

高等真菌代谢产物

高锦明 著



西北农林科技大学出版社

高等真菌代谢产物

马书明 著



科学出版社出版

国家自然科学基金资助(No. 30370019)
教育部优秀青年教师资助计划

高等真菌代谢产物

Metabolites of Higher Fungi

高锦明 著

西北农林科技大学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

高等真菌代谢产物/高锦明著. —杨凌: 西北农林科技大学出版社,
2003. 12

ISBN 7-81092-072-3

I. 高… II. 高… III. 高等真菌—代谢产物—研究 IV. R282. 71

中国版本图书馆CIP数据核字 (2003) 第102605号

高等真菌代谢产物

高锦明 著

出版发行 西北农林科技大学出版社

地 址 陕西杨凌杨武路3号 邮 编: 712100

电 话 总编室: 029-7093105 发行部: 7093302

电子邮箱 press0809@163.com

传 真 029—7093105

印 刷 杨凌三和科技印务有限公司

印 次 2003年12月第1版第2次印刷

开 本 787×960 1/16

字 数 202千字

印 张 10.25

ISBN 7-81092-072-3/R·1

定价: 18.00元

本书如有印装质量问题, 请与本社联系

内 容 简 介

本书是国家自然科学基金资助(No. 30370019)、教育部优秀青年教师资助计划、云南省自然科学基金(No. 2000B0066M)、中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室基金及西北农林科技大学重点资助项目研究的主要成果之一,是作者近5年来对10种高等真菌代谢产物研究成果的总结。

全书共11章,介绍了印度块菌、蓝黄红菇、黄鳞多孔菌、耳状网褶菌、密环菌、远东疣柄牛肝菌等10种高等真菌代谢产物的提取分离纯化方法,阐明了近百个化合物(包括10个新发现的化合物)的化学结构,初步评价了鞘脂和甾醇抑制磷脂酶A₂活性及抗HIV-1活性,介绍了从糖醇手性原料合成糖苷酶抑制剂——多羟基氮杂糖的通用方法,测定了60多种高等真菌的杀虫抑菌活性。

本书可供从事天然产物化学、微生物学、生物技术、生物工程、食品科学与工程、植物保护等高等院校专业师生及相关领域的科技人员参考。

作者简介

高锦明,男,1963年5月生于陕西省子洲县。1986年7月毕业于陕西师范大学化学系,获理学学士学位,被分配到原西北林学院任教。1998年7月获西北农林科技大学植物资源化学理学硕士学位;2001年8月获中国科学院昆明植物研究所植物化学专业方向理学博士学位;2002年在西北农林科技大学从事农药化学博士后研究工作。现任西北农林科技大学应用化学专业副教授、硕士生导师,西部植物化学国家工程研究中心首席研究员和陕南中药产业发展专家顾问组成员。主要从事天然产物化学、植物化学、天然药物化学、中药化学、有机化学、有机分析教学和科研工作,以及医药保健品、化妆品的研究与开发。先后主持或参加了十多项国家、省部级重点项目,在国内外学术刊物上发表论文70余篇,其中11篇被SCI收录,共被引用40余次;主编和合作编写教材专著5部,申请专利3项。获陕西省优秀教学成果二等奖、云南省自然科学二等奖、陕西省科技进步三等奖各1项。2001年获中国科学院院长优秀奖奖学金。

前 言

高等真菌 (higher fungi, macromycetes, macrofungi), 俗称蘑菇 (mushroom), 又称大型真菌。现在, 高等真菌指除保留原来狭义的“蘑菇”(双孢蘑菇) 之外, 更具有广义蕈菌的概念, 包括所有能形成子实体的担子菌 (Basidiomycete) 和子囊菌 (Ascomycete)。目前, 传统药用真菌已知大约有 400 种, 绝大部分是高等真菌。而用于临床的仅有少数的几十种。20 世纪 50 年代以来, 传统中药中的高等真菌如灵芝、猪苓、茯苓、冬虫夏草、马勃、雷丸等得到了系统的研究, 同时也发掘了一些新的药用真菌, 如蜜环菌、小奥德蘑、安络小皮伞、槐耳、竹红菌、树舌、薄芝、灰树花、硫磺菌等, 并对这些真菌进行了化学和药理研究, 一批制剂已用于临床。值得一提的是, 利用真菌在培养液中快速生长的特点, 一改过去利用子实体成药的局限, 直接从发酵液中提取药用成分, 这是高等真菌或蘑菇化学研究和开发的一个热点。麦角菌、虫草、蜜环菌、猴菇菌、榆耳、薄盖灵芝等使用液体发酵培养, 产生了大量结构新奇的次生代谢产物, 并有一些投入生产成药。

高等真菌化学是天然产物化学的重要组成部分之一。国外对高等真菌化学研究主要倾向于野生药用真菌子实体中或通过真菌培养寻找新的生物活性物质。近年来, 从高等真菌中得到的新天然产物, 主要有萜类、甾体、生物碱、色素类、醌类、多糖、类脂、环肽以及非蛋白氨基酸等, 其中很多具有生物活性。由于高等真菌的代谢产物具有多种结构类型和多种生理活性, 所以引起很多科学工作者的关注。

高等真菌是活性天然产物的重要来源之一。具有资源相对容易再生和可持续利用的特点, 也容易与生物工程技术相结合, 在天然产物化学研究和应用中, 有比较明显的优越性, 因而在国际上该领域的研究有着强劲的发展势头。在活性筛选的基础上, 进行我国特有的高等真菌的化学成分和活性研究, 对提高我国的微生物天然产物化学研究水平, 合理开发和利用我国丰富的微生物资源, 以及推动基因调控和生物工程技术的研究和发展, 具有重要意义。

在国家自然科学基金资助 (No. 30370019)、教育部优秀青年教师资助计划、云南省自然科学基金 (No. 2000B0066M)、中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室基金、西北农林科技大学重点资助项目支持下, 作者重点以云南产的 10 种具有开发利用价值的高等真菌为研究对

象,对其代谢产物进行了研究,旨在为这些高等真菌的进一步开发利用提供科学依据。

本研究是在作者的博士生导师刘吉开教授的悉心指导下完成的,书中主要内容出自于作者的博士论文,得到了中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室周俊院士、孙汉董院士、郝小江研究员、刘培贵研究员、邱明华研究员、谭宁华研究员、纪大千研究员、华西医科大学药学院王锋鹏教授、中国医学科学院及中国协和医科大学药用植物研究所杨峻山教授、中国科学院上海药物研究所秦国伟教授、兰州大学化学化工学院贾忠建教授、中山大学化学化工学院曾陇梅教授、中国科学院成都生物研究所张国林教授和丁立生教授、山东大学药学院娄红祥教授、云南大学药学院张洪彬教授等权威专家的审改。此外,本书还得到作者的博士后导师西北农林科技大学植物保护学院张兴教授、陕西省经济植物资源开发利用重点实验室主任张康健教授及西北农林科技大学生命科学院傅建熙教授、朱玮教授、王妹清教授、张鞍灵副教授的大力支持、鼓励。在此向各位专家、教授表示衷心地感谢。

限于本人的水平,书中难免有错误和不妥之处,恳请读者批评指正。

高 锦 明

2003 年 10 月

于西北农林科技大学生命科学院

目 录

1 引 言	(1)
1.1 来源于高等真菌的药理活性成分研究概况	(2)
1.2 来源于高等真菌的农药活性成分研究概况	(7)
1.3 寻找高等真菌药物的基本途径和方法	(11)
1.4 高等真菌代谢产物研究的目的与意义	(13)
2 印度块菌的化学成分	(16)
2.1 印度块菌营养成分	(18)
2.1.1 印度块菌氨基酸的分析	(18)
2.1.2 印度块菌脂肪酸组成分析	(18)
2.2 磷脂酶 A ₂ 抑制实验	(19)
2.3 印度块菌次生代谢产物	(20)
2.3.1 仪器与材料	(20)
2.3.2 提取与分离	(20)
2.3.3 化合物的理化和波谱数据	(21)
2.4 结果与讨论	(31)
3 蓝黄红菇的化学成分	(56)
3.1 体外抗 HIV-1 的实验	(56)
3.1.1 材料和方法	(56)
3.1.2 结果	(58)
3.2 提取与分离	(58)
3.3 化合物的理化和波谱数据	(60)
3.4 结果与讨论	(63)
4 黄鳞多孔菌的化学成分	(71)
4.1 实验部分	(71)
4.1.1 仪器与材料	(71)
4.1.2 提取与分离	(71)
4.1.3 化合物的理化和波谱数据	(72)
4.2 结果与讨论	(75)

5	耳状网褶菌的化学成分	(92)
5.1	实验部分	(92)
5.1.1	仪器与材料	(92)
5.1.2	发酵培养	(92)
5.1.3	提取与分离	(93)
5.1.4	化合物的理化和波谱数据	(93)
5.2	结果与讨论	(95)
6	蜜环菌的化学成分	(98)
6.1	实验部分	(99)
6.1.1	仪器与材料	(99)
6.1.2	提取与分离	(99)
6.1.3	化合物的理化和波谱数据	(99)
6.2	结果与讨论	(101)
7	黄白红菇的化学成分	(111)
7.1	实验部分	(111)
7.1.1	仪器与材料	(111)
7.1.2	提取与分离	(111)
7.1.3	化合物的理化和波谱数据	(112)
7.2	结果与讨论	(113)
8	远东疣柄牛肝菌的化学成分	(120)
8.1	实验部分	(120)
8.1.1	仪器与材料	(120)
8.1.2	提取与分离	(120)
8.2	化合物的结构鉴定与分析	(122)
9	茯苓皮、黄硬皮马勃及紫丁香蘑的化学成分	(133)
9.1	茯苓皮的化学成分	(133)
9.1.1	实验部分	(133)
9.1.2	化合物的结构鉴定	(133)
9.2	黄硬皮马勃的化学成分	(137)
9.2.1	提取与分离	(137)
9.2.2	结构与分析	(138)

9.3 紫丁香藤的化学成分	(139)
9.3.1 提取与分离	(139)
9.3.2 结构与分析	(140)
10 高等真菌杀虫抑菌作用的研究	(142)
10.1 材料与方法	(142)
10.2 结果与分析	(144)
10.2.1 杀虫活性测定结果	(144)
10.2.2 抑菌活性测定结果	(145)
10.3 讨 论	(147)
10.4 小 结	(147)
11 (3S, 4R, 5S, 6R)-四羟基氮杂糖的合成	(149)
11.1 实验步骤	(149)
11.2 结果与讨论	(151)
附 图	(154)

1 引 言

真菌是一种分布广阔、类群庞大的生物。据估计,全世界约有真菌 150 万种以上,我国至少有 10 万余种,目前已知的只有 69 000 种以上,其中 1 万余种能形成大型子实体,即所谓的高等真菌(higher fungi),又称为大型真菌,俗称蘑菇(mushroom)。现在,指除保留原来狭义的“蘑菇”(双孢蘑菇)之外,更具有广义蕈菌的概念,包括所有能形成子实体的担子菌(Basidiomycete)和子囊菌(Ascomycete)。我国是世界上最早认识和利用真菌的国家,历代本草对药用真菌的药性和功能都有不同程度的记载,许多传统中药如冬虫夏草、灵芝、茯苓、蜜环菌、雷丸等至今沿用不衰。

真菌代谢产物化学和生理活性的研究有悠久的历史。研究对象涉及担子菌、子囊菌和半知菌。早在一个多世纪前,C. Tanrent 就报道从麦角菌中得到神经毒性物质——具有多种生理活性的麦角碱。抗生素的发现和应用使真菌代谢产物的研究出现一个飞跃,并形成一分枝学科——微生物药理学。自从 1960 年发现黄曲霉素(aflatoxin B)具有很强的致癌毒性以来,另一类真菌代谢产物——霉菌毒素(mould toxins)已引起普遍的重视和广泛的研究。已分离鉴定了几百种具有各种生理活性的毒性代谢产物,这方面研究迄今方兴未艾。

20 世纪 50 年代后期,我国开展对麦角菌的研究,选育出产生麦角生物碱的菌株,并用液体深层发酵方法使麦角新碱投入生产。70 年代以来,相继开展对各种灵芝、猪苓、茯苓、冬虫夏草等多种真菌的化学、药理和临床的一系列研究,并研制出一批用于临床的中成药如蜜环菌片、安络痛、薄树芝制剂等。同时,研究发现,猪苓多糖、银耳多糖、云芝多糖等具有增强机体免疫力、抗癌等活性。近年来,国外对真菌多糖也较重视,已从银耳、紫芝、香菇中分离出多种多糖,其中香菇多糖(lentinan)作为免疫促进剂,已于 1998 年在美国进入二期临床。

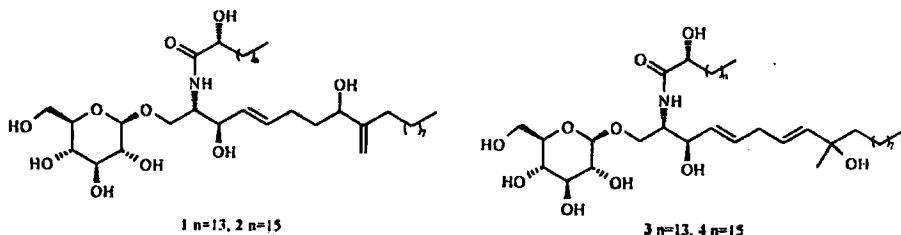
高等真菌的物种多样性决定了其代谢产物结构类型的多样化。高等真菌代谢产物结构类型主要有:萜类(三萜、二萜、倍半萜)、甾醇、生物碱、色素、环肽及非蛋白氨基酸、多糖以及类脂(lipids)等。同时,高等真菌代谢产物结构类型的多样化亦决定了它们具有多种多样的生理活性。

1.1 来源于高等真菌的药理活性成分研究概况

1.1.1 鞘脂及其类似物

鞘脂(sphingolipids)是动、植物细胞膜的组成成分之一。鞘脂及其代谢产物鞘氨醇、神经酰胺等具有多种重要生理作用,某些化合物还在细胞生理活动过程中行使化学信息物质的作用。作为鞘脂家族基本结构骨架成分的鞘氨醇本身就具有细胞信息物质作用。1987年,Bell 和 Hannun 发现鞘氨醇可以竞争性地抑制二酰基甘油和佛波醇酯对蛋白激酶 C(PKC)的活化作用,迅即引发了对鞘脂、神经酰胺等一系列衍生物的广泛兴趣,越来越多的实验结果显示它们起着一类十分重要的细胞表面识别、跨膜信号传导和第二信使的作用,涉及到蛋白质的磷酸化、蛋白激酶的调控、磷脂酶 A_2 的活化等等有关细胞生长、分化和凋亡(apoptosis)等过程。

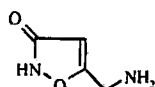
近十年来,有关鞘脂的大量文献都涉及到人类关注的重大健康问题,譬如,癌症、病毒、细菌感染、脑功能障碍以及动脉粥样硬化。鞘脂类化合物作为膜抗原和病毒、细菌及其毒素的受体,它们在细胞识别、细胞粘合、调节细胞免疫、决定血型等方面具有重要的生理作用。从国内外现有研究来看,高等真菌中普遍含有植物鞘氨醇型神经酰胺和(4E,8E)-9-甲基-4,8-鞘氨二烯型糖鞘脂。例如,从名贵鸡纵菌(*Termitomyces albuminosus*)中分得具有诱导神经轴突产生(neuritogenic)的脑苷脂 termitomycesphins A-D(1-4)。研究表明,像 neuritogenic 样类物质有可能成为用于影响中枢神经系统和周围神经系统的药物。



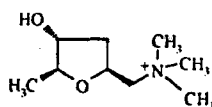
由于鞘脂是细胞膜重要的结构和功能单元,它的许多生物活性如抗 HIV-1 活性、抗肿瘤的细胞毒性以及抗真菌活性等都涉及到膜的参与,正是这一独特的性质使鞘脂及其代谢物与结构类似物有望成为理想的高活性、低毒性、可防治抗药性的新一代抗癌剂、抗 AIDS 剂和抗生素等有效药物。

1.1.2 作用于神经系统的成分

近年来,从植物、真菌中寻找 γ -氨基丁酸(GABA_A)受体活性成分的研究已取得了可喜进展。GABA_A受体活性成分发现,不仅为研制新型抗焦虑、抗痉挛或催眠镇静药物提供了可能,同时为研究 GABA_A受体药物学和生理学性质及 GABA_A受体功能障碍引起的有关疾病的病理学提供了发现生物学探针的可能性。例如,在 GABA_A受体药理学研究中,最广泛使用的外源性激动剂蝇蕈醇(muscimol,5)是从蛤蟆菌(*Amanita muscaria*)中分离得到的。它本身有致幻(hallucinogenic)、模拟神经递质 GABA 的作用。此外,从中获得的毒蕈碱(muscarine,6)具有显著的胆碱样作用。国外已经以毒蕈碱为先导结构合成了许多类似物。

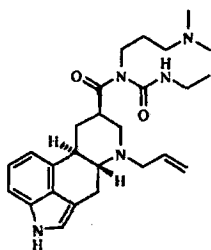


5

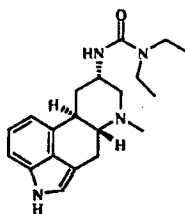


6

麦角生物碱(ergot alkaloids)是从子囊菌麦角菌(*Claviceps purpurea*)的培养发酵液中获得的一系列吲哚型生物碱。天然麦角碱可用作 α -肾上腺素、五羟色胺及多巴胺受体部分激动剂(agonists)或拮抗剂(antagonists),虽然它们的选择性差,但却是一类重要的先导化合物。在众多半合成类似物中,欧洲推出的新一代卡麦角林(cabergoline,7)和日本开发的用于治疗精神分裂症的 terguride(8)已成为最有临床价值的多巴胺 D₂受体激动剂药物,主要用于治疗帕金森病(Parkinson's disease)。



7

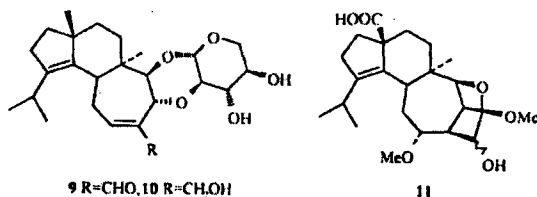


8

大鼠星形神经细胞试验表明,鸟巢烷(cyathane)型二萜具有刺激神经生长因子(NGF)合成的作用,如 NGF 合成的较强诱导剂,猴头菌素 erinacines B(9)和 C(10)及苦蘑菇(*Sarcodon scabrosus*)中的 scabronine A(11),将成为治疗严重神经元退行性疾病如 Alzheimer's 疾病的具有潜在应用前景的药物。

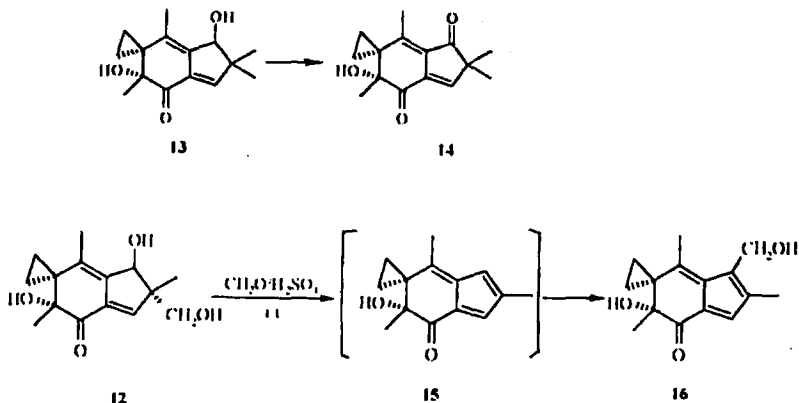
此外,猴头菌素 E(erinacine E)为一种与止痛有关的 k 阿片样物质(opioid)

受体较强的结合抑制剂(k , $IC_{50}=0.8 \mu\text{mol/L}$; μ , $IC_{50}>200 \mu\text{mol/L}$; δ , $IC_{50}>200 \mu\text{mol/L}$)。



1.1.3 抗肿瘤作用成分

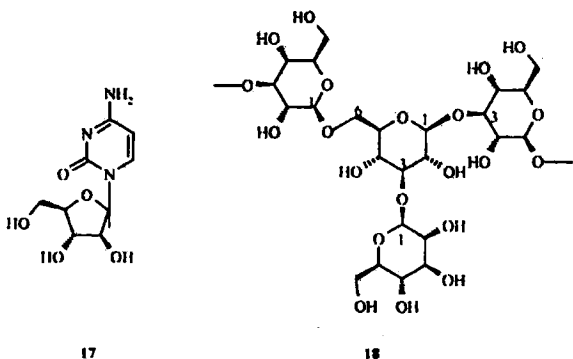
口蘑科真菌(*Omphalotus illudens*)子实体和培养发酵液中含有伊鲁烷 illudane 型倍半萜化合物,60 年代发现的 illudins S(12)和 M(13)具有强细胞毒作用,但对实体瘤有低治疗指数。经结构修饰、改造后的化合物却具有较高的治疗指数。目前合成了第一、第二和第三代类似物,如 dehydroilludin M(14), acylfulvene(15)及 6-(hydroxymethyl) acylfulvene(HMAF,16)。其中,具有强烈抗肿瘤作用的 HMAF 于 1998 年已进入一期临床。



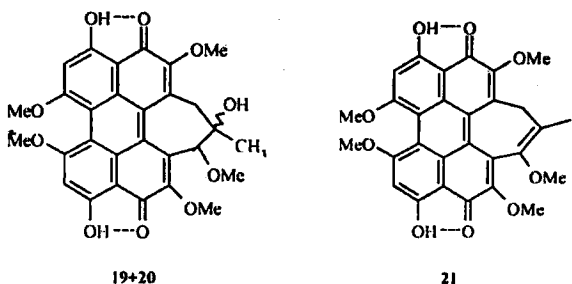
阿糖胞苷(Ara-C,17)是 1959 年由人工合成的治疗急性非淋巴白血病的有效药物。但是,日本学者却于 1992 年从毒蘑菇(*Xerocomus nigromaculatus*)中以天然产物的形式获得,它对细胞株 P388 有强细胞毒作用($IC_{50}=0.004 \mu\text{g/mL}$),由此可以看出从高等真菌中寻找具有强烈生理活性的化合物是完全可能的。

1986 年,日本科研制药株式会社推出的抗肿瘤药物裂褶多糖 sizofilan(18),就是从裂褶菌(*Schizophyllum commune* Fr.)菌丝体培养液中获得。

光动力疗法是一种治疗肿瘤和癌症的新型疗法。最近的研究表明,来自云南的箭竹寄生真菌——竹红菌(*Shiraia bambusicola*)中的竹红菌素 A-C(hypo-

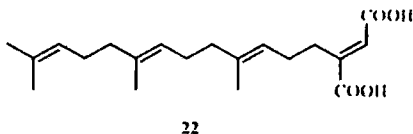


crellin A-C,19~21)具有很好的抗病毒作用和对恶性肿瘤细胞的杀伤作用,这说明竹红菌素是一种具有潜在应用前景的光疗药物。



1.1.4 作用于心血管系统的成分

从裂褶菌中分离到新的鲨烯合成酶(SQS)较强的选择性抑制剂 schizostatin(22),可用于治疗高血脂症。

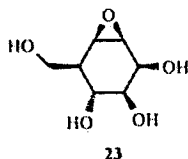


灵芝、冬虫夏草等能降低小鼠整体的耗氧量,提高耐缺氧能力,降低血清胆固醇,对家兔有明显的抑制血小板凝集作用,临床上对心肌梗塞有一定的保护作用。

1.1.5 糖苷酶抑制剂

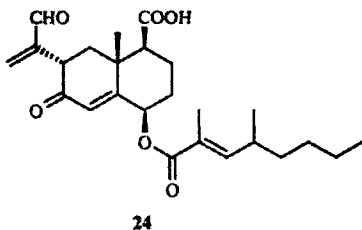
淀粉酶(αmylase)和糖苷酶(glycosidase)催化碳水化合物的水解,对食物中的碳水化合物的消化起着重要作用。糖苷酶抑制剂可用作治疗肥胖症、动脉硬

化症、糖尿病、高脂血症等病症的药物,因此从自然界中寻找此类抑制剂倍受重视。1989 年发现,由木层孔菌(*Phellinus* sp.)产生的 cyclophellitol(**23**)对杏仁 β -糖苷酶有强烈抑制活性($IC_{50} = 0.8 \mu\text{g/mL}$)。



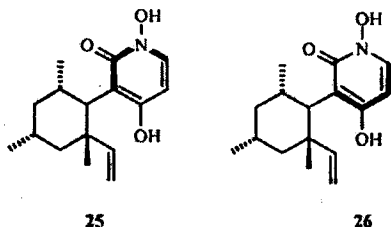
1.1.6 HIV 整合酶抑制剂

整合酶(integrase)是病毒 DNA-pol 基因编码蛋白之一,它是 HIV 病毒基因表达和病毒复制所必需的酶,因此是抗艾滋病药物作用的一个合理靶点。近年来,对寻找 HIV 整合酶抑制剂的研究异常活跃。例如,从炭棒菌(*Xylaria* sp.)(MF6254)发酵液中获得艾里莫芬烷(remophilane)型倍半萜类化合物 integric acid(**24**)是活性很高的整合酶抑制剂($IC_{50} = 3 \sim 10 \mu\text{mol/L}$)。



1.1.7 抗疟疾活性成分

来源于虫生真菌(*Cordyceps nipponica*)菌丝体中的 2-吡啶酮类互为拓扑异构体成分虫草吡啶酮 A(**25**)和 B(**26**)(cordypyridones A 和 B),体外显示强烈的抗疟疾活性,其 IC_{50} 值分别为 0.066 和 $0.037 \mu\text{g/mL}$,且细胞毒性极弱。



此外,真菌多糖具有抗癌和调节免疫功能等生理活性,是近年来研究较多、发展较快的一类化合物。