

綜 述

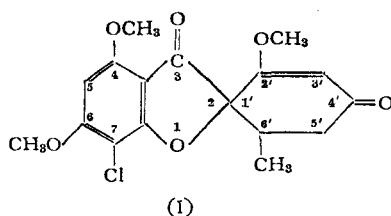
## 灰黄霉素的生物合成

范 成 典

(中国医学科学院抗菌素研究所,北京)

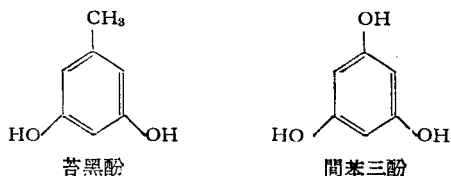
灰黄霉素 (griseofulvin) 是一种抗真菌抗菌素, 于1939年由 Oxford 等<sup>[1]</sup>从青霉菌 *Penicillium griseofulvum* 培养后的菌丝体中分离而得。它有抗植物真菌病害的作用, 例如能抗真菌 *Botrytis* 对萹苳的感染; 能抗真菌 *Alternaria* 对烟草的感染。在临床应用上, 它是一种重要的口服抗菌素, 被用来治疗皮肤癣菌属的真菌感染, 能抑制头发、指甲及皮肤感染的真菌的生长<sup>[2]</sup>。例如能抑制红色毛发癣菌 (*Trichophyton rubrum*)、断发癣菌 (*Trichophyton tonsurans*)、鬚瘡癣菌 (*Trichophyton mentagraphytes*)、硫毛发癣菌 (*Trichophyton sulfureum*)、絮状表皮癣菌 (*Epidermophyton floccosum*)、犬小芽胞菌 (*Microsporum canis*) 等等。

灰黄霉素是一种中性化合物, 分子式为  $C_{17}H_{17}O_6Cl$ , 化学结构式<sup>[3]</sup>如 (I) [7-chloro-4, 6, 2'-trimethoxy-6'-methylgris-2'-en-3, 4'-dione]。

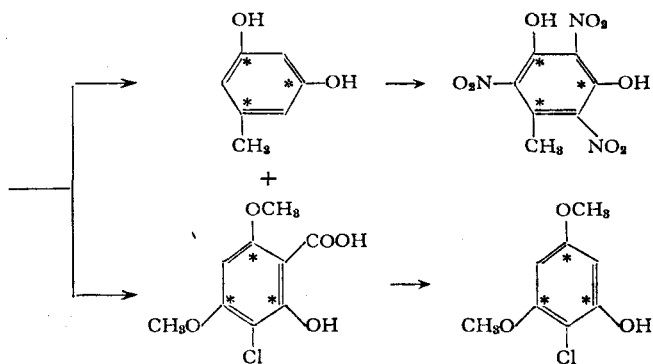
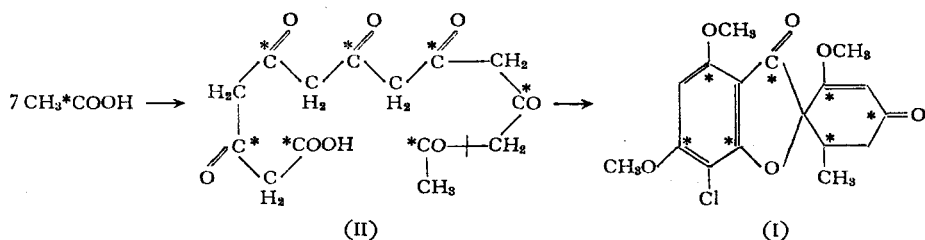


产生灰黄霉素的菌, 现已知道除了青霉菌 *Penicillium griseofulvum*<sup>[1,4]</sup> 外, 其他青霉菌如 *Penicillium patulum*<sup>[5,6]</sup>, *Penicillium nigricans*<sup>[7]</sup>, *Penicillium viridi-cyclopium*, *Penicillium brunneo-stoloniferum*<sup>[8]</sup> 及 *Penicillium raistrickii*<sup>[9]</sup> 等也能产生。

随着灰黄霉素研究工作的进展, 灰黄霉素生物合成途径的研究近年来也已开展, 并取得了一定的收获。灰黄霉素产生菌在代谢过程中是通过七个乙酸分子的生物合成途径而成灰黄霉素的, 这一看法得到了学者们的支持。早在1953年 Birch 等<sup>[11]</sup>对天然酚化合物结构进行了研究, 并指出许多天然酚化合物结构的碳骨架是由乙酸分子间头-尾结合而成, 并可构成两大类型的环状物。其一是醇醛型 (aldol type) 反应, 可形成苔黑酚衍生物 (orcinol derivatives), 其二是酰化型 (C-acylation type) 反应, 可形成间苯三酚衍生物 (phloroglucinol derivatives)。1957年 Birch 等<sup>[10]</sup>在用 *Penicillium griseofulvum* 作灰黄霉素生物合成的研究中, 发现在培养基中加入带有同位素 [ $1-C^{14}$ ] 的乙酸可被利用, 所合成

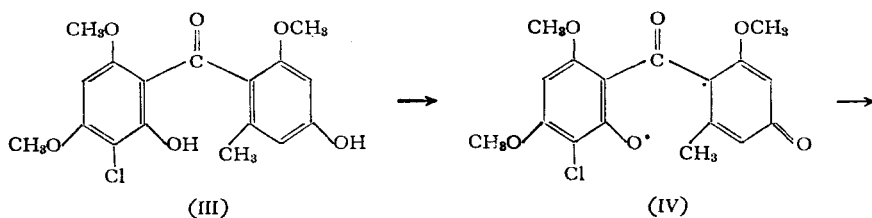


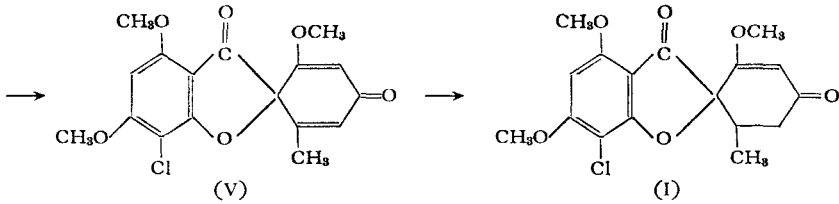
的灰黄霉素分子中也带有同位素  $C^{14}$ 。他们再将此灰黄霉素经降解后也能获得苔黑酚及间苯三酚衍生物,而其分子上都带有同位素  $C^{14}$ ,反应式如下:



[注] “\*” 代表同位素  $C^{14}$ 。

这些都充分说明乙酸分子与灰黄霉素的生物合成有密切的关系。从上面的反应式来看,代谢过程中乙酸分子首先通过聚  $\beta$ -酮酸 (poly- $\beta$ -diketone) (II) 而逐渐合成灰黄霉素。至于由聚  $\beta$ -酮酸合成灰黄霉素的途径,1957年 Barton 及 Cohen 等<sup>[12]</sup>研究指出,5-氯-6,4'-二羟基-2,4,2'-三甲氧基-6'-甲基苯酮 (III) 是此合成过程中的第一个中间产物,它经电子转移作用氧化成中间产物 (IV),继而经过中间产物去氢灰黄霉素 (V),最后在酶的还原作用下合成了灰黄霉素 (I)。反应式如下:

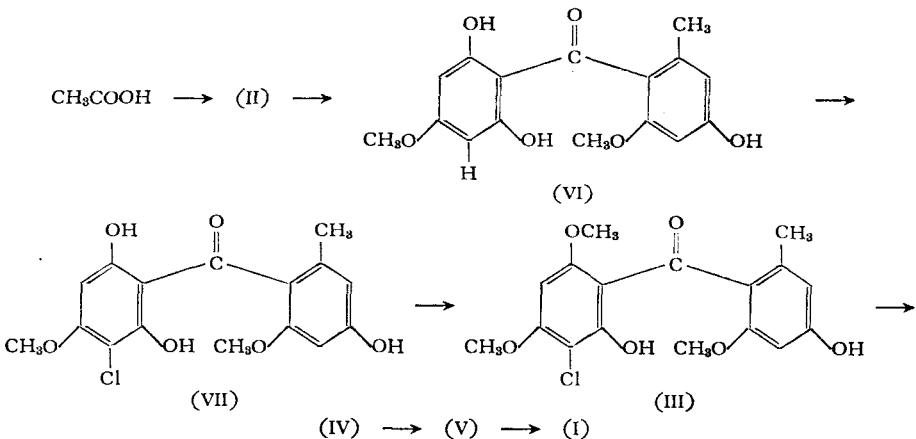




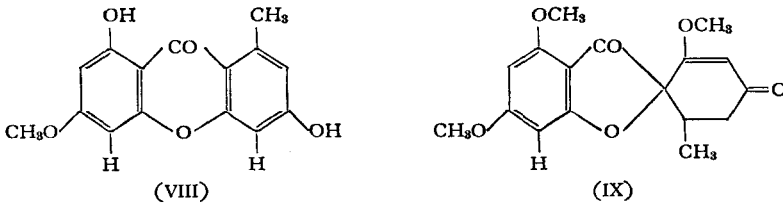
1958年 Scott<sup>[13]</sup> 在灰黄霉素降解物中也得到相同的苯酮(III)。1960年 Day 等<sup>[14]</sup>先用化学合成法制得此苯酮(III)，而且也可用它通过化学法合成灰黄霉素。这些实验都进一步证实了灰黄霉素的生物合成途径。1960年 McMaster 及 Scott 等<sup>[15]</sup>用青霉菌 *Penicillium patulum* 进行灰黄霉素生物合成的研究中，发现有更多的中间产物出现，经分离和鉴定后约有去氢灰黄霉素、griseophenone A、griseoxanthone C、griseophenone Y、去氯灰黄霉素酸等，指出灰黄霉素生物合成途径是复杂的，需更深入的探讨。

近年来对灰黄霉素生物合成过程中，氯离子及甲氧基的渗入途径也有所研究。1954年 Byerrum 等<sup>[16]</sup> 指出蛋氨酸、甲酸盐是比较有效的甲基授体，1955年 Hockenhull 及 Faulds 等<sup>[17]</sup>指出胆碱氯化物是很好的甲基授体，他们在灰黄霉素生物合成的培养基中加入带有同位素 C<sup>14</sup> 甲基的胆碱氯化物，发现所得的灰黄霉素分子上的三个甲氧基都具有同位素 C<sup>14</sup>，这说明胆碱氯化物对灰黄霉素生物合成有重要的意义。灰黄霉素分子上的氯，是通过培养基中加入的氯离子经生物合成而接上去的；若培养基中无氯离子存在，则灰黄霉素的生物合成即无法完成。

在以上一些研究的基础上，1961年 Rhodes 及 Boothroyd 等<sup>[18]</sup>进一步研究了由乙酸分子合成灰黄霉素过程中苯酮(III)的演化机制，并指出甲基、氯离子是如何结合到苯酮(III)分子上使它最后合成为灰黄霉素的。他们建议灰黄霉素的生物合成途径为：乙酸 → 聚β-酮酸(II) → griseophenone C [2, 6, 4'-三羟基-4, 2'-二甲氧基-6'-甲基苯酮](VI) → griseophenone B [5-氯-2, 6, 4'-三羟基-4, 2'-二甲氧基-6'-甲基苯酮](VII) → griseophenone A [5-氯-6, 4'-二羟基-2, 4, 2'-三甲氧基-6'-甲基苯酮](III) → … → 灰黄霉素。这里提到的 griseophenone A 的结构与 1957年 Barton 及 Cohen 等<sup>[12]</sup>所提到的苯酮(III)的结构相同，所以这一研究更充实了 Barton 及 Cohen 等对中间产物苯酮(III)的合成途径的见解。其反应式总括如下：



Rhodes 等着重指出氯化作用是灰黄霉素生物合成过程中的关键性反应。早在 1948 年 Brian 等<sup>[19]</sup>就指出,在生物合成灰黄霉素时培养基中氯离子是必不可少的,一般浓度以 50 毫克/升或 0.01% 氯化钾为宜;但浓度过高时(1% 氯化钾)会减弱灰黄霉素产生菌的生长活力,从而也就影响到灰黄霉素的生物合成。1957 年 Rhodes 等<sup>[5]</sup>也曾指出,氯化物浓度以 0.1—0.25% 为宜,若氯化物太少或完全不存在时,灰黄霉素合成量下降或甚至不能产生,而形成抗真菌活力弱的去氯灰黄霉素 (IX)。1961 年 Rhodes 等用青霉菌 *Penicillium patulum* 在缺氯培养基中进行灰黄霉素生物合成的研究时,发现代谢过程中 griseophenone C (VI) 的量明显堆积、增多,以至 griseophenone B (VII) 不能顺利合成,其含量显著下降,最后阻碍了灰黄霉素的合成;但当再度给予足够氯化物时,生物合成又可恢复正常,由此可以推断 griseophenone C (VI) 是氯化反应的作用产物。除此以外,其氯化作用也可被溴化物、碘化物、硫脲嘧啶、硫脲、苦酮酸、水杨醛肟 (salicyaldoxime)、铜锌灵 (sodium diethyldithiocarbamate) 及减小通气量等因素所抑制,如在含有丰富氯化物的培养基中加入 0.21% 溴化钾或 0.18% 碘化钾,可使灰黄霉素的生物合成量相应地减少 64% 或 48%,其作用机制现尚不明(据云可能与金霉素生物合成时溴化物与氯化物的竞争性抑制作用相近似)。在这种情况下,griseophenone C (VI) 的大量堆积引起了支反应,产生了不含氯的 griseoxanthone C [1, 6-二羟基-3-甲氧基-8-甲基杂蒽酮] (VIII),该化合物可能是在无氯条件下或氯化作用受阻时生物合成去氯灰黄霉素 (IX) 的中间体。



另一方面必须指出, griseophenone C (VI) 分子上 4, 2'-位碳原子上的两个甲氧基要通过甲基授体的作用才能形成。如 Rhodes 等所指出的,在培养基中加入 0.1% 胆碱氯化物(或有关的甲基授体),可以明显地激活和加速 griseophenone C (VI) 的合成;反之,甲基化作用又可被叶酸拮抗物所抑制,如在灰黄霉素生物合成的开始时,培养基中加入 2, 4 或 8 微克/毫升的氨基喋呤则可使灰黄霉素的合成量下降到原来的 27—36%。从 griseophenone B (VII) 转化为 griseophenone A (III) 的过程主要也是甲基化作用,它同样要受到氨基喋呤的抑制。至于从 griseophenone A (III) 到灰黄霉素的生物合成也能受氨基喋呤的影响,从分子结构上看,不牵涉到甲基化作用的问题,而是在于氧化-还原作用受到抑制,因为在 griseophenone A (III) 的分子上已具备了灰黄霉素分子上的所有甲氧基,所以可以假想氨基喋呤抑制叶酸在 griseophenone A (III) 通过去氯灰黄霉素还原成灰黄霉素过程中的氧化-还原作用。

从上述有关灰黄霉素生物合成的研究来看,乙酸代谢、氯化作用及甲基化作用是必不可少的,三者是相呼相应的。为了加速灰黄霉素的生物合成,怎样使上面三个关键性作用能更顺利地进行是很重要的。特别是从一些已有的资料中见到的灰黄霉素产生菌,它们

虽能通过生物合成的途径合成灰黄霉素,但是合成速度相当缓慢,其合成量一般要十余天才达高峰,这从工业生产要求来讲是不太合适的。所以,为了加速灰黄霉素的生物合成,进一步研究其生物合成机制,并从中寻找出合成缓慢的因素加以克服是非常必要的。根据现已知道的一些进展来看,可考虑如何从生化代谢途径中保持和加速乙酸的正常形成,另外也可考虑用乙酸盐作为前体加到培养基中去,研究是否可能加速聚 $\beta$ -酮酸(II)的合成,从而加速灰黄霉素的生物合成。总之,选择适当的化合物作为前体是加速灰黄霉素生物合成的一个途径,与此同时还必须适当补充足够的氯离子及甲基授体,否则,单独用前体也是不能起决定性的作用。

我们对灰黄霉素生物合成途径目前了解得还不够,有待进一步深入。目前我国已开始了灰黄霉素的有关研究,由于灰黄霉素是一个临床有效的抗真菌抗菌素,而且在农业上也有一定的应用价值。所以,进一步开展灰黄霉素生物合成的研究,不仅能更深入地了解灰黄霉素生物合成的途径,而且对灰黄霉素大量生产也是有益的。

### 参 考 文 献

- [1] Oxford, A. E., Raistrick, H. and Simonart, P.: *Biochem. J.*, 1939, **33**(2), 240.
- [2] Robinson, M. M.: *Antibiotics Annual*, 1959, **60**, 680.
- [3] Barnes, M. J. and Boothroyd, B.: *Biochem. J.*, 1961, **78**, 41.
- [4] MacMillian, J.: *Chem. and Ind.*, 1951, 719.
- [5] Rhodes, A., Cross, R., Ferguson, T. P. and Fletcher, D. L.: British patent, 784, 618.
- [6] Hockenhull, D. J. D.: British patent, 868, 958.
- [7] Jefferys, E. G., Brian, P. W., Hemming, H. G. and Lowe, D.: *J. gen. Microbiol.*, 1953, **9**(2), 314.
- [8] Udagawa, K. and Abe, S.: *J. Antib.*, 1961, **A 14**(4), 215.
- [9] Brian, P. W., Curtis, P. J. and Hemming, H. G.: *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 1955, **38**(4), 305.
- [10] Birch, A. J., Massy-Westropp, R. A., Richards, R. W. and Smith, H.: *Proc. Chem. Soc.*, 1957, 98.
- [11] Birch, A. J. and Donovan, F. W.: *Austral. J. Chem.*, 1953, **6**, 360.
- [12] Barton, D. H. R. and Cohen, J.: *Festschrift A. Stoll*, p. 117, Basle: Birkhauser, 1957.
- [13] Scott, A. I.: *Proc. Chem. Soc.*, 1958, 195.
- [14] Day, A. C., Nabney, J. and Scott, A. I.: *Proc. Chem. Soc.*, 1960, 284.
- [15] McMaster, Scott, A. I. and Trippett, S.: *J. Chem. Soc.*, 1960, 4628.
- [16] Byerrum, R. K., Flokstra, J. H., Dewey, L. J. and Ball, C. D.: *J. Biol. Chem.*, 1954, **210**, 633.
- [17] Hockenhull, D. J. D. and Faulds, W. F.: *Chem. and Ind.*, 1955, 1390.
- [18] Rhodes, A., Boothroyd, B., McGonagle, M. P. and Somerfield, G. A.: *Biochem. J.*, 1961, **81**(1), 28.
- [19] Brian, P. W., Curtis, P. J. and Hemming, H. G.: *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 1948, **32**, 30.