

α -葡萄糖苷酶抑制剂类药物的研究进展

Progress in α -glycosidase inhibitors

陈海敏¹, 严小军¹, 林伟²

(1. 宁波大学 海洋生物工程重点实验室, 浙江 宁波 315211; 2. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

中图分类号: R97 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2005)11-0073-04

糖生物学领域的不断发展逐步揭示出糖苷酶作为多种反应的催化剂在体内所起的重要作用, 目前已知的功能包括碳水化合物的消化、糖蛋白和糖脂的加工, 尔后二者又涉及到免疫反应、肿瘤的转移、病毒和细菌的感染以及神经细胞的分化。因此糖苷酶不仅是生命体正常运转所必需的酶, 同时又是许多疾病(如糖尿病、艾滋病及癌症)的相关酶。目前通过抑制酶活的方法进行疾病的治疗已经成为药物研究领域的一个热点。而对高专一性的糖苷酶抑制剂的研究不仅可以用于研究酶活性中心的结构、酶的作用机制、疾病的产生原因, 同时也使它们有望成为许多疾病的治疗药物。

海洋蕴含着丰富的资源, 它们中普遍存在着许多具有特殊生物活性的物质, 并且这些物质有着不同于陆源物质的特殊结构, 因此往往能够从中发现许多潜在的药物。而目前从海洋中寻找葡萄糖苷酶抑制剂的工作进行的非常少, 因此从海洋资源中开发和研究葡萄糖苷酶抑制剂将具有广阔的研究前景。

1 α -葡萄糖苷酶抑制剂在治疗疾病方面的作用机理

葡萄糖苷酶抑制剂的医学用途最早是作为 II 型糖尿病的治疗药物。目前已进入临床阶段的抑制剂类药物有阿卡波糖和米格列醇^[1]。葡萄糖苷酶抑制剂治疗糖尿病的机理是因为在小肠刷状缘细胞的微绒毛上存在着多种葡萄糖苷酶, 包括 α -淀粉酶、 α -葡萄糖淀粉酶、蔗糖酶等, 其作用是将复杂的碳水化合物水解成为单糖, 后者被吸收进入血液, 这类药物对该酶有很强的抑制作用, 口服后在小肠局部发挥作用, 延缓饮食中碳水化合物的吸收, 从而使餐后血糖峰值渐变低平, 波动减少, 血浆中的糖化血红蛋白降低。

由于许多动物病毒的外壳由 1~2 个关键的糖蛋白组成, 这些糖蛋白是病毒生长周期中的关键性蛋白, 涉及到病毒粒子的组装、分泌以及感染, 而 α -葡萄糖苷酶参与了这类糖蛋白的加工^[2], 因此 α -葡萄糖苷酶抑制剂还被用于治疗病毒性疾病。如目前治疗艾滋病的一种常见药物是 N-丁基-1-脱氧野尻毒素 (NB-DNJ), 是非常有效的抑制剂。其作用机理是影响糖蛋白中 N-连接的寡糖的加工, 造成构型的转变和剪切过程被抑制, 从而抑制融合细胞和被感染病毒的形成, 使从细胞中释放的具感染力的病毒的数量减少, 最终减少病毒感染^[3]。另外葡萄糖苷酶抑制剂还可以抑制乙肝病毒(HBV)。与 HIV 外壳糖蛋白(含 30 个 N-连接的糖基化位点)不同, 乙肝 B 病毒只含有 2 个糖基化位点。但 HBV 糖蛋白同样对抑制剂敏感。当用 NB-DNJ 处理 HBV 细胞系时, 可以阻止带外壳的 DNA 的分泌, 导致关键的 DNA 在细胞内积累^[2]。

2 α -葡萄糖苷酶抑制剂的研究状况

目前 α -葡萄糖苷酶抑制剂主要来源于两个方向: 从动植物及微生物中提取; 以及人工半合成。

2.1 从天然产物中提取 α -葡萄糖苷酶抑制剂
从天然产物中筛选糖苷酶抑制剂的工作已进行较早, 并得到了一些有价值的物质, 如最常见的两种, 阿卡波糖和野尻毒素。阿卡波糖由微生物 *Actinoplanes utahensis* 发酵产生, 而野尻毒素由 *Streptomyces lavendulae* 发酵产生。现在印度等国正着

收稿日期: 2003-06-23; 修回日期: 2004-02-28

基金项目: 浙江省科技兴海项目(2003C23030)

作者简介: 陈海敏(1975-), 女, 在读博士, 研究方向: 海洋生物工程, E-mail: chenham@hotmail.com

手于从各种传统药物中筛选抑制剂。如 Kim^[4]等人以甲醇从鸭跖草中提取出 2, 5-二羟甲基-3, 4-二羟吡咯烷、四个吡啶生物碱、1-脱氧野尻毒素等物质。Toda^[5]从丁香中提出鞣花单宁和多倍酰-葡萄糖, 能够抑制小鼠小肠中的葡萄糖苷酶, 并且抑制活性随倍酰单元的增多而增大。Yoshikawa^[6]从巴西传统药物 *Myrcia multiflora* DC 的叶子中提取到 5 种黄酮酮类物质能够通过抑制葡萄糖苷酶抑制血浆中葡萄糖的升高。Asano 等^[7]从桑树和蚕中提取出多种生物碱, 具有抑制葡萄糖苷酶活性。Yoshikawa^[8]从斯里兰卡和印度的药物 *Salacia reticulata* 的根和茎中提取了复杂的内盐硫-硫结构的物质, 而这种植物正是印度传统的治疗糖尿病的药。最近 Lee^[9]发现从一株链霉菌属的菌中分离出的染料木黄酮有抑制 α -葡萄糖苷酶的能力, 而且酶对染料木黄酮非常敏感, 同时染料木黄酮对 α -甘露糖苷酶、 β -甘露糖苷酶、 β -葡萄糖苷酶也有抑制作用。

海洋环境的复杂性造就了海洋中物质的结构与活性往往与陆源物质有很大的差异, 目前从海洋中筛选葡萄糖苷酶抑制剂的工作起步较晚, 进行的也不太多。Nakao^[10]从海绵 *Callyspongia truncata* 中分离到一种新的多炔酸 callyspongynic acid, 能够抑制葡萄糖苷酶。李宪瑾从石莼的脂溶性物质中筛选到一种酶抑制剂, 1, 2-二酰基-3-(6-脱氧-6-磷酸基- α -D-吡喃葡萄糖基)-sn-甘油酯, 有较强的抑制活性。Nakao 等^[11]从海绵 *Penares* 体组织中分离出分子式为 $C_{35}H_{62}NO_{15}S_3Na_3$ 的 penarolide sulfates A_1 和 A_2 , 属于含脯氨酸的大环内脂三硫化物。它们对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性 IC_{50} 分别为 1.2 和 1.5 $\mu\text{g/mL}$ 。近年来, 许多研究者提出了一个观点, 认为海洋动植物中提取的生物活性物质实际上是由与之共附生的海洋微生物所产生的。并且许多国家已经从这些海洋微生物中发现了大量结构新颖、活性独特的化合物, 其中不乏有抗肿瘤活性的。这使我们产生了从海洋微生物中筛选产糖苷酶抑制剂的微生物的想法, 并且这类工作国内外鲜有报道, 因此其研究前景较为广阔。从目前的筛选情况看, 已经上百株微生物中筛选到 3 株产抑制剂的菌株, 但具体物质尚待分离鉴定。

2.2 化学合成 α -葡萄糖苷酶抑制剂

尽管从天然物质中分离抑制剂的研究进行的很多, 但是由于原料稀少, 所以这类物质很少能够进入到工业化生产阶段。有鉴于此, 人们开始利用化学方法合成此类物质。在对天然抑制剂的结构研究过程中, 研究人员发现此类物质存在着某些共性, 并着手根据这些共性设计出许多具有强抑制作用的化合物。

常见的这类化合物分为五元环、六元环以及寡糖类。目前合成的五元环抑制剂有 2,5-二脱氧-2,5-亚氨基-D-甘露糖醇及其各种衍生物。六元环中比较常见的几类: 糖苷类、醛糖-1,5-内酯类、醛糖-1,5-内酰胺类、吡糖类。吡糖是糖苷酶很好的抑制剂^[12]。DMDP 是一种吡咯生物碱, 是 β -D-呋喃果糖的结构类似物, 对酵母 α -葡萄糖苷酶有较强的抑制性。吡啶生物碱 DNJ 是 D-葡萄糖类似物, 抑制 α -葡萄糖苷酶的效果比 DMDP 好^[13]。1-脱氧野尻毒素也属于吡糖类, 它的衍生物 N-丁基-脱氧野尻毒素, 能够较好地抑制 HIV 病毒的安装。寡糖衍生物包括木二糖的各种含 N 衍生物; 纤维二糖的衍生物; 曲二糖型假二糖及假三糖如 N-丁基-环异脲被证明对 α -葡萄糖苷酶(啤酒酵母)和葡萄糖苷酶 I(酵母)有很高的抑制活性; 以及阿卡波糖的各类衍生物。

除了以上的假糖类抑制剂外, 最近人们发现某些肽类物质也具有抑制葡萄糖苷酶的作用^[14]。李家大等^[15]尝试从噬菌体多肽文库中筛选, 他以黑曲霉的葡萄糖淀粉酶为靶分子, 从一个噬菌体展示的多肽文库中筛选到 3 个可以专一性的与这个酶结合的噬菌体克隆, 根据其中一个序列所合成的 10 肽可以专一地抑制黑曲霉的葡萄糖淀粉酶, 也能抑制大鼠小肠中的 α -葡萄糖苷酶活性。

3 α -葡萄糖苷酶抑制剂的结构特征及其与酶的结合方式

α -葡萄糖苷酶的活性中心一般有 4 个亚基, 亚基间通过 Glu 或 Asp 提供的-COOH 连接。当反应进行时, -COOH 会与异头碳结合形成碳氧鎓离子过渡态, 另外糖苷环上的其它-OH 也会与酶的各种氨基酸之间形成氢键, 通过静电作用保持过渡态的稳定性。一个好的葡萄糖苷酶抑制剂往往具有以下几个特征: 含阳离子、三角形的异头碳中心、并且有一个共价连接的环形成半椅状或椅状构型, 以及恰当的羟基构象^[16]。因此带有可以质子化基团的抑制剂可以与酶优先结合。并且这个质子一般是处于环内氧的位置或取代异头碳, 或是在糖苷键连接的位点。因为处于这几个位置能够很好地模拟酶与底物反应的过渡态, 从而与酶发生紧密的结合。另外酶在与底物反应时, 会使底物发生立体化学变形, 最终成半椅状构型, 因此半椅状构型是抑制剂的最好构型。从各个 C 原子上的-OH 构象来看, 在酶和糖作用时, 糖上的 C-2、C-3 位的立体化学结构是非常关键的, C-2、C-3 位有双平伏键羟基稳定状态的糖对酶的亲和性高。因此 C-2 位的差向异构体(甘露糖)为葡萄糖结合性的 1/9,

C-3 位的差向异构体(阿洛糖)为葡萄糖结合性的 $1/3$ [15]。而且 C-2 位是抑制剂与酶结合时专一性和识别的特殊位点, 2-OH 会与酶的 Glu 或 Asn 的羧基形成氢键, 这个氢键提供至少 40 kJ/mol 的能量, 对稳定过渡态是很关键的。C-3 位的 OH 基也参与了与酶的氢键结合。去掉了 C-1 位的 OH 时, 发现抑制剂对酶的亲和力得到很大的提高, 说明 C-1 位的 OH 不利于酶的结合(构象压迫)。目前对 4-OH 和 6-OH 的作用的争议比较大, Notenboom [18] 认为 4-OH 的构象变化对酶、底物作用的影响不大, 去掉 6-OH 或羟甲基只会使抑制性少许下降。但 Dong [19] 等认为, 4-OH、6-OH 在葡萄糖氧化酶、葡萄糖脱氢酶和葡萄糖淀粉酶活性方面都起关键作用。抑制剂聚合度对活性的影响情况在通过研究阿卡波糖和 1-脱氧野尻毒素对麦

芽糖和麦芽寡糖的抑制实验中发现, 两者的抑制常数在同一个数量级, 说明抑制程度与抑制剂的长度无关, 而是决定于结合方式。从已经报道的抑制剂来看, 聚合度一般集中在 1~4, 以假单糖和假二糖居多, 阿卡波糖是典型的假四糖结构。

目前阳离子取代比较常见的是 N 取代, 单环胺如 1-脱氧野尻毒素, 双环衍生物如苦马豆素或栗树精胺。另外其它位的取代胺也有一定的影响, 如 D-葡萄糖胺比葡萄糖结合紧密了 4 个级别。Svansson 等 [20] 利用铈原子取代 N, 将栗树精胺中的 N 原子用铈离子取代, 通过空间上的静电作用改变活性中心的亲核残基, 从而起到不可逆抑制作用。图 1 是几种常见的葡萄糖苷酶抑制剂类型。

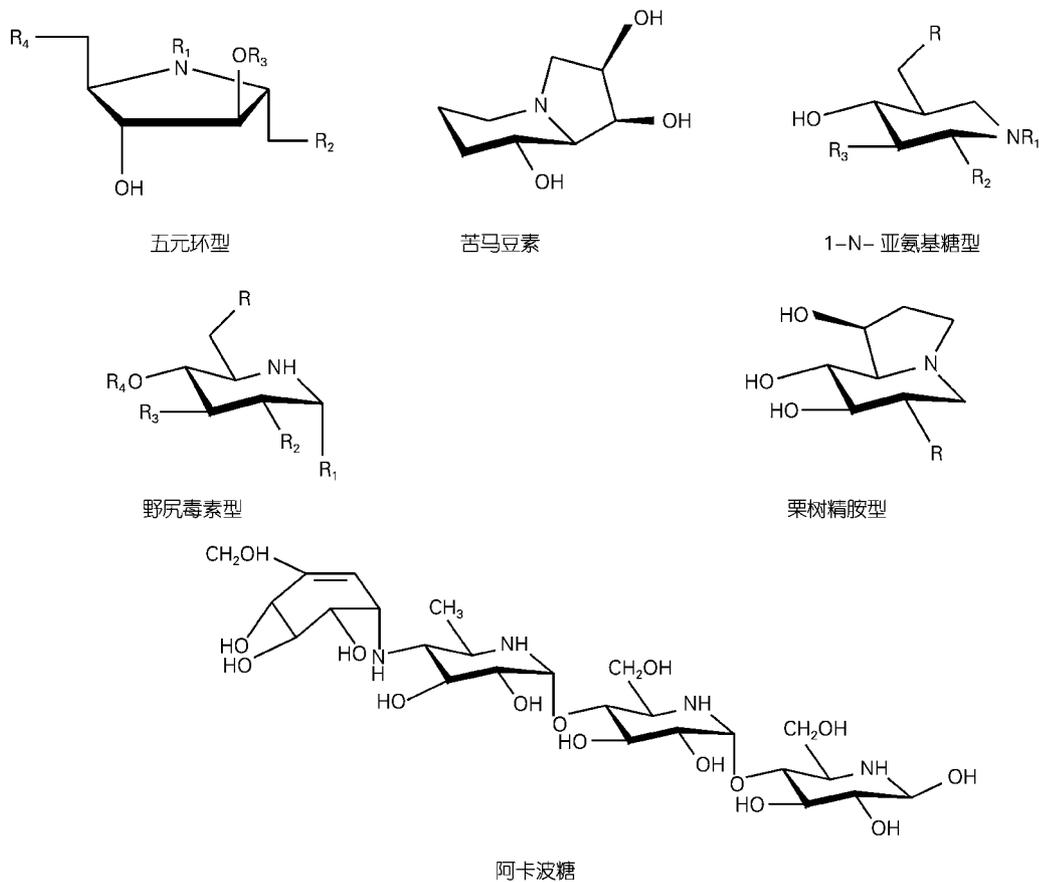


图 1 几种常见的 α -葡萄糖苷酶抑制剂类型

目前所发现的或合成的抑制剂基本都符合以上所说的 3 个条件, 但仍有几种特别是海洋生物中所发

现的抑制剂的结构特征与此 3 个条件相差较远, 有的甚至呈现酸性, 其抑制机理以及与酶的结合方式可能

存在着差别, 需要进一步的研究。但基本可以认为, 无论是从天然物质中提取的还是化学合成的 α -葡萄糖苷酶抑制剂, 其结构都应符合一定的共性, 并且这种共性可以成为以后寻找或合成抑制剂的依据。

4 结语

尽管许多糖苷酶抑制剂已经被用于各种疾病的治疗, 但仍有许多地方尚未研究清楚, 比如抗-HIV 机理仍有待于进一步阐明; 不符合一般结构类型的抑制剂的抑制机理是什么。由于糖苷酶与肌体及细胞中的各种反应有关联, 其抑制剂有望成为多种疾病的治疗药物, 而目前所发现的几种抑制剂种类较少, 化学合成抑制剂由于其步骤烦琐, 仅局限在实验室内生产。所以设法从微生物中寻找抑制剂仍将会是这类药物筛选的重心。

参考文献:

[1] Baron A D. Postprandial hyperglycaemia and α -glucosidase inhibitors [J]. **Diabetes Research and Clinical Practics**, 1998, **40** (Suppt) : 51-55.

[2] Mehta A, Zitzmann N. α -Glucosidase inhibitors as potential broad based anti-viral agents [J]. **FEBS Letters**, 1998, 430 : 17-22.

[3] Fischer P B, Collin M, Karlsson G B. *et al.* The α -glucosidase inhibitor N-butyldeoxyojirimycin inhibits human immunodeficiency virus entry at the level of post-CD4 binding [J]. **J Virology**, 1995 : **69**(9) : 5 791-5 797.

[4] Kim H S, Kim Y H. Alpha-glucosidase inhibitors from *Commelina communis* [J]. **Planta Med**, 1999, **65**(5) : 437-439.

[5] Toda M, Kawabata J, Kasai T. Inhibitory effects of ellagi and gallotannins on rat intestinal alpha-glucosidase complexes [J]. **Biosci Biotechnol Biochem**, 2001, **65**(3) : 542-547.

[6] Yoshikawa M, Morikawa T. Absolute stereostructure of potent alpha-glucosidase inhibitor, salacinol, with unique thiosugar sulfonium sulfate inner salt structure from *Salacia reticulata* [J]. **Bioorg Med Chem**, 2002, **10**(5) : 1 547-1 554.

[7] Asano N, Yamashita T. Polyhydroxylated alkaloids isolated from mulberry trees and silkworms [J]. **J Agri Food Chem**, 2001, **49**(9) : 4 208-4 213.

[8] Yoshikawa M, Shimoda H, Nishida N. *et al.* *Salacia reticulata* and its polyphenolic constituents with lipase

inhibitory and lipolytic activities have mild antiobesity effects in rats [J]. **J Nutr**, 2002, **132**(7) : 1 819-1 824.

[9] Nakao Y, Uehara T, Matsunaga S, *et al.* Callyspongynic acid, a polyacetylenic acid which inhibits alpha-glucosidase from the marine sponge *Callyspongia truncata* [J]. **J Nat Prod**, 2002, **65**(6) : 922-924.

[10] Lee D S, Lee S H. Genistein, a soy isoflavone, is a potent α -glucosidase inhibitor [J]. **FEBS Letters**, 2001, 501 :84-86.

[11] Nakao Y, Maki T. Penarolide sulfates A₁ and A₂, new α -glucosidase inhibitors from a marine sponge *Penares* sp [J]. **Tetrahedron**, 2000, 56 : 8 977-8 987.

[12] Gabriela PB, Rawle I. A preparation and screening strategy for glycosidase inhibitors [J]. **Tetrahedron**, 2001,**57** : 8 773-8 779.

[13] Wong C H, Provencher L. Synthesis and evaluation of homoazasugars as glycosidase inhibitors [J]. **J Org Chem**, 1995, 60 : 1 492-1 501.

[14] Eichler J, Lucka A W. Novel α -glucosidase inhibitors identified using multiple cyclic peptide combinatorial libraries [J]. **Molecular Diversity**, 1995, 1 : 233-240.

[15] Li J D, Wang K Y. Screening an α -glucosidase inhibitor from a phage-displayed peptide library [J]. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, 2001, **33**(5) : 513-518.

[16] Mosi R, Sham H. Reassessment of acarbose as a Transition state analogue inhibitor of cyclodextrin glycosyltransferase [J]. **Biochemistry**, 1998, 37 : 17 192-17 198.

[17] Dale M P, Ensley H E, Sastry KA, *et al.* Reversible inhibitors of β -glucosidase [J]. **Biochemistry**, 1985, 24 : 3 530-3 539.

[18] Notenboom V, Spencer J. Detailed structural analysis of glycosidase/inhibitor interactions:complexes of Cex from *Cellulomonas fimi* with xylobiose-derived aza sugars [J]. **Biochemistry**, 2000, 39 : 11 553-11 563.

[19] Dong W L, Jespersen T. Evaluation of isofagomine and its derivatives as potent glycosidase inhibitors [J]. **Biochemistry**, 1996, 35 : 2 788-2 795.

[20] Svansson L, Blair D. Synthesis and conformational analysis of a sulfonium-ion analogue of the glycosidase inhibitor castanospermine[J]. **J Am Chem Soc**, 2000, **122**(44) : 10 769-10 775.

(本文编辑: 张培新)