

CÁC HỢP CHẤT TERPENOIT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC CAO TỪ NGUỒN SINH VẬT BIỂN

Nguyễn Văn Hùng, Phạm Văn Cường và Đoàn Thị Mai Hương

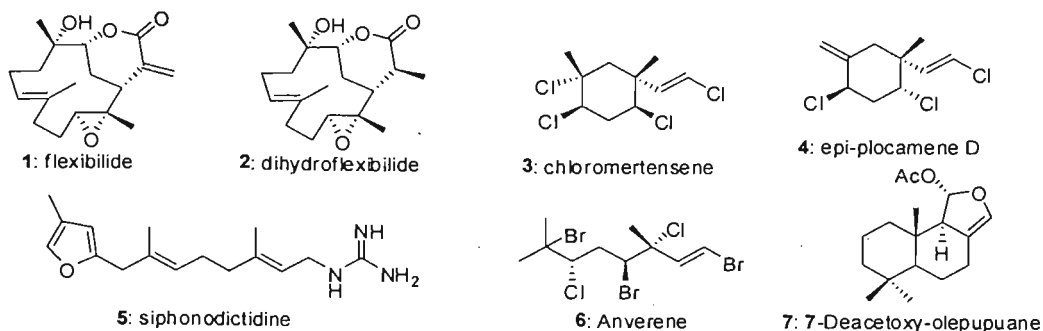
Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

I. TỔNG QUAN

Các hợp chất terpen bao gồm các hợp chất chuyển hóa sơ cấp và thứ cấp, được hình thành từ khung carbon của isoprene.^[1] Sự kết hợp và chuyển hóa của các đơn vị isoprene tạo ra các cấu trúc đa dạng với đặc tính hóa học và sinh học khác nhau. Các hợp chất terpenoit của thực vật bậc cao đã được nghiên cứu rộng rãi và đã được sử dụng trong y học dân tộc từ nhiều thế kỷ qua. Tuy nhiên, mãi cho tới đầu thế kỷ 20, các hợp chất terpenoit có nguồn gốc sinh vật biển mới được quan tâm nghiên cứu. Các hợp chất steroid terpenoit là các hợp chất có chứa đơn vị isoprene được phân lập đầu tiên từ nguồn sinh vật biển. Vào những năm 1930, Bergmann đã nghiên cứu và phân lập nhiều hợp chất sterol từ các sinh vật biển khác nhau.^[2] Sau đó, một trong các học trò của ông là Leon Ciereszko đã tiếp tục kế thừa và nghiên cứu các hợp chất terpenoit từ các loại san hô.^[3] Cho tới nay, một lượng lớn các hợp chất terpen đã được phân lập từ nguồn sinh vật biển và rất nhiều trong số chúng thể hiện hoạt tính sinh học rất đáng quan tâm.

Các hợp chất chuyển hóa thứ cấp bao gồm các hợp chất terpen đóng vai trò quan trọng trong sự cạnh tranh sinh tồn của các loài sinh vật biển. Các hợp chất diterpenoit thuộc khung cembrane như flexibilide (1) và dihydroflexibilide (2) được tìm thấy trong nước biển xung quanh loài san hô mềm *Sinularia flexibilis*. Các hợp chất này giữ vai trò như một hóa chất bảo vệ san hô khỏi bị các động vật khác ăn.^[4] Các hợp chất này độc đối với các loài cá. Mặt khác, các sinh vật sinh sống gần với các loài san hô mềm lại sản sinh các hợp chất terpen nhằm chống lại các loài san hô này, như trong trường hợp tương tác giữa loài tảo đỏ *Plocamium hamatum* và san hô mềm *Sinularia cruciata*. Trong đó các loài tảo đỏ này đã sản sinh ra hợp chất chloromertensene (3) để làm hoại tử các mô của san hô.^[5,6] Một ví dụ thú vị về sự tương tác giữa hải miên và san hô là hợp chất terpen siphonodictidine (5) được tạo ra từ các loài hải miên thuộc chi *Siphonodictyon*. Hợp chất siphonodictidine gây độc đối với các polyp của san hô và như vậy giúp hải miên chống lại san hô.^[7] Chính sự tiến hóa từ sự cạnh tranh sinh tồn trong tự nhiên đã làm cho các sinh vật biển sản sinh ra các hợp chất để chống lại sự tấn công từ bên ngoài nhằm duy trì sự tồn tại của chúng. Các hợp chất này có cấu trúc hóa học và hoạt tính sinh học rất đa dạng, gắn liền với vai trò của chúng trong tự nhiên và chúng được tạo ra nhằm tấn công đến các cấu trúc đích sinh học cụ thể như chuỗi DNA, các enzyme, các cơ quan thụ cảm, màng tế bào. Như vậy, hoạt tính sinh học của các hợp chất terpen có nguồn gốc sinh vật biển có tiềm năng để nghiên cứu và sử dụng trong lĩnh vực dược học. Một số các hợp chất terpen có hoạt tính sinh học cao đã được nghiên cứu lâm sàng hoặc tiền lâm sàng.^[8] Eleutherobin (8) là hợp chất được phân lập lần đầu tiên vào năm 1997 từ loài san hô thuộc chi *Eleutherobia*.^[9] Kết quả thử nghiệm tiền lâm sàng cho thấy eleutherobin là tác nhân làm bền hóa microtubule và có khả năng liên kết với một số vị trí của chuỗi polymer microtubule như tác nhân chống ung thư palitaxel (Taxol).^[10] Như vậy cơ chế hoạt động của eleutherobin (8) tương tự như palitaxel, epothilone A và B. Ojima và cộng sự đã chứng minh rằng eleutherobin (8) có phần cấu trúc 3 chiều tạo lên dược tính tương đồng so với palitaxel. Nhân terpen của eleutherobin có khả năng liên kết với phần đường và đồng thời gắn kết với phần cấu trúc có chứa histidine thông qua liên kết ester. Cấu trúc hóa học

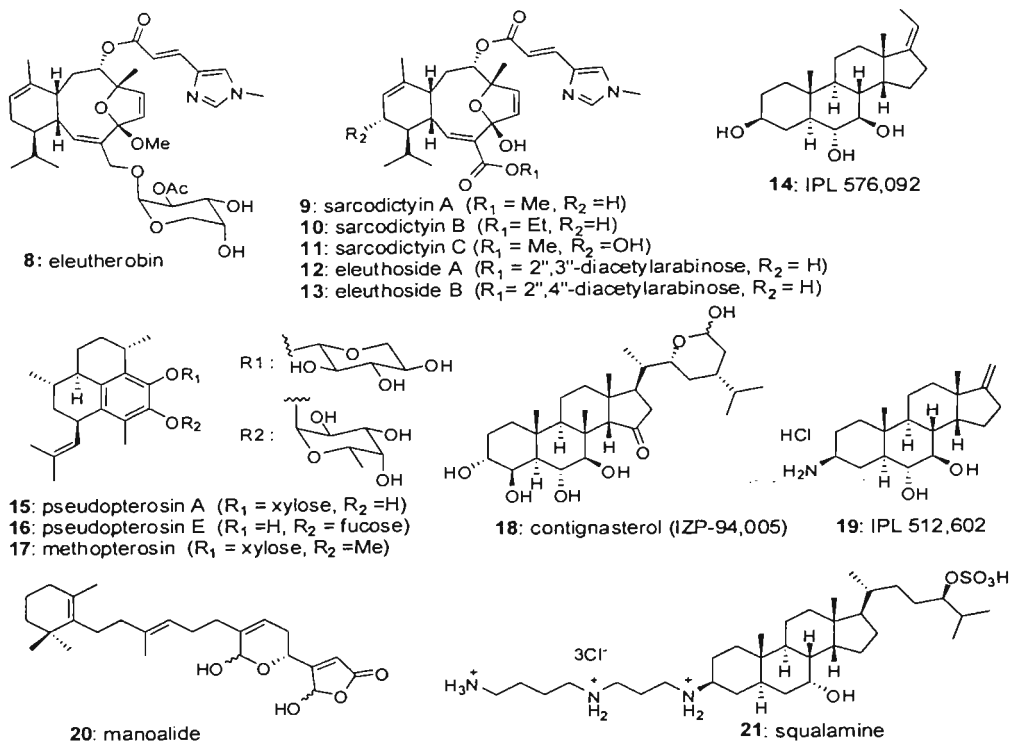
của eleutherobin sau đó đã được hai nhóm nghiên cứu của Nicolaou và Chen tiến hành nghiên cứu tổng hợp toàn phần nhưng hiệu suất không cao^[11,12] Do hạn chế về lượng chất nên tiến trình nghiên cứu lâm sàng của hợp chất này đã bị chậm lại.



Hình 1. Các hợp chất terpen đóng vai trò quan trọng trong sự sinh tồn của các sinh vật biển

Các hợp chất sarcodictyin A-C (9-11) và eleuthoside A và B (12-13) cũng chứa khung cấu trúc hóa học rất giống với hợp chất eleutherobin. Sarcodictyin A-C (9-11) đã được phân lập vào những năm 1980 từ loài *Sarcodictyon roseum* thuộc biển Địa Trung Hải.^[13] Các dẫn xuất chứa đường như eleuthoside A và B (12, 13) được phân lập từ loài san hô *Eleutherobia aurea* của Nam Phi.^[14] Vào những năm đó hoạt tính sinh học của các hợp chất này chưa được khám phá. Cho tới năm 1997 thì các hợp chất thuộc khung sarcodictyin mới được biết đến như các tác nhân làm bền hóa tubuline. Gần đây hơn, đồng phân Z-sarcodictyin A được phân lập từ loài san hô *Bellonella albiflora* và bổ sung làm giàu cho dãy chất thuộc loại sarcodictyin.^[15] Hiện nay hợp chất này đang được nghiên cứu tiền lâm sàng.^[8]

Ngoài ra, các hợp chất diterpen glycosit chứa khung amphilectane có hoạt tính chống viêm như pseudopterosin A và E (15-16) cũng được phân lập từ loài san hô sừng *Pseudopteroorgia elisabethae*.^[16] Sau đó cũng từ loài này một số các dẫn chất pseudopterosin mới (pseudopterosins M-Z) và *seco*-pseudopterosin cũng đã được phân lập và xác định cấu trúc.^[17] Gần đây các nghiên cứu đã chỉ ra rằng thực chất các loài *Symbiodinium* sống cộng sinh với *P. elisabethae* chính là nguồn sản sinh ra các hợp chất pseudopterosin.^[18] Hoạt tính chống viêm của các hợp chất pseudopterosin mạnh hơn các loại thuốc thông dụng như indomethacin. Hiện tại cơ chế hoạt động của các hợp chất này vẫn chưa được hiểu rõ. Tuy nhiên, người ta thấy rằng có sự tương tác giữa các hợp chất này với lớp axit arachidonic. Dịch chiết sơ chế của *P. elisabethae* có chứa pseudopterosin E (16) hiện nay đang được dùng trong mỹ phẩm và được Công ty Estée Lauder bào chế kem dưỡng da với tên thương mại là Resilience®.



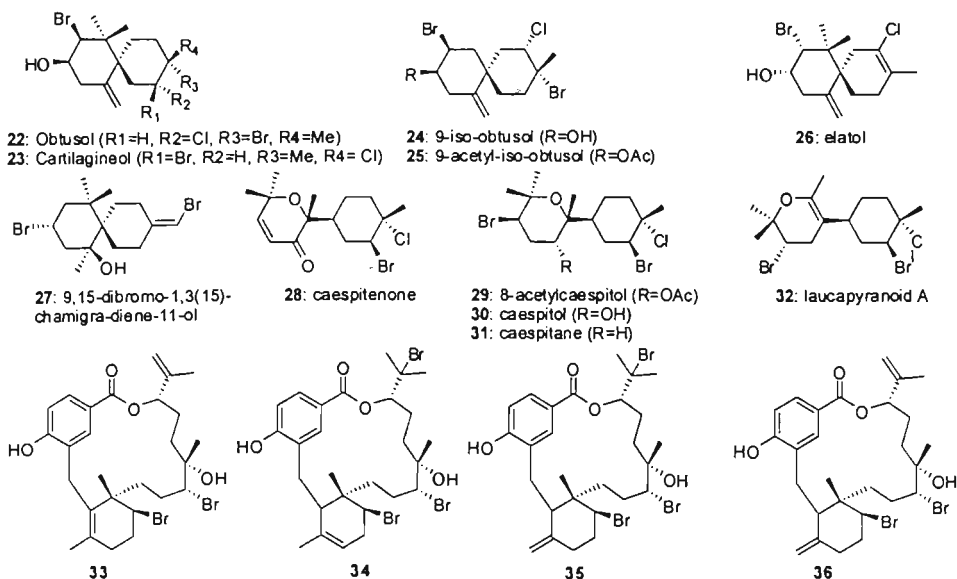
Hình 2. Các hợp chất terpen làm nguyên liệu đầu cho nghiên cứu các biệt dược

Các sinh vật biển thường chứa các hợp chất sterols với cấu trúc đặc biệt. Ví dụ điển hình là hợp chất contignasterol (18) được phân lập từ loài *Petrosia contignata*.^[19] Hợp chất này là một steroid bị oxy hóa mạnh có cấu trúc rất đặc biệt với cấu hình bất thường H β -14 và nhóm chức acetal ở mạch nhánh. Contignasterol (18, hay còn được ký hiệu là I ZP-94,005) và các dẫn xuất được biết đến với hoạt tính kháng viêm. Mặc dù cấu trúc hóa học của hợp chất contignasterol và dẫn xuất có nét tương đồng với các hợp chất cổ điển loại glucocorticosteroids, nhưng cơ chế hoạt động không giống nhau.^[20] Contignasterol và dẫn xuất không phải là các tác nhân ức chế PLA2 mà chúng có tác dụng ức chế sự giải phóng histamine từ bạch cầu.^[21] Công ty dược phẩm InflaZyme Pharmaceuticals đã quan tâm nghiên cứu contignasterol để bào chế thành thuốc chống hen suyễn, nhưng với cấu trúc phức tạp và phần cấu trúc mang hoạt tính không bền nên sau đó người ta đã hướng tới các dẫn xuất của contignasterol như IPL576,092 (14) và IPL512,602 (19). Mặc dù tác nhân IPL576,092 (14) đã được thử nghiệm lâm sàng giai đoạn II dùng trong chữa trị bệnh hen suyễn, tuy nhiên sau đó các nhà nghiên cứu đã phát hiện ra rằng tác nhân IPL512,602 (19) cho hoạt tính tốt hơn nên đã dồn trọng tâm nghiên cứu hợp chất này. Hiện tại hợp chất này đang trong thử nghiệm lâm sàng giai đoạn II. Đối với hợp chất IPL576,092 (14) hiện nay người ta đang mở rộng nghiên cứu để phát triển thành tác nhân chống các bệnh viêm da và mắt. Hợp chất sesquiterpen, manoalide (20) được Scheuer và cộng sự phân lập từ loài hải miên *Luffariella variabilis*.^[22] Sau đó nhóm nghiên cứu của Jacobs và Dennis đã nghiên cứu và phát hiện ra hoạt tính chống viêm của hợp chất này.^[23,24] Manoalide (20) đã được Công ty dược phẩm Allergan Pharmaceuticals đăng ký bản quyền sử dụng trong chữa trị bệnh vảy nến và đã được thử nghiệm lâm sàng giai đoạn II. Tuy nhiên, do gặp khó khăn trong quá trình bào chế nên

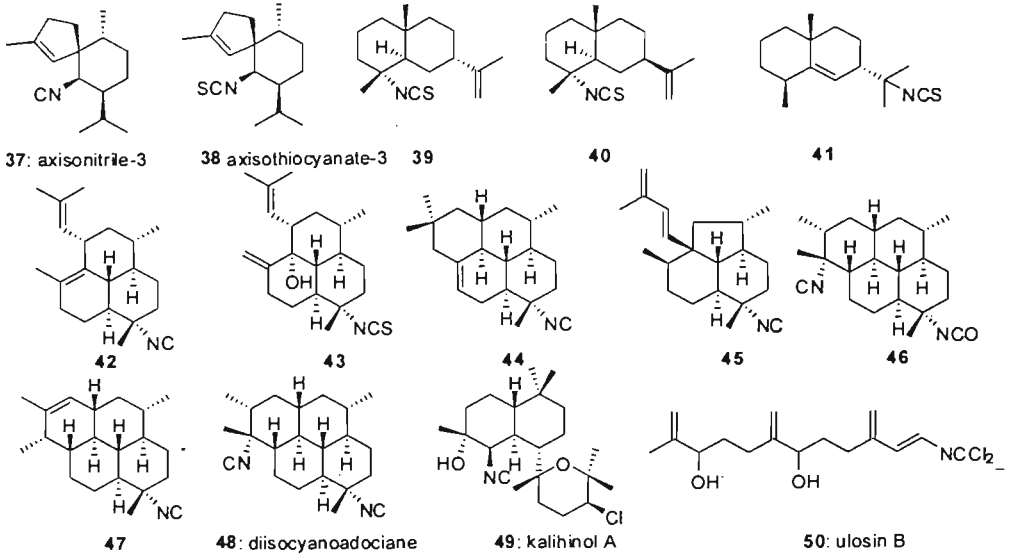
manoalide đã không được bào chế thành thuốc và hiện nay hợp chất này được sử dụng như là chất chuẩn trong ức chế hoạt động của PLA2. Hợp chất squalamine (21) là một steroid alkaloid dưới dạng muối tan trong nước được tìm thấy trong các mô của cá nhám *Squalus acanthias*. Squalamine (21) được biết đến với các hoạt tính như kháng khuẩn và kháng nấm. Sau này hợp chất này còn được phát hiện có khả năng ức chế sự phát triển của khối u. Tuy nhiên khi nghiên cứu sâu, người ta thấy rằng chỉ khi sử dụng kết hợp với các tác nhân chống ung thư khác như carboplatin và palitaxen thì mới có hiệu quả, còn khi sử dụng đơn lẻ, hợp chất này không thể hiện hoạt tính chống ung thư mạnh.

Các hợp chất terpen brom và clo hóa thường được sinh ra từ các loài tảo đỏ biển. Các hợp chất terpen halogen hóa trong hình 3 được tìm thấy trong loài tảo đỏ của chi *Plocamium*. Các dẫn chất halogen hóa của chamigrene (22-27) là các sesquiterpen với cấu trúc spiro được phân lập từ loài tảo thuộc chi *Laurencia*. Trong một số trường hợp, các dẫn xuất acetyl được phân lập từ các loài động vật ăn các loài tảo này và các nghiên cứu giả thiết rằng các dẫn chất acetyl như hợp chất 25 và 29 không phải là hợp chất sinh tổng hợp thứ cấp của các loài tảo mà chúng đã bị biến đổi trong quá trình tảo bị các động vật ăn.

Ngoài ra các hợp chất terpen chứa nhóm nitrile và các nhóm chức tương tự là các hợp chất đặc trưng được tìm thấy trong hệ sinh thái biển. Các hợp chất này thường được tìm thấy từ các loài hải miên. Axisonitrile-3 (37) là hợp chất terpen có cấu trúc đặc biệt được phân lập từ loài *Acanthella klethra*. Thông thường các hợp chất isothiocyanate cũng được tìm thấy trong các loài hải miên có chứa các hợp chất isonitrile tương ứng. Nhiều hợp chất chứa các nhóm chức này có hoạt tính chống sốt rét, như hợp chất axisonitrile-3 (37) có hoạt tính chống sốt rét mạnh có khả năng ức chế ký sinh trùng *Plasmodium falciparum* với giá trị IC_{50} là 16,5ng/ml và không có độc tính. Các hợp chất được phân lập từ các loài hải miên thuộc chi *Cymbastela* cũng được biết đến với hoạt tính chống sốt rét như hợp chất diisocyanoadociane (48) với giá trị IC_{50} là 4,9ng/ml đối với ký sinh trùng *P. falciparum*. Hoạt tính chống sốt rét của hợp chất này cao hơn so với axisonitrile-3, nhưng đồng thời hợp chất này cũng thể hiện hoạt tính gây độc tế bào.



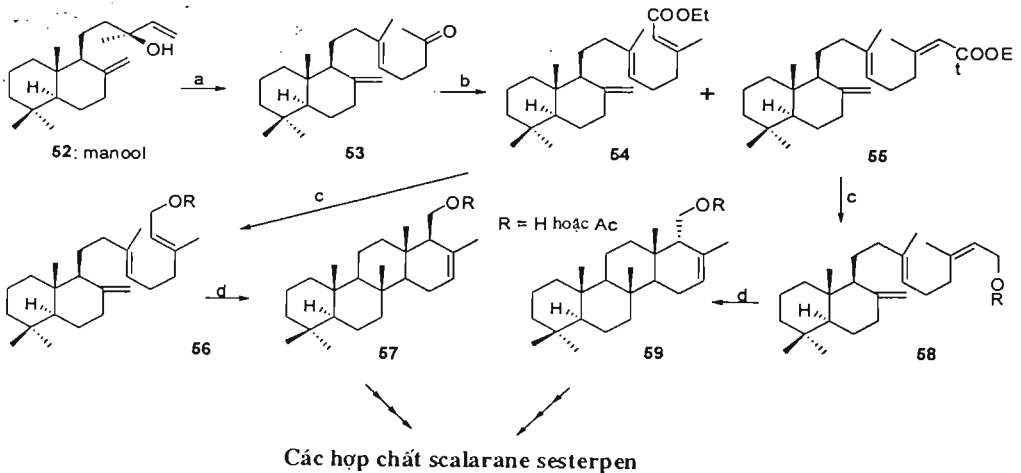
Hình 3. Các hợp chất terpen halogen hóa



Hình 4. Các hợp chất terpens chứa nhóm isonitrile và các nhóm chức tương tự

II. TỔNG HỢP TOÀN PHẦN

Trong hầu hết các trường hợp hàm lượng các hợp chất phân lập được từ nguồn sinh vật biển rất hạn chế. Đồng thời việc thu mẫu cũng gặp không ít khó khăn. Do vậy vấn đề nghiên cứu tổng hợp toàn phần các hợp chất này là điều tất yếu. Quá trình nghiên cứu tổng hợp toàn phần có thể xuất phát từ việc nghiên cứu nguồn gốc thực sự sinh ra các hợp chất đó. Trong nhiều trường hợp các hợp chất này được sinh ra từ các vi khuẩn cộng sinh. Đối với trường hợp này thông thường người ta sẽ tiến hành nuôi cấy các vi khuẩn này từ đó có thể thu được hợp chất mong muốn với lượng nhiều hơn. Một cách tiếp cận khác đó là nghiên cứu quá trình sinh tổng hợp của các hợp chất này, từ đó có thể tìm ra các enzyme tham gia vào quá trình sinh tổng hợp làm cơ sở cho việc tiến hành nghiên cứu tổng hợp bằng các phương pháp công nghệ sinh học.



Hình 5. Tổng hợp các scalarane sesterpen từ manool: a) $\text{MeCOCH}_2\text{COOEt}$; b) $(\text{Et}_2\text{O})\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{COOEt}$, NaH, DMSO; c) 1. $\text{LiAlH}_3(\text{OEt})$, 2. Ac_2O , Py.

Ngoài ra việc nghiên cứu tổng hợp các hợp chất bằng các phản ứng hóa học được nghiên cứu nhiều nhất. Đối với hướng tiếp cận này, việc lựa chọn nguyên liệu đầu sẵn có là yếu tố quyết định trong quá trình tổng hợp. Một ví dụ điển hình đã được PGS.TS. Nguyễn Văn Hùng và nnk. thực hiện là quá trình nghiên cứu tổng hợp toàn phần một số hợp chất scalarene sesterpen có hoạt tính gây độc tế bào cao như scalarin, scalaradial, deacetylscalaradial và heteronemin được phân lập từ loài hải miên *Cacospongia scalaris*. Trong quá trình tổng hợp này, chúng tôi đã lựa chọn nguyên liệu đầu là manool (51), một hợp chất tự nhiên được phân lập từ cây Đan sâm xạ (*Salvea sclarea* L.). Quá trình tổng hợp hai epimer 57 và 59 được trình bày như trên hình 5. Từ các hợp chất này, cho phép tổng hợp các sesterpen khác nhau có cùng khung scalarene.^[25]

III. KẾT LUẬN

Sinh vật biển thực sự là nguồn cung cấp các hợp chất với cấu trúc hóa học và hoạt tính sinh học đa dạng. Trong đó các hợp chất terpenoit giữ vai trò quan trọng trong sự cạnh tranh sinh tồn của hệ sinh thái biển. Nghiên cứu thành phần hóa học của các sinh vật biển góp phần phát hiện ra mô hình cấu trúc có hoạt tính để có thể ứng dụng trong y học từ đó đưa ra các định hướng bảo tồn và sử dụng hiệu quả nguồn sinh vật biển. Việc nghiên cứu quá trình sinh tổng hợp của các hợp chất là hướng quan trọng nhằm giúp cho việc tổng hợp bằng công nghệ sinh học và tổng hợp toàn phần bằng các phản ứng hóa học, từ đó cho phép thu được lượng chất lớn hơn để phục vụ nghiên cứu hoạt tính sinh học và dược học.

IV. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Anh

1. Ruzicka Leopold. The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds. *Experientia* 1953, 9, 357-367.
2. Bergmann W., Johnson T. B. The chemistry of marine animals. I. The sponge *Microciona pralifera*. *Z. Physiol. Chem.* 1933, 222, 220-226.
3. Ciereszko Leon S., Sifford Dewey H., Weinheimer Alfred J. Chemistry of coelenterates. I. Occurance of terpenoid compounds in gorgonians. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1960, 90, 917-919.
4. Coll John C., Bowden Bruce F., Tapiolas Dianne M., et al. The terpenoid chemistry of soft corals and its implications. *Tetrahedron* 1985, 41, 1085-1092.
5. De Nys R., Coll J. C., Price I. R. Chemically mediated interactions between the red alga *Plocamium hamatum* (Rhodophyta) and the octocoral *Sinularia cruciata* (Alcyonacea). *Mar. Biol.* 1991, 108, 315-320.
6. Leone P. A., Bowden B. F., Carroll A. R., Coll J. C. Chemical consequences of the relocation of the soft coral *Lobophytum compactum* and its placement in contact with the red alga *Plocamium hamatum*. *Mar. Biol.* 1995, 122, 675-679.
7. Sullivan Brian, Faulkner Hohn D., Webb Leith. Siphonodictidine, a metabolite of the burrowing sponge *Siphonodictyon* sp. that inhibits coral growth. *Science* 1983, 221, 1175-1176.
8. Newman David J., Cragg Gordon M. Marine natural products and related compounds in clinical and advanced preclinical trials. *J. Nat. Prod.* 2004, 67, 1216-1238.
9. Lindel Thomas, Jensen Paul R., Fenical William. Eleutherobin, a new cytotoxin that mimics paclitaxel (taxol) by stabilizing microtubules. *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 8744-8745.

10. Long Byron H., Carboni Joan M., Wasserman Arthur J. et al. Eleutherobin, a novel cytotoxic agent that induces tubulin polymerization, is similar to paclitaxel (Taxol®). *Cancer Res.* **1998**, *58*, 1111-1115.
11. Nicolaou K. C., Van Delft Floris, Ohshima Takashi et al. Total synthesis of eleutherobin. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 2520-2524.
12. Chen Xiao-Tao, Bhattacharya Samit K., Zhou Bishan et al. The total synthesis of eleutherobin. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6563-6579.
13. D'Anbrosio Michele, Guerriero Antonio, Pietra Franceseco. Isolation from the Mediterranean stoloniferan coral *Sarcodictyon roseum* of sarcodictyin C, D, E, and F, novel diterpenoidic alcohols esterified by (E)- or (Z)-N(1)-methylurocanic acid. Failure of the carbon-skeleton type as a classification criterion. *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 964-976.
14. Ketzinel Sharon, Rudi Amira, Schleyer Michael et al. Sarcodictyin A and two novel diterpenoid glycosides, eleuthosides A and B, from the soft coral *Eleutherobia aurea*. *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*, 873-875.
15. Nakao Yoichi, Yoshida Satoru, Matsunaga Shigeki et al. (Z)-Sarcodictyin A, a new highly cytotoxic diterpenoid from the soft coral *Bellonella albiflora*. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 524-527.
16. Look Sally A., Fenical William, Matsumoto Gayle K., et al. The pseudopterosins: a new class of anti-inflammatory and analgesic diterpen pentosides from the marine sea whip *Pseudoptergorgia elisabethae* (Octocorallia). *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 5140-5145.
17. Ata Athar, Kerr Russell G., Moya Claudia E. et al. Identification of anti-inflammatory diterpens from the marine gorgonian *Pseudoptergorgia elisabethae*. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 4215-4222.
18. Mydlarz Laura D., Jacobs Robert S., Boehnlein Jennifer. Pseudopterosin biosynthesis in *Symbiodinium* sp., the dinoflagellate symbiont of *Pseudoptergorgia elisabethae*. *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 1051-1056.
19. Burgoyne David L., Andersen Raymond J., Allen Theresa M. Contignasterol, a highly oxygenated steroid with the "unnatural" 14 β -configuration from the marine sponge *Petrosia contignata* Thiele, 1899. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 525-528.
20. Bramley A. M., Langlands J. M., Jones A. K., et al. Effects of IZP-94005 (contignasterol) on antigen-induced bronchial responsiveness in ovalbumin-sensitized guinea-pigs. *Br. J. Pharmacol.* **1995**, *115*, 1433-1438.
21. Kasserra C. E., Harris P., Stenton G. R., et al. IPL576,092, a novel anti-inflammatory compound, inhibits leukocyte infiltration and changes in lung function in response to allergen challenge. *Pulm. Pharmacol. Ther.* **2004**, *17*, 309-318.
22. De Silva Dilip E., Scheuer Paul J. Manoalide, an antibiotic sesterterpenoid from the marine sponge *Luffariella variabilis* (Polejaeff). *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 1611-1614.
23. Jacobs Robert S., Culver Paul, Langdon Ronald, et al. Some pharmacological observations on marine natural products. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 981-984.
24. Lombard Dominique, Dennis Edward A. Cobra venom phospholipase A2 inhibition by manoalide. *J. Biol. Chem.* **1985**, *260*, 7234-7240.

Tiếng Nga

25. Nguyễn Văn Hùng và nnk. Vòng hóa 13E/17E và 13E/17Z bicyclogeranyl pharnezols và acetates bằng phương pháp chọn lọc cấu trúc tạo ra scalarane sesterpenoids. *Tạp chí Hóa học các hợp chất thiên nhiên - Liên xô* 1988, 5, 760-761.

CÁC HỢP CHẤT TERPENOIT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC CAO TỪ NGUỒN SINH VẬT BIỂN

Nguyen Van Hung, Pham Van Cuong and Doan Thi Mai Huong

SUMMARY

Several review articles dealing with various aspects of marine chemical ecology. Marine organisms produce a wide array of fascinating terpenoid structures distinguished by characteristic structural features. Certain structural classes, e. g. cembrane, chamigrene, amphilectane skeletons, and unusual functional groups such as isonitrile, isothiocyanate, isocyanate, dichloroimine and halogenated functionalities occur predominantly in marine metabolites. Especially striking is the frequent occurrence of sesterpens in marine organisms, and sponges must be considered as one of the prime sources of these C₂₅ terpenoid compounds. The prominent biological activity of marine terpens is evident in their ecological role in the marine environment, and makes them interesting as potential drugs. Several terpenoid compounds, e.g. eleutherobin, sarcodictyin, contignasterol derivatives, are in preclinical or clinical development. In many cases, a paucity of marine compounds hinders their development. Total synthesis of such marine products is helpful to obtain in large scale of samples for biological evaluation. Herein, we report the research in marine terpenoids with interesting biological activities.