaeus chinensis*) Xin-Jun Du, Ning Liu, Xiao-Fan Zhao, Jin-Xing Wang* (698)
112. 几种模式生物的基因打靶研究概述 熊茜, 吴玉萍, 张广猷, 罗芳, 崔彩媚, 禹艳红, 徐安龙* (710)
113. 病原菌交叉免疫反应蛋白的初步研究 黄传钟, 张丹凤, 吴丽娜, 任海霞, 王三英, 彭宣宪* (717)
114. 小分子干扰 RNA(siRNA)对斑马鱼血管生成的影响 杨少丽, 阎松, 牛荣丽, 林秀坤* (724)
115. 斑马鱼作为抗肿瘤海洋药物研究模型: I. 胸腺苷酸合成酶基因的克隆表达 杜长青, 牛荣丽, 张培军, 林秀坤 (730)
116. 转金属硫蛋白 (Metallothionein) 基因蓝藻的优化培养及其在重金属废水处理中的应用 曾文炉, 茹炳根, 邹宁 (737)
117. 一种新型均相荧光共振免疫检测法的建立 管宝全, 罗文新, 王明桥, 程通, 顾颖, 张军*, 夏宁邵 (739)
118. 绿色科学与技术海洋水产品综合利用中的应用 孙恢礼*, 翁世兵, 李君, 郑建禄 (747)
119. 中国水产品加工业现状及发展对策 励建荣 (753)
120. 水产品中甲醛本底值、产生机理及检测方法研究进展 励建荣*, 孙群 (764)
121. 秘鲁鱿鱼加工鱼糜的研究 励建荣*, 陆海霞 (771)
123. 低温速冻处理对鲮鱼冻藏生化特性的影响 侯温甫, 薛长湖*, 杨文鸽, 高昕 (776)
124. 鲷鱼肌肉蛋白的分解及影响因素 曹敏杰*, 翁凌, 蒋欣静, 王锡昌, 苏文金 (780)
125. 鱼肉理化特性与品质研究的初探 张纹, 苏永全*, 林燕, 庄轩, 王颖汇 (786)
126. 微藻高值化利用及其理论研究进展 潘克厚, 俞建中, 朱葆华, 石娟, 于文功 (790)
127. 土霉素在南美白对虾组织中残留规律的研究 杨贤庆, 李来好*, 李刘冬, 郝淑贤, 吴燕燕, 石红, 刁石强, 周婉君, 戚勃 (801)
128. 环境激素对水产品安全性的影响及预防 吴燕燕*, 李来好, 刁石强, 杨贤庆, 陈胜军, 岑剑伟, 周婉君 (805)
129. 应用蛭弧菌清除海产品潜在致病弧菌的研究 韩韞, 蔡俊鹏*, 王志 (809)

我国南海海洋生物的化学多样性和生物活性研究

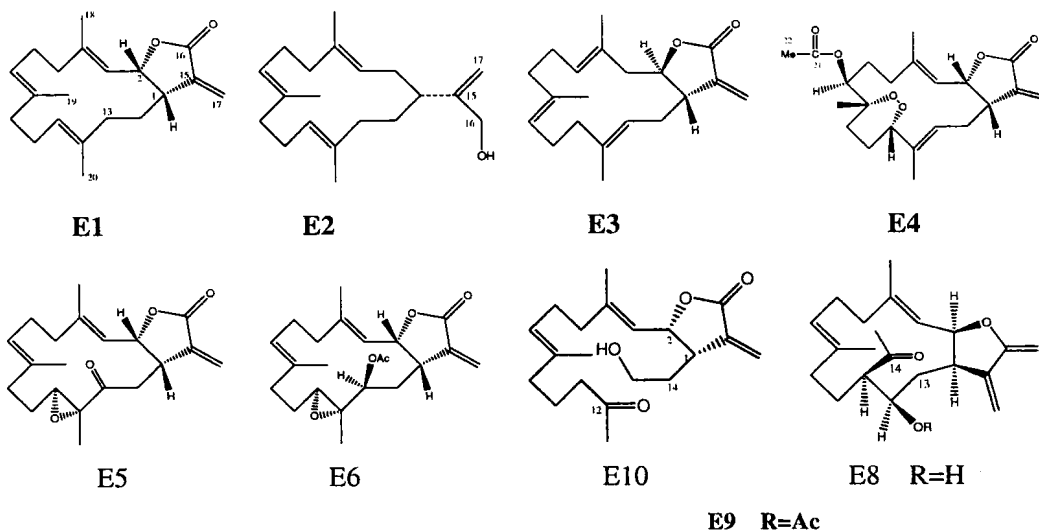
林文翰¹

北京大学, 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京, 100083

摘要: 本文根据本实验室的研究结果, 对我国南海海洋生物中两类特殊萜类化合物西松烯型二萜类和臭椿类三萜类化合物进行了化学结构和生物活性的研究。阐明了该两类化合物的抗肿瘤生物活性和 SAR 相关性, 为该类化合物进一步的抗肿瘤药物开发提供了科学依据。

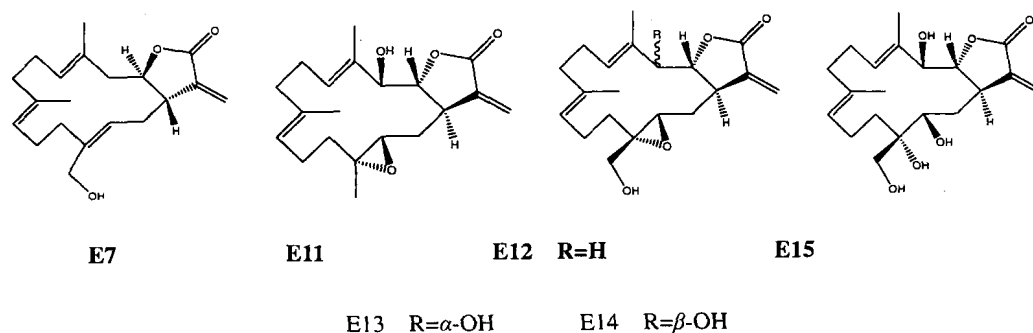
关键词: 海绵, 软珊瑚, 西松烯型二萜, 臭椿类三萜, 抗肿瘤

为了从我国南海海洋生物中寻找结构新颖的活性先导化合物, 我们对采自海南海域的软珊瑚 *Sinularia gibberosa* 进行了系统的化学成分和生物活性研究。以生物活性为导向, 利用 TLC、CL、HPLC、ODS、Sephadex LH-20 等现代色谱分离技术, 通过 NMR、EI 和 IR 等现代三大波谱分析技术, 从中国南海软珊瑚 *Sinularia gibberosa* 中共分离鉴定了 15 个西松烯型二萜类化合物。化合物 **E11** 至 **E15** 为新化合物, 分别命名为 **Sinularolide A-E**。其余 10 个化合物分别为 lobophytolides **E1**^[32-34] 和 **E3**^[34], sinulariol D **E2**^[35], denticulatolide **E4**^[36,38], cembranolides **E5**^[37-38] 和 **E6**^[39], deacetyldeepoxy lobolide **E7**^[39], lobophytol **E8** 和 lobophytol acetate **E9**^[37,41-43], mayolide A **E10**^[40]。其中化合物 **E3**、**E4**、**E8**、**E9** 和 **E10** 为首次从 *Sinularia* 属软珊瑚中分离得到。对十五个化合物进行了体外抗肿瘤细胞生物活性筛选实验。实验结果表明, 这类化合物大都具有显著的细胞毒活性。



[基金项目] 国家高技术计划海洋 863 课题 (No. 2003AA624030),

国家自然科学基金 (No.40176038, 30171106), 广东省海洋药物重点实验室基金



粗样 **HSE-16-F1**(石油醚部分)、**HSE-16-F2**(乙酸乙酯部分)、**HSE-16-F3**(正丁醇部分)和**HSE-16-F4**(水部分)对 HL-60 人白血病细胞、PC-3MIE8 人前列腺癌细胞、BGC-823 人胃癌细胞、MDA-MB-435 人乳腺癌细胞、Bel-7402 人肝癌细胞和 Hela 人宫颈癌细胞的细胞毒活性试验结果见 **Tab. 1**。

Tab. 1 The antitumor inhibition(%) of crude sample of the soft coral *Sinularia gibberosa*

Sample	C	HL-60	PC-	BGC-	MDA-MB	Bel-	Hela
	($\mu\text{g/ml}$)		3MIE8	823	-435	7402	
HSE-16-F1	1	5.34	-6.87	-10.76	-7.53	-5.28	-9.00
	10	33.98	29.16	14.93	8.00	27.62	23.99
	100	61.68	99.07	96.59	97.05	96.47	97.27
HSE-16-F2	1	-5.61	-9.05	-9.06	-8.05	-7.00	10.59
	10	27.12	16.88	17.55	16.16	21.65	18.72
	100	66.08	97.92	97.00	95.01	93.98	97.41
HSE-16-F3	1	-7.12	-8.10	-11.92	-18.80	-8.25	-8.78
	10	-5.65	-7.10	-1.59	0.25	-1.96	-0.97
	100	75.58	72.74	87.46	93.87	64.23	69.25
HSE-16-F4	1	3.88	-11.70	-2.54	0.14	-0.98	0.22
	10	5.73	-10.58	-1.96	1.54	-8.50	18.72
	100	7.00	-8.85	-2.00	2.95	-1.06	6.95

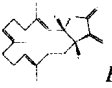
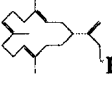
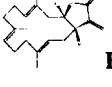
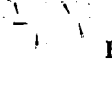
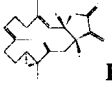
由 **Tab. 1** 可知, 样品 **HSE-16-F1**、**HSE-16-F2** 和 **HSE-16-F3** 对 HL-60 人白血病细胞均显示中等强度的细胞毒活性; 当浓度为 $100\mu\text{g/ml}$ 时, 样品 **HSE-16-F1** 和 **HSE-16-F2** 对其他五种细胞株均表现显著的细胞毒活性, 其中, 对 PC-3MIE8 人前列腺癌细胞的细胞毒活性最强; 样品 **HSE-16-F3** 在浓度为 $1\mu\text{g/ml}$ 和 $10\mu\text{g/ml}$ 时, 对六种细胞均无细胞毒活性, 有的甚至加速细胞的生长; 在浓度为 $100\mu\text{g/ml}$ 时, 样品对六种细胞均表现中等以上的细胞毒活性, 其中, 对 MDA-MB-435 人乳腺癌细胞的细胞毒活性最强; 样品 **HSE-16-F4** 在三个浓度下对 PC-3MIE8 人前列腺癌细胞、BGC-823 人胃癌细胞和 Bel-7402 人肝癌细胞三种细胞均不表现细胞毒活性, 对其他三种细胞的细胞毒活性也很弱。

总的来看,石油醚部分和乙酸乙酯部分对 PC-3MIE8 人前列腺癌细胞、BGC-823 人胃癌细胞、MDA-MB-435 人乳腺癌细胞、Bel-7402 人肝癌细胞和 Hela 人宫颈癌细胞五种细胞株具有显著的细胞毒活性,而对 HL-60 人白血病细胞株的细胞毒活性相对较差,但都表现出非常好的生物活性;正丁醇部分只在浓度较大时才表现一定的抑制活性,其生物活性相对较弱;水部分最弱。

化合物 E1-E15 活性筛选结果与讨论

将分离得到的十五个化合物,分别取出少量做活性筛选实验。实验结果见 Tab. 2、3。

Tab. 2 The antitumor inhibition(%) of the compounds E1-E5(c 50 μ g/ml)

Cell line Comp.	HL-60	PC-3MIE 8	BGC- 823	MDA-MB- 435	Bel-7402	Hela
 E 1	95.55	92.33	92.30	99.09	87.67	91.05
 E 2	69.51	54.36	46.25	55.84	46.47	61.33
 E 3	94.93	91.55	95.31	98.66	96.82	95.17
 E 4	96.13	96.21	95.04	98.66	94.69	95.23
 E 5	95.85	95.57	96.45	98.93	96.87	97.17

由 Tab. 2 中实验数据可以看出,化合物 E1、E3、E4 和 E5 对六种肿瘤细胞株均现实很好的细胞毒活性,而化合物 E2 则显示很弱的活性。可见,含有五元内酯环的西松烷二萜比不含五元内酯环的西松烷二萜更具生物活性。这与文献报道的结果一致^[3]。

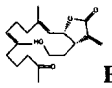
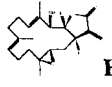
分析 Tab. 3 中实验数据可以看出化合物 E7、E8、E9 对 HL-60、BGC-823 和 MDA-MB-435 三种肿瘤细胞株均现实很好的细胞毒活性,化合物 E6 仅对 MDA-MB-435 人乳腺癌细胞株显示强的细胞毒活性,而化合物 E10 没有活性。可见,开环的西松烷二萜不具有细胞毒活性。由此可知,十四元环状结构是化合物具有细胞毒活性所必需的。

由 Tab. 3 中实验数据还可以看出化合物 E11、E12、E13、E14 对 HL-60、BGC-823 和 MDA-MB-435 三种肿瘤细胞株均现实很好的细胞毒活性,而化合物 E15 仅对 MDA-MB-435 人乳腺癌细胞株显示较弱的细胞毒活性。比较化合物 E11 到 E15 的活性筛选结果可知含有三元氧环的西松烷二萜比不含有三元氧环的显示较好的细胞毒活性;

活性的构效关系表明,分子中的十四元大环结构、环氧结构、内酯环结构及氧代结构

片断均是其生物活性中心。活性筛选结果表明, 西松烷二萜化合物大都具有显著的细胞毒性和抗肿瘤活性, 这为寻找新的药物活性先导化合物提供了一种新的途径。

Tab. 3 The antitumor inhibition(%) of the compounds E6-E15(c 100 μ g/ml)

Cell line Comp.	HL-60	BGC-823	MDA-MB-435
 E 6	41.73	36.38	82.90
 E 7	94.57	95.10	89.17
 E 8	93.89	94.49	92.63
 E 9	94.73	94.95	91.62
 E 10	-2.49	-5.12	16.15
 E 11	92.74	89.67	95.12
 E 12	92.33	86.11	74.67
 E 13	95.17	95.25	92.72
 E 14	95.20	92.35	91.04
 E 15	28.39	29.48	51.78

自 1981 年, 人们首次从海洋生物中获得臭椿类三萜, 并通过还原、氧化、降解、现代波谱等确定了其立体化学结构, 此后, 随着分离和结构测定方法的不断进步, 异臭椿类三萜的分离和结构鉴定也有了很大的进展, 直到 1991 年, 人们才对异臭椿类三萜进行分离和结构鉴定的同时报道它们的生物活性。异臭椿类三萜结构为含共轭侧链的三环三萜类化合物, 并在 C-12 位含有羰基官能团。由于该类化合物的光敏性高和稳定性差, 几乎所有此类化合物在常温光照和高磁状态下出现异构现象。这些特点决定异臭椿类三萜在分离、性质鉴定及保存过程中很快异构成混合物, 大大增加了其结构鉴定及活性测试工作的难度, 由于该类三萜通常具有显著的细胞毒活性和特殊结构, 一直是国际研究海洋天然产物的热门课题之一。本实验室对异臭椿类三萜的化学结构和生物活性及其 SAR 进行了初步的研究。

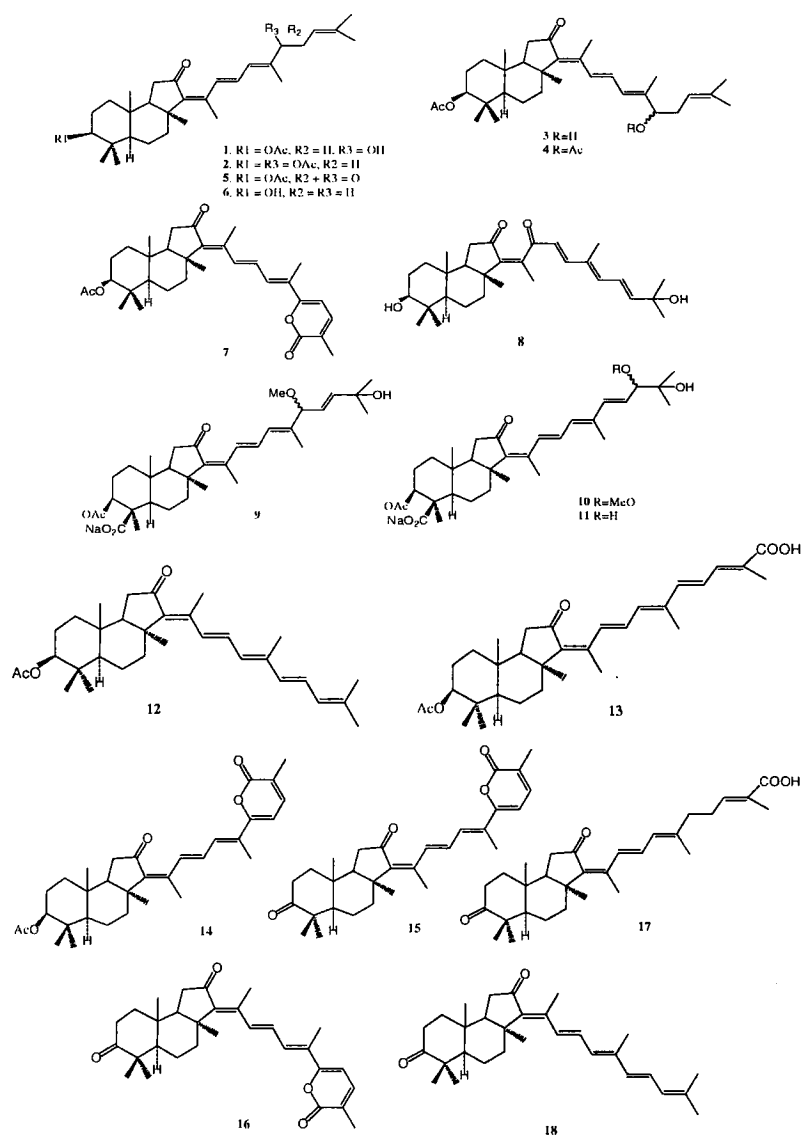


Table 1 The bioactivities of compounds 1-18 toward tumor cell lines

化合物	生理活性($\mu\text{g/ml}$)						
	$\text{L}_{1210}(\text{IC}_{60})$	$\text{KB}(\text{IC}_{60})$	$\text{P}_{388}(\text{IC}_{50})$	P_{21+}	P_{21-}	P_{53+}	P_{53-}
1(13E)	0.57	1.4					
2(13E)	1.7	6.0					
3(13Z)	0.6	2.1					
4(13Z)	1.7	6.0					
5(13E)	2.1	5.2					
6(13E)	2.4	6.5					
7(13E)	0.001	4.46	0.26				
8(13E)			0.1				

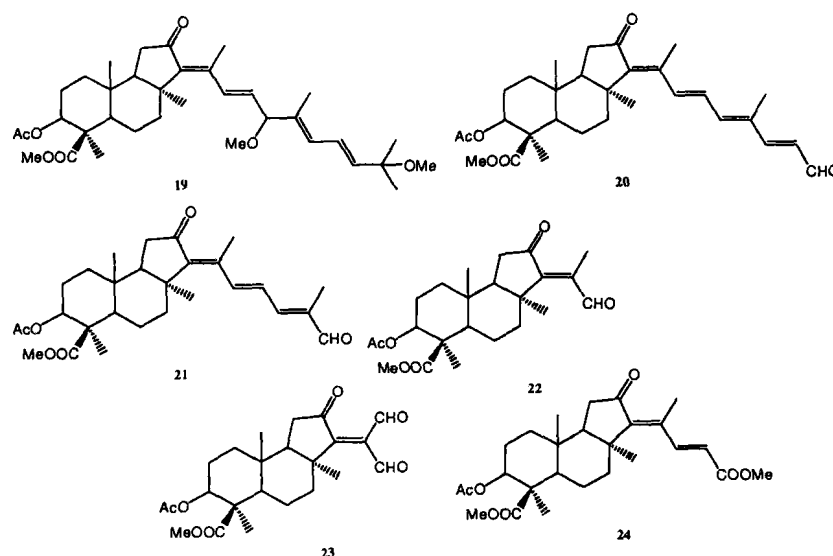
9(13E)				0.1				
10(13E)				0.46				
11(13E)				0.1				
12(13E)		>4.92	3.98	-	-			
13(13Z)		>4.92	3.86	-	-			
14(13Z)	0.65	0.043	7.25	8.23				
15(13E)	2.45	0.3	-	-				
16(13Z)	0.43	0.31	-	-				
17(13Z)	4.57	0.039	>5.39	>5.39				
18(13E)	0.6-1.5	0.6-1.5			>5.39	3.49	-	-

化合物 **7**、**14**、**15**、**16**^[2-6] 的侧链被末端有 γ -内酯环的共轭链取代；**7/14** 和 **15/16** 分别是一对 13Z、13E 的异构体；**7** 和 **14** 的 C-3 位为酮羰基，而 (**15**) 和 (**16**) 的 C-3 位为乙酰氧基取代。化合物 **17** 和 **18** 结构中侧链的末端被羧基取代，其结构的区别在于 C-13 位的异构化，即 **17** 为 13Z，而 **18** 为 13E。

在体外抗肿瘤细胞实验中异臭椿类三萜大部分都有明显的抑制活性，其中化合物 **7** 对 P₃₈₈ 显示出极强的细胞毒活性，IC₅₀ 为 0.001 $\mu\text{g/ml}$ ；**14** 和 **17** 对 P₂₁ 显示出较强的生物活性活性，IC₅₀ 分别为 0.043 $\mu\text{g/ml}$ 和 0.039 $\mu\text{g/ml}$ ^[7]。它们将是一类很有开发应用潜力的高效抗肿瘤活性先导化合物。

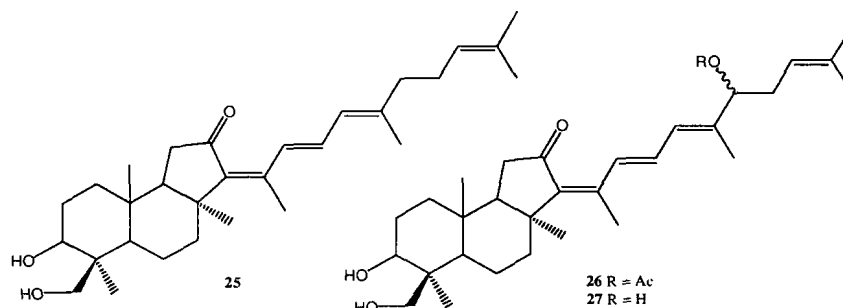
本文作者对分离得到的化合物 **13** 和 **15** 亦作了细胞水平的抗肿瘤活性筛选，其中 **15** 对 HL-60 人白血病显示出极强的细胞毒性，抑制率达到 98.8% (0.1 $\mu\text{g/ml}$)^[8]。

化合物 **20-24**^[9] 是异臭椿类三萜的降解产物，对 L₁₂₁₀ 细胞都显示出一定的细胞毒性 (IC₅₀ > 3.3 $\mu\text{g/ml}$)，但这些降解产物可能对其它肿瘤细胞显示生物活性。

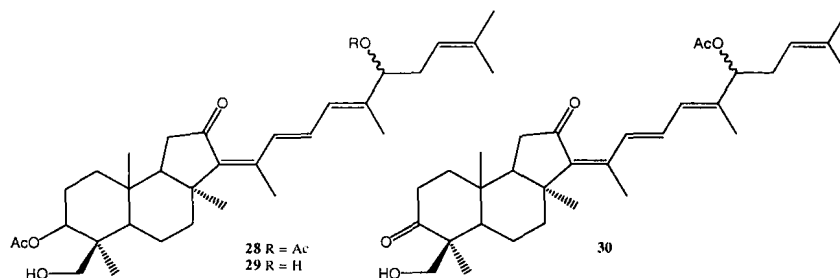


化合物 **25-27**^[10] 以用量为 0.2 μM 来处理鼠的纤维原细胞时，表现出异常的形态特征，经过 5 天后死亡，显示出较强的生物活性。这说明此类结构中有较多的羟基取代时，对化合物的

活性有增强作用。



化合物 28-30^[11]在活性测试中对黑素癌细胞 (MALME-3M) 和白血病 (MOLT) 显示出抑制其增殖的活性。



2 取代基对异臭椿类三萜生物活性的影响

(1) C-3 位取代基: 异臭椿类三萜结构为三环多共轭不饱和侧链的特殊骨架海洋天然产物。结构的 C-3 位常被取代基有 C=O, OH, OAc 等基团取代, 部分化合物的侧链末端被 COOH 取代。综述所报道的研究结果和本工作的研究结果, 表明该类化合物结构中 C-3 位为酮羰基时, 其抗肿瘤生物活性比含 OAc 和 OH 取代基的抑制活性强。如化合物 7、14 分别对 P₃₈₈ 和 P₂₁ 表现出强烈的细胞毒性, IC₅₀ 为 0.001 μg/ml 和 0.043 μg/ml。

(2) Δ¹³Z、E 构型: Table 1 中的生物活性实验表明 13Z 和 13E 异构体的对肿瘤细胞的抑制活性有所差异, 说明 Δ¹³ 的几何结构影响这些化合物的生物活性。如化合物 14 和 17 为 13Z 构型, 对变异 P₂₁ 的人结肠癌细胞 (HCT-116) 显示出强烈的选择性细胞毒性, IC₅₀ 分别为 0.043 μg/ml 和 0.039 μg/ml。而相应的 13E 异构体对上述肿瘤细胞的抑制活性较弱。但对其它肿瘤细胞的抑制活性, 两种构型的选择性抑制率不同。;

(3) 共轭侧链: 化合物 19-24 是异臭椿类三萜的降解产物, 从资料分析其生理活性与具有相同取代基如 C-3 为 OAc, 末端为 COOH 的共轭链未被降解的化合物 2、9、和 10 等相似, 但均比结构中有 C=O, OH 取代的此类化合物活性相对要弱。这说明末端共轭链的长短对化合物的活性影响甚小。

(4) 末端 γ-内酯环: 化合物 7、14、15 和 16 为结构中有侧链末端 γ-内酯环的化合物, 皆显示显著的抗肿瘤生物活性。如 15 和 16 比其他 C-3 位被 OAc 取代而无末端 γ-内酯环的化合物的抗肿瘤活性强。这说明末端 γ-内酯环对异臭椿类三萜的生物活性有影响。

3 结语

目前对异臭椿类三萜的构效关系了解还少,还有许多问题有待通过实验来解决。如末端双键构型及取代基的取代数目等对此类三萜的生物活性是否有影响;而且其生理活性实验大都是在体外进行的,只有化合物 **18** 在作体外实验的同时还作了体内药效学实验^[12]。系统、深入的药效学、药理学及毒理学试验仍未开展,作用机理还需深入研究。但在海洋生物中寻找新的活性天然产物依然是当前海洋天然产物研究的主要内容,我们相信异臭椿类三萜必将是一类高校低毒的新型药物。

生物学高通量检测技术⁺

王明伟^{*}

(国家新药筛选中心、中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

摘要: 生物学高通量¹检测技术的诞生是基础科学和应用研究紧密结合、同步进展的成果。自动化 DNA 测序手段的成熟和发展极大地推动了人类基因组测序的进程, 而人类基因组计划的成功实施不仅为开辟多种研究新领域(包括单核苷酸多态性研究、功能基因组学、蛋白质组学和代谢物组学等)提供了契机, 而且也促进了各种生物学高通量检测技术的发明和应用, 包括高通量和高内涵药物筛选以及生物芯片等。

关键词: 高通量检测技术 人类基因组计划 生物芯片 高内涵筛选

生命科学和生物技术近数十年来的飞速发展不断地改变着人类对外界环境和自我生存的认识。生物学作为一门古老的学科已经迈入一个革命性演变的新时代, 其发展轨迹呈现出三个显著的特点: 一是基础研究与实际应用相互依存, 紧密结合; 二是多领域、多学科和多专业交叉渗透, 融为一体; 三是研究方式日趋微量、自动化与工业化。随着人类基因组计划的成功实施和功能基因组时代的到来, 为了满足快速、准确和高端科学研究的需要, 各种生物学高通量检测技术应运而生, 蓬勃发展。

自动化DNA测序手段的成熟和发展是生物学高通量检测技术成功应用于解析海量生命信息的范例。1985年Renato Dulbecco等人在《Science》上发表文章, 首先提出了人类基因组计划(Human Genome Project, HGP)的概念; 1990年10月国际人类基因组计划正式启动, 打算用15年的时间完成人类基因组全部碱基对序列的测定。在实施该计划的过程中, 测序体系的效率与精度是主要的限速因素。基于传统凝胶电泳技术的DNA自动测序仪虽然使基因测序跨入了高通量阶段, 但其效率远远无法达到科研人员的实际需求。自90年代初期发展起来的毛细管电泳测序技术于1998年结出硕果, 由此设计制造的ABI3700型DNA自动测序仪具有工业化的高产率、先进的荧光检测系统和平均长达750个碱基对的测序长度, 使年测序能力由80年代初期的几万个碱基对迅速提高到当年的9千万个, 在满足大规模DNA测序及点突变检测的同时, 极大地推动了人类基因组测序的进程。2000年6月, 美国、英国、法国、德国、日本和中国的科学家同时宣布人类基因组工作草图比预期提前完成, 充分显示了高通量DNA测序技术的优势和威力。

人类基因组序列的破译为研究体现人群间个体差异的单核苷酸多态性(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)铺平了道路。1994年, 单核苷酸多态性的概念首次在《Human Molecular Genetics》上被提出; 由于其在高密度遗传图谱构建、性状作图和基因精确定位、群体遗传结构分析以及系统发育规律演绎等方面所具有的、令其他分子标记无可比拟的优越性, Lander

⁺ 国家高技术研究发展计划(863计划)课题“海洋天然产物活性筛选和评价的平台技术”(2004AA621040)资助; ^{*} 通讯作者。E-mail: mwwang@siniwest.com