

Advances of Secondary Metabolites and Their Antitumor Activities of Endophytic Fungi from *Ginkgo biloba*

Haiyue Wu, Hongbao Lu, Tao Wang, Yujie Yuan, Shuai Liu, Qing He

College of Life Science, Dezhou University, Dezhou Shandong
Email: heqing19831016@sina.com

Received: May 5th, 2017; accepted: May 24th, 2017; published: May 27th, 2017

Abstract

Ginkgo biloba is a Chinese medicinal plant; ginkgo flavonoids and polyphenyl alcohol with anti-tumor effect are extracted from it. This tree grows very slow, so endophytic fungi from *Ginkgo biloba* is attracting research interest, which is expected to be a new source of compounds for developing anti-cancer drugs. At present, there are few studies on endophytic fungi of *Ginkgo biloba*, and the research for the anti-tumor activity of endophytic fungi of *Ginkgo biloba* is rare. This paper describes the advances of secondary metabolites and their antitumor activities of endophytic fungi from *Ginkgo biloba*.

Keywords

Ginkgo biloba, Endophytic Fungi, Secondary Metabolites, Antitumor Activities

银杏内生真菌次级代谢产物及抗肿瘤活性研究进展

吴海月, 卢洪保, 王 韬, 原玉洁, 刘 帅, 何 庆

德州学院, 生命科学学院, 山东 德州
Email: heqing19831016@sina.com

收稿日期: 2017年5月5日; 录用日期: 2017年5月24日; 发布日期: 2017年5月27日

摘 要

银杏是我国特产药用植物, 具有抗肿瘤作用的白果黄素、聚戊烯醇都是从银杏中提取出来的。然而银杏

文章引用: 吴海月, 卢洪保, 王韬, 原玉洁, 刘帅, 何庆. 银杏内生真菌次级代谢产物及抗肿瘤活性研究进展[J]. 自然科学, 2017, 5(2): 218-222. <https://doi.org/10.12677/ojns.2017.52029>

生长缓慢,不利于其药效作用的开发,因此银杏内生真菌成为了研究热点,人们期待其能成为银杏药物的新来源。目前有关银杏内生真菌的研究并不多,对银杏内生真菌抗肿瘤活性的研究更是稀少,本文对银杏内生真菌次级代谢产物及其抗肿瘤活性的研究进展进行了综述。

关键词

银杏, 内生真菌, 次级代谢物, 抗肿瘤活性

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

本医学领域近几年普遍认可了从动植物共生微生物中获得天然活性产物的方式,相关植物内生菌抗癌药物研究的报道也越来越多[1]。据统计在过去十年的时间里,被报道的来自内生真菌具有细胞毒活性的化合物有100多种[2]。银杏树是一种我国非常重要的药用植物,从银杏叶中提取出来的有用化学成分能够达到100多种,而且其中的白果黄素、聚戊烯醇等黄酮类化合物、萜内酯类化合物都被证实具有很好的抗肿瘤作用[3]。银杏类药物的研究受到银杏自然生成时间的限制非常严重,即使在银杏内生真菌成为研究热点的时候,也有不少人在积极的寻找着银杏类药物新的来源。多年来,有关银杏内生真菌的研究成果有限和银杏资源有限存在着很大的关系。事实上,加大对药用内生菌资源的研究,如开发银杏内生真菌资源是具有重要意义的任务。

内生菌的概念是由 DeBary 提出来的,他首先发现了内生菌的存在,并于1886年正式提出了这个概念。随后针对植物内生菌的探索研究从未停歇,也取得了不错的进展。现在植物内生真菌的概念已经得到完善,其特指生活在植物组织内的一种真菌。植物内生真菌的要求有:第一,必须是生活在植物组织内,可以是全部时期也可以是只有一段时期。第二,真菌的存在必须对植物组织没有明显的伤害,有些反而会对植物有益[4]。1993年首次分离的产紫杉醇内生菌是从短叶红豆杉树皮中找到的,正是这一次的发现掀起了微生物内生菌领域的研究热潮。例如,邱德有等[5]再一次分离出产紫杉醇内生菌以及紫杉醇的类似物,而这一次是从云南红豆杉和南方红豆杉中分离出来的。郭波等[6]从长春花中分离出了4株内生真菌,分别属于镰刀菌属、交链孢属和无孢菌群,其次级代谢产物和长春花一样具有较强的抗肿瘤活性,可以产生长春新碱的类似物。李海燕等[7]分离出了2株可产生抗肿瘤活性物质鬼臼毒素类似物的真菌,这两株属于青孢属和交链孢属的内生真菌是从桃儿七植株地下莲中分离得到的。

2. 银杏内生真菌化学成分及其生物活性研究进展

银杏属于银杏科银杏属落叶乔木,是非常重要的观赏和药用植物,银杏的外种皮、叶子和果实都属于中药材。《本草纲目》中记载银杏的皮、叶子、果实等部位可用于18种疾病的治疗。现代医学研究发现银杏叶提取物可以治疗老年性心血管疾病。但是银杏在自然条件下需要生长20年以上才具有可开发价值,这一点严重制约了银杏药用功效的开发,因此人们将关注焦点转移到银杏内生真菌的研究上,希望将其开发为银杏类药物的新来源。

2.1. 银杏内生真菌多样性及生物活性

银杏内生真菌的多样性表现为：第一，内生真菌种类具有多样性和差异性。银杏的根、茎、叶、种子、树皮组织等均可以作为提取内生真菌的原料，而且其中的内生真菌含量会随着季节变化而变化，也会随产地不同而呈现出较大差异性；第二，银杏内生真菌的优势菌群有差异。银杏内生真菌中含量较多的菌群种类有：刺盘孢属、交链孢属、镰孢菌属、球壳孢属、曲霉属以及青霉属等；第三，银杏内生真菌是抗菌和抗癌领域重要的内生菌。目前已经在体外证明其次级代谢产物具有抗肿瘤活性，但体内的抗肿瘤效果尚无文献报道。详见表 1。

2.2. 银杏内生真菌化学成分及抗肿瘤活性

研究发现常见的银杏提取物有四大类，分别是：银杏叶复合提取物(EGb)、银杏叶聚戊烯醇(GP)、银杏叶多糖类化合物(GBLP)和银杏外种皮多糖(GBEP) [8]，其主要成分和抗肿瘤作用如表 2 所示。

银杏内生真菌有最大的可能产生与宿主相同或相似的活性物质。Qin 等从银杏内生真菌 *Chaetomium globosum* 液体发酵产物的乙酸乙酯萃取物中分离得到 4 个化合物，均具有较强的细胞毒活性[9]。通常情况下活性越强，其所具有抗癌治疗效果就越好。Li 等从银杏内生真菌 *Chaetomium globosum* TY1 发酵液的甲醇提取物中分离得到 3 个新的生物碱以及 2 个已知化合物，对肝癌细胞 HepG-2 有较强的活性，其中化合物 23 的活性最强，IC₅₀ 值仅为 1.7 μmol/L [10]。Yan 等采用 OSMAC 策略对银杏叶内生真菌 *Aspergillus sp.* YXf3 分别采用不同的发酵条件，获得了不同次生代谢产物，研究发现对多种癌细胞有中等

Table 1. List of endophytic fungi diversity and bioactivities in *Ginkgo biloba*

表 1. 银杏内生真菌多样性及生物活性研究状况列表

研究者	研究内容	研究结果
郭建新等[11]	从陕西杨凌的银杏中分离得到 522 株内生真菌，采用菌丝生长抑制法测定其对 7 种植物病原真菌的抑制作用。	结果显示有占总数 50.7% 的菌株具有抗菌活性，其中 12 株抗菌效果非常明显，尤其对小麦赤霉菌和棉花枯萎菌有较强的抑制作用。
高樱萍等[12]	以 DPPH 自由基清除率为指标，对 32 株分离于安徽芜湖的银杏内生真菌的甲醇提取物的抗氧化活性进行筛选。	结果显示，有 8 株内生真菌具有较强的 DPPH 自由基清除能力，其中 4 株的活性显著高于其它菌株，分别可以达到 96.68%、96.09%、85.32% 和 84.48%。
缪莉等[13]	体外抗肿瘤试验	安徽阜阳地区分离得到的 19 株银杏内生真菌中，有 3 株真菌在 50 μg/mL 的浓度下对人食道癌细胞 EC109 的生长抑制率大于 0%，且活性成分主要在发酵液中。其中活性最强的菌株为 YX5，其发酵液粗提物对 EC109、人鼻咽癌 HONE1 和人宫颈癌 Hela 的半数抑制率 IC ₅₀ 分别为 18.3、3.6 和 6.5 μg/mL，具有开发抗肿瘤药物的可能。

Table 2. Constituents of *Ginkgo biloba* extract and its antitumor effect

表 2. 银杏提取物成分及抗肿瘤作用列表

银杏提取物	作用	可能的作用机制
银杏叶复合提取物	对小鼠移植肉瘤 S180 和肝癌 H22 细胞有抑制作用，且在体内、外均有作用[14]。	
银杏叶聚戊烯醇	在体外对人胃癌细胞株 SGC-7901、人结肠腺癌细胞株 LOVO 和人宫颈癌 Hela 细胞株抑瘤率达 60%~80%。 在体内对移植性肿瘤细胞 Heps、S180 和 EC 的抑瘤率达到 50%~65%[16]。	抗氧化和清除自由基、影响肿瘤细胞的增值和诱导凋亡、抑制肿瘤血管的形成、对肿瘤及相关基因的调节作用、对肿瘤细胞的细胞毒作用等[15]。
银杏叶	在 10 - 320 μg/mL 剂量下，体外作用 24~72 h，对人肝癌细胞株 BEL-7404、胃腺癌细胞株 SGC-7901 及肺	

多糖类化合物 腺癌细胞株 SPC-A-1 皆有抑制作用[17]。

强度的活性, 这些癌细胞包括: 人鼻咽癌细胞 KB、人胃癌细胞 SGC-7901、人结肠癌细胞 SW1116 和人肺癌细胞 A549 [18]。

2.3. 存在的问题

随着银杏内生真菌研究的增多, 暴露出来的问题也越来越多, 其中比较明显的问题有: 第一, 银杏分布范围广泛, 在研究过程中需要注意避免重复取样研究; 第二, 不同时间, 分离效果亦不同; 第三, 不同种属的内生真菌次生代谢产物差异性较强, 不同的银杏内生真菌菌种次生代谢产物也具有不同的特点, 需要有针对性的选择菌种。例如, 将毛壳菌属易产球壳素类化合物作为主要的研究对象开展研究工作的时候需要先明确研究的目的性, 然后再根据需求选择合适的菌种; 第四, 产率偏低的情况普遍存在, 需要借助多种现代技术的帮助才能提高目标产物的产量。鉴于银杏的生长周期长, 其数量上并不能满足抗癌药物提炼需求, 从原料上入手解决抗癌药物研究和生产问题并不合适。银杏内生真菌研究是一个系统工程, 在建设和完善这个工程的时候不仅需要依靠先进的微生物菌种选育技术选择最优秀的内生菌种, 还需要依靠最先进的发酵工艺优化技术和工程菌的构建技术提高植物内生真菌的培育水平和培育数量。

3. 进一步研究方向

随着植物内生菌研究工作的不断深入, 越来越多具有抗肿瘤活性的物质被发现, 为微生物药物研究和应用提供了极大的便利, 也为更加深入的研究内生菌奠定了一定的基础。但是也存在一些问题: 首先, 目前的内生真菌研究注重对其种类和代谢产物成分的分析研究, 忽视了代谢产物及成分之间关联性的研究, 更没有对植物内生真菌代谢产物及其宿主成分间的关联做深入研究。其次, 对于宿主植物不具有的新成分即使发现了也没有引起重视, 没有做深入的研究, 更没有对这些新成分与宿主的药效相关性做进一步的探讨。第三, 目前的技术条件下, 一次就可从药用植物中分离出数百种内生菌, 如果对这些内生真菌一一进行成分分析及药效学观察, 工作量非常大, 效率也很低, 因此研究和应用高效的菌种筛选方法势在必行。针对上述问题, 笔者认为银杏内生菌的研究应当开拓思维, 转变研究思路, 力争使内生真菌的研究更上一个台阶。

参考文献 (References)

- [1] Challis, G.L. (2008) Mining Microbial Genomes for New Natural Products and Biosynthetic Pathways. *Microbiology*, **154**, 1555-1569. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2008/018523-0>
- [2] Koehn, F.E. and Carter, G.T. (2005) The Evolving Role of Natural Products in Drug Discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, **4**, 206-220. <https://doi.org/10.1038/nrd1657>
- [3] 傅晓艺, 刘桂茹, 杨学举. 银杏的药用价值及组织培养研究[J]. 中国农学通报, 2005, 21(8): 314-317.
- [4] Harvey, A.L. (2008) Natural Products in Drug Discovery. *Drug Discovery Today*, **13**, 894-901.
- [5] 邱德有. 一种云南红豆杉内生真菌的分离[J]. 真菌学报, 1994, 13(4): 314-316.
- [6] 郭波, 李海燕, 张玲琪. 一种产长春新碱内生真菌的分离[J]. 云南大学学报(自然科学版), 1998, 20(3): 214-215.
- [7] 李海燕, 曾松荣, 张玲琪. 云南桃儿七植株地下茎内生真菌多样性及有价值菌株的筛选[J]. 西南农业学报, 1999, 12(4): 123-125.
- [8] Wang, Y., Lv, J., Cheng, Y., et al. (2015) Apoptosis Induced by *Ginkgo biloba* (EGb761) in Melanoma Cells Is Mcl-1-Dependent. *PLoS ONE*, **10**, e0124812. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124812>
- [9] Qin, J.C., Zhang, Y.M., Gao, J.M., et al. (2009) Bioactive Metabolites Produced by *Chaetomium globosum*, an Endophytic Fungus Isolated from *Ginkgo biloba*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **19**, 1572-1574.

- [10] Li, H.Q., Li, X.J., Wang, Y.L., *et al.* (2011) Antifungal Metabolites from *Chaetomium globosum*, an Endophytic Fungus in *Ginkgo biloba*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **39**, 876-879.
- [11] 郭建新, 孙广宇, 张荣, 等. 银杏内生真菌抗真菌活性菌株的分离和筛选[J]. 西北农业学报, 2005, 14(4): 14-17.
- [12] 高樱萍, 葛飞, 张慧敏 等. 32 株银杏内生真菌清除 DPPH 自由基活性的比较研究[J]. 安徽工程大学学报, 2013, 28(1): 1-4.
- [13] 缪莉, 王元元, 朱磊, 等. 四种植物内生真菌的分离及其抗肿瘤活性的筛选[J]. 微生物学通报, 2009, 36(6): 865-869.
- [14] 嵇玉峰, 黄金活, 梁洪江. 银杏提取物抗肿瘤作用的实验研究[J]. 中医研究, 2005, 18(7): 14-16.
- [15] Isah, T. (2015) Rethinking *Ginkgo biloba* L.: Medicinal Uses and Conservation. *Pharmacognosy Reviews*, **9**, 140-148. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.162137>
- [16] 王成章, 沈兆邦, 郑光耀, 等. 银杏叶聚戊烯基磷酸酯体内外抗肿瘤的生物活性研究[J]. 林产化学与工业, 2006, 26(3): 13-16.
- [17] 许爱华, 陈华圣, 褚澄, 等. 银杏外种皮多糖对人癌细胞株的抑制作用及与阿霉素的协同效应[J]. 中国新药杂志, 2000, 9(11): 753-755.
- [18] Yan, T., Guo, Z.K., Jiang, R., *et al.* (2013) New Flavonol and Diterpenoids from the Endophytic Fungus *Aspergillus* sp. YXf3. *Planta Medica*, **79**, 348-352.

期刊投稿者将享受如下服务:

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: ojs@hanspub.org