

粘帚霉属真菌代谢物的研究进展*

董锦艳·李 钊 张克勤**

(云南大学生物资源保护与利用国家重点实验室 昆明 650091)

摘要: 从化合物分类角度综述了国内外学者对粘帚霉属真菌代谢物 50 多个化学成分及其生物活性的研究, 提出了今后可能的研究方向。

关键词: 粘帚霉属, 代谢物, 生物活性

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2006) 02-0124-07

Bioactive Metabolites from *Gliocladium**

DONG Jin-Yan LI Ru ZHANG Ke-Qin**

(Key Laboratory of Conservation and Utilization for Bioresource, Yunnan University, Kunming 650091)

Abstract: From the perspective of compound type, the bioactive metabolites from *Gliocladium* are reviewed, and the research advancement in future are proposed.

Key words: *Gliocladium*, Metabolites, Bioactivity

1943 年, Johnson 等^[1]首次从 *Gliocladium fimbriatum* 代谢物中发现胶霉毒素对植物病原真菌最终极腐霉 (*Pythium ultimum*) 和立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) 具有很强的抑制活性。至今, 中外学者从粘帚霉属 (*Gliocladium* spp.) 真菌中共分离获得 50 多个代谢物, 它们同样展示了拮抗细菌、抑制植物病原真菌附着孢形成、毒杀肿瘤细胞等多种令人感兴趣的生物活性, 其化学结构类型有二酮哌嗪、萜、聚酮、肽等。近年来, 人们利用粘帚霉属真菌对立枯丝核菌、腐霉菌 (*Pythium* spp.) 等土传植物病原菌的抗菌、溶解、竞争、寄生等作用来防治它们对植物造成的脱落、根腐等病害^[2]。在国外, 链孢粘帚霉 (*G. catenulatum*) 和绿粘帚霉 (*G. virens*) (又称 *Trichoderma virens*) 已被开发成生防制剂产品, 商品名分别为 Primastop 和 SiilCard。相比国外, 我国对粘帚霉属真菌代谢物研究甚少。

1 二酮哌嗪类化合物

共分离鉴定了胶霉毒素 gliotoxin (图 1-1)、脱氢胶霉毒素 (dehydrogliotoxin) (图 1-2)、bisdethiobis (thiomethyl) gliotoxin (图 1-3)、gliovirin (图 1-4)、L, L-phenylalanine anhydride (图 1-5) 和 verticillin A-F (图 1-6 ~ 11) 等 11 个化合物, 特征是分子中具有 2, 5 二酮哌嗪骨架, 来源和具有的生物活性作用如图 1、表 1 所示。

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 30570059 和 20562015)

Project Granted by Chinese National Natural Science Fund (No. 30570059 and 20562015)

云南省自然科学基金资助项目 (No. 2005C0005Q)

** 通讯作者 · Tel: 0871-5034878, E-mail: kqzhang1@yahoo.com.cn

收稿日期: 2005-06-17, 修回日期: 2005-09-15

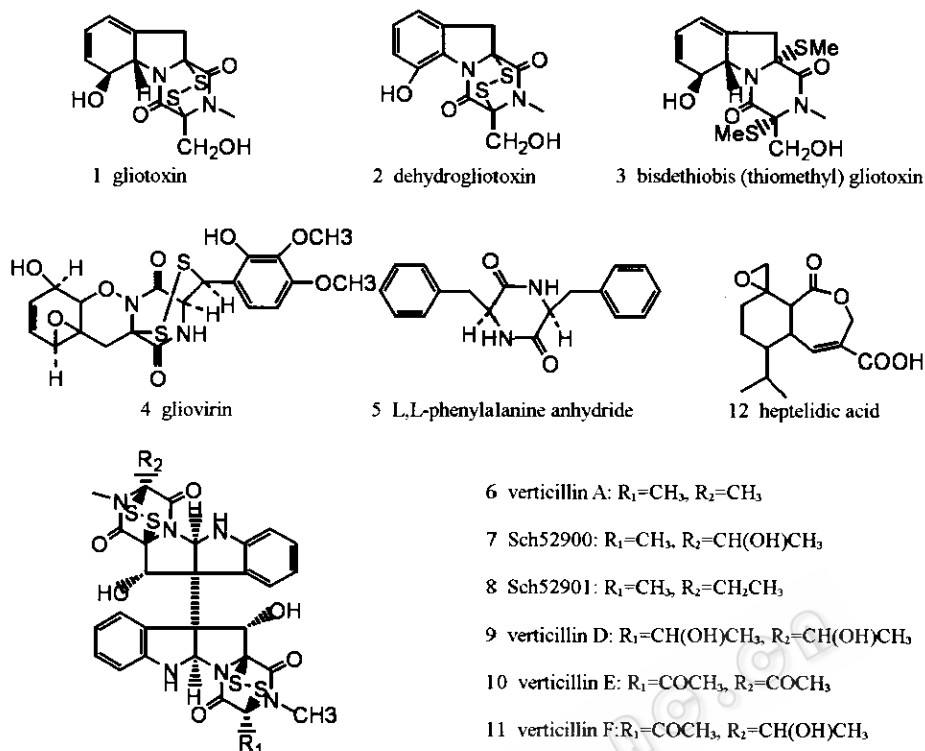


图 1 粘帚霉属来源的二酮哌嗪类和萜类化合物

Aspergillus、*Penicillium*、*Glucadium*、*Thermoascus*、*Candida* 等许多微生物均可代谢产生胶霉毒素^[1,3-6]。20 世纪 70 年代前, 因为胶霉毒素对病毒和细菌具有强烈的拮抗活性而备受人们的注意^[7], 但因体内的高毒性而限制了其在医学上的应用^[7,8]。1984 年 Mullbacher 等^[9]发现胶霉毒素对造血细胞具有选择性毒性, 重新激起了人们对这类化合物的研究兴趣。胶霉毒素对植物病原真菌最终极腐霉和立枯丝核菌具有很强的抑制活性, 是粘帚霉防治真菌病害的根本原因^[10,11]。

Verticillin A (6) 是从轮枝霉属真菌代谢物中获得的第一个对称的二酮哌嗪类型化合物的二聚物, 后来发现该类化合物存在于粘帚霉属真菌代谢物中^[12-14]。1995 年, Chu 等从粘帚霉菌 *Glucadium* sp. SCF-1198 中获得两个新的 verticillin 类型化合物 sch52900 (7) 和 sch52901 (8), 它们是 c-fos 原型致癌基因激活的抑制剂, 具有抗肿瘤活性。化合物 6 ~ 8 对血清刺激的 c-fos 启动子的转录有阻滞活性, IC_{50} 分别为 1.5、18、0.5 μM ; 在没有 RNA 合成抑制剂条件下, Northern 印迹表明化合物 6 对佛波醇酯和血清激活的致癌基因有抑制活性^[12]。此外, 代谢物 sch52900 还能诱导人早幼粒白血病 HL-60 细胞凋亡, 引起 HL-60 细胞生长阻滞和分化诱导的作用机理是激活了细胞增殖周期抑制因子 P21, 干扰了细胞外信号调节的蛋白激酶 (ERK) 通路引起的转录因子 AP-1 的激活^[13]。Verticillin D-F 是 Joshi 等^[14]从一株 *Aspergillus flavus* 菌核上的真菌寄生菌链孢粘帚霉 *G. catenulatum* NRRL22970 的固体发酵物中分离获得的 3 个二酮哌嗪生物碱, 在纸片浓度为 100 μg 时, 它们对 *Bacillus subtilis* (ATCC6051) 的抑菌圈为 23mm ~ 26mm, 对 *Staphylococcus aureus* (ATCC 14053) 的抑菌圈为 11mm ~ 14 mm。

表1 粘帚霉属菌代谢物及其生物活性

代谢物	菌种名	功能	参考文献
Annulene (42)	<i>Gliocladium</i> sp.	对多种植物病原真菌具有抑制活性	[15]
Anthrotaimin (39)	<i>G. cateenulatum</i>	SP 的拮抗剂	[16]
Argifin (32)	<i>Gliocladium</i> sp. FTD-0668	几丁质酶的拮抗剂	[17 ~ 19]
Bisdethiobis(thiomethyl) gliotoxin (3)	<i>G. flavofuscum</i> <i>G. deliquescens</i>		[20, 21]
Dehydrogliotoxin (2)	<i>G. flavofuscum</i> ; <i>G. virens</i>		[20, 22]
Heptelidic acid (11)	<i>G. virens</i>	对 <i>Bacteroides fragilis</i> 的 MIC 为 0. 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 对 <i>Propionibacterium acnes</i> 的 MIC 为 3. 13 $\mu\text{g}/\text{mL}$	[23]
Gliosprenin A (12)	<i>G. virens</i> HA190-95; <i>Gliocladium</i> sp. FO-1513	对鼠肝脏微粒体和 J774 巨噬细胞的 ACAT 的 IC ₅₀ 分 别为 46 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 和 1. 2 $\mu\text{mol}/\text{L}$; 对 <i>Magnaporthe grisea</i> 附着 孢的形成有中等强度的抑制活性	[24 ~ 27]
Gliosprenin B (13)	<i>Gliocladium</i> sp. FO-1513	对鼠肝脏微粒体和 J774 巨噬细胞的 ACAT 的 IC ₅₀ 分 别为 61 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 和 0. 57 $\mu\text{mol}/\text{L}$	[24]
Gliosprenin C-E (14-16)	<i>G. virens</i> HA190-95	对 <i>Magnaporthe grisea</i> 附着孢的形成有中等强度的抑 制活性	[27, 28]
Gliosprenin F (17)	<i>G. cateenulatum</i> <i>G. flavofuscum</i> ; <i>G. virens</i> <i>G. fimbriatum</i>		[14]
Gliotoxin (1)	<i>G. virens</i> <i>G. fimbriatum</i>	免疫抑制活性; 抗细菌、真菌和病毒	[1, 20, 29]
Glovirin (4)	<i>G. virens</i>	对 <i>R. solani</i> 、 <i>P. ultimum</i> 和 <i>S. rofsii</i> 的 MIC 分别为 0. 5、1、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$	[29, 30]
L, L-phenylalanine anhydride (5)	<i>G. virens</i>		[30]
Roselipin 1A, 1B, 2A, 2B (28-31)	<i>G. roseum</i> KF-1040	对二酰甘油乙酰转移酶 (DGAT) 的 IC ₅₀ 分别为 17、 15、22 和 18 $\mu\text{mol}/\text{L}$	[31 ~ 33]
TMC-151A-F (18-23)	<i>G. cateenulatum</i> TC 1280	对 HCT-116, HL-60, P388 的 IC ₅₀ 分别为 2. 6 ~ 11. 5 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 、13 ~ 25 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 、3. 1 ~ 7. 9 $\mu\text{mol}/\text{L}$	[34, 35, 36]
TMC-171A-C (24-26)	<i>Gliocladium</i> sp.	抗 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 和 <i>Aspergillus niger</i>	
TMC-154 (27)	TC 1304	对 HCT-116, B16, HeLa, SK-Br-3, WiDr, HL-60, P388, U937 的 IC ₅₀ 分别为 4 ~ 65、7 ~ 51、9 ~ 63、17 ~ 70、 13 ~ 64、11 ~ 64、4 ~ 17、7 ~ 15 $\mu\text{mol}/\text{L}$	[36, 37]
TMC-52A-D (33-36)	<i>Gliocladium</i> sp. F-2665	对半胱氨酸蛋白酶 cathepsin L 的 IC ₅₀ 分别为 13、10、 10 和 6 nmol/L	[38]
Verticillin A (6)	<i>Gliocladium</i> sp. SCF-1198	对 c-fos 启动子的转录的 ED ₅₀ 为 0. 5 $\mu\text{mol}/\text{L}$	[12]
Sch52900 (7)	<i>Gliocladium</i> sp. SCF-1198	对 c-fos 启动子的转录的 ED ₅₀ 为 1. 5 $\mu\text{mol}/\text{L}$; 对 HL-60 的分化有诱导活性	[12, 13]
Sch52901 (8)	<i>Gliocladium</i> sp. SCF-1198	对 c-fos 启动子的转录的 ED ₅₀ 为 18 $\mu\text{mol}/\text{L}$	[12]
Verticillin D-F (9-11)	<i>G. cateenulatum</i>	对 <i>Staphylococcus aureus</i> 和 <i>Bacillus subtilis</i> 有 拮抗活性	[14]
Viridin (38)	<i>G. flavofuscum</i> ; <i>G. virens</i>	对 <i>R. solani</i> 、 <i>P. ultimum</i> 和 <i>S. rofsii</i> 的 MIC 分别为 1、25、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$	[20, 29]
Viridiol (37)	<i>G. virens</i>	抗 <i>Amaranthus retroflexus</i>	[29, 39, 40]

2 萜类化合物

共发现 heptelidic acid (11) 和 gliosprenins A-F (12 ~ 17) 等 7 个此类化合物 (图 2)。化合物 11 属于倍半萜类化合物, 是 1980 年 Itoh 等^[23]从 *G. virens*、*Chaetomium globosum*、*Trichoderma viride* 3 株土壤真菌培养物中分离得到, 具有高选择性的厌氧细菌的拮抗活性, 对 *Bacteroides fragilis* 和 *Propionibacterium acnes* 的最小抑制浓度分别为 0.4 和 3.13 $\mu\text{g/mL}$ 。化合物 12 ~ 17 属于四萜类化合物, gliosprenin A 是母体化合物。从图 2 中可以看出: gliosprenin B 是 gliosprenin A 的 C-34/C35 位置的环氧化产物; gliosprenin D 是 gliosprenin A 的 C-34/C35 位置的水解产物; gliosprenin E 是 gliosprenin C 的水解产物; gliosprenin F 为 gliosprenin C 的脱氧产物^[24~28]。gliosprenin A 和 B 对鼠肝脏微粒体的 ACAT 的 IC_{50} 分别为 46 和 61 $\mu\text{mol/L}$; 对 J774 巨噬细胞的 IC_{50} 分别为 1.2 和 0.57 $\mu\text{mol/L}$ ^[24,25]。

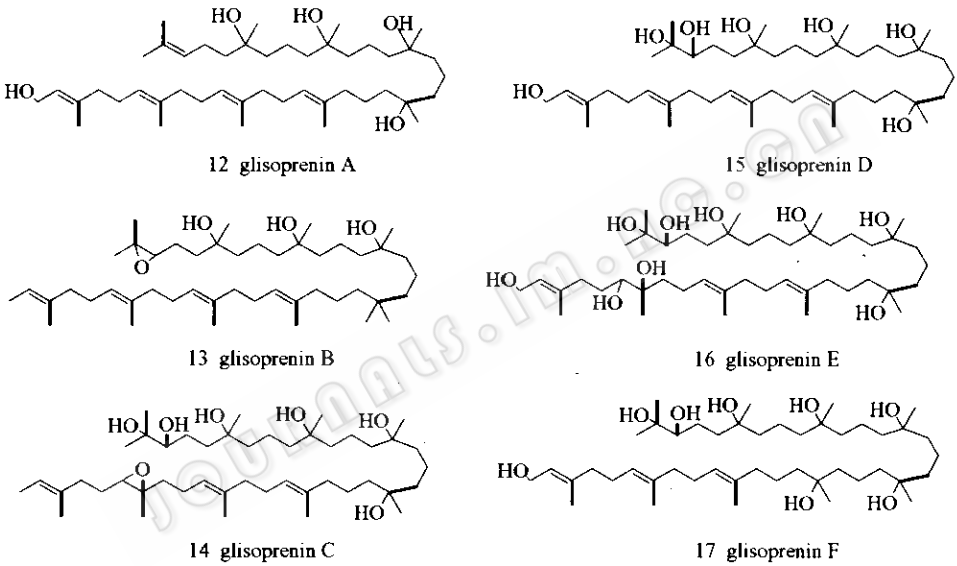


图 2 粘帚霉属来源的萜类化合物

1998 年, Thines 等^[28]从一株粉红粘帚霉的发酵液中分离出 gliosprenin A、gliosprenin C-E, 它们对稻谷枯萎病的最主要的植物病原真菌 *Magnaporthe grisea* (无性型为 *Pyricularia grisea*)^[41] 侵染结构——附着孢的形成具有中等强度的抑制活性, 在浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$ 时 Gliosprenin A 能诱导 *M. grisea* 的孢子萌发、菌丝生长、但不形成侵染结构^[26]。

3 聚酮类化合物

从粘帚霉属菌株中分离到 14 个聚酮化合物 (图 3), 分别为: TMC-151A-F (18 ~ 23)、TMC-171A-C (24 ~ 26)、TMC-154 (27) 和 roselipin 1A、1B、2A、2B (28 ~ 31)^[31~37]。这类物质具有独特的高度甲基化的 erythromycins 类型聚酮骨架, 它们 C-1 和 C-13 位之间环化即为 14-环 erythromycins 类型的大环抗生素物质。化合物 18 ~ 27 被报道对多种肿瘤细胞具有中等强度的毒杀活性, 而 28 ~ 31 则对二酰甘油乙酰转移酶 (DGAT) 具有抑制活性, 见表 1。2000 年, Okuda 等^[36]对许多粘帚霉及其相关属菌株代谢物的研究

结果表明粉红粘帚霉菌株能专性产生这类聚酮类型化合物。

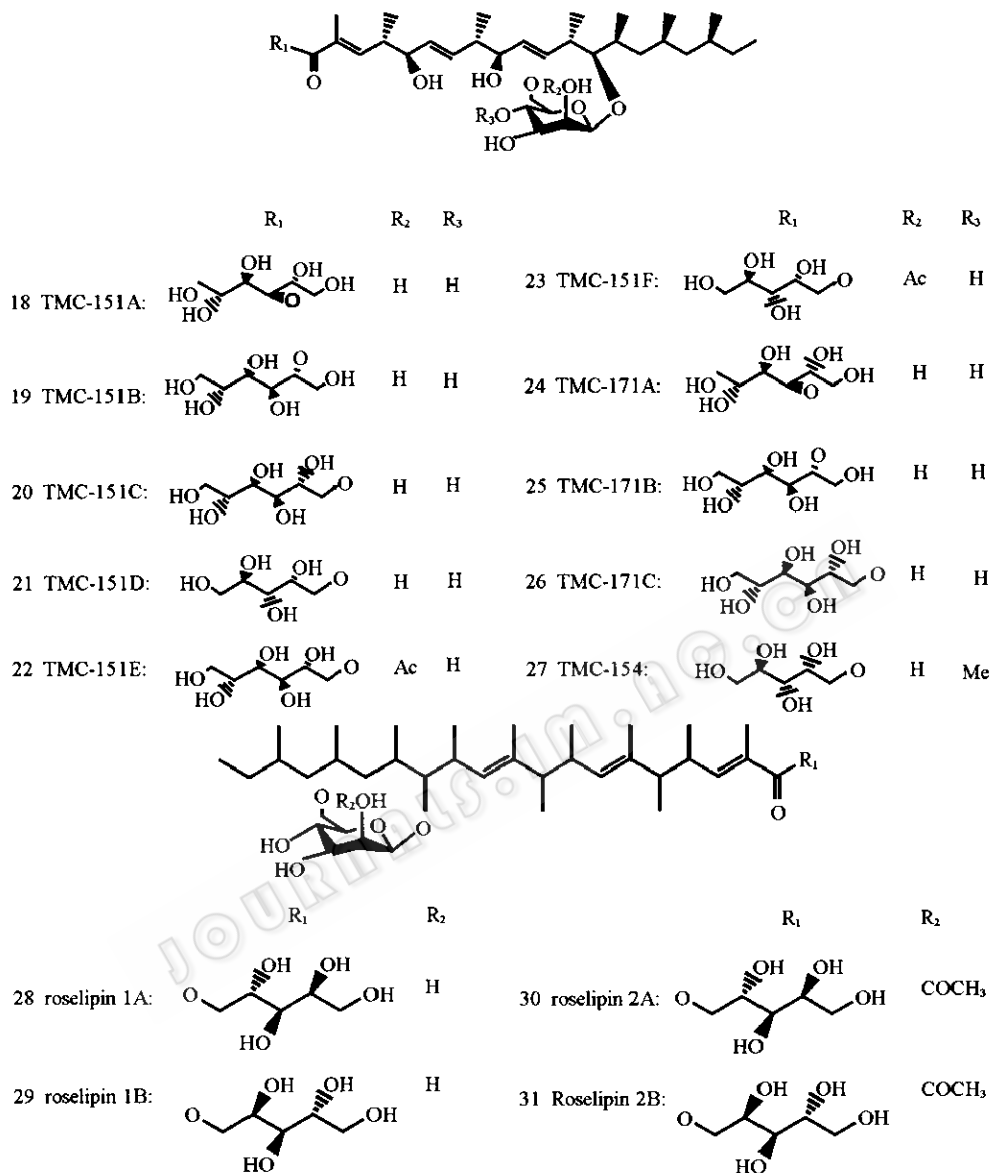


图3 粘帚霉属来源的聚酮类化合物

4 肽类化合物

此类化学物质共有 5 个, 包括几丁质酶抑制剂——环五肽 argifin (32) 和半胱氨酸酶抑制剂 TMC52 A-D (33~36), 其化学结构式见图 4, 生物活性见表 1。

2000 年, 从 FTD-0668 粘帚霉属菌株中分离出第一个真菌源的几丁质酶抑制剂——环五肽 argifin (32)。Argifin 在 37℃、20℃时降解 *Lucilia cuprina* 源几丁质酶的 IC₅₀ 分别为 3.7 和 0.1 μmol/L。虽然 argifin 对几丁质酶的抑制活性比已知的 allosamidin 差, 但 argifin 与已知的几丁质酶的抑制剂的化学结构式完全不同, 表现出对几丁质酶作用的新模式。因此, 在新农药开发中 (32) 已成为一个吸引人的化学物质^[17,19]。

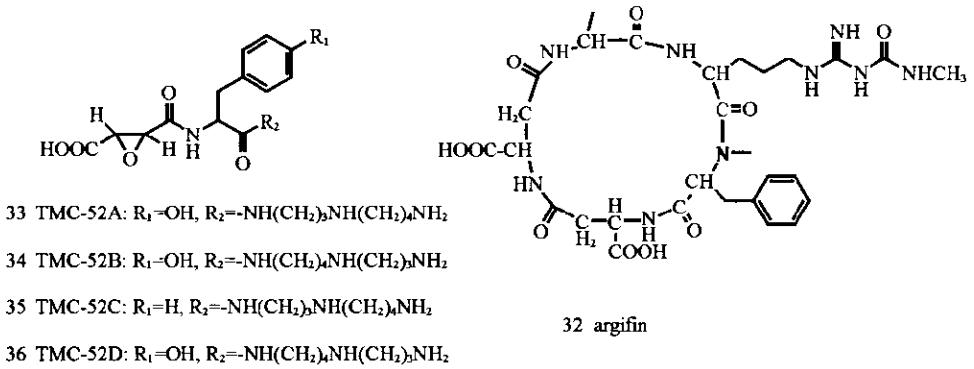


图 4 粘帚霉属来源的肽类化合物

5 其它类型化合物

粘帚霉 (*G. virens*) 可以产生对反枝苋有毒害作用的植物毒素 viridiol (37), 37 有着强烈的除草剂作用, 可毒害农作物^[29,39], 但对棉花无毒, 因而有可能被作为生物除草剂开发, 防除棉田的反枝苋^[40]。绿毛菌素 viridin (38) 是一种对土传病菌有效的抗生素, 对 *R. solani*、*P. ultimum* 和 *S. rolsii* 的最小抑制浓度分别为 1、25、50 $\mu\text{g/mL}$, 但不稳定, 易转化为还原产物 viridiol (37)。

Anthrotainin (39) 是 Wong 等^[16]从 *G. catenulatum* 的发酵液中分离得到的高活性的神经激肽受体拮抗剂, 它抑制¹²⁵ISP 与鼠前脑膜结合的 IC_{50} 为 3 $\mu\text{mol/L}$ 。

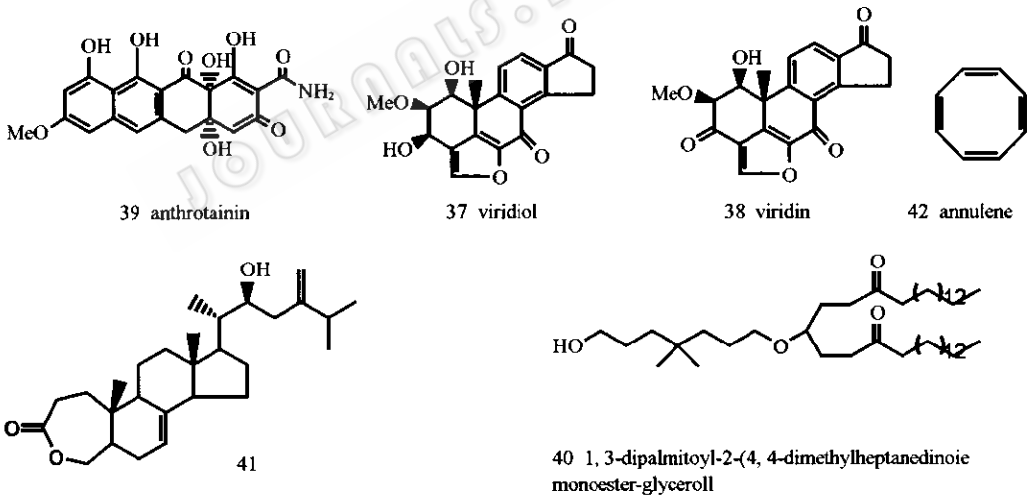


图 5 粘帚霉属来源的其它类型化合物

肖盛元等^[42,43]在进行药用植物的内生真菌的研究时, 筛选到一株对濒危植物金线莲 [花叶开唇兰 (*Anoectochilus roxburghii*) (Wall.) Lindl.] 生长有明显促进作用的内生真菌——粉红粘帚霉, 从这株真菌的菌丝体提取物中分离鉴定了 9 个化合物, 分别为: 6, 22-二烯-3-羟基-5, 8-过氧麦角甾醇、麦角甾醇、阿拉伯糖醇、甘露醇、4, 4-二甲基-1, 7-庚二酸、琥珀酸、胆碱硫酸酯、8 (E) -N-(2-羟基棕榈酰基)-1-O- β -吡喃葡萄糖基-3-羟基-9-甲基-2-十八氮-4, 8-二烯-1, 3-二棕榈酰基-2-(4, 4-二甲基庚二酸单酰基)-甘油酯 (40)。2001 年, 王春兰等^[44]从药用植物红豆杉 [(*Taxus*

chinensis (Pilg.) Rehd.] 的内生真菌——粘帚霉属真菌 (*Gliocladium* sp.) 菌丝体中分离到 (20S, 22S) -4a- 同-22-羟基-4-氧杂麦角甾-7, 24 (28) -二烯-3-酮 41、4, 8, 12, 16-四甲基-1, 5, 9, 13-四氧杂环十六烷-2, 6, 10, 14-四酮及 6, 9-环氧麦角甾-7, 22-二烯-3-羟基等三个化合物。

2003 年, Stinson 等^[15]报道了一株桉树 *Eucryphia cordifolia* 的粘帚霉属内生真菌产生的挥发性物质对最终腐霉、*Verticillium dahliae*、*Rhizoctonia Solani*、菌核病菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*)、尖镰孢霉 (*Fusarium oxysporum*)、*Aspergillus ochraceus* 等多种植物病原真菌具有抑制活性, GCMS 分析表明主要的化学成分是 1, 3, 5, 7-cyclooctatetraene, (被命名 annulene) (42), annulene 对自身的生长也有一定抑制作用 (图 5)。

6 展望

从现有资料来看, 国内外学者对粘帚霉属真菌代谢物化学成分研究较多, 而对化学成分及其类似物生物活性的研究较少, 尚未见我国学者在粘帚霉属真菌代谢物生物活性方面研究的报道。虽然, 利用高通量筛选系统、高通量虚拟筛选系统、组合化学、计算机化学以及人类基因组图谱带动的基因筛选等新方法对生物活性物质的发现已起到了巨大的推动作用。但是, 如能对源于粘帚霉属真菌特殊化学结构活性成分的作用机理和构效关系进行深入研究, 以其为先导化合物, 探索活性更高、溶解度和稳定性更好的类似物, 也必将会产生出生物活性物质开发利用的新成果。

同一粘帚霉菌株可产生不同类别的多种生物活性物质, 因此通过基因调控技术和培养基的改变、反馈抑制的解除等发酵手段来改变粘帚霉属真菌的代谢流、提高抗真菌活性代谢物的产量也将是改善粘帚霉属真菌生防效果的一条有效途径。

粘帚霉属真菌代谢产物成分和生物活性多种多样, 目前采用该属真菌在生物合成以及化合物生物修饰合成或转化中的研究已有报道, 随着对该属真菌研究的深入, 其在生物合成或转化领域中也将会引起人们的关注。

参 考 文 献

- [1] Johnson J R, Bruce W F, Dutcher J. J Amer Chem Soc, 1943, **65**: 2005 ~ 2009.
- [2] 蔡芷荷, 吴清平, 许红立, 等. 微生物学通报, 1998, **25** (5): 284 ~ 286.
- [3] Watanabe A, Kamei K, Sekine T, et al. Mycopathologia, 2004, **157**: 19 ~ 27.
- [4] Richard J L, Debey M C, Chermette R, et al. J Med Vet Mycol, 1994, **32**: 169 ~ 187.
- [5] Shah D T, Larsen B. Mycopathologia, 1991, **116**: 203 ~ 208.
- [6] Waring P, Eichner R D, Tiwari-Palni U, et al. Aust J Chem, 1987, **40**: 991 ~ 997.
- [7] Taylor A. Microbial toxins. New York: Academic Press, 1971, **7**: 337 ~ 376.
- [8] Jordan T W, Cordiner S J. TIPS, 1987, **8**: 144 ~ 149.
- [9] Mullbacher A, Eichner R D. Proc Natl Acad Sci, 1984, **81**: 3835 ~ 3837.
- [10] Wilhite S E, Lumsden R D, Straney D C. Phytopathology, 1994, **84**: 816 ~ 821.
- [11] Wilhite S E, Straney D C. Appl Microbiol Biotechnol, 1996, **45**: 513 ~ 518.
- [12] Chu M, Truumees I, Rothofsky M L, et al. J Ant, 1995, **48** (12): 1440 ~ 1445.
- [13] Erkel G, Gehrt A, Anke T, et al. Z Naturforsch, 2002, **57c**: 759 ~ 767.
- [14] Joshi B K, Gloer J B, Wicklow D T. J Nat Prod, 1999, **62**: 730 ~ 733.
- [15] Stinson m, Ezra D, Wilford M H, et al. Plant Science, 2003, **165**: 913 ~ 922.
- [16] Wong S M, Kullnig R, Dedinas J, et al. J Ant, 1993, **46** (2): 214 ~ 221.
- [17] Shiomi K, Arai N, Iwai Y, et al. Tetrahedron Letters, 2000, **41** (13): 2141 ~ 2143.

- [18] Omura S, Arai N, Yamaguchi Y, *et al.* J Ant, 2000, **53** (6): 603 ~ 608.
- [19] Arai N, Shiomi K, Iwai Y, *et al.* J Ant, 2000, **53** (6): 609 ~ 614.
- [20] Avent A G, Hanson J R, Trunch A. Phytochemistry, 1993, **32** (1): 197 ~ 198.
- [21] Kirby C W, Robins D J, Sefton M A, *et al.* J Chem Soc, Perkin Trans I, 1980, 119 ~ 121.
- [22] Kirby G W, L sel W, Rao P S, *et al.* J Chem Soc Chem Commun, 1983, 810 ~ 812.
- [23] Itoh Y, Kodama K, Furuya K, *et al.* J Ant, 1980, **33** (5): 468 ~ 473.
- [24] Nishida H, Huang X H, Tomoda H, *et al.* J Ant, 1992, **45**: 1669 ~ 1676.
- [25] Tomoda H, Huang X H, Nishida H, *et al.* J Ant, 1992, **45**: 1202 ~ 1206.
- [26] Thine E, Eilbert F, Sterner O, *et al.* FEMS Microbiology Letters, 1997, **151**: 219 ~ 224.
- [27] Thines E, Eilbert F, Anke H, *et al.* J Ant, 1998, **51**: 117 ~ 122.
- [28] Sterner O E, Thines F E, Anke H. J Ant, 1998, **51**: 228 ~ 231.
- [29] Lumsden R D, Ridout C J, Vendemia M E. Can J Microbiol, 1992, **38**: 1274 ~ 1280.
- [30] Stipanovic R D, Howell C R. J Ant, 1982, **35**: 1326 ~ 1330.
- [31] Omura S, Tomoda H, Tabata N, *et al.* J Ant, 1999, **52**: 586 ~ 589.
- [32] Tabata N, Ohyama Y, Tomoda H, *et al.* J Ant, 1999, **52**: 815 ~ 826.
- [33] Tomoda H, Ohyama Y, Abe T, *et al.* J Ant, 1999, **52**: 689 ~ 694.
- [34] Kohno J, Nishio M, Kishi N, *et al.* J Ant, 2000, **53** (11): 1301 ~ 1304.
- [35] Kohno J, Nishio M, Sakurai M, *et al.* Tetrahedron, 1999b, **55**: 7771 ~ 7786.
- [36] Okuda T, Kohno J, Kishi N, *et al.* Mycoscience, 2000, **41**: 239 ~ 253.
- [37] Kohno J, Asai Y, Nishio M, *et al.* J Ant, 1999a, **52**: 1114 ~ 1123.
- [38] Isshiki K, Nishio M, Sakurai N, *et al.* J Ant, 1998, **51** (7): 629 ~ 634.
- [39] Jones, R W, Hancock J G. Can J Microbiol, 1987, **33**: 963 ~ 966.
- [40] Jones R W, Lanini W T, Hancock J G. Weed Sci, 1988, **36**: 683 ~ 687.
- [41] Ou S H. Rice diseases, 2nd ed. Slough, U K, 1985. 109 ~ 210.
- [42] 肖盛元, 郭顺星, 杨峻山. 菌物系统, 2001, **20** (4): 536 ~ 538.
- [43] 肖盛元, 郭顺星, 于能江, 等. 中国中药杂志, 2001a, **5**: 5 ~ 7.
- [44] 干春兰, 张集慧, 郭顺星, 等. 微生物学通报, 2001, **28** (4): 24 ~ 28.