

高等真菌中二萜类成分及其生物活性[△]

西北农林科技大学(陕西杨陵 712100)

高锦明*

中国科学院昆明植物所植物化学开放实验室

黄悦 董泽军 谭建文 吴少华

摘 要 高等真菌中含有许多结构骨架新颖的次生代谢产物,有些表现出有意义的生物活性,是潜在的新天然活性产物的宝库,具有较大的开发和利用价值。作者详细评述了近几十年来有关高等真菌二萜化合物的结构和生物活性以及生物合成方面的最新研究概况。

关键词 高等真菌 二萜化合物 生物活性

高等真菌,主要是指子囊菌纲(*Ascomycetes*)和担子菌纲(*Basidiomycetes*)。近年来研究表明,高等真菌能产生某些重要生物活性,且含有结构变化大的次生代谢产物,这为人类开发新医药、新农药、保健食品、化妆品提供了重要的新资源。据统计^[1,2],我国有药用蕈菌达 400 多种,并研制开发出多种具有独特疗效的新药,如著名中成药“舒筋丸”和“舒筋散”。由于这些药物疗效稳定,副作用小,倍受人们青睐,展示了该领域开发利用的前景十分广阔。近十年来,该产业产值增长了几十倍,仅云芝肝泰一项产品就创产值 3 亿多元;特别是在已报道的 3 200 多种抗生素中,就有 140 多种是来自担子菌中^[1]。其中最重要的是从杯伞属 *Clitocybe* 的 3 个种中分到杯伞块素(*diatretyne* I 和 II);从灰侧耳 *Pleurotus griseus* 中分到灰侧耳素(*pleurotin*)等。

我国拥有丰富的高等真菌资源,对其化学和生物学的系统研究较少,深入开展此方面的研究,可为进一步的开发利用提供依据。笔者对高等真菌中二萜成分及其生物活性研究进展予以评述,

1 二萜骨架类化合物

1.1 Cyathane 骨架类型:1965 年,加拿大学

者 Brodie 首次发现鸟巢菌科黑蛋巢菌属 *Cyathus* 真菌 *C. helenae* 培养发酵液有显著抗菌活性^[3]。此后, Ayer 等研究证实该属的活性成分是新的独特二萜骨架 Cyathane 类型化合物^[3~8]。80 年代以来,相继从齿菌科肉齿菌属 *Sarcodon* 粗糙肉齿菌 *S. scabrosum* 子实体^[4~11]、猴头菌科猴头菌属 *Hericium* 猴头菌 *H. erinaceus*^[12]、珊瑚状猴头菌 *H. ramosum* CL24240^[24] 发酵培养液中不断发现此骨架的新化合物(表 1),特别是后者可产生 Cyathane 型二萜木糖苷成分。也曾在海洋生物海绵 *Higginsia* sp. 中发现^[13]。另外 3 个有趣的化合物 *striatins* A, B, C 来自欧洲隆纹黑蛋巢菌 *C. striatus* 菌株的菌丝体^[14],其结构特征是 Cyathane 骨架与 1 个五糖单元以 3 个单键相接。其生物合成途径是由香叶基香叶基焦磷酸酯(GGPP)通过 *dolabelladiene* 阳离子 C₅ 与 C₆ 键形成和由 C₁₁ 到 C₁₂ 甲基迁移而实现的^[3]。

1.2 *Trichioaurantiane* 骨架类型:从事多年真菌化学研究的意大利学者 Vidari 于 1995 年首次报道担子菌纲中存在这类罕见的新二萜骨架^[15],仅分布在伞菌目口蘑科口蘑属 *Tricholoma* 的 *T. aurantium*、*T. fracticum*^[15~17] 和香

* Address: Gao Jinming, Northwest University of Agricultural and Forest Science and Technology, Yangling

高锦明 男,陕西师范大学化学学士,西北农业大学植物资源化学与开发利用方向硕士。现为中国科学院昆明植物研究所植物化学开放实验室博士生。主要研究方向为天然产物化学和无公害农药。在国内核心期刊上发表论文 20 余篇,参编专著两部,省部级教学和科研成果 3 项。

[△]中国科学院昆明植物研究所植物化学开放实验室重点资助项目

蘑属 *Lepista* 的 *L. sordida*^[18] 中(表 2), 其新颖的生物合成途径^[15](图 1)被认为是一个迄今未发现的骨架 Neodolastane(暂定名)4, 5-裂环的衍生物。而 Neodolastane 骨架可能由 Dolastane 型二萜前体经过 C₁₈ 甲基从 C₁₁ 迁移至 C₁₀ 或从 Neodolastane 中间体通过 C₂ 和 C₇ 间闭环产生。

1.3 Sphaeroane 骨架类型: 1998 年, 瑞典真菌化学家 Sterner 首次从口蘑科小菇属 *Mycena* 真菌 *M. tintinnabulum* 子实体中分

离鉴定了具有 Sphaeroane 二萜骨架的 1 个新化合物 tintinnadiol, 但在 YMG 培养基的发酵液中却未产生此成分^[19]。迄今, 报道过这一特殊类型的二萜骨架只源自海藻和 *Sphaerococcus coronopifolius*。

1.4 其他类型二萜: 50 年代初期, 从担子菌纲侧耳属 *Pleurotus mutilis*, *P. passeckerianus* 和 *Drosophila subatrata* 中分到对革兰氏阳性菌具抗菌作用的一新骨架化合物 pleuromutilin, 从 *Cliptopilus pseudo-pinsitus* 中也获得

表 1 Cyathane 骨架的二萜类化合物

名 称	分子式	分子量	熔点(℃)	比旋光度(°)	来源	文献
1 cyathin A ₃	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	318	148~150	-160	<i>C. a.</i> , <i>C. h.</i>	4, 7
2 cyathin B ₃	C ₂₀ H ₂₈ O ₃	316		-105	<i>C. h.</i>	5
3 allocyathin B ₃	C ₂₀ H ₂₈ O ₃	316			<i>C. a.</i> , <i>C. h.</i>	4, 7
4 cyathin C ₃	C ₂₀ H ₂₈ O ₃	314	131~133		<i>C. h.</i>	5
5 cyathin A ₄	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	334	oil		<i>C. h.</i>	6
6 neoallocyathin A ₄	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	334	oil		<i>C. h.</i>	6
7 cyathin C ₅	C ₂₀ H ₂₈ O ₅	346	225~226		<i>C. h.</i>	6
8 allocyathin A ₄	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	334			<i>C. h.</i>	6
9 cyafirin A ₄	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	334	200~201	-125	<i>C. a.</i>	7
10 cyafirin B ₄	C ₂₀ H ₂₈ O ₄	332	syrup	-156. 5	<i>C. a.</i>	7
11 allocyafirin B ₄	C ₂₀ H ₂₈ O ₄	332	syrup	-157. 8	<i>C. a.</i>	7
12 cyafirin A ₅	C ₂₀ H ₃₀ O ₅	350	208~209	-77. 9	<i>C. a.</i>	7
13 cyathatriol	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	320	172~173		<i>C. e.</i>	8
14 11, 15-diacetyl-cyathatriol	C ₂₄ H ₃₆ O ₅	404	123~124		<i>C. e.</i>	8
15 15-acetyl-cyathatriol	C ₂₂ H ₃₄ O ₄	362	oil		<i>C. e.</i>	8
16 11-diacetyl-cyathatriol	C ₂₂ H ₃₄ O ₄	362	165~166		<i>C. e.</i>	8
17 cyathin B ₂	C ₂₂ H ₂₈ O ₂	300	syrup		<i>C. e.</i>	8
18 allocyathin B ₂	C ₂₂ H ₂₈ O ₂	300	+87. 1		<i>C. e.</i>	8
19 sarcodonin A	C ₂₀ H ₂₈ O ₃	316	syrup		<i>S. s.</i>	9
20 sarcodonin G	C ₂₀ H ₂₈ O ₃	316	158~161	-64. 9	<i>S. s.</i>	9
21 scabronine A	C ₂₂ H ₃₄ O ₆	394	93. 5~94. 5	-15. 0	<i>S. s.</i>	10
22 scabronine B	C ₃₃ H ₃₆ O ₅	512	oil	+14. 6	<i>S. s.</i>	11
23 scabronine C	C ₃₄ H ₃₆ O ₇	556	oil	-40. 8	<i>S. s.</i>	11
24 scabronine D	C ₂₇ H ₃₂ O ₆	452	oil	-58. 4	<i>S. s.</i>	11
25 scabronine E	C ₂₂ H ₂₈ O ₅	372	oil	+872. 7	<i>S. s.</i>	11
26 scabronine F	C ₂₀ H ₂₆ O ₄	330	oil	+782. 6	<i>S. s.</i>	11
27 erinacine A	C ₂₅ H ₃₆ O ₆	432	74~76	+216	<i>H. e.</i>	12
28 erinacine B	C ₂₅ H ₃₆ O ₆	432	125~127	-34. 9	<i>H. e.</i>	12
29 erinacine C	C ₂₅ H ₃₈ O ₆	434	115~118	-72. 5	<i>H. e.</i>	12
30 erinacine E	C ₂₅ H ₃₆ O ₆	432			<i>H. r.</i>	24
31 striatin A	C ₂₇ H ₃₆ O ₇	472	144~145		<i>C. s.</i>	14
32 striatin B	C ₂₇ H ₃₆ O ₈	488	143~144		<i>C. s.</i>	14
33 striatin C	C ₂₇ H ₃₄ O ₇	446	144~145		<i>C. s.</i>	14
34 CJ-14, 258	C ₂₅ H ₃₈ O ₆	434	powder	-73. 4	<i>H. r.</i>	24
35 CJ-15, 544	C ₂₅ H ₃₄ O ₆	430	powder	-78. 6	<i>H. r.</i>	24
36 CP-412, 065	C ₂₅ H ₃₄ O ₆	430	powder		<i>H. r.</i>	24

C. a. = *Cyathus africanus*; C. h. = *Cyathus helenae*; C. e. = *Cyathus earlei*; S. s. = *Sarcodon scabrosum*; H. e. = *Hericium erinaceus*; H. r. = *Hericium ramosum* CL24240; C. s. = *Cyathus striatus*

表 2 Trichoaurantiane 骨架的二萜类化合物

名 称	分子式	分子量	熔点(℃)	比旋光度(°)	来源	文献
1 trichoaurantianolide A	C ₂₂ H ₂₈ O ₆	388	oil	+27. 5	<i>T. a.</i>	15
2 trichoaurantianolide B	C ₂₀ H ₂₈ O ₅	348	206~207	+44	<i>T. a.</i>	16
3 trichoaurantianolide C	C ₂₀ H ₂₈ O ₅	348	oil	+13. 8	<i>T. a.</i>	16
4 trichoaurantianolide D	C ₂₂ H ₃₀ O ₆	390			<i>T. a.</i>	16
5 trichaurantin	C ₂₀ H ₂₈ O ₅	348	185	+33	<i>T. a.</i> ; <i>T. f.</i>	17
6-acetoxy-trichaurantin	C ₂₂ H ₃₀ O ₆	390	oil	+3. 0	<i>T. a.</i> ; <i>T. f.</i>	17
7 lepiatal	C ₂₀ H ₂₆ O ₄	330	oil	+37	<i>L. s.</i>	18
8 lepiatal	C ₂₀ H ₂₈ O ₄	332	oil	+73	<i>L. s.</i>	18

T. a. = *Tricholoma aurantium*; T. f. = *Tricholoma fracticum*; L. s. = *Lepista sordida*

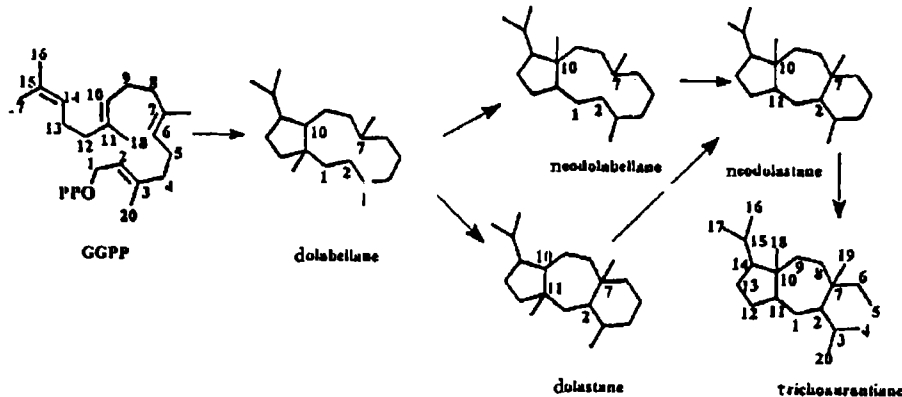


图1 Trichoaurantiane 碳骨架生物合成途径

它的2个新类似物的抗生素,另从粗环射脉菌 *Phlebia strigosozonata* 中发现2个高度氧化的贝壳杉烷(kaurane)型抗菌代谢产物(phlebiakauranol, phlebianorkauranol)^[3]。

2 生物活性

2.1 神经生长因子(NGF)合成诱导剂:从结构上讲,有Cyathane骨架类化合物都显示刺激NGF合成之活性,但鸟巢菌属产生的此类成分未见有报道。1321 N1人星形细胞瘤(astrocytoma)细胞试验表明^[10], scabronine A显示强NGF合成诱导活性,即2 d内在147 pg/mL NGF的基本分泌量下,其浓度为100 $\mu\text{mol/L}$ 时,NGF的分泌量为746 pg/mL;此外,逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)揭示它可增加1321 N1细胞中NGF mRNA 1.99倍。大鼠星形神经细胞(astrogial)试验表明^[12],猴头菌素(erinacines) A, B, C是NGF合成强刺激剂,在浓度均为1.0 mmol/L时,NGF的分泌量分别为(250.1 $\pm$ 36.2), (129.7 $\pm$ 6.5)和(299.1 $\pm$ 59.6) pg/mL,其活性均强于阳性对照的强刺激剂肾上腺素[1.0 mmol/L时为(69.2 $\pm$ 17.2) pg/mL]。具有低分子量的强NGF诱导剂如scabronine A将成为治疗严重神经元退行性疾病如Alzheimer's疾病的有潜在应用前景的药物,且有助于阐明NGF合成和分泌的机制。

2.2 抗菌活性:trichoaurantianolide A对枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* 和金黄色葡萄

球菌显示中等抗菌活性^[15]。lepistal抗菌活性要强于lepistol(表3),lepistal醛基的存在对生物活性是重要的^[18]。

表3 lepistal和lepistol抗菌活性
(MIC, $\mu\text{g/mL}$)^{*}

化合物	S. s.	B. s.	R. g.	S. c.	P. n.	F. o.	M. m.	N. c.
lepistal	5	50	5	19	19	19	50	50
lepistol			100					100

^{*} S. sp = *Streptomyces* sp. ATCC 23836; B. s. = *Bacillus subtilis*; R. g. = *Rhodotorula glutinis*; S. c. = *Saccharomyces cerevisiae* S288c; P. n. = *Penicillium notatum*; F. o. = *Fusarium oxysporum*; M. m. = *Mucor miehei*; N. c. = *Nematospora coryli*

Toyota等从牛肝菌科小牛肝菌 *Boletinus cavipes* 子实体中首次分到5个由16-羟基香叶基香叶醇与甲基富马酸或富马酸形成新抗真菌的链状二萜酯类化合物,其中cavipetin A对瓜枝孢 *Cladosporium cucumerinum* 孢子形成显示最强的抑制活性(< 4 μg)^[20]。

据美国专利介绍^[21], erinacines B, C具有抗菌活性, B对 *S. cerevisiae* 和 *A. niger* 以及B, C对 *Bacillus subtilis* 表现出抑制活性,可用于治疗细菌和真菌感染的疾病。

2.3 抗肿瘤活性:lepistal(0.2 $\mu\text{g/mL}$)诱导20%HL60细胞分化成粒性白细胞-单核细胞状细胞和18%U937细胞分化成单核细胞状细胞,而lepistol诱导30%HL60细胞(20 $\mu\text{g/mL}$)和14%U937细胞(10 $\mu\text{g/mL}$)分化^[18]。lepistal(1 $\mu\text{g/mL}$)和lepistol(50 $\mu\text{g/mL}$)有细胞毒性,它们是极有开发价值的人

白血病细胞分化诱导剂。再次证实 lepiatal 醛基是保持其生物活性的关键基团。

Tintinadiol 对 HL60(IC_{20} 10 $\mu\text{g/mL}$)和 L1210 细胞株(IC_{50} 40 $\mu\text{g/mL}$)显示细胞毒性^[19]。

2.4 鲨烯合成酶(SQS)抑制剂:从裂褶菌科裂褶菌 *Schizophyllum commune* 分到的新的鲨烯合成酶强效选择性抑制剂 schizostatin,可用于治疗过脂症^[22]。并通过烯丙基溴与钼试剂高度区域和立体选择性偶联反应实现了全合成^[23]。

2.5 κ 阿片样物质(opioid)受体激动剂:阿片样化合物具有多种生理作用如抗伤害、神经递质释放、呼吸抑制和成瘾性。目前,所有临床上重要的阿片样药物是通过 μ 受体起止痛作用。如吗啡就是广泛使用的止痛剂,但也引起难治的毒副作用如耐受性、依赖性和中枢抑制等。有证据显示,阿片样物质受体(μ ,

δ 和 κ)的激活能降低炎症性大鼠模型痛觉过敏。因此, κ 激动剂显示抗伤害(antinociceptive)活性,且使用 μ 受体激动剂(agonist)时未发现有副作用。

日本学者 Saito 等^[24]在从微生物次生产物中寻找 κ 受体激动剂中,首次证实 erinacine E 为 κ 阿片样物质受体高选择性强结合抑制剂(κ , IC_{50} 0.8 $\mu\text{mol/L}$; μ , IC_{50} >200 $\mu\text{mol/L}$; δ , IC_{50} >200 $\mu\text{mol/L}$)。初步构效关系研究表明,所有官能团和侧链都是活性所必需的。erinacine E 抑制兔输精管受电刺激引起的痉挛反应(ED_{50} 14 $\mu\text{mol/L}$)。通过加入选择性 κ 阿片样物质受体拮抗剂 norbinaltorphimine 可恢复这种抑制作用,这说明该化合物是 κ 阿片样物质受体激动剂。高等真菌中有生物活性的部分二萜化合物如图 2 所示。

综上所述,随着高效快速微量分离、鉴定技术的广泛应用,以生物活性检测为导向,将

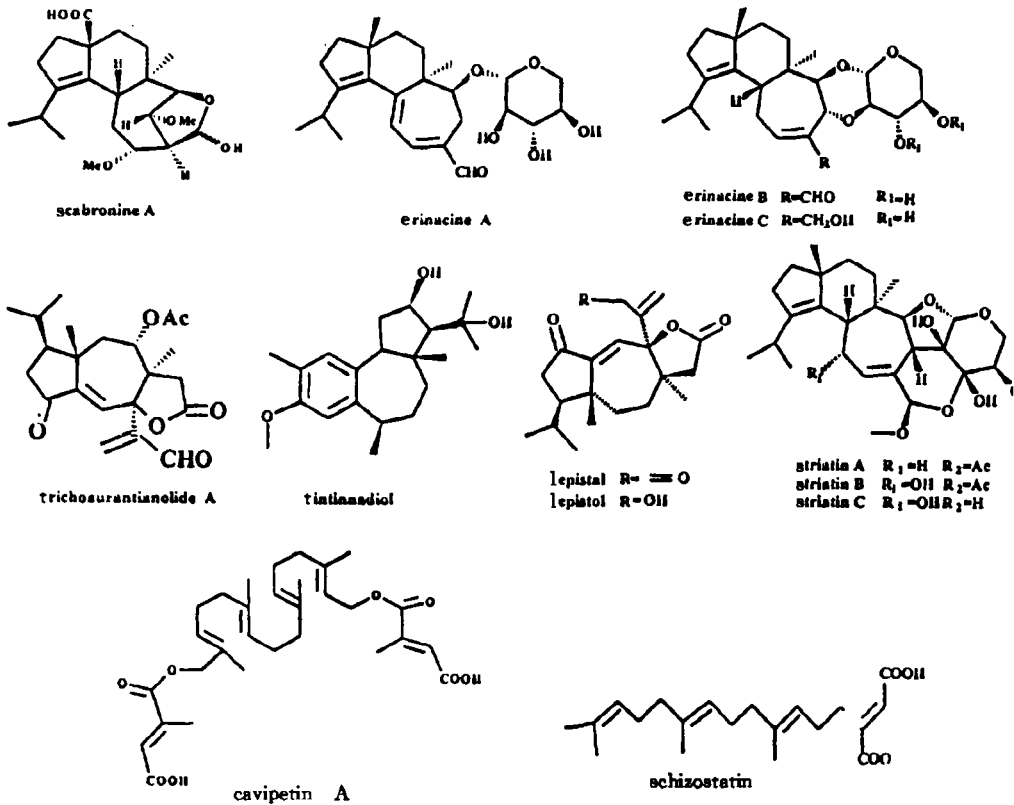


图 2 高等真菌中有生物活性的部分二萜化合物

不断得到结构类型新颖的有显著生物活性的高等真菌次生物质,同时结合高等真菌培养发酵液提供样品供药理研究,为人类合理利用真菌资源提供依据。我国高等真菌资源十分丰富,深入对其进行研究开发,无论从经济价值还是从药用价值方面都具有重大意义。

致谢:承蒙中国科学院昆明植物研究所植物化学开放实验室刘吉开教授审阅,并提出宝贵意见,在此深表谢意。

参考文献

1 袁明生,等编著. 四川真菌. 成都:四川科学技术出版社,1995;50
2 卯晓岚编著. 中国经济真菌. 北京:科学出版社,1998;IV
3 Ayer W A, *et al.* Tetrahedron, 1981, 37: 2199
4 Ayer W A, *et al.* Tetrahedron Lett, 1972, 13: 1917
5 Ayer W A, *et al.* Can J Chem, 1973, 51: 3157
6 Ayer W A, *et al.* Can J Chem, 1978, 56: 717

7 Ayer W A, *et al.* Can J Chem, 1978, 56: 2113
8 Ayer W A, *et al.* Can J Chem, 1979, 57: 3332
9 Shibata H, *et al.* Agric Biol Chem, 1989, 53(12): 3373
10 Ohta T, *et al.* Tetrahedron Lett, 1998, 39: 6229
11 Kita T, *et al.* Tetrahedron, 1998, 54: 11877
12 Kawagishi H, *et al.* Tetrahedron Lett, 1994, 35(10): 1569
13 Cassidy M P, *et al.* Aust J Chem., 1985, 38: 1187
14 Anke T, *et al.* J Antibiotics, 1977, 30: 221
15 Gamba A, *et al.* Tetrahedron Lett, 1995, 36(11): 1905
16 Benevelli F, *et al.* Tetrahedron Lett, 1995, 36(17): 3035
17 Knops L, *et al.* Liebigs Ann, 1995, 77
18 Mazur X, *et al.* Phytochemistry, 1996, 43(2): 405
19 Engler M, *et al.* Phytochemistry, 1998, 49(8): 2591
20 Toyota M, *et al.* Phytochemistry, 1990, 29(5): 1485
21 Kawagishi H, *et al.* USP, 5391544(1995)
22 Janimoto T, *et al.* J Antibiotics, 1996, 49(7): 617
23 Janimoto T, *et al.* J Antibiotics, 1996, 49(7): 624
24 Saito T, *et al.* J Antibiotics, 1998, 51(11): 983

(1999-03-26 收稿)

1999-06-13 修回)

贝母及其制剂内在质量评价研究进展

中国药科大学生药教研室(南京 210009) 李松林* 李 萍

摘要 评价贝母及其制剂内在质量的有重量法、酸碱滴定法、安培滴定法、两相滴定法、酸性染料比色法,薄层分离-紫外分光光度法、薄层扫描法和高效液相色谱法,其中酸性染料比色法测定总生物碱和薄层扫描法测定单体生物碱应用最多。评价内容涉及贝母药材、栽培品和组培物与野生品的比较、不同种间比较等。HPLC法和GC法用于活性单体化合物的评价值得深入研究,贝母制剂质量评价和生物样品的测定有待加强。

关键词 贝母 质量评价 生物碱

贝母是常用止咳中药,来源于贝母属 *Fritillaria* L. 多种植物地下鳞茎。业已证明贝母的主要活性成分为贝母生物碱及其苷。另外贝母的皂苷、腺苷及脂肪酸也与贝母的祛痰、平喘和降压等作用有关。多年来在贝母的内在质量评价中主要将生物碱作为指标成分,皂苷和腺苷等也有所涉及,笔者拟对近年来的研究进展作一概述。

1 生物碱的评价

1.1 总生物碱:至今可用4种方法测定贝母

总生物碱。1)酸碱滴定法^[1]:以甲基红为指示剂,用硫酸标准液滴定。该法为传统的容量法,操作程序较繁。2)安培滴定法^[2]:以硅钨酸为试剂,以饱和甘汞电极为阳极,滴汞电极为阴极,测定贝母生物碱和硅钨酸在硫酸钾支持电解质中的极谱曲线。该法底液的pH值对测定结果影响很大。3)两相滴定法^[2]:根据酸性染料溴麝香草酚蓝在一定pH条件下与贝母生物碱生成离子对并定量被氯仿提取从而测定贝母总碱含量(水相出现黄色即为

* Address: Li Songlin, Department of Pharmacognosy, China Pharmaceutical University, Nanjing
南京军区后勤部药检所工作,现为中国药科大学在职博士研究生。