

· 综述 ·

茚满霉素类天然产物的研究进展

朱玉琴¹, 吴杰群¹, 孙 鹏² (1. 浙江工业大学, 浙江 杭州 310014; 2. 海军军医大学药学院, 上海 200433)

[摘要] 茚满霉素类天然产物是一类具有反式四氢茚满环(indan)结构的微生物次级代谢产物, 该类化合物普遍具有良好的抗菌、杀虫以及抗肿瘤等生物活性, 因而引起了药物化学家和生物学家的广泛兴趣。对 1979 年至今有关茚满霉素类化合物的天然发现、生物活性、化学合成以及生物合成等方面的研究进展进行综述, 为该类抗生素的基础和应用研究提供科学参考。

[关键词] 茚满霉素; 茚满环; 生物活性; 化学合成; 生物合成

[中图分类号] R914 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2020)03-0211-05

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.201910034

Research progress on indanomycin natural products

ZHU Yuqin¹, WU Jiequn¹, SUN Peng² (1. Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Indanomycins are a class of secondary metabolites of microorganisms with a trans-tetrahydroindan (indane) ring. These compounds generally have good antibacterial, insecticidal and antitumor biological activities, which have caused wide interest for medicinal chemists and biologists. This review summarizes the research progress of the discovery, biological activity, chemical synthesis and biosynthesis of indanomycin compounds since 1979 and provides scientific reference for the research and development of indanomycin antibiotics.

[Key words] indanomycin; indane ring; biological activity; chemical synthesis; biosynthesis

聚醚类抗生素是一类重要的微生物次级代谢产物, 其结构特征为分子中含有多个环醚单元, 且分子一端有羧基, 该类抗生素主要由链霉菌产生, 具有离子载体性质, 容易络合金属离子, 常见的聚醚类抗生素有莫能菌素、南昌霉素、尼日利亚菌素等。聚醚类抗生素家族中含有一类特殊的天然产物, 即茚满霉素类, 该类化合物含有反式四氢茚满环和吡咯酮结构单元, 其代表分子是茚满霉素(indanomycin, X-14547A), 最早分离自链霉菌 *Streptomyces* sp. NRRL 8167^[1]。与其结构相似的化合物还有 cafamycin^[2]、16-deethylindanomycin^[3] 及其类似物^[4]、homoindanomycin、stawamycin^[5-6] 和 JBIR-11^[7] 等。茚满霉素类化合物均具有良好的抗菌、杀虫和抗原虫等活性, 其特殊的化学结构和显著的生物活性引起了药物学家们的广泛兴趣, 不少化学家对其进行全合成, 生物学家也对含有该类特殊结构的天然产物的生物合成机制进行研究。

本文就茚满霉素类化合物的天然发现、生物活性、化学合成和生物合成进行总结, 为开发该类天然产物的药用价值提供科学基础, 为采用组合生物合成的方法对该类化合物进行结构改造提供新思路。

1 茚满霉素类化合物的天然发现及其生物活性

在从土壤培养物中寻找新抗生素的过程中, Miller 课题组从链霉菌 *Streptomyces* sp. NRRL 8167 的发酵液中分离得到了茚满霉素(**1**), 为该家族第一例化合物。化合物 **1** 能够将 1 价和 2 价阳离子从水溶液中萃取到不相溶的有机溶剂中, 另外, 与一些只能运输特定单价阳离子(如 K⁺ 或 Na⁺) 的离子载体抗生素不同, 化合物 **1** 还能通过溶剂屏障(CHCl₃) 将 Rb⁺ 和 Ca²⁺ 从一个水相转移到另一个水相, 具有介导跨生物膜转运 2 价阳离子的特殊能力^[8], 迄今为止, 仅有少数离子载体抗生素(如拉沙里菌素和离子霉素等)具有相似的运输能力^[1]。化合物 **1** 具有良好的抗菌、杀虫和抗原虫等活性^[9-10], 具有与其他离子载体抗生素类似的抗菌谱, 在体外对 G⁺ 菌 *Mycobacterium phlei*、*Streptomyces*

[基金项目] 国家自然科学基金(81622044, 81573342, 41876184); 上海市科委基金(18ZR1449600)

[作者简介] 朱玉琴, 硕士研究生, 研究方向: 分子生物学, Email: zhyq15700086152@163.com

cellulosae、*Staphylococcus aureus*、*Bacillus* sp. E、*Bacillus* sp. TA、*Sarcina lutea*、*Bacillus megaterium*、*Bacillus subtilis* 的最低抑菌浓度(MIC)分别为 3.1、0.8、0.2、0.2、0.2、0.1、0.1、0.1 $\mu\text{g/ml}$ 。研究显示,浓度为 100 ppm 的化合物 **1** 连续使用 6 d 可以使舞毒蛾和烟草天蛾幼虫的数量减少 50%,使玉米穗虫的数量减少 33%;浓度为 20 ppm 的化合物 **1** 可以使四龄的埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)的死亡率达 100%^[1]。王继栋等人发现,化合物 **1** 对人乳腺癌细胞(MDA-MB-231)和人肝腺癌细胞(HepG-2)具有一定程度的抑制作用,其 IC_{50} 值分别为 14.01 和 7.26 $\mu\text{g/ml}$ ^[11]。

Kliuev 等人从产生蒽环类抗生素 galtamycin 的链霉菌培养液中分离得到了一种新型类似物 cafamycin(**2**)^[2],其与化合物 **1** 的区别在于 2 位甲基被乙基取代,18 位乙基被脱除。Occolowitz 等人从美国蒙大拿州收集的土壤样品中分离出一种新的链霉菌 *Streptomyces setonii*,并从中分离得到了一种新的类似物,即 16-deethylindanomycin(**3**)^[3],该化合物对 *Streptococcus pneumoniae* Park I 的 MIC 值为 2 $\mu\text{g/ml}$,对 *Staphylococcus aureus* X1.1、*S. aureus* V41、*S. aureus* V400、*S. aureus* S13E 的 MIC 值为 4 $\mu\text{g/ml}$ 。当化合物 **3** 的浓度为 0.31 $\mu\text{g/ml}$ 时,可以 100% 抑制柔嫩艾美耳球虫(*Emeria tenella*)的生长。Zhang 等人从海洋链霉菌 *Streptomyces antibioticus* PTZ0016 中分离得到了化合物 **3** 的类似物, iso-16-deethylindanomycin (**4**)、16-deethylindanomycin 甲酯(**5**)和 iso-16-deethylindanomycin 甲酯(**6**),这 3 种化合物在体外实验中都显示出对金黄色葡萄球菌的抑制活性,其 MIC 值为 4.0~8.0 $\mu\text{g/ml}$ ^[4]。有趣的是,化合物 **4** 和 **6** 分别为化合物 **3** 和 **5** 的 C-7 手性异构体,这一现象在其他茈满霉素类似物中并不多见,提示该菌株中负责呋喃环形成的酶的立体选择性低。Homoindanomycin (**7**)分离自菌株 *Streptomyces galbus*,其与化合物 **1** 唯一的区别在于 2 位上的甲基被乙基取代。Miao 等人从链霉菌菌株 *Streptomyces* sp. 的液体培养物中分离出一种新的天然产物 stawamycin(**8**),化合物 **8** 保留了与化合物 **1** 类似的吡咯和四氢茈满结构,但不具有呋喃环,并且双键位置和构型与其他化合物相比也有明显区别,另外,该化合物的绝对构型并没有完全确定。化合物 **8** 具有抗人类疱疹病毒 EB 病毒(epstein-barr virus, EBV)活性,可以抑制病毒转录因子 BZLF1 与其 DNA 靶标的结合^[5]。Miho 等人从绿

色链霉菌 *Streptomyces viridochromogenes* 的菌丝体中分离得到了 JBIR-11(**9**),是化合物 **8** 的衍生物,不同的是化合物 **9** 在末端羧基上结合了一分子色氨酸,而且化合物 **9** 具有抗肿瘤活性,对人纤维肉瘤 HT1080 细胞具有生长抑制作用,其 IC_{50} 值为 25 $\mu\text{mol/L}$ ^[7]。茈满霉素及其天然类似物的结构式如图 1 所示。

2 茈满霉素的化学全合成

由于茈满霉素中不同寻常的结构,如反式四氢茈满环和吡咯酮,其全合成被多次报道^[12-15]。Boeckman^[16]等人对茈满霉素进行了逆合成分析,选择利用串联 Wittig 反应与分子内 Diels-Alder 环加成反应来合成反式四氢茈满环骨架。吡喃醛中间体(**10**)和磷叶立德(**11**)发生 wittig 反应得到中间体(**20**),随后由分子内 [4+2] Diels-Alder 环加成反应得到化合物 **1**。

化合物 **10** 的构建以活泼醛(**12**)为原料,在二烷基铜锂的作用下发生羟醛缩合反应得到醇类中间体(**13**),化合物 **13** 在过量臭氧下双键发生断裂后,被硫醚还原得到化合物 **14**。在二叔丁基联苯锂的存在下,化合物 **14** 发生锂盐化,最后经 PPTS 催化得到化合物 **10**(图 2)。

化合物 **11** 的合成以二醇化合物(**15**)为起始原料,在 DMAP 催化作用下,伯羟基发生硅基烷基化反应,随后与二异丁基氢化铝在 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 发生 Claisen 重排,得到烯醇(**16**)。化合物 **16** 进行碘基化反应后,以氰化钾作为氰源,合成氰化物(**17**)。化合物 **17** 在四丁基氟化铵和重金属氧化剂 PDC 作用下,得到 α, β 不饱和醛(**18**)。最后将化合物 **18** 与格氏试剂乙烯基溴化镁在 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 进行无水无氧反应,由此得到的化合物 **19** 再与三苯基膦溴化氢反应,生成化合物 **11**(图 3)。

最后,化合物 **10** 和 **11** 在叔丁醇钾的作用下,发生 wittig 反应得到中间体 **20**。化合物 **20** 被 *i*-Bu₂AlH 还原为醛,随后在 1,2-二氯乙烷中与吡咯酮(**21**)反应,先后进行 wittig 反应与分子内 Diels-Alder 环加成反应,得到化合物 **22**。化合物 **22** 在三甲基碘硅烷作用下脱保护,再与过量的三氧化铬发生氧化反应,得到目标化合物 **1**(图 4)。

该化合物的全合成历经 21 步,总体收率不高。反应过程需要使用锂化物、氢化铝、格氏试剂等危险品,还需要 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的低温无水反应,条件苛刻,并且使用到了剧毒化合物氰化钾、重金属试剂 PDC 及三氧化铬。因此,该方法对环境不友好,不

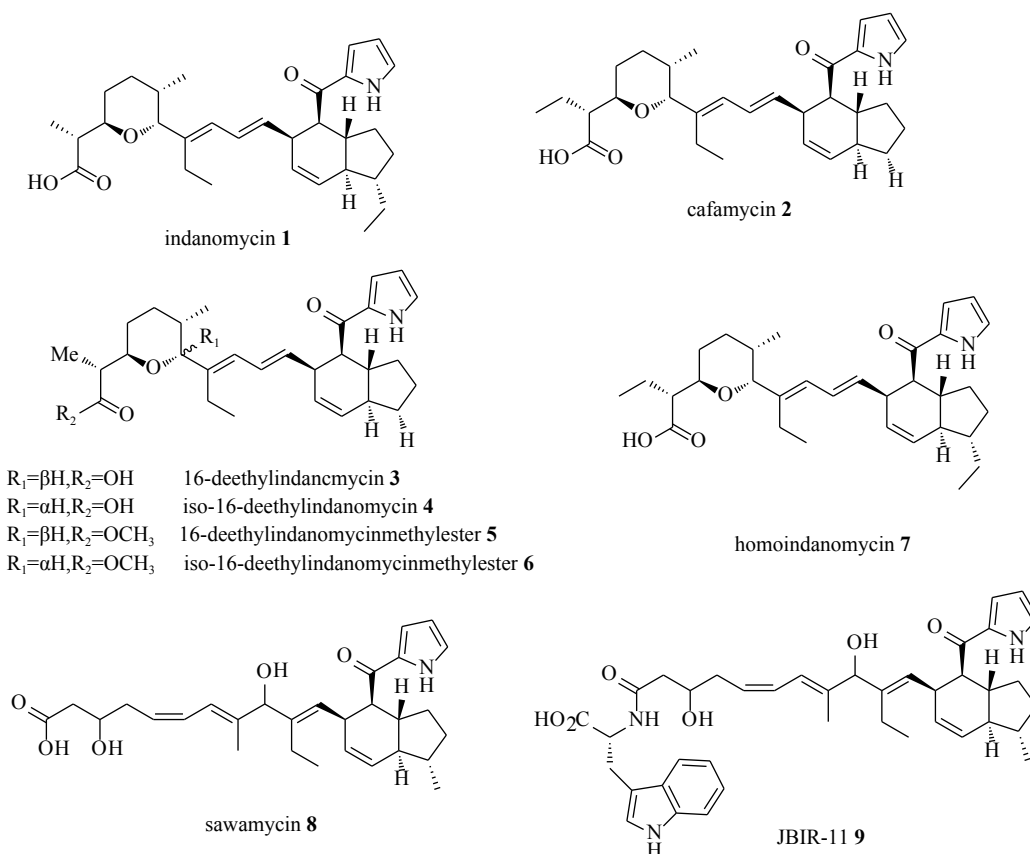


图 1 茆满霉素及其天然类似物

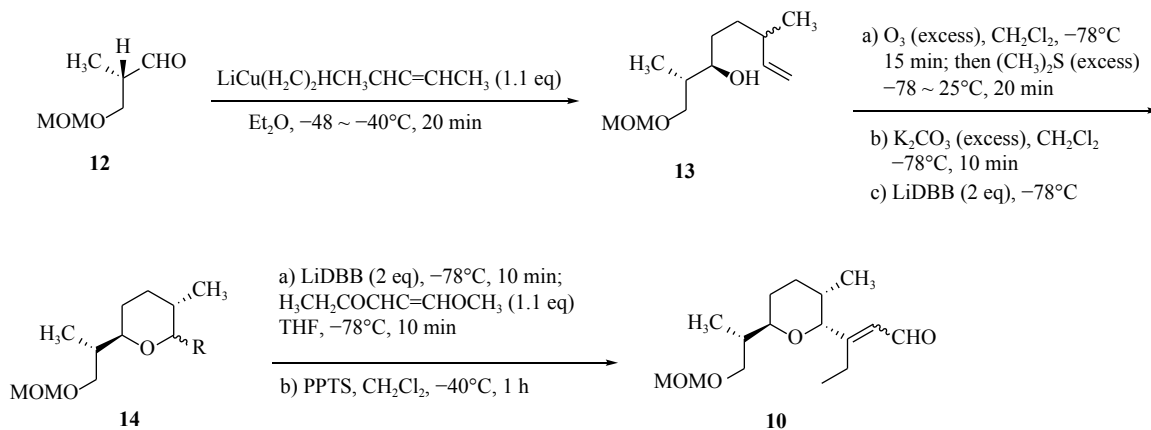


图 2 茆满霉素中间体 (10) 的化学合成路线

符合绿色化学的理念,有待进一步的改善。

3 茆满霉素的生物合成

化合物 1 是杂合了非核糖体肽合成酶-聚酮合酶(NRPS-PKS)装配线的天然产物, Roeger 等人用 ^{13}C 标记的前体喂养实验确定了其代谢起源, 包括 1 个 L-脯氨酸、6 个丙二酰辅酶 A、2 个甲基丙二酰辅酶 A 和 2 个乙基丙二酰辅酶 A^[17-18]。Kelly 课题组从抗生素链霉菌 NRRL 8167 中确认了化合物 1 的生物合成基因簇 *idm*, 其大小为 80 kb 左右

(图 5A)^[19]。其中 16 个基因参与了化合物 1 的生物合成(*idm A-P*), 包括吡咯合成^[20](pyrrole biosynthesis, *idm I-K*), 调控和抗性基因(*idm C, D, G*), 聚酮合酶基因(*idm L-P*), 聚酮前体合成基因(*idm B, E, F*), 后修饰基因(*idm A, H*), 另外 7 个基因经基因敲除实验验证与化合物 1 的合成无关(*orf 1-4, orf 21-23*)。起始单元吡咯-2-甲酰 CoA 是由 L-脯氨酸经过脯氨酰依赖的转移酶(*idm J*), 载体蛋白(*idm K*)和黄素依赖的 L-脯氨酰 CoA 脱氢酶(*idm I*) 3 个酶催化形成的(图 5C)。IdmJ 基因缺失实验证实

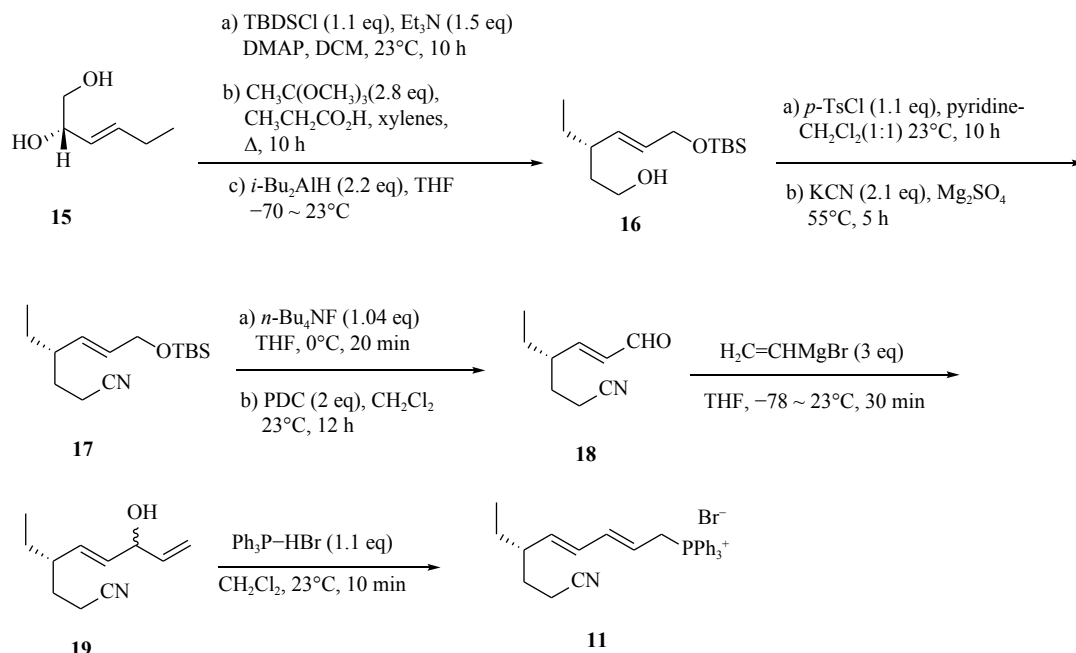


图 3 茚满霉素中间体 (11) 的化学合成路线

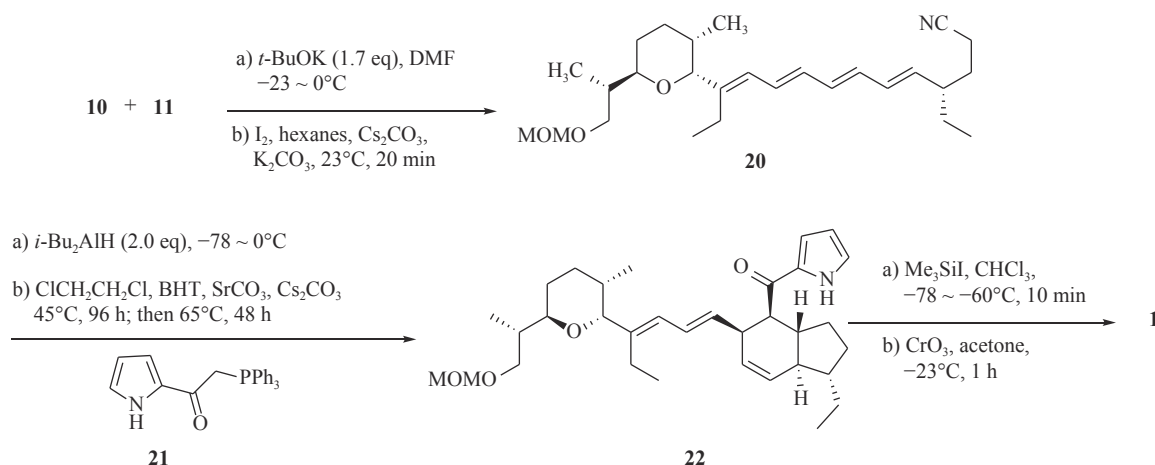


图 4 茚满霉素的化学合成路线

idmJ 参与了化合物 **1** 的生物合成。编码 PKS 的基因位于 *idmI-K* 的下游, 包含编码 *idmL-P* 5 个酶, 根据生物信息分析划分成 10 个模块: *idmL* (模块 1~3), *idmM* (模块 4 和 5), *idmN* (模块 6~8), *idmO* (模块 9), *idmP* (模块 10 和 11)。PKS 模块的结构域由酮基合成酶(KS)、酰基转移酶(AT)、脱氢酶(DH)、烯酰还原酶(ER)、酮基还原酶(KR)和酰基载体蛋白(ACP)等结构域组成, 根据模块中的结构域分析, 推测化合物 **1** 的 PKS 骨架形成与延伸过程如图 5B 所示。

模块 1~10 完成了化合物 **1** 的 PKS 骨架搭建, 模块 11 是化合物 **1** 生物合成中的特殊 PKS 模块, 它不参与聚酮链的延伸, 而且它的模块结构不完整, 仅包含一个 KS 单元、一个 AT 单元和一个特

殊的 *cyc11* 单元, 其中, *cyc11* 单元与盐霉素 (salinomycin) 生物合成中的吡喃合成酶 (SalBIII) 的同源性较高, 序列比对显示, *cyc11* (Asp28 和 Asp94) 含有 SalBIII (Asp38 和 Asp104) 活性必需的残基^[21-22], 因此 *cyc11* 可能具有与盐霉素中吡喃形成类似的催化机制^[23], 即负责催化化合物 **23** 的 C-3 羟基脱水生成 α, β-不饱和酮, 然后进行 C-7 羟基的 Michael 加成产生化合物 **24**。根据生物信息学预测, 茚满霉素 PKS 模块最终对应的产物为含 19-OH 的中间体, 而不是化合物 **23**, 因为其 PKS 模块 2 中无 DH 结构域, 不能直接产生 Δ19(20) 双键。但是, 该位置上双键需要作为化合物 **24** 上的亲双烯体进行 [4+2] 环加成以产生茚满环, 具体哪个酶负责催化形成 Δ19(20) 双键目前尚不明确。另外,

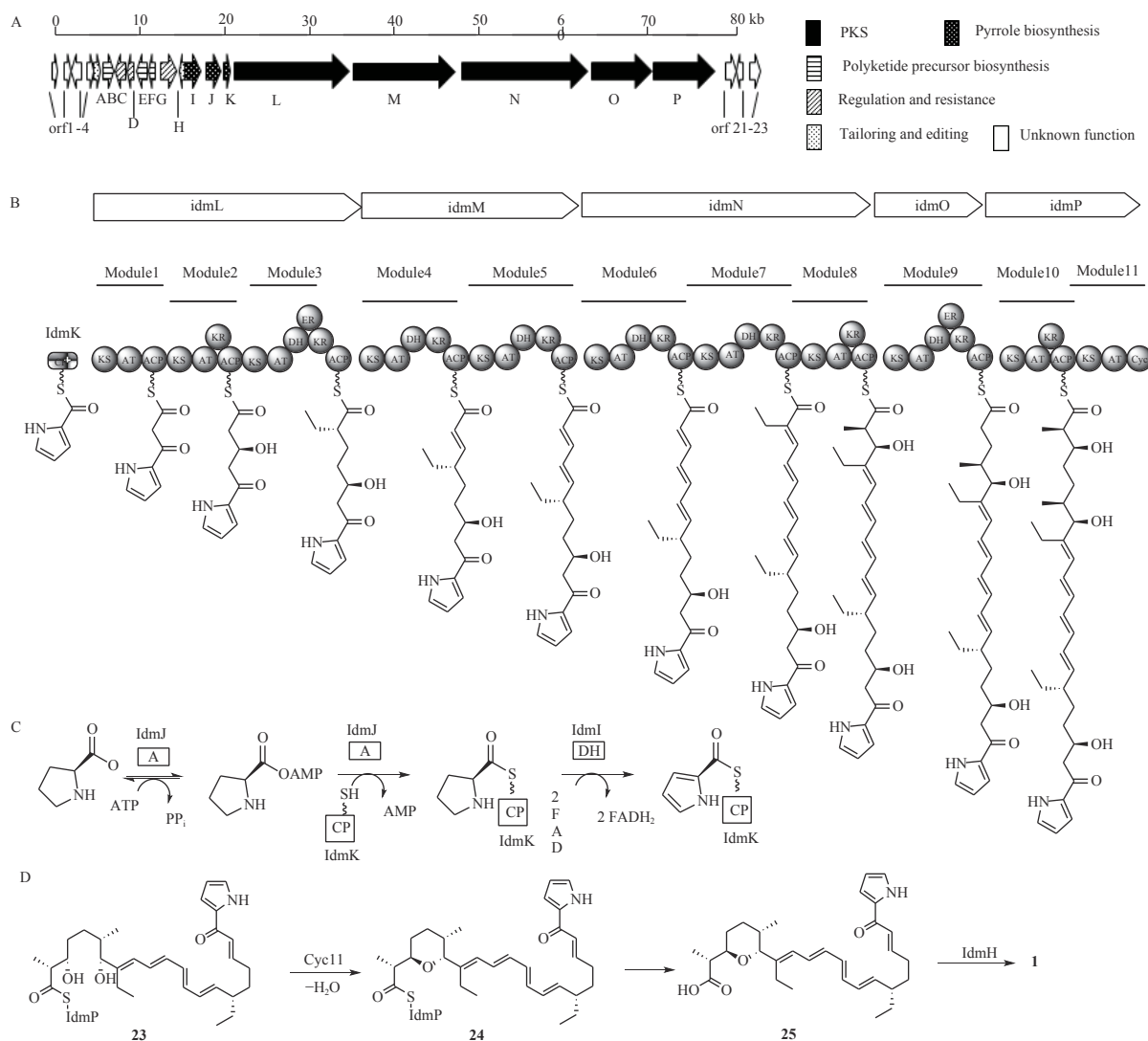


图5 茈满霉素的生物合成基因簇、PKS 模块、前体合成及后修饰过程推测

序列比对表明 idmH 与环化酶 SnoaL^[24-25] 存在很大的相似性,所以负责 [4+2] 环化形成茈满环结构的酶可能是 idmH^[19, 26],但目前尚无体外生化反应验证。根据生物信息学推测的茈满霉素后修饰合成路线如图 5D 所示。

4 小结与展望

含反式四氢茈满环结构的化合物在天然产物中比较少见,自 1979 年茈满霉素首次报道以来,这类化合物就引起了药物化学家和生物学家的广泛兴趣,本综述总结了其在生物活性、化学全合成以及生物合成等方面获得的研究成果,为该类天然产物的药用价值开发提供科学依据。虽然茈满霉素的生物合成步骤尚未完全阐明,但随着其生物合成基因簇的发现,利用组合生物合成的方法对该类化合物进行结构改造将成为可能。

【参考文献】

- [1] LIU C M, HERMANN T E, LIU M, et al. X-14547A, a new ionophorous antibiotic produced by *Streptomyces antibioticus* NRRL 8167. Discovery, fermentation, biological properties and taxonomy of the producing culture[J]. *J Antibiot*, 1979, 32(2): 95-99.
- [2] MURENETS N V, KUDINOVA M K, KOROBKOVA T P, et al. Kafamycin: a new pyrrol ether antibiotic[J]. *Antibiot Med Biotechnol*, 1987, 32(11): 811-814.
- [3] LARSEN S H, BOECK L D, MERTZ F P, et al. 16-Deethyl-indanomycin (A83094A), a novel pyrrole-ether antibiotic produced by a strain of *Streptomyces setonii*. Taxonomy, fermentation, isolation and characterization[J]. *J Antibiot*, 1988, 41(9): 1170-1177.
- [4] LIAN X Y, ZHANG Z Z. Indanomycin-related antibiotics from marine *Streptomyces antibioticus* PTZ0016[J]. *Nat Prod Res*, 2013, 27(23): 2161-2167.
- [5] MIAO S. Stawamycin, A new pyrrolketoidane natural product from the cultures of *Streptomyces* sp[J]. *Tetrahedron Lett*, 1995, 36(32): 5699-5702.

(下转第 226 页)

- accelerates wound healing in diabetic mice[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(12): 4207-4219.
- [8] HAGIWARA H, HIGASHIBATA A, OGAWA S, et al. Effectiveness of endothelial progenitor cell culture under microgravity for improved angiogenic potential[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 14239.
- [9] 杨栋, 辛世杰, 李凤贺, 等. 小鼠骨髓源性内皮祖细胞的培养和表面标志物鉴定[J]. 中国医科大学学报, 2011, 40(12): 1063-1066.
- [10] 杨兆华. 内皮祖细胞(EPCs)对移植性动脉硬化中的作用及其机制研究[D]. 上海: 复旦大学, 2009.
- [11] MOENS A L, KASS D A. Tetrahydrobiopterin and cardiovascular disease[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(11): 2439-2444.
- [12] ZHENG J S, YANG X Q, LOOKINGLAND K J, et al. Gene transfer of human guanosine 5'-triphosphate cyclohydrolase I restores vascular tetrahydrobiopterin level and endothelial function in low renin hypertension[J]. *Circulation*, 2003, 108(10): 1238-1245.
- [收稿日期] 2019-12-16 [修回日期] 2020-03-05
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 215 页)

- [6] DIAS L C, JARDIM L S A, FERREIRA A A, et al. Towards the total synthesis of Stawamycin. Synthesis of C11-C21 fragment[J]. *J Braz Chem Soc*, 2001, 12(4): 463-466.
- [7] IZUMIKAWA M, KOMAKI H, HASHIMOTO J, et al. Stawamycin analog, JBIR-11 from *Streptomyces viridochromogenes* subsp. sulfomycini NBRC 13830[J]. *J Antibiot*, 2008, 61(5): 326-329.
- [8] FAYE D, MBAYE M D, COUFOURIER S, et al. Zinc mediated straightforward access to diacylpyrroles[J]. *Comptes Rendus Chimie*, 2017, 20(5): 492-499.
- [9] GUMILA C, ANCELIN M L, JEMINET G, et al. Differential *in vitro* activities of ionophore compounds against *Plasmodium falciparum* and mammalian cells[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996, 40(3): 602-608.
- [10] ZHANG D, NAIR M G, MURRY M, et al. Insecticidal activity of indanomycin[J]. *J Antibiot*, 1997, 50(7): 617-620.
- [11] 张鑫, 姜南, 沈雪莉, 等. 土壤链霉菌HS-HY-197抗肿瘤代谢产物的研究[C]//2010年中国药学会大会暨第十届中国药师周论文集. 天津, 2010: 4394-4398.
- [12] AZZI N, GRIFFEN E, LIGHT M, et al. An enantioselective desymmetrisation approach to C9-substituted trans-hydrindene rings based on a diastereotopic group-selective intramolecular Diels-Alder reaction[J]. *Chem Commun (Camb)*, 2006(47): 4909-4911.
- [13] WHITNEY R A. Cyclic hydroboration of geraniol derivatives: a synthesis of the left-hand portion of X-14547A[J]. *Can J Chem*, 1986, 64(4): 803-807.
- [14] CLARKE S L, MCSWEENEY C M, MCGLACKEN G P. Investigation of a novel diamine based chiral auxiliary in the asymmetric alkylation of ketones[J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2014, 25(4): 356-361.
- [15] ROUSH W R, MYERS A G. Antibiotic X-14547A: total synthesis of the right-hand half[J]. *J Org Chem*, 1981, 46(7): 1509-1511.
- [16] BOECKMAN R K, ENHOLM E J, DEMKO D M, et al. An efficient enantioselective total synthesis of (-)-X-14547A (indanomycin)[J]. *J Org Chem*, 1986, 51(24): 4743-4745.
- [17] ROEGE K E, KELLY W L. Biosynthetic origins of the ionophore antibiotic indanomycin[J]. *Org Lett*, 2009, 11(2): 297-300.
- [18] RAVINDRAN A, SUNDERRAJAN S, PENNATHUR G. Phylogenetic studies on the prodigiosin biosynthetic operon[J]. *Curr Microbiol*, 2019, 76(5): 597-606.
- [19] LI C X, ROEGE K E, KELLY W L. Analysis of the indanomycin biosynthetic gene cluster from *Streptomyces antibioticus* NRRL 8167[J]. *ChemBioChem*, 2009, 10(6): 1064-1072.
- [20] NIEHS S P, DOSE B, SCHERLACH K, et al. Genome mining reveals endopyrroles from a nonribosomal peptide assembly line triggered in fungal-bacterial symbiosis[J]. *ACS Chem Biol*, 2019, 14(8): 1811-1818.
- [21] MIYANAGA A. Michael additions in polyketide biosynthesis[J]. *Nat Prod Rep*, 2019, 36(3): 531-547.
- [22] LUHAVAYA H, DIAS M V B, WILLIAMS S R, et al. Enzymology of pyran Ring A formation in salinomycin biosynthesis[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54(46): 13622-13625.
- [23] KNIRSCHOVÁ R, NOVÁKOVÁ R, FECKOVÁ L, et al. Multiple regulatory genes in the salinomycin biosynthetic gene cluster of *Streptomyces albus* CCM 4719[J]. *Folia Microbiol (Praha)*, 2007, 52(4): 359-365.
- [24] SULTANA A, KALLIO P, JANSSON A, et al. Structure of the polyketide cyclase SnoaL reveals a novel mechanism for enzymatic aldol condensation[J]. *EMBO J*, 2004, 23(9): 1911-1921.
- [25] KLYMYSHIN D A, STEFANYSHYN O N, FEDORENKO V A. Role of genes snoaM, snoaL, and snoaE in the biosynthesis of nogalamycin in *Streptomyces nogalater* Lv₆₅[J]. *Cytol Genet*, 2015, 49(3): 152-157.
- [26] ROMMEL K R, LI C X, KELLY W L. Identification of a tetraene-containing product of the indanomycin biosynthetic pathway[J]. *Org Lett*, 2011, 13(10): 2536-2539.
- [收稿日期] 2019-10-14 [修回日期] 2020-03-11
[本文编辑] 陈盛新