

# 植物天然产物抑制细菌脲酶活性的研究进展

张震宇<sup>1,2</sup> 赵圣国<sup>1,2</sup> 郑楠<sup>1,2</sup> 王加启<sup>1,2\*</sup>

(1.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所,动物营养学国家重点实验室,北京 100193;2.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所,农业部奶及奶制品质量安全控制重点实验室,北京 100193)

**摘要:**反刍动物瘤胃中细菌脲酶活性强,导致氨的释放速率过快,影响微生物蛋白合成效率,进而影响反刍动物对微生物蛋白的利用。瘤胃中过量的氨经瘤胃壁吸收入血,造成反刍动物血液 pH 的改变,引起动物氨中毒。经瘤胃壁吸收的氨在肝脏中重新合成尿素,其中一部分尿素被动物排出,对环境造成污染。因此,开发脲酶抑制剂对于饲料利用、动物生产以及环境保护均具有重要意义。植物天然产物是低生物毒性、副作用小的脲酶抑制剂的理想来源之一。近年来,研究发现了一系列具有脲酶抑制作用的植物天然产物。通过构效关系解析,这些植物天然产物化合物极大地丰富了具有脲酶抑制活性的化学骨架结构。本文对具有脲酶抑制活性的植物天然产物化合物进行了分类综述,探讨了不同类别的脲酶抑制剂的构效关系与抑制模式,旨在为开发新型脲酶抑制剂提供参考。

**关键词:**脲酶抑制剂;植物天然产物;非蛋白氮;脲酶

**中图分类号:**S816

**文献标识码:**A

**文章编号:**1006-267X(2021)03-1306-12

近年来,动物饲料中抗生素的滥用引起的生物耐药性问题及人工合成化合物在动物及动物产品中应用所引起的生物毒性与安全问题已引起人们的广泛关注。植物提取物中获得的天然产物化合物在动物生产中的应用越来越受重视。随着分离提纯技术的高速发展,从植物提取物中分离的天然产物化合物越来越多,应用潜力巨大。

在反刍动物饲料中添加尿素等非蛋白氮可替代约 30% 的蛋白质饲料,为其提供生长和生产所必须的氮源。按照豆粕氮含量 6.7%、尿素氮含量 46.7% 计算,每年反刍动物生产中利用尿素 100 万 t,可替代 700 万 t 豆粕所提供的氮源<sup>[1]</sup>。但是,瘤胃中产脲酶菌产生的脲酶催化尿素水解生成氨的速率过快,以致尿素氮不能被有效利用。因此,需应用尿素缓释技术以提高反刍动物对非蛋白氮的利用效率<sup>[2]</sup>。

细菌脲酶( EC 3.5.1.5)由结构蛋白 UreABC 构成,而辅助蛋白 UreD/UreH、UreE、UreF 以及 UreG 等主要参与细菌脲酶结构蛋白的组装和活化过程。细菌脲酶活性中心通常位于结构蛋白 UreC<sup>[3-4]</sup>。脲酶抑制剂通过与细菌脲酶活性中心结合,能同时降低反刍动物内源尿素与外源尿素的分解速度。此外,脲酶抑制剂还具有高效、易添加、易制备的特点。目前,在反刍动物生产中应用较广的脲酶抑制剂为乙酰氧肟酸,但其在瘤胃内易被微生物降解,限制了乙酰氧肟酸作为脲酶抑制剂在尿素缓释方面的应用。特别是大剂量使用乙酰氧肟酸对动物还有着严重的副作用,能够引起皮肤病、神经及血液学方面的疾病<sup>[5]</sup>,进一步限制了乙酰氧肟酸作为脲酶抑制剂的使用。因此,亟需开发生物毒性低、稳定性强的脲酶抑制剂,而天然产物化合物具有结构多样性大、生物毒性低

收稿日期:2020-08-09

基金项目:中国农业科学院农业科技创新工程重大产出科研选题(CAAS-ZDXT2019004);现代农业产业技术体系专项资金(CARS-36);中国农业科学院科技创新工程(ASTIP-IA12)

作者简介:张震宇(1996—),男,江西九江人,硕士研究生,从事反刍动物营养与饲料科学研究。E-mail: zzy123779@126.com

\* 通信作者:王加启,研究员,博士生导师,E-mail: Jiaqi wang@vip.163.com

以及安全性高等特点,近年来已大量应用于脲酶抑制剂的开发及研究中。从这些研究中获得的大量具有脲酶抑制生物活性的化合物骨架结构,对于开发新型脲酶抑制剂具有重要意义。本文分类综述了具有脲酶抑制活性的植物天然产物,探讨了不同类型的天然产物脲酶抑制剂的构效关系与抑制模式,旨在为开发新型脲酶抑制剂提供参考。

## 1 近年来公开报道的植物天然产物化合物

近年来公开报道的对研发新型脲酶抑制剂具

有参考作用的植物天然产物化合物见表 1。表 1 对具有脲酶抑制作用的植物天然产物化合物进行了分类,并列举了不同研究中植物天然产物化合物对脲酶的抑制活性——半抑制浓度( $IC_{50}$ )值、抑制类型、构效关系以及植物来源。表 1 中构效关系一栏中所列举的化学结构,为含有这些化学结构的一类化合物中对于其脲酶抑制活性至关重要的化学结构,通过化学修饰取代该结构能改变此类化合物的脲酶抑制活性。

表 1 植物天然产物中脲酶抑制剂的分类

Table 1 Classification of urease inhibitors from plant extracts

分类 Classification	化合物名称 Compound name	$IC_{50}$ 值 $IC_{50}$ value/( $\mu\text{mol/L}$ )	抑制类型 Inhibition types	构效关系 Structure-activity relationship	植物来源 Plant sources	参考文献 References
酚类化合物 Phenolic compounds	2-羟基-3-甲氧基-5-(2-丙烯基)-苯酚	64.8	-	-	秋海棠	[6]
酚类化合物 Phenolic compounds	丁香醛	432.20±2.67	-	-	尖喙豆	[7]
酚类化合物 Phenolic compounds	靛蓝素 C	23.3	-	脂链烃	乃拉木蓝	[8]
酚类化合物 Phenolic compounds	靛蓝素 B	49.7	-	脂链烃	乃拉木蓝	[8]
酚类化合物 Phenolic compounds	黄檀酚	35.01	竞争性脲酶抑制剂	羟基	匍枝毛茛	[9]
酚类化合物 Phenolic compounds	3,4,5-三羟基苯甲酸甲酯	15.06	竞争性脲酶抑制剂	羟基	匍枝毛茛	[9]
酚酸类 Phenolic acids	没食子酸甲酯	1 330	-	-	芍药根	[10]
酚酸类 Phenolic acids	1,2,3,4,6-五-O-没食子酰- $\beta$ -二吡喃葡萄糖	72	-	-	芍药根	[10]
酚酸类 Phenolic acids	漆树酸	21	竞争性脲酶抑制剂	不饱和烷基侧链	腰果	[11]
酚酸类 Phenolic acids	岩白菜素	21.7	竞争性脲酶抑制剂	-	粗糠柴	[12]
苯丙酸类 Phenylpropanoic acids	咖啡酸	69.8	-	-	秋海棠	[6]
苯丙酸类 Phenylpropanoic acids	异阿魏酸	72.4	-	-	秋海棠	[6]
苯丙酸类 Phenylpropanoic acids	咖啡酸衍生物	20.96	-	-	灌木金丝桃壁	[13]
芪类化合物 Stilbene compounds	2,3,4,4'-四羟基-二氢芪	30	-	2 个邻羟基、异黄酮结构的 C 环	高等植物	[14]

续表 1

分类 Classification	化合物名称 Compound name	IC <sub>50</sub> 值 IC <sub>50</sub> value/( $\mu$ mol/L)	抑制类型 Inhibition types	构效关系 Structure-activity relationship	植物来源 Plant sources	参考文献 References
芪类化合物 Stilbene compounds	白藜芦醇	-	非竞争性脲酶抑制剂	-	葡萄	[15]
儿茶素 Catechins	没食子酸酯	2.2	竞争性脲酶抑制剂	B 环的 5'位羟基	绿茶	[16]
儿茶素 Catechins	没食子儿茶素 没食子酸酯	9.8	竞争性脲酶抑制剂	B 环的 5'位羟基	绿茶	[16]
儿茶素 Catechins	没食子 儿茶素	8.7	竞争性脲酶抑制剂	B 环的 5'位羟基	绿茶	[16]
儿茶素 Catechins	表没食子 儿茶素	19.6	竞争性脲酶抑制剂	B 环的 5'位羟基	绿茶	[16]
黄酮类化合物 Flavonoids	槲皮素	80	-	3'-羟基,4'-羟基以及 3',4'-二羟基	番石榴	[17-18]
黄酮类化合物 Flavonoids	3'-甲基槲皮素	76	-	-	秋海棠	[6]
黄酮类化合物 Flavonoids	杨梅素	77.2	-	-	金银花	[18]
黄酮类化合物 Flavonoids	木犀草素	35.5	-	-	金银花	[18]
黄酮类化合物 Flavonoids	鹰嘴豆素 A	320	-	-	-	[19]
黄酮 O-糖苷类化合物 Flavones O-glycosides	槲皮素-4-O-0- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷	190	-	3-羟基	洋葱	[17]
黄酮 O-糖苷类化合物 Flavones O-glycosides	黄酮类葡萄糖醛酸苷	270	非竞争性脲酶抑制剂	-	黄芩	[20]
黄酮 O-糖苷类化合物 Flavones O-glycosides	黄芩素	1 350	非竞争性抑制剂	-	灯盏花	[21]
黄酮 O-糖苷类化合物 Flavones O-glycosides	黄芩苷	820	非竞争性抑制剂	-	黄芩	[22]
黄酮 C-糖苷 Flavones C-glycosides	牡荆素	35	-	糖基	非洲菊	[23]
黄酮 C-糖苷 Flavones C-glycosides	荭草素	28	-	糖基	非洲菊	[23]
黄酮 C-糖苷 Flavones C-glycosides	异日本獐 牙菜素	38	-	糖基	非洲菊	[23]
黄酮 C-糖苷 Flavones C-glycosides	异当药黄素	43	-	糖基	非洲菊	[23]
黄酮 C-糖苷 Flavones C-glycosides	5,7-二羟基-40-甲 氧基黄烷酮	15.8	非竞争性抑制剂	-	三叶枳	[24]
单萜类化合物 Terpenoids	维能酮	227.6	-	-	秋海棠	[25]
二萜类化合物 Diterpenoid compounds	3,7,15-三-O-乙酰 基-5-O-烟酰胺基- 13,14-二羟基肉豆蔻素	81.9	-	-	大戟属	[26]

续表 1

分类 Classification	化合物名称 Compound name	IC <sub>50</sub> 值 IC <sub>50</sub> value/( $\mu\text{mol/L}$ )	抑制类型 Inhibition types	构效关系 Structure-activity relationship	植物来源 Plant sources	参考文献 References
三萜类化合物 Triterpenoids	芦丁醇	24.2	-	-	鸡蛋花	[27]
三萜类化合物 Triterpenoids	红杨酸	58.9	-	-	鸡蛋花	[27]
三萜类化合物 Triterpenoids	山梨素 A	85.2	-	-	花楸属植物	[28]
三萜类化合物 Triterpenoids	山梨素 B	17.8	-	-	花楸属植物	[28]
三萜类化合物 Triterpenoids	人参皂甙 A	500 (抑制 87%)	-	硫酸酯	驼蹄瓣	[29]
生物碱类化合物 Alkaloids	3-羟乙基葡 萄球菌素	25.6	-	羟基/羰基	板蓝根	[30]
生物碱类化合物 Alkaloids	表红葡萄球菌素	37.0	-	羟基/羰基	板蓝根	[30]
生物碱类化合物 Alkaloids	小檗碱	$7.135 \times 10^3$	-	-	黄连	[31]
生物碱类化合物 Alkaloids	表小檗碱	$3.00 \pm 0.01$	反竞争性 抑制剂	-	黄连	[32]
醌类 Quinones	2-( $\beta$ -D-二吡喃 葡萄糖氧基)-1, 4-萘醌	62	-	-	散沫花	[33]
醌类 Quinones	3-甲氧基 黄檀酮	169	竞争性 抑制剂	-	紫罗兰	[34]
鞘脂类化合物 Sphingolipids	红藻糖苷	45.7	-	-	红杨	[27]
鞘脂类化合物 Sphingolipids	邻苯二甲酰胺 A	23.1	-	糖基(葡萄 糖)结构	蛇床子	[35]
鞘脂类化合物 Sphingolipids	邻苯二甲酰胺	12.6	-	糖基(葡萄 糖)结构	蛇床子	[35]
含硫化合物 Sulfur compounds	伊贝林	178.8	-	-	西兰花	[36]
含硫化合物 Sulfur compounds	萝卜硫素	190.5	-	-	西兰花	[36]
含硫化合物 Sulfur compounds	大蒜素	21.8	-	-	大蒜	[37]

IC<sub>50</sub>是指抑制剂的半抑制浓度。

IC<sub>50</sub> refers to the half inhibitory concentration of inhibitors.

## 2 酚类化合物

酚类化合物是植物的莽草酸、戊糖磷酸和苯丙醇代谢通路中重要的代谢产物,其化学结构中苯环上的氢原子被羟基取代,为芳烃的含羟基衍

生物,具有广泛的生理活性,是脲酶抑制剂的重要来源之一。Ahmad 等<sup>[6]</sup>从草药植物秋海棠(*Vernonia cinerascens*)中分离出 2-羟基-3-甲氧基-5-(2-丙烯基)-苯酚,该化合物对刀豆脲酶的 IC<sub>50</sub> 值为  $64.8 \mu\text{mol/L}$ 。Ramsay 等<sup>[7]</sup>报道了从尖

喙豆 (*Stereospermum acuminatissimum*) 茎皮中分离得到丁香醛。该化合物对脲酶抑制  $IC_{50}$  值为  $(432.20 \pm 2.67) \mu\text{mol/L}$ 。丁香醛类化合物已广泛应用于肠道损伤防护药物的开发,且其同时具备微摩尔级的脲酶抑制作用,具有一定的作为脲酶抑制剂的开发潜力。

Tariq 等<sup>[8]</sup>从乃拉木蓝 (*Indigofera gerardiana*) 中分离得到了间苯三酚类化合物靛蓝素 C 及其他 2 个衍生化合物,分别为靛蓝素 A、靛蓝素 B。靛蓝素 B 和靛蓝素 C 均具有较好的刀豆脲酶抑制活性, $IC_{50}$  值分别为 23.3 和 49.7  $\mu\text{mol/L}$ ,均为竞争性脲酶抑制剂。而靛蓝素 A 虽然与其他 2 个化合物结构相似,但却不具备脲酶抑制活性。构效关系 (SAR) 研究表明,脂链烃对该类化合物的脲酶抑制活性起关键作用。靛蓝素 A 与靛蓝素 C 相比,其化学结构中的脂链烃多了 1 个碳原子,导致其不具备脲酶抑制活性。

Khan 等<sup>[9]</sup>从葡枝毛茛 (*Ranunculus repens*) 根的氯仿和乙酰乙酸提取物中纯化分离了 3,4,5-三羟基苯甲酸甲酯及黄檀酚。二者均具有很强的刀豆脲酶和巴氏杆菌脲酶抑制活性,其中黄檀酚对于这 2 种脲酶的  $IC_{50}$  值分别为 35.01 和 25.63  $\mu\text{mol/L}$ ,而 3,4,5-三羟基苯甲酸甲酯对这 2 种脲酶的  $IC_{50}$  值分别为 31.75 和 22.51  $\mu\text{mol/L}$  (参比脲酶抑制剂硫脲对这 2 种脲酶的抑制  $IC_{50}$  值分别为 15.06 和 21.00  $\mu\text{mol/L}$ ),2 种化合物为竞争性脲酶抑制剂。SAR 研究表明,羟基能与脲酶活性位点中的镍结合而抑制脲酶活性,黄檀酚化学结构中羟基的数量只有 1 个,3,4,5-三羟基苯甲酸甲酯化学结构中含有 3 个游离的羟基,而该报道中另一化学结构相似的化合物 R(+)-4-甲氧基黄檀酚因不含羟基而脲酶抑制活性最低(对刀豆脲酶和巴氏杆菌脲酶的  $IC_{50}$  值分别为 67.33 和 59.72  $\mu\text{mol/L}$ ),3 个化合物对脲酶的抑制效果与羟基的数量相关,表明羟基对该类化合物脲酶抑制活性非常重要。

## 2.1 酚酸类

酚酸类化合物的苯环结构上有多个酚羟基取代,是一种芳香羧酸类化合物。酚酸类化合物很少以游离形式存在,主要在中草药中以糖、酯及有机酸的形式存在。在抗氧化、抗菌消炎、降血脂等方面有很强的生物活性,但由于分子中存在大量的酚酸基取代,结构不稳定。高温、光照、酶、环境

酸碱程度均能影响该类化合物的结构,使其失去生物活性。今后,开发此类化合物用作脲酶抑制剂的研究重点为:在提取和纯化的过程中保证化合物的活性,并在保留生物活性的基础上改善化合物的稳定性。

Ngan 等<sup>[10]</sup>从芍药根 (*P. lactiflora* root) 中纯化出没食子酸甲酯 (MG) 和 1,2,3,4,6-五-O-没食子酰- $\beta$ -二吡喃葡萄糖 (PGG),二者对幽门螺杆菌脲酶的抑制  $IC_{50}$  值分别为 1 330 和 72  $\mu\text{mol/L}$ 。而参比脲酶抑制剂乙酰氧脲酸与硫脲的  $IC_{50}$  值分别为 49 与 568  $\mu\text{mol/L}$ 。与参比抑制剂乙酰氧脲酸相比,PGG 不仅脲酶抑制活性高,而且还具有抗幽门螺旋杆菌的活性,其机制为改变细菌膜通透性,从而破坏质子动力和膜相关功能,同时促进细胞内酸化,破坏微生物 ATP 合成酶。因此,在应用 PGG 时还应注意评估其对某些细菌的抗菌活性。Kubo 等<sup>[11]</sup>从腰果 (*Anacardium occidentale*) 中分离出的漆树酸。漆树酸对幽门螺杆菌脲酶的抑制  $IC_{50}$  值为 21  $\mu\text{mol/L}$ ,是一种竞争性脲酶抑制剂。同时该化合物还具有抗幽门螺旋杆菌活性。SAR 研究表明,该化合物的不饱和 C15:3 结构中烷基侧链在烃侧链中具有约 30° 的弯曲,通过顺式构型与分子上双键相互作用,使得侧链中顺式构型的 2 个双键产生更多的弯曲,并显著缩短了侧链的长度。该结构对于该类化合物的抗菌活性具有重要作用。

Arfan 等<sup>[12]</sup>从粗糠柴 (*Mallotus philippensis*) 树皮的丙酮提取物中分离出岩白菜素 (bergenin),该化合物是一种有效的抗氧化化合物,生物毒性低且具有肠道保护作用。对巴氏杆菌脲酶的  $IC_{50}$  值为 21.7  $\mu\text{mol/L}$  (硫脲  $IC_{50}$  值 = 25  $\mu\text{mol/L}$ ),为竞争性脲酶抑制剂。岩白菜素与巴氏杆菌脲酶活性中心的结合模式 (图 1)。该化合物能够与镍离子及活性中心中重要的氨基酸残基相互作用。岩白菜素与脲酶活性中心的 Lys 169、Ala 266、Arg 339、Gly 280、Asp 363 形成氢键,与 His 323、Lys 169、His 249、Met 367、His 222 和 Ala 366 形成疏水相互作用,从而抑制脲酶活性。

## 2.2 苯丙酸类

苯丙酸类化合物含 C6-C3 结构,是一种含有酚羟基取代基的芳香羧酸。该类化合物与酚酸类化合物的化学特性类似。Ahmad 等<sup>[6]</sup>从秋海棠中分离出咖啡酸和异阿魏酸,这 2 个化合物对刀豆

脲酶  $IC_{50}$  值分别为 69.8 和 72.4  $\mu\text{mol/L}$ 。而 Arfan 等<sup>[13]</sup>从灌木金丝桃壁 (*Hypericum oblongifolium*) 中提取的咖啡酸衍生物对刀豆脲酶的  $IC_{50}$  值为 20.96  $\mu\text{mol/L}$ , 优于参比脲酶抑制剂硫脲 ( $IC_{50}$  值 = 21.0  $\mu\text{mol/L}$ )。

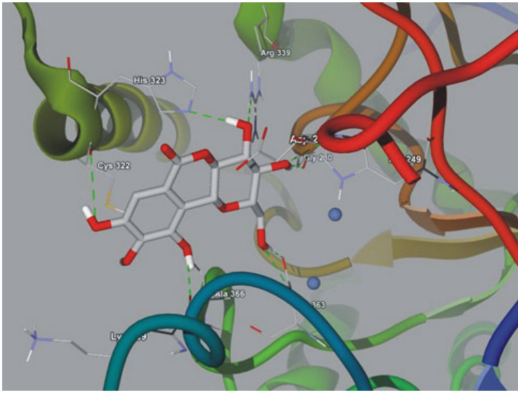


图 1 岩白菜素与巴氏杆菌脲酶的结合模式图

Fig.1 Binding mode of bergenin with *B. pasteurii* urease<sup>[12]</sup>

### 2.3 芪类 (stilbene) 化合物

芪类化合物以均二苯乙烯为基本单位,在植物正常组织中含量低。天然芪类化合物是植物的应激产物。Xiao 等<sup>[14]</sup>从高等植物中分离出了 2, 3, 4, 4-四羟基-二氢芪,其对幽门螺杆菌脲酶的  $IC_{50}$  值为 30  $\mu\text{mol/L}$ ,为竞争性、时间依赖性抑制剂。此外,SAR 研究表明,化学结构中 2 个邻羟基对该化合物的脲酶抑制活性至关重要。当该化合物的异黄酮结构的 C 环断裂时,其脲酶抑制活性明显降低。Paulo 等<sup>[15]</sup>从葡萄 (*Vitis vinifera*) 中分离出白藜芦醇,当浓度为 1.75  $\mu\text{mol/L}$  时,可抑制幽门螺旋杆菌脲酶 90% 的活性。动力学研究表明,白藜芦醇是幽门螺杆菌脲酶的非竞争性和可逆性抑制剂。此外,白藜芦醇还具有多种其他生理活性,如抗氧化、抗炎、调节脂代谢等。已广泛应用于反刍动物瘤胃气体减排、畜禽肉胴体脂肪品质的提升<sup>[38]</sup>。

## 3 类黄酮类化合物

类黄酮化合物是以黄酮(2-苯基色原酮)为母核而衍生出的一系列天然化合物,可分成不同亚类,如黄酮、黄酮醇、儿茶素等。类黄酮类物质具有广泛的生物活性,是脲酶抑制剂的重要来源之一。

### 3.1 儿茶素

儿茶素是从茶叶等天然植物中提取出来的一类酚类活性物质,具有抗肿瘤、抗氧化、抗菌等多种生物活性,此类活性物质的特点是含有多羟基结构。多羟基结构使得儿茶素在中性和碱性条件下结构不稳定,易在生物酶作用下发生甲基化或糖苷化。在儿茶素结构中引入其他基团可有效提高其稳定性和生物利用率,并能增强儿茶素特定的生物活性。例如,糖苷儿茶素水溶性显著提高,酰化儿茶素脂溶性增强,其抗氧化活性亦随之增强。因此,对于儿茶素类脲酶抑制剂的化学结构进行修饰,有望开发出抑制效果好、稳定性强的新型脲酶抑制剂。

Matsubara 等<sup>[16]</sup>从绿茶中分离得到 4 个儿茶素类化合物:表没食子儿茶素没食子酸酯、没食子儿茶素没食子酸酯、没食子儿茶素和表没食子儿茶素。这些化合物对幽门螺杆菌脲酶抑制的  $IC_{50}$  值分别为 2.2、9.8、8.7 和 19.6  $\mu\text{mol/L}$ ,均为竞争性脲酶抑制剂。SAR 研究表明,在这 4 个儿茶素类化合物的化学结构中,B 环的 5' 位有羟基,与 5' 位没有羟基的其他儿茶素类化合物相比,这 4 个化合物的脲酶的抑制作用增强了 35~104 倍。因此,5' 位是否有羟基对于儿茶素类化合物是否具有较强的脲酶抑制作用至关重要。Macomber 等<sup>[39]</sup>以产气克雷伯氏菌脲酶为对象,通过基因定点突变技术,研究了表没食子儿茶素与脲酶的结合位点。结果表明,表没食子儿茶素通过与脲酶活性中心外柔性片状区域的 Cys319 位点结合以固定脲酶构象,阻止底物尿素进入脲酶活性中心,从而抑制脲酶的活性。

### 3.2 黄酮类化合物

黄酮类化合物分子中具有 2-苯基色原酮(flavone)结构,含有酮式羰基,分子第 1 位上的氧原子具有碱性,能与强酸成盐。由于该类化合物羟基衍生物为黄色,故称黄酮。Shabana 等<sup>[17]</sup>从植物番石榴 (*Psidium guajava*) 提取物中发现,槲皮素是一种有效的抗氧化剂黄酮醇,其对刀豆脲酶的  $IC_{50}$  值为 80  $\mu\text{mol/L}$ ,但对发酵乳杆菌脲酶 (*L. fermentum*) 几乎无抑制活性。将槲皮素化合物结构中的 3'-羟基和 4'-羟基糖基化,可降低该化合物对刀豆脲酶的抑制活性,从而提高该化合物对发酵乳杆菌脲酶的抑制活性。因此,糖基化位点的位置对于槲皮素及其衍生物的脲酶抑制作用十分重



原子直接相连所形成的一类化合物。Perveen 等<sup>[23]</sup>从非洲菊(*Celtis africana*)的正丁醇可溶性部分中纯化出 4 种 C-糖基类黄酮化合物,牡荆素(vitexin)、荳蔻素(orientin)、异日本獐牙菜素(isoswertiajaponin)和异当药黄素(isoswertisin)。这些化合物对刀豆脲酶的抑制 IC<sub>50</sub>值分别为 35、28、38 和 43 μmol/L,而参比脲酶抑制剂硫脲的 IC<sub>50</sub>值为 21.5 μmol/L。SAR 研究表明,化合物中糖基部分的存在增加了这些化合物的抗脲酶活性。

### 3.5 黄酮酮类

Kim 等<sup>[24]</sup>从三叶枳(*Poncirus trifoliata*)的提取物中纯化得到 5,7-二羟基-40-甲氧基黄酮酮,该化合物为枸橼甙(poncirin)的主要代谢产物,能被人的肠道微生物代谢。该化合物具有很强的幽门螺旋杆菌脲酶抑制活性,IC<sub>50</sub>值为 15.8 μmol/L。此外,该化合物为脲酶的非竞争性抑制剂,对幽门螺杆菌具有直接抑菌活性。

## 4 萜类化合物

萜类化合物是植物中的一类大而多样的有机化合物,广泛存在于植物的香精、树脂、色素中。萜类化合物的基本化学骨架由异戊二烯单元构成,是甲戊二羧酸的衍生物。其化学结构中 C1、C3、C4、环戊烷部位为活性部位,其中 C1 位易与羟基、甲氧基或酮基结合,与羟基结合时易与糖结合形成苷;C3、C4 位易氧化形成双键,C4 位易形成羰基、羧基、酯基等;环戊烷部位依氧化程度不同形成不同的环。这些活性部位对萜类化合物的生物活性至关重要。根据萜类化合物中异戊二烯单元的数量,可将该类化合物进一步分为单萜类化合物(monoterpenoids)、二萜类化合物(diterpene)以及三萜类化合物(triterpenoids)。

### 4.1 单萜类化合物

单萜由 2 个异戊二烯单元构成,分为无环单萜、单环单萜、双环单萜及三环单萜 4 类,前 3 类多见于天然化合物。Ahmed 等<sup>[25]</sup>从秋海棠根的甲醇提取物中纯化出维诺酮(vernonione)。维诺酮对刀豆脲酶具有明显的抑制作用,IC<sub>50</sub>值为 227.6 μmol/L。

### 4.2 二萜类化合物

二萜的分子式为(C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>4</sub>,由 4 个异戊二烯单元构成。Ahmad 等<sup>[40]</sup>从大戟属(*Euphorbia decipiens*)植物中分离出的具有曼西醇型骨架的二萜类

酯类化合物—3,7,15-三-O-乙酰基-5-O-烟酰胺基-13,14-二羟基肉豆蔻素,该化合物对刀豆脲酶的 IC<sub>50</sub>值为 81.9 μmol/L,而在另一篇报道中,该化合物对巴氏杆菌脲酶的抑制效果较好,抑制常数(K<sub>i</sub>)为 117.4 μmol/L,是巴氏杆菌脲酶的反竞争性抑制剂<sup>[26]</sup>。

### 4.3 三萜类化合物

三萜类化合物由 6 个异戊二烯单位聚合而成,以游离形式或以与糖结合成苷或酯的形式存在于植物体内。

Akhtar 等<sup>[27]</sup>从鸡蛋花(*Plumeria rubra*)甲醇提取物的乙酸乙酯溶解物中分离出芦丁醇(rubrajaleelol)和红杨酸(rubrajaleelic acid)。它们对幽门螺旋杆菌脲酶的 IC<sub>50</sub>值分别为 24.2 和 58.9 μmol/L。

Kazmi 等<sup>[28]</sup>从花楸属植物(*Sorbus cashmiriana*)的甲醇提取物的氯仿可溶部分中分离出的 2 种新的羽扇烷型三萜类化合物山梨素 A(sorbicins A)和山梨素 B(sorbicins B)。山梨素 A 对刀豆脲酶的 IC<sub>50</sub>值为 85.2 μmol/L,山梨素 B 对刀豆脲酶的 IC<sub>50</sub>值为 17.8 μmol/L,可见山梨素 B 的脲酶抑制活性要强于参比脲酶抑制剂硫脲(IC<sub>50</sub>值为 21.6 μmol/L)。

Khan 等<sup>[29]</sup>从驼蹄瓣(*Zygophyllum fabago* Linn)分离出 5 种乌苏烷型硫酸皂苷。其中 3β,23-双-O-磺酰-23-羟基脲-20(21)-烯-28-乌苏酸 28-O-[β-D-吡喃葡萄糖基]-酯(人参皂甙 A)在浓度为 500 μmol/L 时,对巴氏杆菌脲酶抑制率达 87%。在该浓度下参比脲酶抑制剂硫脲的抑制率为 98%。SAR 研究表明,该类化合物结构中硫酸酯部分,有助于将分子固定在脲酶的活性中心的口袋状结构中,对这些化合物的脲酶抑制活性起着重要作用。

## 5 其他植物有效成分提纯物

### 5.1 生物碱类

生物碱是一类天然存在的有机含氮碱。生物碱对人类和动物具有各种重要的生理作用。它们由包括植物在内的多种生物产生。Ahmed 等<sup>[30]</sup>自板蓝根(*Isatis tinctoria*)中分离出的 3-羟乙基葡萄糖球菌素和表红葡萄糖球菌素,对巴氏杆菌脲酶的 IC<sub>50</sub>值分别为 25.6 和 37.0 μmol/L,对刀豆脲酶 IC<sub>50</sub>值分别为 31.7 和 47.3 μmol/L。SAR 分析表



明,该化合物的羟基/羰基与脲酶的活性位点的螯合有关,随着羟基/羰基数量的增加,该类化合物的脲酶抑制活性增加。如3-羟乙基葡萄糖球菌素化学结构中的羟基比表红葡萄糖球菌素多,因其脲酶抑制活性更强。

小檗碱是植物中分离得到的一种生物碱,具有广泛的生理功能,其潜在的生物活性具有较大的开发和应用价值。近年来,有关小檗碱及其衍生物的脲酶抑制活性报道较多。Li等<sup>[31]</sup>报道了小檗碱的幽门螺旋杆菌脲酶及刀豆脲酶抑制活性,其 $IC_{50}$ 值分别为 $7.135 \times 10^3$ 和 $9.097 \times 10^3 \mu\text{mol/L}$ ,而相同条件下参比脲酶抑制剂乙酰氧肟酸的 $IC_{50}$ 值分别为41.294和25.310  $\mu\text{mol/L}$ 。Bae等<sup>[41]</sup>还报道了小檗碱对幽门螺旋杆菌的抗菌活性,其最低抑菌浓度(MIC)值为40  $\mu\text{g/mL}$ 。

Tan等<sup>[32]</sup>从黄连(*Rhizoma coptidis*)中分离出盐酸小檗碱,其对幽门螺旋杆菌脲酶的 $IC_{50}$ 值为 $(3.00 \pm 0.01) \mu\text{mol/L}$ ,对刀豆脲酶的 $IC_{50}$ 值为 $(2.30 \pm 0.01) \mu\text{mol/L}$ ,而参比脲酶抑制剂乙酰氧肟酸对幽门螺旋杆菌的 $IC_{50}$ 值为 $(83.00 \pm 0.01) \mu\text{mol/L}$ ,对刀豆脲酶的 $IC_{50}$ 值为 $(22.00 \pm 0.01) \mu\text{mol/L}$ 。表小檗碱与脲酶蛋白的巯基结合而抑制其活性。酶动力学研究表明,表小檗碱是幽门螺旋杆菌的反竞争性抑制剂,相应的 $K_i$ 值为 $(10.60 \pm 0.01) \mu\text{mol/L}$ ,为刀豆脲酶的竞争性抑制剂,相应的 $K_i$ 值为 $(4.60 \pm 0.01) \mu\text{mol/L}$ 。分子对接表明,表小檗碱通过N—H·····O相互作用与幽门螺旋杆菌脲酶上的氨基酸残基Asn-168和Met-366相互作用(图4-A),与刀豆脲酶上的Gly-641相互作用(图4-B)。

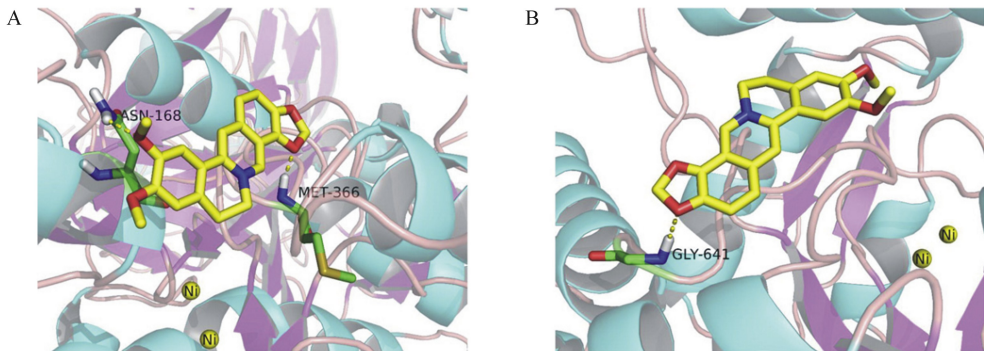


图4 表小檗碱与幽门螺旋杆菌脲酶(A)及刀豆脲酶(B)的结合模式图

Fig.4 Binding mode of epiberberine with *Helicobacter pylori* urease (A) and Jack bean urease (B)<sup>[32]</sup>

## 5.2 醌类

Zaborska等<sup>[42]</sup>报道了1,4-萘醌对刀豆脲酶的抑制活性,其 $IC_{50}$ 值为30  $\mu\text{mol/L}$ 。Kot等<sup>[43]</sup>评价植物来源的5-羟基-1,4-萘醌和1,4-萘醌对刀豆脲酶的抑制活性, $IC_{50}$ 值分别为13.5和20.0  $\mu\text{mol/L}$ 。

Uddin等<sup>[33]</sup>从散沫花(*L. alba* Lam)的茎中分离获得了2-( $\beta$ -D-二吡喃葡萄糖氧基)-1,4-萘醌。该化合物对刀豆脲酶的 $IC_{50}$ 值为62  $\mu\text{mol/L}$ 。研究表明醌类化合物的脲酶抑制活性与它们在桥接脲酶中巯基的能力有关。Muhammad等<sup>[34]</sup>从草药紫罗兰(*Viola Betonicifolia*)中提纯出3-甲氧基黄檀酮。该化合物对巴氏杆菌脲酶的 $IC_{50}$ 值为169  $\mu\text{mol/L}$ 。该化合物是脲酶的竞争性抑制剂,相应的 $K_i$ 值为138.2  $\mu\text{mol/L}$ 。

## 5.3 鞘脂类化合物

Akhtar等<sup>[27]</sup>从红杨(*P. rubra*)中提取了红藻糖苷。该化合物对幽门螺旋杆菌脲酶的 $IC_{50}$ 值为45.7  $\mu\text{mol/L}$ 。Firdous等<sup>[35]</sup>从蛇床子(*Heliotropium ophioglossum*)中纯化出2种新型鞘脂的邻苯二甲酰胺A(ophiamide A)和邻苯二甲酰胺B(ophiamide B),对刀豆脲酶的 $IC_{50}$ 值分别为23.1和12.6  $\mu\text{mol/L}$ 。SAR研究表明,该类化合物结构中糖基(葡萄糖)结构对于其脲酶抑制活性至关重要。

## 5.4 含硫化物

Fahey等<sup>[36]</sup>从西兰花(broccoli)中分离出伊贝林(iberin)和萝卜硫素(sulforaphane)。2种化合物对刀豆脲酶的 $IC_{50}$ 值分别为178.8和190.5  $\mu\text{mol/L}$ ,对幽门螺旋杆菌脲酶的 $IC_{50}$ 值分别为

216.8 和 225.7  $\mu\text{mol/L}$ , Juskiewicz 等<sup>[37]</sup>从大蒜中分离出大蒜素(allicin),对刀豆脲酶的  $\text{IC}_{50}$  值为 21.8  $\mu\text{mol/L}$ 。SAR 研究表明,大蒜素的脲酶抑制活性与其同活性中心中 Cys592 位点的 SH-基团之间的结合有关。

## 6 小 结

植物天然产物化合物的结构丰富,是低生物毒性、副作用小的脲酶抑制剂的理想来源之一。而目前开发植物天然产物化合物作为脲酶抑制剂主要的发展方向为:1)在未来研究中,应尽量获取植物提取物中单一成分的植物天然产物化合物,并研究不同配比植物天然产物化合物的脲酶抑制效果及其中各单一成分化合物的化学结构与其脲酶抑制作用的构效关系,丰富具有脲酶抑制作用的化学骨架库。2)进一步研究羟基、羧基、脂链烃及类黄酮结构等报道较多的具有脲酶抑制作用的化学骨架之间的互作关系,为脲酶抑制先导化合物及天然化合物的修饰与优化提供理论依据。3)目前对于植物提取物中天然化合物的评价还停留在简单的脲酶活性和酶动力学评价水平,对产品开发参考作用有限,应进一步以体外微生物培养及动物模型评价这些化合物,探讨它们对微生物区系、动物健康及生产指标的影响,并给出在动物生产中适宜的添加量,同时还应考虑天然化合物的多效性,从多方面进行评价。4)开发植物天然产物化合物的合成工艺,以利于工业化合成并降低合成成本。

## 参考文献:

- [ 1 ] KERTZ A F. Review: urea feeding to dairy cattle: a historical perspective and review[ J ]. The Professional Animal Scientist, 2010, 26( 3 ): 257-272.
- [ 2 ] 赵圣国.牛瘤胃脲酶基因多样性分析与酶活性调控[ D ].博士学位论文.北京:中国农业科学院,2012.  
ZHAO S G. Diversity of urease gene and regulation of urease activity in the rumen of cattle[ D ]. Ph. D. Thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012. ( in Chinese )
- [ 3 ] 李晓姣,赵圣国,郑楠,等.细菌脲酶蛋白复合物及其活化机制[ J ].生物工程学报,2019, 35( 2 ): 204-215.  
LI X J, ZHAO S G, ZHENG N, et al. Progress in bacterial urease complexes and their activation mechanisms[ J ]. Chinese Journal of Biotechnology, 2019, 35( 2 ): 204-215. ( in Chinese )
- [ 4 ] 赵圣国,王加启,卜登攀,等.细菌尿素酶的生化和分子生物学特点[ J ].微生物学通报,2008, 35( 7 ): 1146-1152.  
ZHAO S G, WANG J Q, BU D P, et al. Biochemistry and molecular biology of bacterial ureases[ J ]. Microbiology China, 2008, 35( 7 ): 1146-1152. ( in Chinese )
- [ 5 ] REGO Y F, QUEIROZ M P, BRITO T O, et al. A review on the development of urease inhibitors as antimicrobial agents against pathogenic bacteria[ J ]. Journal of Advanced Research, 2018, 13: 69-100.
- [ 6 ] AHMAD I, CHAUDHARY B A, JANBAZ K H, et al. Urease inhibitors and antioxidants from *Vernonia cinerascens* [ J ]. Journal-Chemical Society of Pakistan, 2011, 33( 1 ): 114-117.
- [ 7 ] RAMSAY K S T, WAFO P, ALI Z, et al. Chemical constituents of *Stereospermum acuminatissimum* and their urease and  $\alpha$ -chymotrypsin inhibitions[ J ]. Fitoterapia, 2012, 83( 1 ): 204-208.
- [ 8 ] TARIQ S A, AHMAD M N, OBAIDULLAH, et al. Urease inhibitors from *Indigofera gerardiana* wall [ J ]. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2011, 26( 4 ): 480-484.
- [ 9 ] KHAN W N, LODHI M A, ALI I, et al. New natural urease inhibitors from *Ranunculus repens* [ J ]. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2006, 21( 1 ): 17-19.
- [ 10 ] NGAN L T M, MOON J K, SHIBAMOTO T, et al. Growth-inhibiting, bactericidal, and urease inhibitory effects of *Paeonia lactiflora* root constituents and related compounds on antibiotic-susceptible and-resistant strains of *Helicobacter pylori* [ J ]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60( 36 ): 9062-9073.
- [ 11 ] KUBO J, LEE J R, KUBO I. Anti-*Helicobacter pylori* agents from the cashew apple [ J ]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47( 2 ): 533-537.
- [ 12 ] ARFAN M, AMIN H, KHAN I, et al. Molecular simulations of bergenin as a new urease inhibitor [ J ]. Medicinal Chemistry Research, 2012, 21( 9 ): 2454-2457.
- [ 13 ] ARFAN M, ALI M, AHMAD H, et al. Urease inhibitors from *Hypericum oblongifolium* wall [ J ]. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2010, 25( 2 ): 296-299.
- [ 14 ] XIAO Z P, SHI D H, LI H Q, et al. Polyphenols based

- on isoflavones as inhibitors of *Helicobacter pylori* urease[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2007, 15(11):3703–3710.
- [15] PAULO L, OLEASTRO M, GALLARDO E, et al. Anti-*Helicobacter pylori* and urease inhibitory activities of resveratrol and red wine[J]. *Food Research International*, 2011, 44(4):964–969.
- [16] MATSUBARA S, SHIBATA H, ISHIKAWA F, et al. Suppression of *Helicobacter pylori*-induced gastritis by green tea extract in *Mongolian gerbils*[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, 310(3):715–719.
- [17] SHABANA S, KAWAI A, KAI K J, et al. Inhibitory activity against urease of quercetin glycosides isolated from *Allium cepa* and *Psidium guajava*[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2010, 74(4):878–880.
- [18] XIAO Z P, WANG X D, PENG Z Y, et al. Molecular docking, kinetics study, and structure-activity relationship analysis of quercetin and its analogous as *Helicobacter pylori* urease inhibitors[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(42):10572–10577.
- [19] LIU S J, ZHANG Z Y, HAILEMARIAM S, et al. Biochanin A inhibits ruminal nitrogen-metabolizing bacteria and alleviates the decomposition of amino acids and urea in vitro[J]. *Animals*, 2020, 10(3):368.
- [20] TAN L R, SU J Y, WU D W, et al. Kinetics and mechanism study of competitive inhibition of jackbean urease by baicalin[J]. *Scientific World Journal*, 2013, 2013:879501.
- [21] WU D W, YU X D, XIE J H, et al. Inactivation of jackbean urease by scutellarin: elucidation of inhibitory efficacy, kinetics and mechanism[J]. *Fitoterapia*, 2013, 91:60–67.
- [22] YU X D, ZHENG R B, XIE J H, et al. Biological evaluation and molecular docking of baicalin and scutellarin as *Helicobacter pylori* urease inhibitors[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2015, 162:69–78.
- [23] PERVEEN S, EL-SHAFIE A M, AL-TAWEEL A, et al. Antioxidant and urease inhibitory C-glycosylflavonoids from *Celtis africana*[J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2011, 13(9):799–804.
- [24] KIM D H, BAE E A, HAN M J. Anti-*Helicobacter pylori* activity of the metabolites of poncirin from *Poncirus trifoliata* by human intestinal bacteria[J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 1999, 22(4):422–424.
- [25] AHMAD I, CHAUDHARY B A, ASHRAF M, et al. Vernionone, a new urease inhibitory carvotacetone derivative from *Vernonia cinerascens*[J]. *Journal-Chemical Society of Pakistan*, 2012, 34(3):639–642.
- [26] LODHI M A, HUSSAIN J, ABBASI M A, et al. A new *Bacillus pasteurii* urease inhibitor from *Euphorbia decipiens*[J]. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2008, 21(5):531–535.
- [27] AKHTAR N, SALEEM M, RIAZ N, et al. Isolation and characterization of the chemical constituents from *Plumeria rubra*[J]. *Phytochemistry Letters*, 2013, 6(2):291–298.
- [28] KAZMI M H, FATIMA I, MALIK A, et al. Sorbicins A and B, new urease and serine protease inhibitory triterpenes from *Sorbus cashmiriana*[J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2011, 13(12):1081–1086.
- [29] KHAN S S, KHAN A, KHAN A, et al. Urease inhibitory activity of ursane type sulfated saponins from the aerial parts of *Zygophyllum fabago* Linn[J]. *Phyto-medicine*, 2014, 21(3):379–382.
- [30] AHMAD I, FATIMA I, AFZA N, et al. Urease and serine protease inhibitory alkaloids from *Isatis tinctoria*[J]. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2008, 23(6):918–921.
- [31] LI C L, XIE J H, CHEN X Y, et al. Comparison of *Helicobacter pylori* urease inhibition by rhizoma coptidis, cortex phellodendri and berberine: mechanisms of interaction with the sulfhydryl group[J]. *Planta Medica*, 2016, 82(4):305–311.
- [32] TAN L H, LI C L, CHEN H B, et al. Epiberberine, a natural protoberberine alkaloid, inhibits urease of *Helicobacter pylori* and jack bean; susceptibility and mechanism[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017, 110:77–86.
- [33] UDDIN N, SIDDIQUI B S, BEGUM S, et al. Bioassay-guided isolation of urease and  $\alpha$ -chymotrypsin inhibitory constituents from the stems of *Lawsonia alba* Lam. (Henna)[J]. *Fitoterapia*, 2013, 84:202–207.
- [34] MUHAMMAD N, SAEED M, KHAN A, et al. A new urease inhibitor from *Viola betonicifolia*[J]. *Molecules*, 2014, 19(10):16770–16778.
- [35] FIRDOUS S, ANSARI N H, FATIMA I, et al. Ophi-amides A-B, new potent urease inhibitory sphingolipids from *Heliotropium ophioglossum*[J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2012, 35(7):1133–1137.
- [36] FAHEY J W, STEPHENSON K K, WADE K L, et al. Urease from *Helicobacter pylori* is inactivated by sul-

- foraphane and other isothiocyanates [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2013, 435 (1): 1-7.
- [37] JUSZKIEWICZ A, ZABORSKA W, SEPIOŁ J, et al. Inactivation of jack bean urease by allicin [J]. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2008, 18(5): 419-424.
- [38] 张相伦, 刘晓牧, 谭秀文, 等. 白藜芦醇的生物学功能及其在反刍动物上的应用研究 [J]. *中国牛业科学*, 2019, 45(5): 65-68.
- ZHANG X L, LIU X M, TAN X W, et al. Biochemical function and application in ruminant of resveratrol [J]. *China Cattle Science*, 2019, 45(5): 65-68. (in Chinese)
- [39] MACOMBER L, MINKARA M S, HAUSINGER R P, et al. Reduction of urease activity by interaction with the flap covering the active site [J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2015, 55(2): 354-361.
- [40] AHMAD V U, HUSSAIN J, HUSSAIN H, et al. First natural urease inhibitor from *Euphorbia decipiens* [J]. *ChemInform*, 2003, 34(45): 719-723.
- [41] BAE E A, HAN M J, KIM N J, et al. Anti-*Helicobacter pylori* activity of herbal medicines [J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 1998, 21(9): 990-992.
- [42] ZABORSKA W, KRAJEWSKA B, KOT M, et al. Quinone-induced inhibition of urease: elucidation of its mechanisms by probing thiol groups of the enzyme [J]. *Bioorganic Chemistry*, 2007, 35(3): 233-242.
- [43] KOT M, KARCZ W, ZABORSKA W. 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone (juglone) and 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone (lawsone) influence on jack bean urease activity: elucidation of the difference in inhibition activity [J]. *Bioorganic Chemistry*, 2010, 38(3): 132-137.

## Research Progress in Plant Natural Products as Bacterial Urease Inhibitors

ZHANG Zhenyu<sup>1,2</sup> ZHAO Shengguo<sup>1,2</sup> ZHENG Nan<sup>1,2</sup> WANG Jiaqi<sup>1,2\*</sup>

(1. Ministry of Agriculture, State Key Laboratory of Animal Nutrition, Beijing 100193, China; 2. Key Laboratory of Quality and Safety Control for Milk and Dairy Products, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

**Abstract:** The overactive urease activity of ruminal microbiota leads to the excessive release rate of ammonia. This could reduce the efficiency of microbial protein synthesis, which in turn lower the utilization of microbial proteins by ruminants. Urease inhibitor bind to the active site of the urease and inhibit urease activity. Compared with physical coating methods and chemical synthesis methods, urease inhibitors have the advantage of simultaneously controlling the decomposition of exogenous and endogenous urea. Thus, it has great application potential. However, the current urease inhibitors have some problems such as strong biological toxicity and strong side effects, which limits the application of urease inhibitors. Plant extracts are one of the ideal sources of urease inhibitors with low biological toxicity and low side effects. In recent years, with the development of chemical purification technology, a series of plant extracts with urease inhibition bioactivity have been obtained. Through the structure-activity relationship analysis, these new compounds greatly enriched the urease inhibitory chemical skeleton structures. This article summarizes the plant extracts with urease inhibitory activity into categories and the structure-activity relationship and inhibition mode of different types of urease inhibitors, which aims to provide a reference for the development of novel urease inhibitors. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(3): 1306-1317]

**Key words:** urease inhibitor; plant natural product; non-protein nitrogen; urease