

小球腔菌属次级代谢产物的化学及其生物学活性研究进展

刘丛丛^{1,2}, 韩俊杰^{2,3*}, 刘宏伟^{2,3}

¹河北大学生命科学学院, 保定 071002; ²中国科学院微生物研究所, 北京 100101; ³中国科学院大学存济医学院, 北京 100049

摘要: 小球腔菌可引发油菜黑胫病等给农业造成严重的经济损失。该属真菌的次级代谢产物研究开始较早, 化合物分离工作主要围绕黑胫病致病菌株, 研究发现该属真菌的次级代谢产物十分丰富, 许多化学结构新颖、具有显著生物活性的化合物均被发现。为使该属的真菌资源得到充分的开发与利用, 本文对 40 多年来报道的小球腔菌属次级代谢产物的化学及其生物学活性进行了较为全面的综述。

关键词: 小球腔菌属; 茎点霉属; 萜; 聚酮; 非核糖体多肽

中图分类号: R284

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.12.028

Secondary Metabolites Produced by *Leptosphaeria* and Their Bioactivities

LIU Cong-cong^{1,2}, HAN Jun-jie^{2,3*}, LIU Hong-wei^{2,3}

¹College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China;

²State Key Laboratory of Mycology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

³Savaid Medical School, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: *Leptosphaeria* causes blackleg of rapeseed/canola crops and brings serious yield losses in agriculture. The study on secondary metabolites produced by *Leptosphaeria* started very early, the isolation work was mainly related to blackleg pathogenic strains. The present study demonstrated that the secondary metabolites of *Leptosphaeria* were rich, furthermore, many compounds possessed novel structure and notable biological activities. Here were viewed the chemical structure and bioactivities of secondary metabolites produced by *Leptosphaeria* during the past 40 years to draw more attention to the fungus.

Key words: *Leptosphaeria*; *Phoma*; terpenes; polyketides; NRPS

小球腔菌属 *Leptosphaeria* 隶属于子囊菌门 Ascomycota、座囊菌纲 Dothideomycetes、格孢腔菌目 Pleosporales、小球腔菌科 Leptosphaeriaceae, 是一类植物病原真菌^[1]。由小球腔菌 *L. biglobosa* 和 *L. maculans* 引起的油菜黑胫病, 是油菜以及十字花科蔬菜的一种重要的真菌病害, 在世界各大油菜产区造成严重的经济损失^[2,3]。小球腔菌属的无性阶段为茎点霉属 (*Phoma*), 也是一类真菌病原菌, 如 *P. macdonaldii* 可引起向日葵黑茎病^[4], *P. wasabiae* 是引起山葵墨入病的病原菌^[5]。目前, 对小球腔菌的研究多集中在其致病机制和侵染范围方面, 而对小球腔菌次级代谢产物的研究较少。本文对 40 多年来报道的小球腔菌属及其无性阶段茎点霉属部分 (*P. lingam*) 次级代谢产物的化学及其生物学活性

研究进展进行了综述。

1 小球腔菌属的化学成分及其生物学活性

作为一种重要的植物病原真菌, 小球腔菌属次级代谢产物的研究工作开始较早, 在 1977 年 Ferezou JP 等已从主要的致病种 *L. maculans* 的无性阶段 *P. lingam* 中分离得到重要的植物毒素西洛菌素 (Sirodesmin PL)^[6]。截至 2016 年, 相关文献已报道了来源于多个种的 118 个化合物, 主要分为萜类化合物、聚酮类化合物、非核糖体多肽 (NRPS) 类化合物和其它含氮化合物等。现将小球腔菌中分离得到的化合物信息归类整理 (表 1)。

1.1 萜类

1.1.1 倍半萜类

PedrasMSC 等 1999 年首次从 *L. maculans* 的无性型菌株 *P. lingam* 中分离得到倍半萜类化合物 Phomalairdenone A(1)^[7]; 2005 年, 又分离得到一系

表 1 小球腔菌中分离到的化合物(1~118)

Table 1 Compounds isolated 1-118 from *Leptosphaeria* sp.

编号 No.	化学名称 Chemical name	来源 Biological source	生物活性 Bioactivities	文献 Ref.
1	Phomalairdenone A	<i>L. maculans</i>	Phytotoxicity	[7]
2	Phomalairdenone B	<i>L. maculans</i>	-	[8]
3	Phomalairdenone C	<i>L. maculans</i>	-	[8]
4	Phomalairdenone D	<i>L. maculans</i>	Phytotoxicity	[8]
5	Phomalairdenol A	<i>L. maculans</i>	Phytotoxicity	[8]
6	Phomalairdenol B	<i>L. maculans</i>	-	[8]
7	Phomalairdenol C	<i>L. maculans</i>	-	[8]
8	Phomalairdenol D	<i>L. maculans</i>	-	[8]
9	Iairdinol A	<i>Leptosphaeria</i> sp. IV403	-	[8]
10	Leptosphaeric acid	<i>L. maculans</i>	Phytotoxicity	[9]
11	Maculaniol	<i>L. maculans</i>	-	[10]
12	Maculaniol acid	<i>L. maculans</i>	-	[10]
13	Phomenoic acid	<i>P. lingam/L. maculans</i>	Antifungl	[11]
14	Obionin A	<i>L. obiones</i>	Potential CNS activity	[12]
15	Leptosphaerodione	<i>L. oraemaris</i>	-	[13]
16	Leptosphaerolide	<i>L. oraemaris</i>	-	[13]
17	Leptosphaerone A	<i>L. herpotrichoides</i>	Phytotoxicity	[14]
18	Leptosphaerone B	<i>L. herpotrichoides</i>	Phytotoxicity	[14]
19	Phomaligol A	<i>P. lingam/L. maculans</i>	-	[15]
20	Phomaligol A ₁	<i>P. lingam/L. maculans</i>	-	[15]
21	Phomaligadione A	<i>P. lingam/L. maculans</i>	-	[15]
22	Phomaligadione B	<i>P. lingam/L. maculans</i>	-	[15]
23	Phomapyrone A	<i>L. maculans</i>	-	[16]
24	Phomapyrone B	<i>L. maculans</i>	-	[16]
25	Phomapyrone C	<i>L. maculans</i>	-	[16]
26	Phomapyrone D	<i>L. maculans</i>	-	[17]
27	Phomapyrone E	<i>L. maculans</i>	-	[17]
28	Phomapyrone F	<i>L. maculans</i>	-	[17]
29	Phomapyrone G	<i>L. maculans</i>	-	[17]
30	Phomenin B	<i>L. maculans</i>	-	[17]
31	Infectopyrone	<i>L. maculans</i>	-	[17]
32	1-Amino-2,6-dimethyl-6-hydroxy-4-(2'-methyl-1-oxobutyl)-3-methoxy-2,4-cyclohexadien-1-One	<i>P. lingam/L. maculans</i>	-	[18]
33	Phomaligin A	<i>P. lingam/L. maculans</i>	-	[18]
34	1-(Amino-2'-hydroxyethyl)-2,6-dimethyl-6-(2'-methyl-1-butyryloxy)-3-methoxy-2,4-cyclohexadien-1-one	<i>P. lingam/L. maculans</i>	-	[18]
35	Leptosphaerone	<i>Leptosphaeria</i> sp. IV403	-	[19]
36	2,4-Dihydroxy-3,6-dimethylbenzaldehyde	<i>L. maculans</i>	Suppress the growth of canola and brown mustard	[20]
37	Spiroleptoshol	<i>L. doliolum</i>	Cytotoxic	[21]

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	化学名称 Chemical name	来源 Biological source	生物活性 Bioactivities	文献 Ref.
38	Spiroleptosphol B	<i>L. doliolum</i>	-	[22]
39	Spiroleptosphol C	<i>L. doliolum</i>	-	[22]
40	Norleptosphol C	<i>L. doliolum</i>	-	[22]
41	Hydroleptosphol.	<i>L. doliolum</i>	-	[22]
42	Leptosphaerin A	<i>Leptosphaeria</i> sp.	-	[23]
43	Leptosphaerin B	<i>Leptosphaeria</i> sp.	-	[23]
44	Leptosphaerin C	<i>Leptosphaeria</i> sp.	-	[23]
45	Leptosphaerin D	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Antifungal Weak α -Glucosidase inhibitory activity	[23]
46	Leptosphaerin E	<i>Leptosphaeria</i> sp.	-	[23]
47	Leptosphaerin G	<i>Leptosphaeria</i> sp.	-	[23]
48	Leptosphaerin F	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Antifungal	[23]
49	Monodictysin B	<i>Leptosphaeria</i> sp.	-	[23]
50	2-(2,6-Dihydroxybenzoyl)-3-hydroxy-5-methylbenzoic acid	<i>Leptosphaeria</i> sp.	-	[23]
51	2-(2,6-Dihydroxy-4-methylbenzoyl)-6-hydroxybenzoic acid	<i>Leptosphaeria</i> sp.	-	[23]
52	(<i>S</i>)-8-Hydroxy-6-methoxy-4,5-dimethyl-3-methylene-isochroman-1-one	<i>Leptosphaeria</i> sp. KTC 727	Antifungal	[24]
53	3,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-6-methoxy-4,5-dimethyl-isochroman-1-one	<i>Leptosphaeria</i> sp. KTC 727	Antifungal	[24]
54	(<i>R</i>)(<i>R</i>)-3,4-Dihydro-4,6,8-trihydroxy-4,5-dimethyl-3-methyleneisochroman-1-one	<i>Leptosphaeria</i> sp. KTC 727	Antifungal	[24]
55	(<i>R</i>)-7-Hydroxy-3-((<i>S</i>)-1-hydroxyethyl)-5-methoxy-3,4-dimethylisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-one	<i>Leptosphaeria</i> sp. KTC 727	Antifungal	[25]
56	(<i>R</i>)-3,4-Dihydro-4,8-dihydroxy-6-methoxy-4,5-dimethyl-3-methyleneisochroman-1-one	<i>Leptosphaeria</i> sp. KTC 727	Antifungal	[25]
57	(<i>R</i>)-3-Acetyl-7-hydroxy-5-methoxy-3,4-dimethylisobenzofuran-1(3 <i>H</i>)-one	<i>Leptosphaeria</i> sp. KTC 727	Antifungal	[25]
58	Tetrahydroaltersolanol E	<i>Leptosphaeria</i> sp. YY-B4	Weak α -Glucosidase inhibitory	[26]
59	Macrosporin	<i>Leptosphaeria</i> sp. YY-B4	Weak α -Glucosidase inhibitory	[26]
60	Ravenelin	<i>Leptosphaeria</i> sp. YY-B4	Weak α -Glucosidase inhibitory	[26]
61	5,6,8-3-Hydroxy-4-(1'-Hydroxyethyl)-isocoumarin	<i>Leptosphaeria</i> sp. YY-B4	Weak α -Glucosidase inhibitory	[26]
62	1,2-Benzenediacarboxaldehyde-3,4,5-trihydroxy-6-methyl	<i>Leptosphaeria</i> sp. YY-B4	Weak α -Glucosidase inhibitory	[26]
63	Sirodesmin PL	<i>P. lingam/L. maculans</i>	Phytotoxicity	[6]
64	Sirodesmin H	<i>P. lingam/L. maculans</i>	Phytotoxicity	[27]
65	Sirodesmin J	<i>P. lingam/L. maculans</i>	Phytotoxicity	[28]
66	Sirodesmin K	<i>P. lingam/L. maculans</i>	Phytotoxicity	[28]
67	Deacetylsirodesmin PL	<i>P. lingam/L. maculans</i>	Phytotoxicity	[28]
68	Leptomaculin A	<i>L. maculans</i>	-	[29]
69	Leptomaculin B	<i>L. maculans</i>	-	[29]
70	Leptomaculin C	<i>L. maculans</i>	-	[29]
71	Leptomaculin D	<i>L. maculans</i>	-	[29]
72	Leptomaculin E	<i>L. maculans</i>	-	[29]

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	化学名称 Chemical name	来源 Biological source	生物活性 Bioactivities	文献 Ref.
73	Deacetyllepptomaculin C	<i>L. maculans</i>	-	[29]
74	Deacetyllepptomaculin D	<i>L. maculans</i>	-	[29]
75	Deacetyllepptomaculin E	<i>L. maculans</i>	-	[29]
76	Phomamide	<i>P. lingam/L. maculans</i>	-	[30]
77	Phomalirazine	<i>P. lingam/L. maculans</i>	Phytotoxicity	[31]
78	3-(Methylthio) phomamide	<i>P. lingam/L. maculans</i>	-	[28]
79	Acetylphomamide	<i>P. lingam/L. maculans</i>	-	[28]
80	Phomalide	<i>P. lingam/L. maculans</i>	Phytotoxicity	[32, 33]
81	Polanrazine A	<i>P. lingam/L. maculans</i>	Phytotoxicity	[34]
82	Polanrazine B	<i>P. lingam/L. maculans</i>	Phytotoxicity	[35]
83	Polanrazine C	<i>P. lingam/L. maculans</i>	Phytotoxicity	[35]
84	Polanrazine D	<i>P. lingam/L. maculans</i>	Phytotoxicity	[35]
85	Polanrazine E	<i>P. lingam/L. maculans</i>	Phytotoxicity	[35]
86	Polanrazine F	<i>P. lingam/L. maculans</i>	Phytotoxicity	[35]
87	Leptosin A	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[39]
88	Leptosin B	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[39]
89	Leptosin C	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[39]
90	Leptosin D	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[39]
91	Leptosin E	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[39]
92	Leptosin F	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[39]
93	Leptosin G	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[40]
94	Leptosin G1	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[40]
95	Leptosin G2	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[40]
96	Leptosin H	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[41]
97	Leptosin I	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[41]
98	Leptosin J	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[41]
99	Leptosin K	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[42]
100	Leptosin K1	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[42]
101	Leptosin K2	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[42]
102	Leptosin M	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity PTK, CaMKII, Human Topoisomerase II inhibitory	[43]
103	Leptosin M1	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[43]
104	Leptosin N	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[43]
105	Leptosin N1	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[43]
106	Leptosin O	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[43]
107	Leptosin S	<i>Leptosphaeria</i> sp.	-	[44]
108	Leptosin Q	<i>Leptosphaeria</i> sp.	-	[44]
109	Leptosin P	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Cytotoxicity	[44]
110	Leptosin R	<i>Leptosphaeria</i> sp.	-	[44]
111	Depsilairdin	<i>L. maculans</i>	Phytotoxicity	[45]

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	化学名称 Chemical name	来源 Biological source	生物活性 Bioactivities	文献 Ref.
112	Leptosphaerin	<i>L. oraemaris</i>	-	[46, 47]
113	Dioxibrassinin	<i>L. maculans</i>	-	[48]
114	Brassilexin	<i>L. maculans</i>	Phytotoxicity	[48]
115	3-Formyl-1H-indole-2-sulfonic acid	<i>L. maculans</i>	-	[49]
116	Leptocillin	<i>Leptosphaeria</i> sp.	Anti-bacterial activity	[50]
117	Maculansin A	<i>L. maculans</i>	Phytotoxicity	[20]
118	Maculansin B	<i>L. maculans</i>	-	[20]

注: CNS: 中枢神经系统; α -Glucosidase: 葡萄糖苷酶; PTK: 酪氨酸蛋白激酶; CaMKI II: 蛋白激酶; Topoisomerase II: 拓扑异构酶 II。

列 Phomalairdenone A 的类似物 Phomalairdenone B-D (2~4) 和 Phomalairdenols A-D (5~8) 及 1 个桉叶烷型倍半萜 Lairdinol A (9) [8]。化合物 1、4、5 能够使

芥菜型油菜产生病灶。2003 年 Liu JY 等从 *Leptosphaeria* sp. IV403 中分离得到一个新骨架倍半萜 Leptosphaeric acid (10) [9] (图 1)。

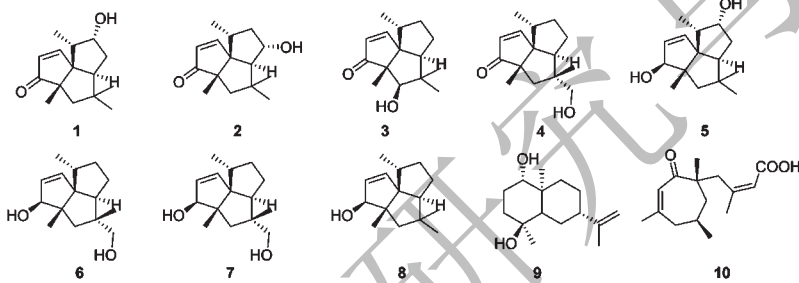


图 1 化合物 1~10 的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of compounds 1-10

1.1.2 三萜

1991 年 Dahiya 等在 *L. maculans* 中发现了 2 个五环三萜类化合物, 分别为木栓烷型三萜 Maculaniol (11) 和乌苏烷型三萜 Maculaniol acid (12) [10] (图 2), 这是首次在 *L. maculans* 中发现三萜类化合物。

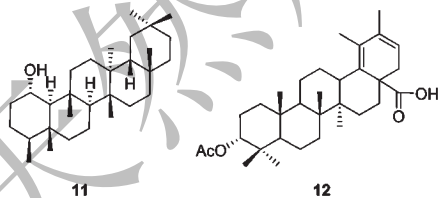


图 2 化合物 11~12 的化学结构

Fig. 2 Chemical structure of compounds 11-12

1.2 聚酮类

小球腔菌中含有丰富的聚酮类化合物, 其中很多化合物具有癌细胞毒或植物细胞毒活性。1984 年 Devys M 等在 *L. maculans* 的无性型菌株 *P. lingam* 的菌丝体中分离得到化合物 Phomenoic acid (13), 该化合物具有抗真菌活性 (图 3) [11]。

Poch GK 和 Gloer JB 1989 年从海洋来源的 *L. obiones* 中分离得到化合物 Obionin A (14), 该化合物具有抑制多巴胺与其配体结合的活性, 虽然该菌株对某些水生生物具有毒性但是并没有发现化合物 14 具有此毒性 [12]。1991 年 Guerriero A 等在来源于海洋的小球腔菌 *L. oruemaris* 中分离出化合物 Leptosphaerolide (15) 和 Leptosphaerodione (16) (图 3), 在生物合成途径上, 16 可能是 15 的前体化合物 [13]。

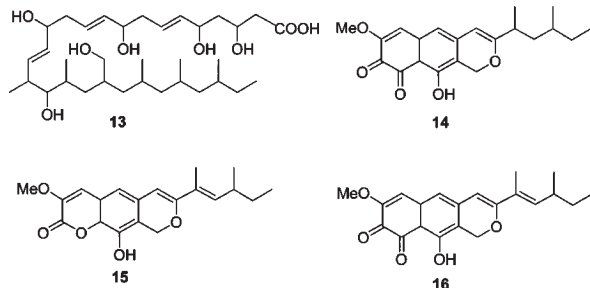


图 3 化合物 13~16 的化学结构

Fig. 3 Chemical structure of compounds 13-16

1993 年 Ayer 等从植物致病菌 *L. herpotrichoides*

中分离得到化合物 Leptosphaerone A (**17**) 和 B (**18**) (图 4), 它们具有植物细胞毒性^[14]。

Pedras MSC 等 1993 年从 *L. maculans* 的无性型菌株 *P. lingam* NB-2 中分离得到化合物 Phomaligol A (**19**)、Phomaligol A₁ (**20**)、Phomaligadione A (**21**) 和 Phomaligadione B (**22**)^[15] (图 4)。Pedras MSC 在研

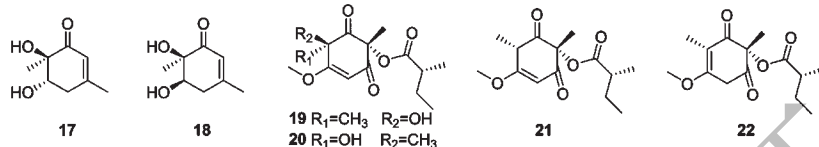


图 4 化合物 17 ~ 22 的化学结构

Fig. 4 Chemical structure of compounds 17-22

Pedras SMC 等首先于 1994 年在 *L. maculans* 中发现了吡喃酮类化合物 Phomapyrones A-C (**23** ~ **25**)^[16], 随后又于 2005 年发现了同类化合物 Phoma-

pyrones D-G (**26** ~ **29**), 以及已知化合物 Phomenin B (**30**) 和 Infectopyrone (**31**), 并推测了 Phomapyrones 类化合物的生源合成途径^[17] (图 5, 6)。

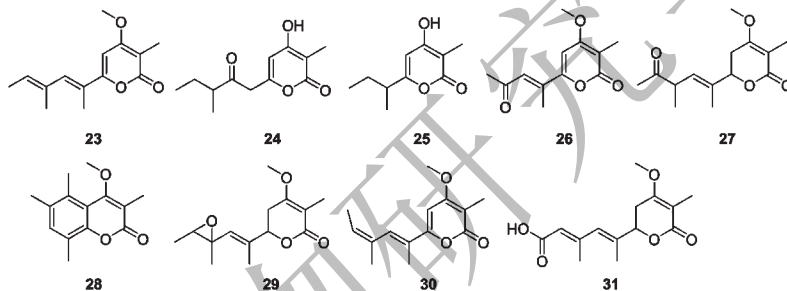


图 5 化合物 23 ~ 31 的化学结构

Fig. 5 Chemical structure of compounds 23-31

1995 年 Pedras MSC 等在 *L. maculans* 的无性型菌株 *P. lingam* 中分离出 3 个黄色色素, 分别为 1-Amino-2, 6-dimethyl-6-hydroxy-4-(2'-methyl-1-oxobutyl)-3-methoxy-2, 4-cyclohexadien-1-one (**32**)、Phomaligin A (**33**) 和 1-(Amino-2'-hydroxyethyl)-2, 6-dimethyl-6-(2'-methyl-1-butyryloxy)-3-methoxy-2, 4-cyclohexadien-1-one (**34**)^[18] (图 7)。Pedras MSC 等指出, 弱致病型的 *P. lingam* 在次级代谢产物上与 *P. wasabiae* 很相近, 推测二者间有很近的亲缘关系。

2002 年 Liu JY 等从分离自花黄蒿的小球腔菌 *Leptosphaeria* sp. IV403 中分离出新骨架化合物 Leptosphaerone (**35**)^[19] (图 7)。

2008 年 Pedras MSC 等从 *L. maculans* 中分离出苯环取代的化合物 2,4-Dihydroxy-3,6-dimethylbenzaldehyde (**36**) (图 7), 实验结果表明 **36** 可强烈抑制油菜和芥菜根的生长, 在 0.5 mM 的浓度下对油菜和芥菜根的长度抑制分别达到 1/6 和 1/25^[20]。

Hashimoto M 等分别于 2008 年和 2009 年在 *L. doliolum* 中发现了化合物 Spiroleptosphol (**37**) 和化合物 Spiroleptosphols B-C (**38** ~ **39**)、Norleptosphol C (**40**)、Hydroleptosphol (**41**) (图 7)。化合物 **38** ~ **41** 以主要是 **37** 为前体化合物, 经过一系列生化反应得到。化合物 **37** 和 **39** 具有癌细胞毒活性, 其中化合物 **39** 对 HepG₂ 细胞具有中等的抑制活性 (浓度为 50 μM 时抑制率为 20%)^[21,22]。

2010 年 Lin J 等在 *Leptosphaeria* sp. 中发现了 7 个新的聚酮类化合物, 命名为 Leptosphaerin A-G (**42** ~ **48**), 以及 3 个已知聚酮类化合物 Monodictysin B (**49**)、2-(2, 6-Dihydroxybenzoyl)-3-hydroxy-5-methylbenzoic acid (**50**) 和 2-(2, 6-Dihydroxy-4-methylbenzoyl)-6-hydroxybenzoic acid (**51**) (图 8)。化合物 **45** 表现出抗植物内生真菌 *Fusarium nivale* 和 *Piricularia oryzae* 的活性, 化合物 **48** 则可以很好的抑制黄曲霉的生长^[23]。

2011 年 Tayone WC 等从 *Leptosphaeria* sp. KTC

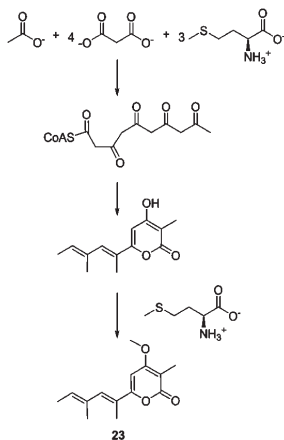


图6 Phomapyrone A (23) 的生物合成途径

Fig. 6 Biosynthetic pathway of Phomapyrone A (23)

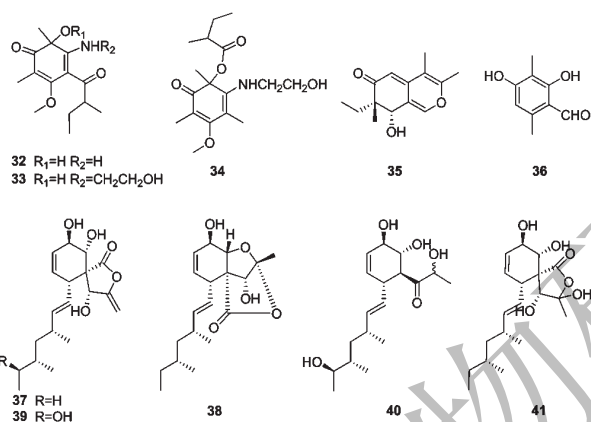


图7 化合物 32~41 的化学结构

Fig. 7 Chemical structure of compounds 32-41

727 中分离出新的异苯并吡喃酮 (*S*)-8-Hydroxy-6-methoxy-4,5-dimethyl-3-methylene-isochroman-1-one

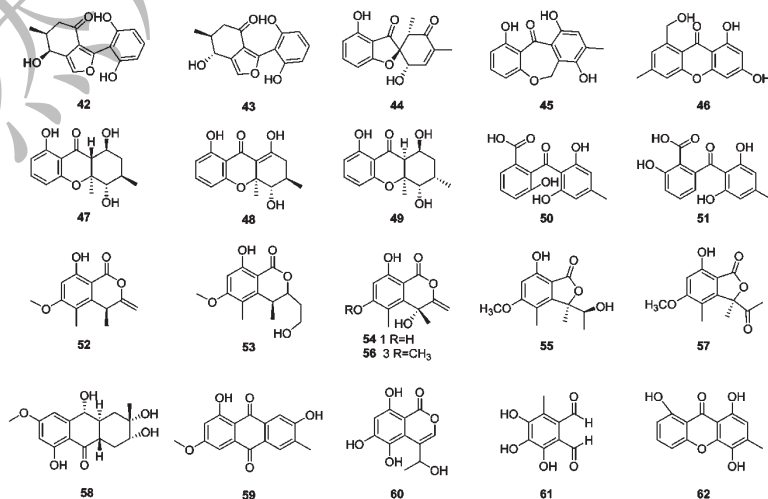


图8 化合物 42~62 的化学结构

Fig. 8 Chemical structure of compounds 42-62

(52)、3,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-6-methoxy-4,5-dimethyl-isochroman-1-one (53)、(*R*)-3,4-Dihydro-4,6,8-trihydroxy-4,5-dimethyl-3-methyleneisochroman-1-one (54)、(*R*)-7-Hydroxy-3-((*S*)-1-hydroxyethyl)-5-methoxy-3,4-dimethylisobenzofuran-1(3*H*)-one (55) 和异苯并吡喃酮 (*R*)-3,4-Dihydro-4,8-dihydroxy-6-methoxy-4,5-dimethyl-3-methyleneisochroman-1-one (56)、(*R*)-3-Acetyl-7-hydroxy-5-methoxy-3,4-dimethylisobenzofuran-1(3*H*)-one (57) (图8)。化合物 52~57 对 *Cochliobolus miyabeanus* 的菌丝生长具有不同程度的抑制作用,其中 56 的抑菌活性达到 $0.5 \mu\text{g/mL}$ (IC_{50})^[24,25]。

2016 年,Ge SQZ 等从一株分离自西藏龙胆的小球腔菌 *Leptosphaeria* sp. YY-B4 中分离出 6 个化合物,包括 2 个萜醌衍生物 Tetrahydroaltersolanol E (58)、Macrosporin (59), 1 个异香豆素类衍生物 5,6,8-3-Hydroxy-4-(1'-Hydroxyethyl)-isocoumarin (60), 1 个苯二醛类化合物 1,2-Benzenedicarboxaldehyde-3,4,5-trihydroxy-6-methyl (61) 和已知化合物 Leptosphaerin D (45)、Ravenelin (62) (图8), 这些化合物对 α -葡萄糖苷酶具有微弱的抑制作用^[26]。

1.3 非核糖体多肽 (NRPS) 类

小球腔菌属的次级代谢产物中含有丰富的含二酮哌嗪结构化合物,其中很多化合物显示出很强的植物细胞毒活性或癌细胞毒活性,是小球腔菌属中重要的一类活性成分。在化学结构上的差异主要体现在碳骨架多样、取代基团不同及复杂的立体构型等方面。小球腔菌中发现的 NRPS 类化合物主要是 epipolythiodioxopiperazines (聚硫二酮哌嗪) 类,

dioxopiperazines(不含硫的二酮哌嗪类)类和二聚体 epipolysulfanyldioxopiperazines(硫基二酮哌嗪)类。

小球腔菌作为植物病原菌,其产生的主要毒素西洛菌素 Sirodesmin PL(**63**)于1977年由 Ferezou JP 等从 *L. maculans* 的无性型 *P. lingam* 中分离得到^[6],随后同类化合物 Sirodesmin H(**64**)^[27], Sirodesmins J-K(**65**,**66**)、Deacetylsirodesmin PL(**67**)^[28]等一系列 epipolythiodioxopiperazines 类(聚硫二酮哌嗪)化合物相继被分离得到。此类化合物的特点是在二酮哌嗪的结构上引入了硫桥,同类化合物之间的区别在于含硫的数量不同。**63**是非宿主选择性的植物毒素,不会引起植物产生抗毒素(植物保卫素),Sirodesmins 具有很强的植物细胞毒活性,可使作物叶片组织细胞裂解,产生圆形病斑。2008年 Pedras MSC 等发现了 Sirodesmins 的类似物 Leptomaculins A-E(**68**~**72**)和 Deacetylleptomaculins C-E(**73**~**75**)^[29]。与 Sirodesmins 类化合物相比,Leptomaculins、Deacetylleptomaculins 这两类化合物均不具有植物细胞毒和诱导植物产生抗毒素的生物活性(图9)。

Sirodesmins 类化合物是 *P. lingam* 的重要产物,代表着病原菌对植物的侵染毒力大小。对于此类化合物的生物合成途径,一些化合物的发现提供了有价值的参考。1980年 Ferezou JP 等在 *L. maculans* 的无性型菌株 *P. lingam* 中发现了化合物 Phomamide(**76**)(图9),它被认为是 sirodesmins 类化合物的中间产物^[30]。1989年 Pedras MSC 等在 *P.*

lingam 的发酵液中发现了 Sirodesmin PL 合成的前体 Phomalirazine(**77**)(图9),与 epipolythiodioxopiperazines 的结构相比**77**中包含一个新的六元环和没有烷基化的氮原子,同时**77**的化学结构对揭示二氧哌嗪结构中硫桥的形成具有重要的意义,**77**的植物毒性高于**63**(Sirodesmin PL),在对植物子叶的活性测试中**77**起作用的浓度是 10^{-5} M,而**63**起作用的浓度是 2×10^{-4} M^[31]。

1990年 Predas MSC 等从 *P. lingam* 中分离到化合物 Phomamide 的甲硫基取代产物 3-(Methylthio)phomamide(**78**),和**76**的乙酰化产物 Acetylphomamide(**79**)(图9),Predas MSC 等推测**78**的独特化学结构为下一步二氧哌嗪氧环中引入硫桥做好了准备^[28]。

Pedras MSC 和 Taylor JL 于1993年在 *L. maculans* 的无性型菌株 *P. lingam* 中研究发现当孢子萌发时间在24~60h之间时可产宿主选择性毒素 Phomalide(**80**)(图9),培养时间大于60h则产 sirodesmins 类化合物,这是首次从强致病菌株中分离出宿主选择性毒素,且只有强致病型菌株才能产生该化合物。当孢子分泌该化合物时植物受到严重的损伤,从而使病原菌得以快速定植^[32]。1999年 Ward DE 等完成了对**80**的全合成,并对生物活性进行了进一步测试,发现**80**可使易感型油菜叶产生坏死、退绿、变红等病斑,但对黑胫病有抗性的棕色芥即使在较高浓度(10^{-4} M)也不会引起病变^[33]。

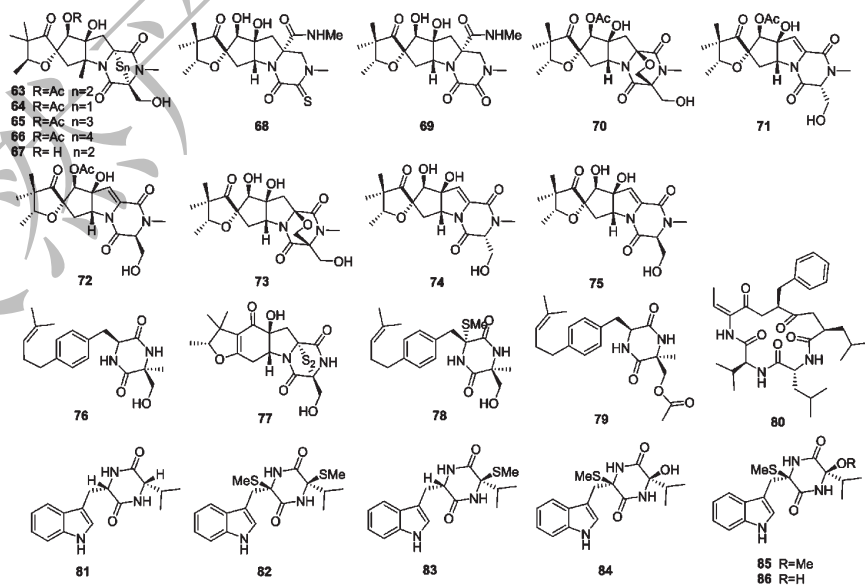


图9 化合物63~86的化学结构

Fig. 9 Chemical structure of compounds 63-86

Pedras MSC 等于 1998 在 *L. maculans* 的无性阶段 *P. lingam* 中发现了 dioxopiperazines (不含硫的二酮哌嗪) 类化合物 L-valyl-L-tryptophan anhydride (**81**)^[34], 2001 年又发现了一系列 dioxopiperazines 类化合物 Polanrazines B-F (**82** ~ **86**), 重新命名 L-valyl-L-tryptophan anhydride 为 Polanrazines A^[35]。Polanrazines 类化合物(图 9)属于宿主选择型毒素, 研究中发现, 化合物化合物 **83** 和 **85** 侵染棕色芥后可引起棕色芥叶产生 1 ~ 3 mm 的病斑(5×10^{-4} M), 侵染油菜和白芥菜后则不会对其造成损伤。

上世纪八十年代, 许多生物活性物质如河豚毒素、新骏河毒素等陆续从海洋微生物中分离出来^[36-38], 因此海洋来源的微生物代谢产物成为研究热点。除上述的聚酮类化合物 **14**、**15**、**16** 分离自海洋来源的小球腔菌外, epipolysulfanyldioxopiperazines 类二聚体化合物是分离自来源于海洋的小球腔菌中另一类重要的活性成分, 迄今为止, 从来源于海洋的

小球腔菌中共发现了 23 个 epipolysulfanyldioxopiperazines 类二聚体化合物。Takahashi C 等 1994 年到 1995 年在附着在海藻上的小球腔菌菌丝体中分离出了化合物 Leptosins A-F (**87** ~ **92**)^[39], Leptosin G (**93**), Leptosin G₁ (**94**), Leptosin G₂ (**95**)^[40], Leptosins H-J (**96** ~ **98**)^[41] 以及 Leptosin K (**99**), Leptosin K₁ (**100**), Leptosin K₂ (**101**)^[42]。Yamori T 等分别在 2002 年和 2004 年分离得到化合物 Leptosin M, Leptosin M₁, Leptosin N, Leptosin N₁ (**102** ~ **105**)^[43] 和 Leptosins O-S (**106** ~ **110**)^[44]。这些化合物大部分对 P388 细胞都表现出细胞毒活性, 其中化合物 **87** ~ **89**、**93** ~ **96** 的 ED₅₀ 值达到 1.75 ~ 4.6 ng/mL。化合物 **87** ~ **92** 对人肿瘤细胞 Sarcoma 180 表现出细胞毒活性。化合物 **102** 对人类癌细胞具有很强的细胞毒活性, 同时对酪氨酸蛋白激酶 PTK、蛋白激酶 CaMKI II 和人拓扑异构酶 II 有抑制作用(图 10)。

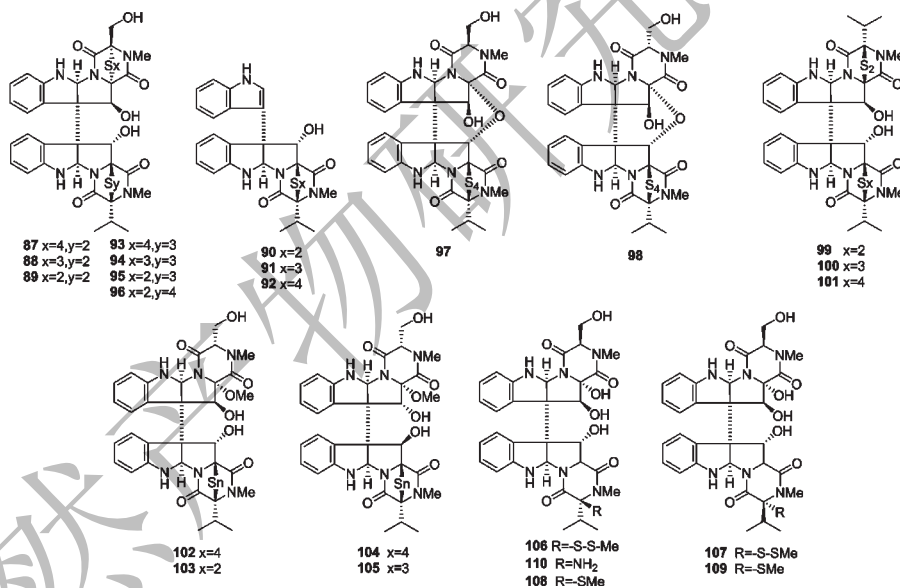


图 10 化合物 **87** ~ **110** 的化学结构

Fig. 10 Chemical structure of compounds **87**-**110**

Pedras MSC 等在 2004 年从 *L. maculans* 中分离得到了由一个倍半萜和一个氨基酸组成的化合物 Depsilairdin (**111**), 其绝对构型是通过光谱解析和单晶衍射来确定的, 是一种具有宿主选择性的植物毒素, 能单一的破坏棕色芥叶片组织引起退绿和坏死, 病斑直径在 12 mm (10^{-3} M) 到 6 mm (5×10^{-6} M) 之间^[45](图 11)。

1.4 其它含氮化合物

Rollin P 等于 1986 年从分离自海藻的 *L. orae-*

maris 中分离得到化合物 Leptosphaerin (**112**)^[46], 于 1989 年利用化学合成手段确定了 Leptosphaerin 的绝对构型^[47](图 12)。

植物抗毒素是植物在受到如真菌侵害等压力下产生的次级代谢产物用以抵抗侵袭, Pedras MSC 等 1998 年发现 *L. maculans* 可以将植物抗毒素 cyclobrassinin 通过代谢转化成 Dioxibrassinin (**113**) 和 Brassilexin (**114**)^[48](图 12)。2005 年 Pedras MSC 等又在对植物抗毒素与植物病原真菌 *L. maculans*

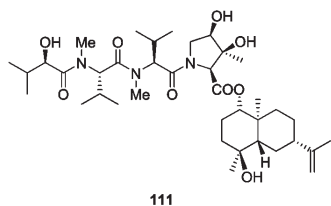


图 11 化合物 111 的化学结构

Fig. 11 Chemical structure of compound 111

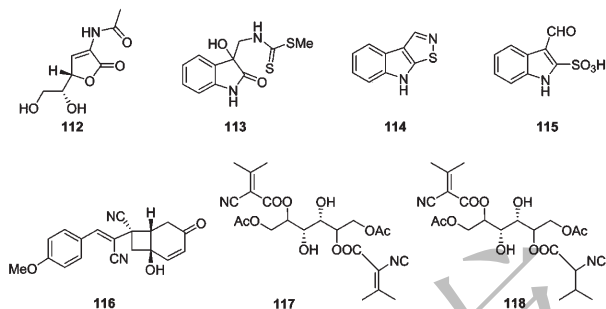


图 12 化合物 112 ~ 118 的化学结构

Fig. 12 Chemical structure of compounds 112-118

作用机制的研究中发现, *L. maculans* 可将抗毒素 Brassilexin 转化为 3-Formyl-1H-indole-2-sulfonic acid (115) (图 12), 而化合物 115 不具有抗真菌活性^[49]。从 Pedras MSC 等的研究中我们可以发现, 病原菌 *L. maculans* 在代谢过程中可将对真菌有抗性的化合物转化为对自身无害的化合物。

1989 年 Itoh J 等在 *Leptosphaeria* sp. 中发现了抗生素 Leptocillin (MK4588) (116) (图 12), 该化合物对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的生长都具有抑制作用^[50]。

2008 年 Pedras MSC 等从 *L. maculans* 中分离得到了甘露醇的衍生物 Maculansin A (117) (图 12), 在其活性检测中发现, 该化合物对具有抗病性的棕色芥具有很强的毒性, 可对叶肉组织造成明显的损伤, 而对易染病的油菜则只引起了较小的病变, 实验结果在样品低浓度下十分明显 (0.1M)。实验表明化合物 117 不会引起植物产生抗毒素, 因而在侵染芥菜时对其具有更大的毒害作用。Maculansin B (118) (图 12) 是化合物 117 的还原产物, 与化合物 117 一同被发现^[20]。

2 讨论

目前, 小球腔菌活性次级代谢产物的研究已经取得较好的进展, 从不同来源的小球腔菌中分离得到了多种结构类型的化合物, 包括萜类、聚酮类、非核糖体多肽类化合物及其它含氮类化合物等。生物活性实验结果表明, 这些成分显示了癌细胞毒、抗真菌、酶抑制及植物细胞毒活性等多种生物学活性。一些研究者已经尝试通过研究不同菌株次级代谢的差异根据化合物特征来区分种间亲缘关系, 并从化学角度解释侵染机制^[15,18,32]。另外, 研究人员还从海洋来源的小球腔菌菌丝体中分离出一系列具有巯基的二酮哌嗪类的二聚体化合物, 该类化合物表现出较好的癌细胞毒和酶抑制活性^[40-45]。

但是, 对于小球腔菌次级代谢产物的研究还存

在一些问题, 针对常见的致病菌 *L. maculans* (无性型 *P. lingam*) 次级代谢产物活性研究多局限于检测对植物的损伤, 还有许多未知的活性有待发掘; 虽然从海洋来源的小球腔菌菌丝体中分离得到具有较好生物活性的二酮哌嗪化合物, 但是对其发酵液部分的化学研究还未有报道。此外, 对于小球腔菌属菌株次级代谢产物的研究多集中在植物病原菌 *L. maculans* 上, 对其它生境来源菌种的研究相对很少。本综述表明小球腔菌的代谢产物化学结构丰富多样, 生物活性显著, 因此对不同来源的小球腔菌次级代谢产物的研究是天然产物领域值得研究的方向。

参考文献

- 1 Barr ME. Prodrum to class Loculoascomycetes. University of Massachusetts, USA. 1987, 1-168.
- 2 Fitt BDL, et al. World-wide importance of phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa*) on oilseed rape (*Brassica napus*). *Eur J Plant Pathol*, 2006, 114: 3-15.
- 3 Howlett BJ, et al. *Leptosphaeria maculans*, the causal Agent of blackleg disease of brassicas. *Fungal Genet Biol*, 2001, 33: 1-14.
- 4 Roustae A, et al. Ultrastructural studies of the mode of penetration by *Phoma macdonaldii* in sunflower seedlings. *Phytopathology*, 2000, 90: 915-920.
- 5 Yang ZB (杨祚斌), et al. 山葵墨入病的综合防治技术. *J Changjiang vegetables* (长江蔬菜), 2007, 3: 9-10.
- 6 Férézou JP, et al. Structures of two toxins isolated from cultures of the fungus *Phoma lingam* tode-sirodesmin PL and deacetylsirodesmin PL. *Nouveau J Chim*, 1977, 1: 327-333.
- 7 Pedras MSC, et al. A new host-selective phytotoxin from a virulent type of the blackleg fungus *Phoma lingam*. *Bioorg Med Chem Lett*, 1999, 9: 3291-3294.
- 8 Pedras MSC, et al. New sesquiterpenic phytotoxins establish unprecedented relationship between different groups of black-

- leg fungal isolates. *Bioorg Med Chem*, 2005, 13: 2469-2475.
- 9 Liu JY, *et al.* Leptosphaeric acid, a metabolite with a novel carbon skeleton from *Leptosphaeria* sp. IV403, an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Helv Chim Acta*, 2003, 86: 658-660.
- 10 Dahiya, *et al.* Pentacyclic triterpenes from the fungus *Leptosphaeria maculans*. *Phytochemistry*, 1991, 30: 1235-1237.
- 11 Devys M, *et al.* Structure and biosynthesis of phomenoic Acid, an antifungal compound isolated from *Phoma lingam* Tode. *J Chem Soc Perkin Trans*, 1984, 1: 2133-2137.
- 12 Poch GK, *et al.* A new polyketide metabolite from the marine fungus *Leptosphaeria obiones*. *Tetrahedron Lett*, 1989, 30: 3483-3486.
- 13 Guerriero A, *et al.* A novel, degraded polyketidic lactone, leptosphaerolide, and its likely diketone precursor, leptosphaerodione. Isolation from cultures of the marine ascomycete *Leptosphaeria oraemaris* (Linder). *Helv Chim Acta*, 1991, 74: 1445-1450.
- 14 Ayer WA, *et al.* Leptosphaerones A and B, new cyclohexenones from *Leptosphaeria herpotrichoides*. *J Nat Prod*, 1993, 56: 1647-1650.
- 15 Pedras MSC, *et al.* Phomaligols and Phomaligadiones; new metabolites from the blackleg fungus. *Tetrahedron*, 1993, 49: 8317-8322.
- 16 Pedras MSC, *et al.* Phomapyrones; three metabolites from the blackleg fungus. *Phytochemistry*, 1994, 36: 1315-1318.
- 17 Pedras MSC, *et al.* Phomapyrones from blackleg causing phytopathogenic fungi; isolation, structure determination, biosyntheses and biological activity. *Phytochemistry*, 2005, 64: 81-87.
- 18 Pedras MSC, *et al.* Phomaligin and other yellow pigments in *Phoma lingam* and *P. wasabiae*. *Phytochemistry*, 1995, 38: 1215-1222.
- 19 Liu JY, *et al.* Leptosphaerone, a metabolite with a novel skeleton from *Leptosphaeria* sp. IV403, an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Helv Chim Acta*, 2002, 85: 2664-2667.
- 20 Pedras MSC, *et al.* Structure and biological activity of maculansin A, a phytotoxin from the phytopathogenic fungus *Leptosphaeria maculans*. *Phytochemistry*, 2008, 69: 2966-2971.
- 21 Hashimoto M, *et al.* Spiroleptosphol isolated from *Leptosphaeria doliolum*. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18: 4228-4231.
- 22 Murakami T, *et al.* Four analogues of spiroleptosphol isolated from *Leptosphaeria doliolum*. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17: 492-495.
- 23 Lin J, *et al.* Polyketides from the ascomycete fungus *Leptosphaeria* sp. *J Nat Prod*, 2010, 73: 905-910.
- 24 Tayone WC, *et al.* Stereochemical investigations of isochromenones and isobenzofuranones isolated from *Leptosphaeria* sp. KTC 727. *J Nat Prod*, 2011, 74: 425-429.
- 25 Tayone WC, *et al.* Absolute stereochemistry of nove isochromanone derivatives from *Leptosphaeria* sp. KTC 727. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2011, 75: 2390-2393.
- 26 Ge SQZ (格桑曲珍), *et al.* 西藏龙胆内生真菌 *Leptosphaeria* sp. YY-B4 的次级代谢产物研究. *Agric Technol (农业与技术)*, 2016, 36(16): 43-46.
- 27 Pedras MSC, *et al.* Isolation of the first naturally occurring epimonothiodioxopiperazine, a fungal toxin produced by *Phoma lingam*. *Tetrahedron Lett*, 1988, 29: 3471-3474.
- 28 Pedras MSC, *et al.* Minor phytotoxins from the blackleg fungus *Phoma lingam*. *Phytochemistry*, 1990, 29: 777-782.
- 29 Pedras MSC, *et al.* Stress-driven discovery of metabolites from the phytopathogenic fungus *Leptosphaeria maculans*: Structure and activity of leptomaculins A-E. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16: 8063-8071.
- 30 Ferezou JP, *et al.* Structure and synthesis of Phomamide, a new piperazine-2,5-dione related to the sirodesmins, isolated from the culture medium of *Phoma lingam* Tode. *JCS Perkin1*, 1980: 113-115.
- 31 Pedras MSC, *et al.* A Novel Toxin from the Phytopathogenic Fungus *Phoma lingam*. *J Am Chem Soc*, 1989, 111: 1904-1905.
- 32 Pedras MSC, *et al.* A novel chemical signal from the "blackleg" fungus; beyond phytotoxins and phytoalexins. *J Org Chem*, 1993, 58: 4718-4180.
- 33 Ward DE, *et al.* Probing host-selective phytotoxicity: Synthesis and biological activity of phomalide, isophomalide, and dihydrophomalide. *J Org Chem*, 1999, 64: 1657-1666.
- 34 Pedras MSC, *et al.* Production of 2,5-dioxopiperazine by a new isolate type of the blackleg fungus *Phoma lingam*. *Phytochemistry*, 1998, 49: 1575-1577.
- 35 Pedras MSC, *et al.* Isolation, structure determination, and phytotoxicity of unusual dioxopiperazines from the phytopathogenic fungus *Phoma lingam*. *Phytochemistry*, 2005, 66: 81-87.
- 36 Yotsu M, *et al.* Production of tetrodotxin and its derivatives by *Pseudomonas* sp. isolated from the skin of a pufferfish. *Toxicon*, 1987, 25: 225-228.
- 37 Kosuge T, *et al.* First evidence of toxin production by bacteria in a marine organism. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33: 3059-3061.
- 38 Kosuge T, *et al.* First evidence of toxin production by bacteria in a marine organism. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33: 3059-3061.
- 39 Takahashi C, *et al.* Leptosins, antitumour metabolites of a

- fungus isolated from a marine alga. *JCS, Perkin* 1, 1994, 13; 1859-1864.
- 40 Takahashi C, *et al.* Cytotoxic metabolites from a fungal adherent of a marine alga. *Phytochemistry*, 1995, 38; 155-158.
- 41 Takahashi C, *et al.* Leptosins I and J, cytotoxic substances produced by a *Leptosphaeria* sp. physico-chemical properties and structures. *J Antibiot*, 1994, 47; 1242-1249.
- 42 Takahashi C, *et al.* Potent cytotoxic metabolites from a *Leptosphaeria* Species. Structure determination and conformational analysis. *Tetrahedron*, 1995, 51; 3483-3498.
- 43 Yamada T, *et al.* Leptosins M-N₁, cytotoxic metabolites from a *Leptosphaeria* species separated from a marine alga. Structure determination and biological activities. *Tetrahedron*, 2002, 58; 479-487.
- 44 Takeshi Y, *et al.* Leptosins O-S, cytotoxic metabolites of a strain of *Leptosphaeria* sp. isolated from a marine alga. *Heterocycles*, 2004, 63; 641-653.
- 45 Pedras MSC, *et al.* Chemical Mediators; The remarkable structure and host-selectivity of depsilairdin, a sesquiterpenic depsipeptide containing a new amino acid. *Org Lett*, 2004, 6; 4615-4617.
- 46 Rollin P. A Short biomimetic synthesis of Leptosphaerin. *Tetrahedr Lett*, 1987, 28; 3813-3814.
- 47 White JD, *et al.* Structure, Synthesis and absolute configuration of Leptosphaerin, a metabolite of the marine ascomycete *Leptosphaeria oraemaris*. *Tetrahedron*, 1989, 45; 6631-6644.
- 48 Pedras MSC, *et al.* Strategies of cruciferous fungal pathogens; detoxification of a phytoalexin by mimicry. *Chem Commun*, 1998; 67-68.
- 49 Pedras MSC, *et al.* Detoxification pathways of the phytoalexins brassilexin and sinalexin in *Leptosphaeria maculans*; isolation and synthesis of the elusive intermediate 3-formylindolyl-2-sulfonic acid. *OrgBiomol Chem*, 2005, 3; 2002-2007.
- 50 Itoh J, *et al.* MK4588, A new antibiotic related to xanthocillin. *J Antibiot*, 1990, 43; 456-461.

(上接第 2156 页)

- 22 Coleman CN. Hypoxic cell radiosensitizers: Expectations and progress in drug development. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1985, 11; 323-329.
- 23 Li DH (李德华). A new type of tumor radiosensitizer 'Anka' (irisquinones). *Chin J Clin Oncol* (中国肿瘤临床), 1999, 26; 153-154.
- 24 Guo SW (郭绳武), *et al.* Radiation sensitization of pallasone A for mammalian cells (CHO). *Chin Sci Bull* (科学通报), 1985, 30; 696.
- 25 Zhang L (张力), *et al.* Clinical study on radiosensitization of irisquinone capsules. *Chin J Cancer* (癌症杂志), 1999, 18 (1); 52-55.
- 26 Yu YH (于雨华), *et al.* Clinical study on the sensitization of irisquinone in radiotherapy of esophageal cancer. *Chin J Radiol Med Prot* (中华放射医学与防护杂志), 1999, 19; 313-315.
- 27 Zhou BH (周本宏), *et al.* A survey of research on anti-fertility Chinese herbal medicine. *Lishizhen Med Mater Res* (时珍国药研究), 1993, 3; 46-47.
- 28 Li WM (李惟敏), *et al.* The effect of irisquinone A on immune function. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1981, 16; 531-533.
- 29 Li R (李蓉), *et al.* Study on the reversal effect of irisquinone on COC1/DDP. *Sichuan J Physiol Sci* (四川生理科学杂志), 2009, 31(2); 62-64.
- 30 Wang SX (王士贤), *et al.* Effects of pallasone A on cyclic nucleotides in plasma and tumor tissues of cervical cancer U₁₄ mice. *Chin J Clin Oncol* (中国肿瘤临床), 1986, 13; 241-243.
- 31 Zhang FG (张富赓), *et al.* *In vitro* anticancer effects of Pallasone A and its induced apoptosis on leukemic K562 cells. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2010, 22; 1716-1719.
- 32 Lv HH (吕欢欢). The studies on the preparative isolation of chemical compounds from *Iris lactea* and their effects on glucose-lipid metabolism in 3T3-L1 adipocytes. Xining; Northwest plateau institute of biology, Chinese academy of sciences (中国科学院西北高原生物研究所), PhD. 2016.