

[16] Wang M H, Lang C Y, Lei Q. Catalytic polarographic determination of trace selenium in tea and dama bamboo shoot by microwave digestion [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2001, 20(4): 22-24.

[17] Li F B, Chen J L. Determination of trace selenium in spirulina by oscilloscope polarography [J]. *J Nanjing Univ Chem Tech* (南京化工大学学报), 2000, 22(3): 52-54.

稻绿核菌次生代谢产物的研究进展

杨永红, 孟 飞, 孙新华

(云南农业大学 云南省植物病理重点实验室, 云南 昆明 650201)

稻绿核菌 *Ustilagoidea virens* (Cke.) Tak. 属于瘤座孢目, 瘤座孢科, 绿核菌属, 寄生于玉米和稻花器上, 形成稻曲, 引发稻曲病。稻曲病又称伪黑穗病、绿黑穗病、假黑穗病、青粉病、谷花病, 我国和日本称其为“丰收病”^[1,2]。但对其病原菌稻绿核菌的命名争议很大。Hashioka (1971) 根据黑色的菌核、圆桶状的子囊及丝状多隔的子囊孢子将其命名为 *Claviceps oryzae-sativae*。现在一般采用 *U. virens* 作为稻曲病菌的无性态学名, *Claviceps virens* Sakurai 作为有性态学名^[2]。我国《本草纲目》中“稷谷奴, 谷穗煤者”即指稻曲菌子实体, 用于治走马喉痹^[3]。

稻绿核菌次生代谢产物到目前为止, 大致可分为两类: 一类叫黑粉菌素 (ustilaginoidin), 为脂溶性有色物质; 另一类叫稻曲菌素 (ustiloxin), 为水溶性无色物质。

1 次生代谢产物的提取

Ustilaginoidin 是 1937 年 Yubata 从稻绿核菌子实体的乙醚浸提物中分离到的一种有色物质, 1963 年 Shibata 等从子实体的丙酮浸提物中分离到 ustilaginoidin A, B, C。1988 年 Koyama 等采用柱色谱、高压液相色谱从稻绿核菌子实体中分到 ustilaginoidin A, B, C, 同时还分到了另外的 7 种单体, 分别称为 ustilaginoidin D, E, F, G, H, I, J。1992—1998 年 Yukiko 等对稻绿核菌水浸提物进行柱色谱、高压液相色谱分析, 分离到 6 种物质, 分别称为 ustiloxin A, B, C,

D, E, F。

2 次生代谢产物的结构

1937 年 Yubata 确定 ustilaginoidin 分子式为 $C_{19}H_{16}O_7$, 并根据从锌粒馏分中得到的萘认为黑粉菌素应属于萘醌类, 未对黑粉菌素的结构进一步验证^[4,5]。1963 年 Shibata 等发现 ustilaginoidin 没有羟萘醌类所具有的颜色反应, 重新对其进行研究, 根据黑粉菌素的红外光谱、核磁共振谱及其降解产物、降解产物的衍生物, 确定 ustilaginoidin A 是 2, 2'-二甲基-5, 5', 6, 6', 8, 8'-六羟基-9, 9'-双(四氢-萘并[2, 3-b]吡喃-4-酮)(2, 2'-dimethyl-5, 5', 6, 6', 8, 8'-hexahydroxy-9, 9'-bis(4H-naphtho[2, 3-b]pyran-4-one))。对 ustilaginoidin B, C 的紫外光谱、核磁共振谱进行分析并与 ustilaginoidin A 相比较得出: ustilaginoidin B, C 与 ustilaginoidin A 具有相同的碳骨架, 都属于萘并-吡喃^[6,7]。1988 年 Koyama 等通过紫外光谱、红外光谱、C-谱、H-谱分析, 分别确定 ustilaginoidin D, E, F, G, H, I, J 为 $C_{30}H_{26}O_{10}$, $C_{29}H_{24}O_{10}$, $C_{28}H_{22}O_{10}$, $C_{28}H_{20}O_{10}$, $C_{28}H_{20}O_{11}$, $C_{28}H_{20}O_{11}$, $C_{28}H_{21}O_{12}$ 的含萘-吡喃发色团的同系物(见图 1), 1992—1998 年 Koiso 等通过元素分析、氨基酸分析、X 射线晶体衍射及 C-谱、H-谱分析, 确定 ustiloxin A, B, C, D, F 为含一醚支链的十三元环缩氨酸同系物(见图 2)。稻曲菌素加 15 mol PtO_2 在氢压下搅拌 3 h, 可分别转化成 ustiloxin D, F^[8,9]。

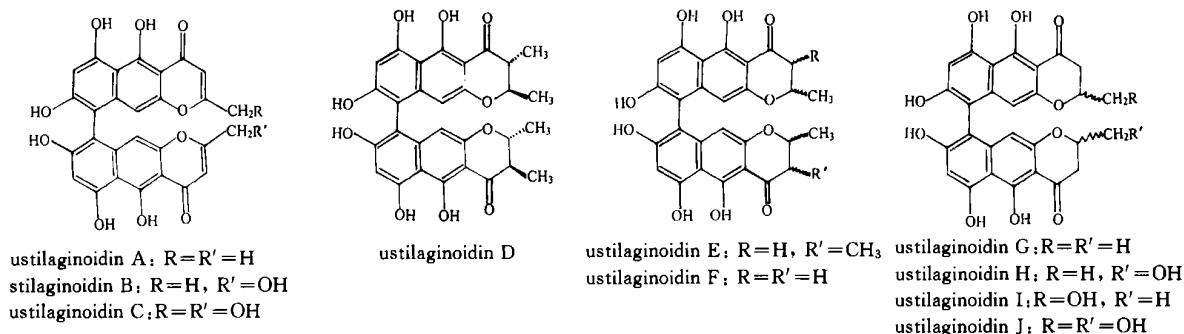


图 1 黑粉菌素 A~J 的结构

Fig. 1 Structures of ustilaginoidins A~J

* 收稿日期: 2002-05-31

基金项目: 云南省科技厅 (98C008G) 和教育厅 (0111351) 资助课题

作者简介: 杨永红 (1965—), 女, 理学博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事真菌次生代谢产物及其应用研究。Tel (0871) 6772422

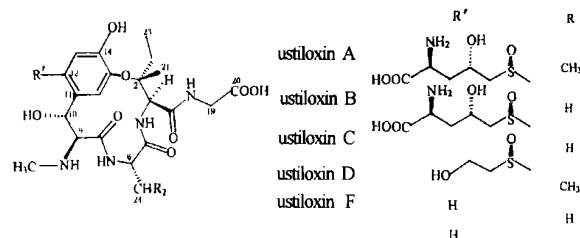


图 2 稻曲菌素 A~D, F 的结构

Fig. 2 Structures of ustiloxin A~D and F

3 次生代谢产物的活性

1915 年 Suwa 用稻绿核菌子实体的水浸提物进行试验, 发现对家兔有毒性。Koiso 等用不同浓度的稻曲菌素 A 对稻种萌发进行试验。当其浓度为 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 几乎完全抑制胚根和胚芽的生长; $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时抑制作用减弱; $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时无明显抑制作用^[10]。同时他们用稻曲菌素 A 和 B 对人的胃、肺、心脏、结肠和肾的癌细胞系进行试验, 发现对供试的癌细胞系都有抑制作用; 但抑制力有差异, 如稻曲菌素 A 对心脏癌细胞系 MCF-7 的中等有效抑制浓度为 $0.87 \mu\text{mol/L}$, 对结肠癌细胞系 SW-480 为 $6.08 \mu\text{mol/L}$; 稻曲菌素 B 对肺癌细胞系 SBC-5 的中等有效抑制浓度为 $0.39 \mu\text{mol/L}$, 对胃癌细胞系 MKN-74 为 $17.05 \mu\text{mol/L}$ 。Richard 等通过稻曲菌素 A 与牛微管蛋白相互作用的实验发现: 稻曲菌素 A 与长春花碱、拟茎点素 A 一样, 对 β -微管蛋白的链内交链键的形成和微管蛋白的烷基化有抑制作用; 对微管蛋白外露的疏水区亦有抑制作用, 对秋水仙素与微管蛋白的结合具稳定作用^[11]。Li 通过生化分析和电镜观察, 测得稻曲菌素 A~D 强烈抑制猪脑微管蛋白的组装和解聚, 它们的中等有效抑制浓度分别为 $0.7, 2.8, 4.4, 6.6 \mu\text{mol/L}$, 稻曲菌素 A 对微管蛋白的潜在抑制作用是目前所知物质中最强的; 稻曲菌素 A, B, C 对羽扇豆素与微管蛋白结合的抑制常数为 $0.08, 0.13, 0.23 \mu\text{mol/L}$, 亦能强烈抑制拟茎点素 A 与微管蛋白的结合; 对秋水仙素与微管蛋白的结构起稳定作用。同时 Li 等发现稻曲菌素与羽扇豆素和拟茎点素 A 一样, 通过与微管蛋白的某些结合位点相结合, 从而起到抑制微管组装的作用, A, B, C 与微管蛋白的 RZX 或 MAY 位点结合, 而 D, E, F 与微管蛋白的结合位点目前未见报道^[12]。Morisaki 等测得稻曲菌素 A, B, C, D, F 对微管蛋白组装的中等有效抑制浓度为 $1.0, 1.8, 4.4, 2.5, 10.3 \mu\text{mol/L}$ ^[13]。上述研究表明: 稻曲菌素通过对微管蛋白的组装和解聚潜在的抑制作用, 从而起到抗有丝分裂循环的作用。Morisaki 等通过对稻曲菌素 A~D, F 的衍生物及人工合成的几种简单的含稻曲菌素核心结构的化合物对微管蛋白组装的抑制能力大小的分析认为: 1) CH_3NH 官能团和酚羟基在与微管蛋白结合上起重要作用; 2) 甘氨酸残基的羧基对稻曲菌素的生物活性起一定的积极作用, 但不是根本的; 3) C_2 和 C_6 位烷基起重要作用^[11]。另外, Koiso 等认为稻曲菌素 F 的支链官能团和烷基部分加强了其与微管蛋白的亲合性^[14]。

我国对稻绿核菌次生代谢产物的活性成分及其药理作

用研究相对日本而言, 较少且浅。朱风美指出稻绿核菌含有 $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_7$ 的有毒色素, 牛吃后反刍停止; 高峻等用含稻绿核菌子实体的稻谷喂鸡、兔、猪, 发现禽畜中毒, 但未探究其机制^[12,13]; 王疏等用甲醇浸提稻绿核菌子实体, 提取其粗毒素, 并测得粗毒素对稻种萌发有抑制作用, 初步认为该毒素为生物碱类化合物^[17]; 同时王疏等利用人工分离到的稻绿核菌进行液体和固体培养, 提到粗毒素的生物活性随浓度的降低而减小, 且在稻种萌发过程中对胚根的抑制率强于对胚芽的抑制率^[5]。但是对于稻绿核菌粗毒素的活性成分、活性成分的作用机制、活性成分单体的提取及其在致病过程中的作用, 未见报道。杨永红等用 80% 的乙醇浸提稻绿核菌子实体, 得到绿色素, 为黑色胶状固体, 耐光、耐热, 水溶性较好, 不含铅和砷等有毒物质, 50% 的色素生理盐水对小鼠 ig , 无异常, 表明绿色素无毒性^[15]。同年, 杨永红等测定稻绿核菌子实体中 18 种氨基酸和 9 种元素, 氨基酸总含量为 9.026%, 其中包括 7 种人和动物的必需氨基酸, 占 34.92%, 几乎不含对人体和动物有害的元素, 铁含量较高, 达 $80.33 \text{ mg}/\text{kg}$ ^[13]。

4 结语

综上所述, 稻绿核菌次生代谢产物在治疗癌方面, 有一定的潜力, 但目前所报道的提取方法对设备要求较高, 所用试剂较贵, 产率极低, 且自然界中稻绿核菌子实体有限, 采摘不便, 制约了对稻绿核菌次生代谢产物在医药学方面的深入研究和应用。有效提取稻绿核菌的次生代谢产物, 解决稻绿核菌子实体短缺问题, 就尤为重要。人工分离培养稻绿核菌为解决以上问题的有效方法。因此对稻绿核菌进行固体培养、液体培养, 筛选利于稻绿核菌次生代谢产物生长的培养条件, 可为稻绿核菌次生代谢产物的提取及应用研究提供前提条件, 起到变害为宝、化害为利的作用。

References

- [1] Ou S H. *Fungus Diseases—Diseases of Grain and Inflorescence Rice Diseases* [M]. England Commonwealth Mycological Institute Kew Press, 1972, 289-295.
- [2] Ahuja S C, Payak M M. On the nomenclature of false smut fungus of rice [J]. *Curr Sci*, 1988, 57(1): 35-36.
- [3] Yang Y H, Bai W. The analysis of amino acid and elements in traditional Chinese medicine Gungunu [J]. *J Tradit Chin Vet Med* (中兽医医药杂志), 1999, 18(5): 13-14.
- [4] Yabuta T, Sumiki Y. Chemical constituents of "inekoji", *Ustilagoideia vireus*: organic acids [J]. *J Agr Chem Soc Japan*, 1937, 13: 103-105.
- [5] Shibata S, Ohta A, Ogihara Y. Metabolic products of fungi XXI on ustilaginoidins the reactions of ustilaginoidin A [J]. *Chem Pharm Bull*, 1963, 11(9): 1174-1178.
- [6] Shibata S, Ohta A, Ogihara Y. Metabolic products of fungi XXI on ustilaginoidins the structure of ustilaginoidin A [J]. *Chem Pharm Bull*, 1963, 11(9): 1179-1182.
- [7] Wang S, Liu X Z, Bai J Y, et al. A preliminary study on false smut disease toxin [J]. *Agri Sci Liaoning* (辽宁农业科学), 1995, 1: 52-54.
- [8] Koiso Y, Natori M, Iwasaki S. Ustiloxin a phytotoxin and a mycotoxin from false smut balls on rice panicles [J]. *Te-trahedron Lett*, 1992, 33(29): 4157-4160.

- [9] Kosio Y, Morisaki N, Yamashita Y, *et al.* Isolation and structure of an antimetabolic cyclic peptide, ustiloxin F. Chemical interrelation with a homologous peptide, ustiloxin B [J]. *J Antibiot*, 1998, 51(4): 418-422.
- [10] Koiso Y, Li Y, Iwasaki S, *et al.* Ustiloxins, antimetabolic cyclic peptides from false smut balls on rice panicles caused by *Ustilaginoidea virens* [J]. *J Antibiot*, 1994, 47(7): 765-773.
- [11] Ludaena R F, Roach M C, Veena P, *et al.* Interaction of ustiloxin A with bovine brain tubulin [J]. *Biochem Pharmacol*, 1994, 47(9): 1593-1599.
- [12] Li Y, Koiso Y, Kobayashi H, *et al.* Ustiloxins, new antimetabolic cyclic peptides interaction with porcine brain tubulin [J]. *Biochem Pharmacol*, 1995, 49(10): 1367-1372.
- [13] Morisaki N, Mitsui Y, Yamashita Y, *et al.* Synthesis and anti-tubulin activity of ustiloxin D derivatives [J]. *J Antibiot*, 1998, 51(4): 423-427.
- [14] Yukiko K, Naoko M, Yukiko Y, *et al.* Isolation and structure of an antimetabolic cyclic peptide, ustiloxin F. chemical interrelation with a homologous peptide, ustiloxin B [J]. *J Antibiot*, 1998, 51(4): 418-422.
- [15] Yang Y H, Bai W. The extraction and application of green pigment from *Ustilaginoidea virens* (Cke.) Tak [J]. *Plant Resour Envi* (植物资源与环境), 1999, 8(4): 55-56.

葡萄中抗氧化物质的作用及其机制研究进展

黄 梅¹, 赵余庆², 吴春福^{1*}

(1. 沈阳药科大学 中药药理教研室, 辽宁 沈阳 110016; 2. 辽宁中医学院, 辽宁 沈阳 110021)

近年来,有关葡萄和葡萄酒中的抗氧化物质的研究逐渐深入,并日益得到人们的重视。研究表明,葡萄果肉、果皮、葡萄籽以及葡萄酒中均含有抗氧化的活性物质,因此兴起了以饮用葡萄酒代替乙醇类饮品的保健举措。葡萄中含有的抗氧化活性成分对许多与之相关的疾病有一定的预防和改善作用。已有研究表明,葡萄籽提取物具有抗炎、抗风湿、抗变态反应、抗肿瘤、减轻缺血再灌注损伤、延缓衰老、减慢老年性痴呆和帕金森氏病发展进程、以及调节血管细胞功能、抑制低密度脂蛋白氧化和降低血小板凝聚等保护作用^[1,2]。体外实验表明,此类抗氧化剂对自由基的捕获能力,甚至要大于经典的维生素类抗氧化剂。Bagchi的研究证明,在100 mg/L的相同浓度下,原花青素对超氧阴离子和羟自由基的抑制率为78%~81%,远高于维生素C(12%~19%)和维生素E(36%~44%)的抑制率^[3]。对烟草提取物所导致的脂质过氧化、色素C还原、DNA损伤和细胞凋亡的抑制作用,原花青素也高于维生素C和E^[4]。儿茶素对ABTS自由基的捕获能力大于维生素C^[5]。白藜芦醇具有和Vit C、Vit E的协同作用,联合应用抗氧化活性增强^[6]。本文将近年来国内外在这一方面的研究进展作一综述,以期全面深入地认识葡萄中这些物质抗氧化的作用及可能的作用机制。

1 葡萄中的主要抗氧化活性成分

在化学结构上,葡萄中的主要抗氧化物质为一系列的多酚类化合物,主要包括两类:其一为黄酮醇(flavonols)和花色素苷(anthocyanins),包括儿茶素单体(catechin monomers)和低聚体原花青素(proanthocyanidins)等黄酮类化合物;第二类物质属于类,即1,2-二苯乙烯类化合物

(stilbenes),主要包括白藜芦醇(resveratrol)和其糖苷类化合物。这些化合物具有相似的化学结构,即在共轭苯环上含有酚羟基,参与化学电子转移过程。结构上的特点使这些多酚类化合物可以作为质子供体参与自由基的电子转移过程,从而发挥抗氧化的作用^[7]。

2 葡萄中抗氧化物质的抗氧化作用机制

2.1 抑制活性氧的产生:研究表明,所有这些活性物质均可以抑制各种自由基的产生。如儿茶素可明显抑制胶原引起的过氧化氢产生,从而抑制血小板凝集^[8]。在大鼠脑呼吸链反应中,白藜芦醇可以和辅酶Q竞争,降低复合物III的生成,而这一复合物恰恰是活性氧物质产生的位点,从而减少了活性氧的产生^[9]。白藜芦醇还明显抑制炎症反应中由脂多糖或佛波醇酯引发的巨噬细胞释放超氧阴离子和过氧化氢的反应^[10]。已知重金属离子参与促发自由基的产生,抗氧化物质的活性还体现在其对金属离子具有一定的螯和作用,从而减少自由基的产生^[11]。

2.2 对自由基的直接捕获作用:体外实验证明,儿茶素对过氧化氢、羟自由基和超氧阴离子均具有直接显著的捕获作用,自身参与自由基的电子转移而灭活自由基^[12]。同样,原花青素也可以直接和羟自由基、过氧化氢反应,减少氧化应激引起的细胞损伤^[13]。类化合物白藜芦醇也具有显著的捕获以氧或碳为中心的各类活性基团的生物活性^[14]。葡萄籽的总提取物亦可和超氧阴离子、羟自由基和甲基自由基直接作用,淬灭活泼的自由基基团^[15]。

2.3 影响酶生物的活性:在作用机制的研究中,相当一部分实验结果表明,葡萄籽中的抗氧化活性物质可以影响酶类的

* 收稿日期: 2001-11-23

基金项目: 教育部青年骨干教师基金资助

作者简介: 黄 梅(1975-),女,河北省石家庄市人,沈阳药科大学药理学博士研究生,方向为神经药理学。

* 通讯作者 教授,博士生导师,校长。 Tel (024)23843711-3280 E-mail wuchunf@21cn.com