

ANTIFUNGÁLNE METABOLITY PRODUKOVANÉ MIKROMYCÉTAMI

KATARÍNA LEŠOVÁ a MÁRIA ŠTURDÍKOVÁ

Katedra biochemickej technológie, Chemickotechnologická fakulta, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika

Došlo dňa 16.II.1999

Kľúčové slová antifungálne metabolity, antibiotiká, mikromycéty

Obsah

1. Úvod
2. Glykozidové antibiotiká
3. Peptidy a netyrické aminokyseliny
4. Heterocyklické antibiotiká
5. Alicyklické antibiotiká
6. Aromatické antibiotiká
7. Alifatické antibiotiká
8. Záver

1. Úvod

Hľadanie a výskum nových antifungálnych terapeutík pokračuje rýchlym tempom vzhľadom na výrazné a rastúce potreby humánnej a veterinárnej medicíny. I keď systematické mykózy sú menej významné ako bakteriálne infekcie, počet fungálnych ochorení ohrozujúcich život v poslednom desaťročí ostro vzrástol vzhľadom na stúpajúci počet pacientov s oslabeným imunitným systémom. Fungálne infekcie sa stávajú čoraz viac bežnými v dôsledku rozšírenia AIDS, transplantácie orgánov a chemoterapie pacientov postihnutých rakovinovými ochoreniami¹. Stúpol počet infekcií spôsobených druhmi *Candida sp.*, *Cryptococcus neoformans* a *Aspergillus sp.* Tiež dimorfické huby ako *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis* a *Sporothrix schenckii* spôsobujú ochorenia ohrozujúce život.

Modifikácia existujúcich, objavenie a syntéza nových antifungálnych zlúčenín v pokusoch o produkciu účinných látok na liečbu množstva ľudských mykóz viedla k podstatnému nárastu v počte patentových aplikácií v poslednom období. Zahŕňajú výber procesov a aplikácií pre prírodné aj semisyntetické deriváty². Ako uvádza Moehle³, predpokladá sa, že v nasledujúcich štyroch rokoch bude výskum a aplikácia antifungálnych látok najrýchlejšie sa rozvíjajúcim odvetvám farmaceutického priemyslu.

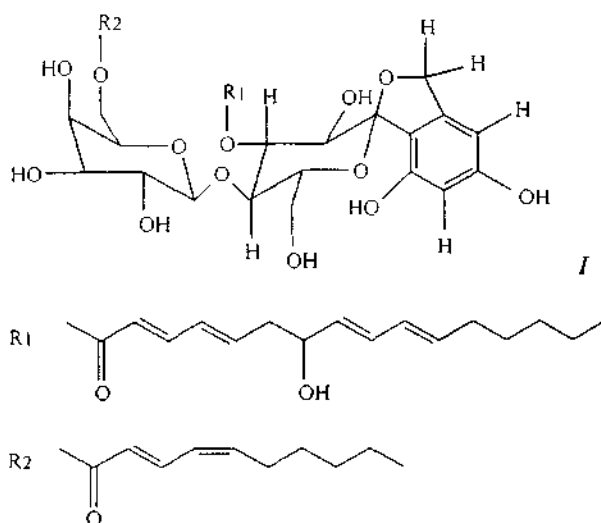
Mikroorganizmy sa osvedčili ako vynikajúci zdroj terapeuticky využiteľných látok pri rôznych humánnych a živočíšnych ochoreniach. Produkujú metabolity rozmanitých štruktúr a účinkov. Mnohé mikroorganizmy tvoria sekundárne metabolity v relatívne vysokom nadbytku, čo sa využíva na ich priemyselnú prípravu biotechnologickými postupmi

Práca tvorí prehľad fungicídov izolovaných z mikromycét od roku 1994. Metabolity sú usporiadané podľa Bérdyho systému chemickej klasifikácie antibiotík.

2. Glykozidové antibiotiká

Vyskytujú sa ako čisté sacharidy, alebo ako pseudodri-, resp. insachandy, u ktorých sa uplatňujú kombinácie streptomínu, deoxystreptomínu a ich derivátov prírodných aminohe- xóz. Modifikácie základnej štruktúry sacharidov majú za následok zmenu antibiotických účinkov.

BE-29602 (*I*) produkovaný kmeňom F29602, patriacim do rodu *Fusarium* je členom triedy papulakandínov. BE-29602 vykazuje inhibičnú aktivitu voči niekoľkým kvasin- kám ako *Saccharomyces cerevisiae* a *Candida albicans* (MIC 1,56 resp. 0,39 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Tiež čiastočne inhibuje rast *Staphylo- coccus aureus* a *Trichophyton mentagrophytes* v koncentrácii 12,5 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Účinok BE-29602, tak ako aj ostatných papu- lakandínov, je založený na inhibícii syntézy P-1,3-glukánu⁴.



Corynecandin, antifungálny glykolipid kultúry *Coryneum modonum* sa zaraďuje sa do triedy papulakandínov. Ma podobnú antifungálnu aktivitu ako ostatné metabolity tejto triedy. Jeho účinok je tiež založený na inhibícii syntézy bun- kovej steny. Obsahuje esterový reťazec v polohe C3, ktorý sa u iných glykolipidov nenachádza. Je to najmenší známy člen triedy papulakandínov s antifungálnou aktivitou, ktorý inhi- buje aktivitu glukánsyntázy⁵.

Furanocandin, antifungálne antibiotikum z triedy papulakandínov bolo izolované z kmeňa *Trichothecium sp.* Jeho MIC hodnoty pre *Candida albicans* (0,2 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) sú nižšie ako MIC hodnoty amfotericínu B (0,78 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) (cit.⁶).

Fuskandín A a *B* sú antifungálne látky triedy papulakandínov produkované kmeňom *Fusarium sambuci- num*. Fuskandíny inhibujú rast *Candida albicans* prostrednic-

tvom inhibície *beta*-1,3-glukan syntazy Fuskandin A je omnoho aktívnejší ako fuskandin B (MIC 3,12 $\mu\text{g ml}^{-1}$), je však menej aktívny ako amphotericin B a papulakandin B. Nevykazuje významnú antibakteriálnu aktivitu.⁷ Fuskandin A je na dvoch miestach esterifikovaný dlhým retazcom nenasýtených mastných kyselín, na rozdiel od fuskandinu B, ktorý obsahuje len jedno takéto miesto.⁸

3. Peptidy a netypické aminokyseliny

Antibiotiká tejto skupiny metabolitov sú produkované baktériami, aktinomycétami a hubami. Peptidové antibiotiká reprezentujú veľkú skupinu metabolitov produkovaných najmä streptomycétami. Sú všeobecne menšie ako proteíny a často sa v nich vyskytujú aminokyseliny, ktoré nenachádzame v proteínoch.

Aciculitín A-C sú tri príbuzné peptidy produkované hubou *Aciculites orientalis*. Sú tvorené bicyklickým peptidom, ktorý obsahuje nezvyčajný histidín tyrozinový mostík. Lišia sa len v dĺžke alkylého retazca dihydroxydienenovej kyseliny. *Aciculitíny* sú prvé glykopeptidolipidy získané z morského zdroja. Inhibujú rast *C. albicans* a pôsobia cytotoxicky na ľudské nádorové bunky HCT-116. Pre ich biologickú aktivitu je dôležitý histidínový zvyšok.⁹

AFP je antifungálny proteín zložený z 51 aminokyselinových zvyškov, produkovaný hubou *Aspergillus giganteus*. Pre jeho aktivitu je dôležitý tyrozinový zvyšok. Je účinný na vláknité huby, avšak nevykazuje žiadnu aktivitu na baktérie a kvasinky. Minimálne inhibičné koncentrácie sa pohybujú v rozmedzí 6 až 25 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (cit.¹⁰).

Aureobazidíny sú skupinou antifungálnych antibiotík produkovaných čiernou kvasinkou *Aureobasidium pullulans*. Okrem hlavného produktu, aureobazidínu A, ju tvorí viac ako 20 štruktúrne príbuzných látok a ich štruktúra je charakterizovaná ako cyklický depsi-peptid, tvorený ôsmimi aminokyselinami, z ktorých sú tri, alebo štyri metylované a jedna je hydroxykyselina. Bolo objavených šesť nových kongenerov, označených ako AbT1-4, AbU1 a AbU2. Hodnoty MIC pre *C. albicans* sa pohybujú v rozmedzí 0,0125 až 0,39 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Metabolity sú tiež účinné voči *C. glabrata*, *C. kefyr*, *Cryptococcus neoformans* a *Saccharomyces cerevisiae*.¹¹

Bergofungín je produkovaný kultúrou *Emencellosis donezku* HKI 0059. Okrem neho kultúra produkuje aj malé množstvo jeho homologu, v lišiacich sa v zložení aminokyselín. Je to lineárny peptid obsahujúci 15 aminokyselín. Antimikrobiálna aktivita bola stanovená voči niektorým baktériam a hubám platňovou difúznou metódou (priemer inhibičnej zóny [mm] *Bacillus subtilis* 18, *Sporobolomyces salmonicolor* 23, *Penicillium notatum* 13).¹²

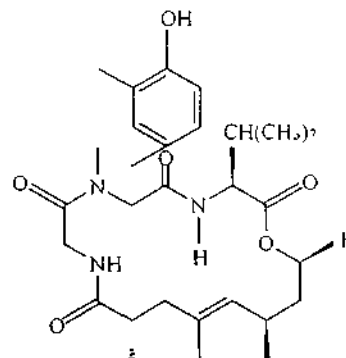
Gigantín je 17-kDa nbnukleáza produkovaná kultúrou *Aspergillus giganteus* IFO 5818. Je zložená z deviatich aminokyselín, podobne ako a sarcin, rbozom inaktivujúci proteín izolovaný z *A. giganteus* MDH 18894 (cit.¹³).

Helioferín A a *B* sú aminolipopeptidové antibiotiká produkované kultúrou *Mycogone rosea* DSM 8822. Sú to mediatory prenosu heliantatových (metyloranz) anionov z vodnej do organickej fázy. Zmes helioferínov A a B 7:3 má silnú antibakteriálnu a antifungálnu aktivitu. Inhibuje rast *Candida albicans* (MIC 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$), *Fusarium culmorum* (MIC 6,25 $\mu\text{g ml}^{-1}$), *Penicillium notatum* (MIC 1,56 $\mu\text{g ml}^{-1}$) a *Rho-*

dotorula rubra (MIC 0,78 $\mu\text{g ml}^{-1}$). Antibakteriálne pôsobí hlavne na G⁺ baktérie a mykobaktérie. Podobne ako u leucinostatínov, je ich účinok založený na porušení bunkového prenosu iónov a energetického metabolizmu.¹⁴

Leucinostatín A je peptid produkovaný kultúrou *Accremonium sp.*, izolovanou ako endofytická huba *Taxus baccata*. Leucinostatín má antifungálne, tytotoxické a protinádorové vlastnosti. Metabolit vyvoláva rôzne nekrotické symptómy u nehostiteľských organizmov, avšak na *T. baccata* nepôsobí. To je spôsobené jeho glykozyláciou na leucinostatín A di-O-glukozid, ktorý má výrazne nižšiu bioaktivitu ako pôvodný metabolit. Z výsledkov vyplýva, že glykozylácia môže hrať významnú rolu v obrane rastlín, najmä pri ochoreniach spôsobených toxínmi.¹⁵

Neosiphoniamolida (II), cyklodepsi-peptid s antifungálnou aktivitou, bol izolovaný z morskej huby *Neosiphonia superstes*. Obsahuje 12 uhlikatu hydroxykyselinu, glycin, valín a halogenovaný tyrozinový zvyšok v 18-člennom kruhu. Je štruktúrne príbuzný s jaspamidom a geodiamolidmi. Inhibuje rast *Pyricularia oryzae* a *Helminthosporium gramineum*.¹⁶

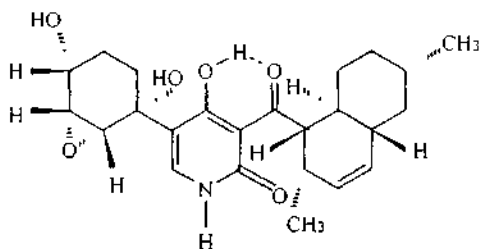


WF11899A, *B* a *C* sú antifungálne lipopeptidové antibiotiká izolované z kultivačného mediá *Coleophomaempetri* F-11899. Metabolity patria do skupiny echmokandmov. Zlúčeniny sú aktívne voči *Candida albicans* (IC₅₀ 0,0004-0,03 $\mu\text{g ml}^{-1}$). Tiež mierne inhibujú rast *Aspergillus fumigatus* a *A. niger*. 1,3 *beta* glukansyntáza je inhibovaná týmito metabolitmi s IC₅₀ 0,7-18 ($\mu\text{g ml}^{-1}$) (cit.¹⁷).

4. Heterocyklické antibiotiká

Metabolity patriace k tejto skupine antibiotík tvoria pomerne heterogénne spektrum zlúčenín obsahujúcich dusík, alebo kyslík. Ide najmä o sekundárne metabolity hub a aktinomycét. Najznámejšie spomedzi nich sú nukleozidové antibiotiká.

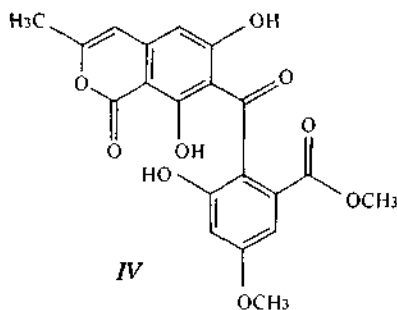
Apiosporamid (III) je antifungálny metabolit koprofílny huby *Apiozpora montagnei* izolovaný spolu so známym dihydroxykumarinom *cis* (3*R*, 4*R*)-4-hydroxymelleinom. Má antifungálnu aktivitu voči koprofílny hube *Asco-bolus furfuraceus*, vykazujúc 58 % inhibíciu rastu v množstve 200 $\mu\text{g/disk}$. Tvorí tiež inhibičné zóny pri *Bacillus subtilis* (32 mm) a *Staphylococcus aureus* (21 mm) v koncentrácii 200 $\mu\text{g/disk}$. Apiosporamid sa podobá na tenellín, metabolit patogénnej huby *Beauveria tenella*.¹⁸



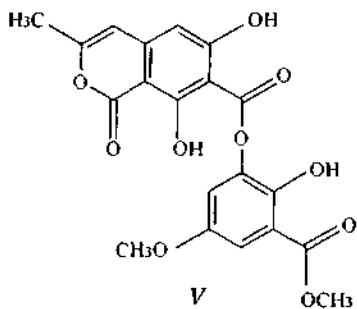
III

Benesudon - prvý sekundárny metabolit izolovaný z kultúry *Mollisia benesuada* má antibakteriálnu, antifungálnu, cytotoxickú a fytotoxickú aktivitu. Citlivé sú ako G⁺, tak i G⁻ baktérie (MIC v rozsahu 2,5-10 µg ml⁻¹). Najvyššia antifungálna aktivita bola zistená proti *Peacilomyces variotii* (MIC 1 µg ml⁻¹). Metabolit pôsobí inhibične aj na rast *Mucor miehei*, *Penicillium notatum*, *Rhodotorula glutinis* a *Nematospora coryli* (MIC 2,5-10 µg ml⁻¹). Štruktúra obsahuje reaktívnu α-metylétketónovú štruktúru, ktorá je pravdepodobne zodpovedná za jeho biologickú aktivitu¹⁹.

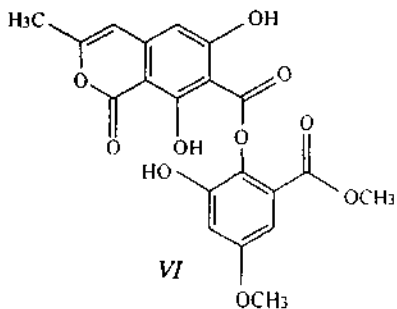
Cercophorin A-C (IV, V, VI) - tri izokumarínové deriváty s antifungálnou a cytotoxickou aktivitou boli izolované z koprofilnej huby *Cercophora areolata* UAMH 7495,



IV



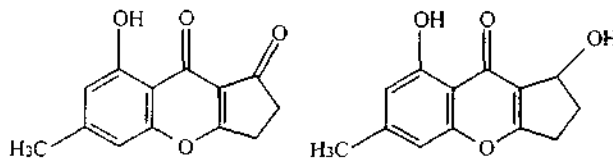
V



VI

tvoriacej kolónie na dikobrazom hnoji. Z tohto kmeňa boli izolované aj ďalšie dva nové izokumaríny, dekarboxycitrinon a 4-acetyl-8-hydroxy-6-metoxi-5-metylizokumarín, a známy mykotoxín roridin E. Cercophoríny A-C inhibujú rast *Sordaria fumicola* a *Ascoibolus furfuraceus* v koncentráciách 200 µg/disk (cit²⁰).

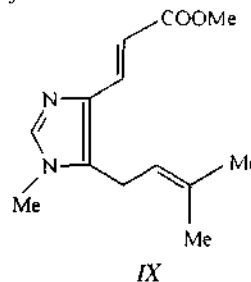
Coniochaeton A a B (VII, VIII) sú dva cyklopentabenzopyrán-4-óny boli izolované z koprofilnej huby *Coniochaeta saccardoii* JS 223. Sú to prvé prírodné zlúčeniny s touto štruktúrou a tiež prvé sekundárne metabolity z kmeňov rodu *Coniochaeta*. Coniochaeton A tvorí 27 mm inhibičnú zónu rastu *Candida albicans* v koncentracii 200 µg/disk (coniochaeton B 13 mm). Tiež 100 % redukuje rast koprofilných húb *Sordaria fumicola* a *Ascoibolus furfuraceus* v koncentracii 200 µg/disk (cit²¹).



VII

VIII

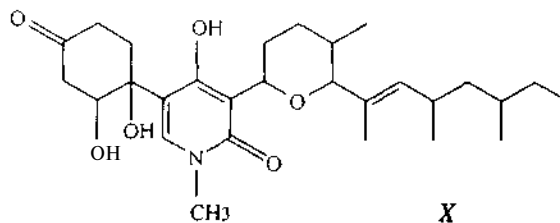
Fungerin (IX) je nový antifungálny alkaloid produkovaný kmeňom *Fusarium sp.*, ktorý bol získaný z pňa *Miscanthus sacchariflorus*. Fungerin vykazuje antifungálnu, ale nie antibakteriálnu aktivitu. MIC hodnoty pre *Penicillium chrysogenum*, *Colletotrichum langenarium*, *Alternaria mali* a *Pyricularia oryzae* sú 12, 5, 25, 50, respektíve 50 µg ml⁻¹. Na základe meraní bolo zistené, že ide o nový alkaloid 3-[1-metyl-5-(3-metyl-2-butenyl)-1H-imidazol-4-yl]2-metyléster kyseliny propánovej²².



IX

GR135402 - metabolit kultúry *Graphium putrendis*, ktorý inhibuje proteosyntézu u *Candida albicans* (IC₅₀ 0,028 µg ml⁻¹). Spektrum aktivity zahŕňa okrem *Candida albicans* (MIC 0,008-0,03 µg ml⁻¹) aj *Cryptococcus neoformans* (MIC 1 µg ml⁻¹), avšak žiadne iné druhy rodu *Candida* ani *Aspergillus*²³.

Oxysporidinon (X), nový 3,5-disubstituovaný N-metyl-4-hydroxy-2-pyrdón bol izolovaný z kultivačného média *Fusarium oxysporum*. Štruktúrne je príbuzný s antifungálnym metabolitom funikulozínom, produkovaným kultúrou



X

Penicillium funiculosum patria do skupiny fungálnych sekundárných metabolitov, obsahujúcich 4-hydroxy-2-pyridónový chromofór. Do tejto skupiny patria tennelin a bassianin z *Beauveria tenella* a *B. bassiana*, ilicicolin H z *Cylindrocladum ilicicola*, harzianopyridon z *Trichoderma harzianum*, leponn A z *Aspergillus leporis*, fischerin z *Neosartorya fischeria* a apiosporamid z *Apiozpora montagnei*. Oxysporidinon inhibuje rast fytopatogénnych húb *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* a *Venturia inaequalis* (MIC 10, 1, 50 resp. 10 $\mu\text{g ml}^{-1}$). V koncentrácii 1 mg ml^{-1} bol neúčinný proti kvasinám a baktériam.²⁴

Prenisatin - metabolit izolovaný zo submerznej kultivácie kultúry *Chaetomium globosum*. Štruktúra bola určená ako 5-(3-metyl-2-butenyl)-indol-2,3-dión. Prenisatin *in vitro* podmienkach inhibuje rast *Botrytis cinerea*.²⁵

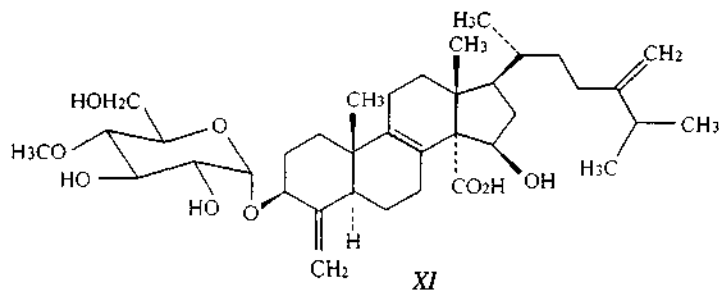
Pterulon je spolu s kyselinou pterulonovou produkovaný kultúrou *Pterula sp.* 82168. Obidve zlúčeniny majú výraznú antifungálnu a slabú, resp. žiadnu cytotoxickú aktivitu. Kyselina pterulonová je asi 10 krát aktívnejšia ako pterulon. Jej hodnoty MIC sa pohybujú v rozmedzí 25-100 $\mu\text{g ml}^{-1}$ pre *Fusarium oxysporum*, *Mucor miehei*, *Peecilomyces variotii*, *Penicillium notatum*, *Rhodotorula glutinis* a *Nadsonia fulvescens*. Ich účinok je založený na inhibícii NADH ubiquinon oxidoreduktázy.²⁶

Squalenol a **squalenol** sú tri štrukturalne príbuzné selektívne inhibítory squalénsyntázy produkované kultúrou *Phoma sp.* C2932. Metabolity inhibujú ako fungálnu, tak aj cicavčiu squalénsyntázu. Majú široké spektrum antifungálnej aktivity.²⁷ Ide o 4,6,7-trihydroxy-2,8-dioxybicyklo-oktan-3,4,5-trikarboxylové kyseliny.²⁸ Štúdie ukazujú, že základ molekuly je vytvorený z dvoch polyketidových reťazcov, zložených z acetátových jednotiek.²⁹

5. Alicyklické antibiotiká

Najznámejšou skupinou cykloalkanových derivátov sú glutarimidové antibiotiká. Charakteristickou črtou týchto metabolitov je glutarimidový kruh. Sú produkované hlavne streptomycetami. Ich mechanizmus účinku je zvyčajne založený na inhibícii proteosyntézy.

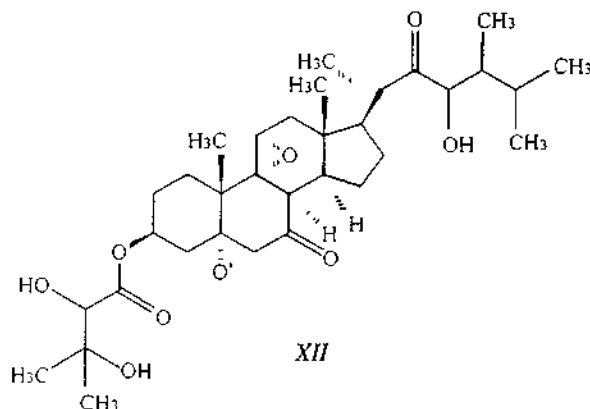
Ascosteroid (XI) - nová antifungálna zlúčenina izolovaná z kultivačného média *Ascomcha amphitricha*. Inhibuje rast kvasiniek a vlákňitých húb (*Aspergillus nidulans*, *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *Trichophyton mentagrophytes* MIC 14-21 $\mu\text{g ml}^{-1}$), avšak nemá vplyv na rast baktérií. Na cicavčie bunky nepôsobí cytotoxicky do koncentrácie 150 $\mu\text{mol l}^{-1}$ (cit.³⁰). Štúdie štruktúry ukázali, že ide o glykozylovaný C_{30} tetracyklický triterpén s lanostano-



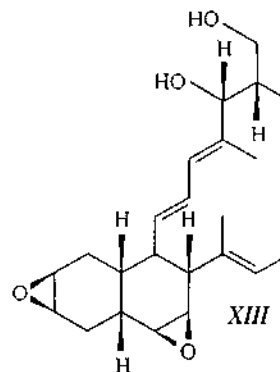
vým jadrom. Metylester ascosteroidu mal omnoho nižšiu antifungálnu aktivitu oproti pôvodnému metabolitu, z čoho možno usudzovať, že pre antibiotickú aktivitu je dôležitá karboxylová skupina.³¹

Australifungin - metabolit s antifungálnou aktivitou bol izolovaný z kultivačného média kultúry *Sporomeliella australis* spolu s príbuzným derivátom s nižšou aktivitou. Štruktúra obsahuje nezvyčajnú kombináciu α -diketónovej a β -ketoaldehydickej funkčnej skupiny. Latka má široké spektrum antifungálnej aktivity. Pôsobí proti viacerým patogénnym hubám ako *Candida spp.*, *Cryptococcus neoformans* a *Aspergillus spp.* (MIC 0,015-1 $\mu\text{g ml}^{-1}$). Predpokladaný spôsob účinku je interferencia s fungálnym metabolizmom lipidov, konkrétne inhibícia premeny sfinganínu na ceramid v syntéze sfingolipidu.³²

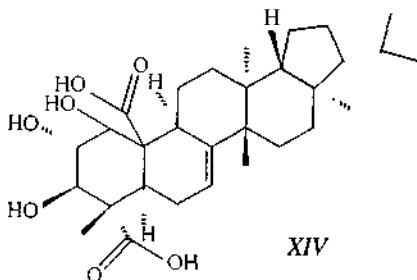
Favolon (XII) je nový antifungálny triterpenoid izolovaný z etiópskej huby *Favolaschia sp.* Táto je tiež producentom už skor izolovaných metabolitov s antifungálnou aktivitou, a to oudemansmu, strobilurinu A a B a ich derivátov. Favolon bol detegovaný len v myceliu. Vykazuje inhibičnú aktivitu voči askomycétam, bazidiomycétam, oomycétam a zygomycétam, avšak nebola detegovaná žiadna antibakteriálna ani cytotoxická aktivita.³³



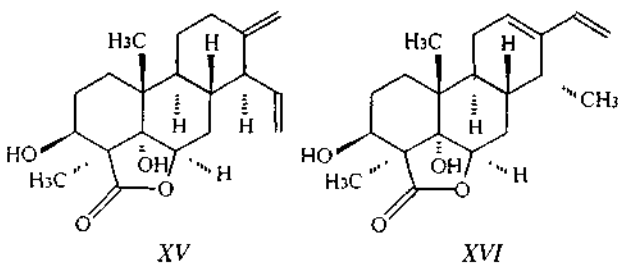
Fusarielin A (XIII) spolu s tromi príbuznými zlúčeninami fusarielinom B, C a D bol získaný z kmeňa *Fusarium sp.* Biogeneticky je to pentametylovaný dekaketid. Vykazuje antifungálnu aktivitu voči *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria kikuchiana*, *Colletotrichum dematium*, *Fusarium nivale* a *Penicillium oryzae* s MIC hodnotami v rozmedzí 3,1 až 50 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Účinok týchto látok je založený na interferencii s funkciou mikrotubulov.³⁴



Polytolypin (XIV) - pentacyklický triterpenoid vykazujúci antifungálnu a antibiotickú aktivitu bol izolovaný z kultúry *Polytolypa hystricus*, huby rastúcej na dikobrazom truse. Metaboht vykazuje antifungálnu aktivitu voči koprofilnej hube *Ascobolus furfuraceus*. Je tiež aktívny voči *Candida albicans*. Štruktúra je veľmi podobná kyselíne retigerovej, metabolitu izolovanému z *Lobariaretergera*³⁵.



Sonomolid A a B (XV, XVI) - nové širokospektrálne antifungálne metabolity neidentifikovanej koprofilnej huby. Obe zlúčeniny sú aktívne proti viacerým fungálnym patogénom ako *Candida albicans* (MIC 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$), *Cryptococcus neoformans* (MIC 0,25 $\mu\text{g ml}^{-1}$) a *Aspergillus fumigatus* (MIC 8 resp 4 $\mu\text{g ml}^{-1}$). Ani jeden z metabolitov nemá antibakteriálnu aktivitu. Sonomolidy sú prvé známe diterpény s antifungálnou aktivitou³⁶.

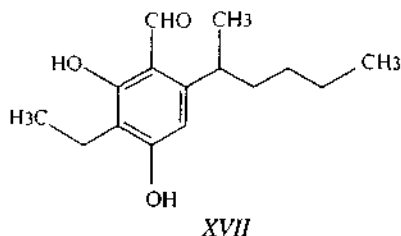


6. Aromatické antibiotiká

Aromatické sekundárne metabolity tvoria skupinu látok s veľmi pestrú štruktúrou. Patria sem monocyklické deriváty benzénu, alebo kondenzované aromatické zlúčeniny s postrannými reťazcami, prevažne alifatickými.

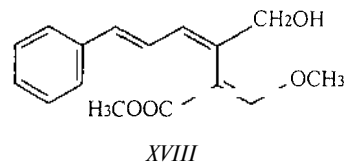
Anguillosporal (XVII), antifungálny a antibakteriálny metabolit bol izolovaný zo sladkovodnej huby *Anguillospora longissima*. Je to 2,4-dihydroxy-3-etyl-6-(1-metylpen-tyl)-benzaldehyd polyketidového pôvodu. Hodnoty MIC sú 4 $\mu\text{g ml}^{-1}$ pre *S. aureus* a 58 $\mu\text{g ml}^{-1}$ pre *C. albicans*?

Antafumicín A a B - dva antimikrobiálne meta-



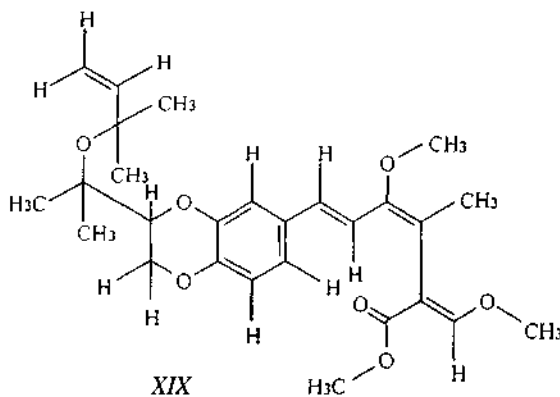
bohty kultúry *Aspergillus niger*, *trans*- resp *cis*-4-(3-acetyl-2,6-dihydroxyfenyl)-2-metoxi-4-butanolid. Zmes antafumicínov A a B v pomere 1:1 pridaná do kultivačného média v koncentrácii 100 ppm úplne inhibuje germináciu spór *Colletotrichum lagenarium*, *Pyricularia oryzae*, *Fusarium oxysporum* a *Botrytis cinerea*. V koncentrácii 50 p.p.m. zmes inhibuje na 50 % tiež rast *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* a *Aeromonas liquefaciens*³⁸.

Hydroxystrobilurin A (XVIII), antifungálny E- β -metoxyakrylát bol izolovaný z kultúry *Pterula sp.* Ten istý kmeň produkuje aj strobilurin A a oudemansin A. V porovnaní so strobilurinom A vykazuje hydroxystrobilurin A nižšiu antifungálnu aktivitu. Hydroxystrobilurin A inhibuje väčšinu vlaknitých húb a kvasiniek v množstve 1 až 10 $\mu\text{g/disk}$. Nekompetentné inhibičné zóny boli pozorované pri *Saccharomyces cerevisiae* iných hubách. Zatiaľ čo povrchovo aeróbný rast bol kompletne inhibovaný, slabší anaeróbný rast bol stále možný. Hydroxystrobilurin A nevykazuje žiadnu antibakteriálnu aktivitu³⁹.

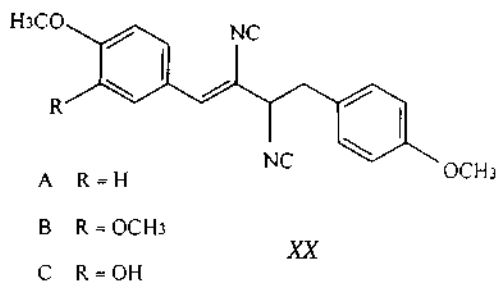


Kladosporín biseoxid je nový metabolit kultúry, charakterizovanej na základe tvorby piknidí ako coelomycéta. Vykazuje selektívnu antibiotickú aktivitu proti viacerým baktériám (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *Pseudomonas aeruginosa*), hubám (*Mucor miehei*, *Penicillium oryzae*, *Botrytis cinerea*, *Candida albicans*) a inhibuje germináciu *Lepidium sativum* vo veľmi nízkych koncentráciách⁴⁰.

9-Metoxystrobilurin L (XIX), nový derivát metoxystrobilurínu bol izolovaný spolu s ďalším derivátom 9-metoxystrobilurínom E a derivátom oudemansmu z kultivačného média huby *Favolaschia pustulosa* X27732. Pôsobí cytotoxicky na ľudské B lymfoblastoidy (IC₅₀ 1,8 nmol.l⁻¹). Má tiež antibakteriálnu (*Bacillus subtilis* MIC 0,9 $\mu\text{mol.l}^{-1}$) a antifungálnu aktivitu (*Candida albicans* MIC 6 $\mu\text{mol.l}^{-1}$)⁴¹.



NK372135A, B, A, C (XX) nové antifungálne metabolity produkované kmeňom *Neosartorya fischeri* var *glabrata*. Pre vysokú aktivitu voči rodu *Candida* je nutná hydrogénovaná štruktúra na väzbe C2-C3. Metabohty

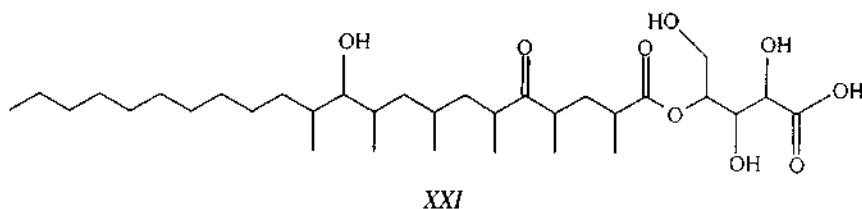


NK372135B a C majú pre *C. albicans* nižšie hodnoty IC₅₀ ako nystatin. Sú tiež účinné voči niektorým hubám, ako *Cryptococcus neoformans*⁴².

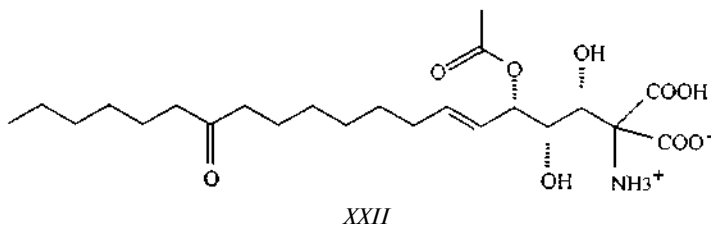
7. Alifatické antibiotiká

Medzi alifatické antibiotiká sa zaraďujú polyíny, ktoré tvoria ucelenú skupinu derivátov alkánov. Zaraďujeme sem tiež deriváty alifatických karboxylových kyselín a niektoré antibiotiká izolované z vyšších rastlín.

Khafrefungin (XXI) je nový inhibítor syntézy sfingolipidu izolovaný z neidentifikovanej endofytickej huby. Metabolit inhibuje rast mnohých kvasiniek a vláknitých húb (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* a *Saccharomyces cerevisiae* MIC 2,2 a 15,6 µg ml⁻¹). Rast *Aspergillus fumigatus* nebol ovplyvnený do koncentrácie 250 µg ml⁻¹. Khafrefungin inhibuje špecificky inkorporáciu inozitolu do sfingolipidov u húb a kvasiniek a neovplyvňuje biosyntézu sfingolipidov cicavčím bunkami. V *in vitro* podmienkach inhibuje inozitolfosfoceramid syntézu s IC₅₀ 0,6 nmol.l⁻¹ (cit.⁴³).



Malonofungin (XXII) je antifungálny metabolit kultúry *Phaeoramularia fusimaculans* CBS 616.87. Na základe štruktúry sa zaraďuje do skupiny prírodných sa vyskytujúcich aminomalónových kyselín. Inhibuje rast *Botrytis cinerea* a iných fytopatogénov patriacich do rodov *Botrytis*, *Pyricularia*, *Fusarium* a *Penicillium*⁴⁴.



Viridofunginy sú skupinou aminoacyl-alkyl citrátových zlúčenín produkovaných kultúrou *Trichoderma viride*. Metabolity majú široké spektrum antifungálnej aktivity (*Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida tropicalis*, *C. albicans* a *C. parapsilosis* MIC 2–32 µg ml⁻¹),

avšak nízku antibakteriálnu aktivitu⁴⁵. Sú účinnými inhibítormi squalénsyntetázy, avšak ich antifungálny účinok nie je založený na inhibícii syntézy ergosterolu⁴⁶.

8. Záver

Značný nárast počtu pacientov s ochorením AIDS a inými formami oslabenia imunitného systému viedol v mnohých oblastiach k rozšíreniu húb ako predovšetkým patogénov.

S rozšírením používania antifungálnych látok na potlačenie týchto infekcií, objavil sa i fenomén rezistencie patogénnych kmeňov na dané antibiotiká. A tak i keď k liečbe fungálnych ochorení je k dispozícii množstvo látok, neustále narastá počet infekcií a kmeňov rezistentných na používané liečivá. Stále neexistuje látka, ktorá by vyhovovala potrebám širokého spektra účinku a bola súčasne bezpečná a efektívna pri orálnom, resp. parenterálnom užití. Z týchto dôvodov je výskum a hľadanie nových antifungálnych látok stále sa prudko rozvíjajúcou oblasťou. Pozornosť sa sústreďuje na prírodné látky, ktoré môžu byť následne modifikované chemickou cestou a tým zvýšená ich účinnosť a stabilita. Okrem mikrobiálnych metabolitov, tiež prírodné produkty s antifungálnymi vlastnosťami izolované z iných zdrojov, ako sú napr. rastliny a morské organizmy, sa môžu stať významnými v boji s fungálnymi ochoreniami.

LITERATÚRA

1. Balkovec J. M.: Exp. Opin. Invest. Drugs 3, 65 (1994)
2. Hector R. F.: Exp. Opin. Ther. Patents 5, 157 (1995).
3. Moehle Ch. M.: Exp. Opin. Ther. Patents 6, 129 (1996)
4. Okada H., Nagashima M., Suzuki H., Nakajima S., Kijiri K., Suda H.: J. Antibiot. 49, 103 (1996).
5. Guanawardana G., Rasmussen R. R., Scherr M., Frost D., Brandt K. D., Choi W., Jackson M., Karwowski J. P., Sunga G., Malmberg L.-H., West P., Chen R. H., Kadam S., Clement J. J., Mcalpine J. B.: J. Antibiot. 50, 884 (1997).
6. Magome E., Hanmaya K., Gomi S., Koyama M., Chiba N., Ota K., Mikawa T.: J. Antibiot. 49, 599 (1996)
7. Jackson M., Frost D. J., Karwowski J. P., Humphrey P.

- E , Dahod S K , Choi W S , Brandt K , Malmberg L H , Rasmussen R R , Scherr M H J *Antibiot* 48, 608 (1995)
- 8 Hochlowski J E , Whittern D N , Buko A Alder L , Mcalpine J B J *Antibiot* 48, 614 (1995)
- 9 Bewley C A , He H , Williams D H , Faulkner D J J *Am Chem Soc* 118, 4314 (1996)
- 10 Lacadena J , Martínez Del Pozo A , Gasset M , Patino B , Campos-Olivas R , Vazquez C , Martínez-Ruiz A , Mancheno J M , Onaderra M , Gavilanes J G *Arch Biochem Biophys* 324, 273 (1995)
- 11 Awazu N , Ika K , Yamamoto J , Nishimura K , Mizutani S , Takesako K , Kato I J *Antibiot* 48, 525 (1995)
- 12 Berg A , Rityau M , Ihn W , Schlegel B , Fleck W F , Heinze S , Grafe U J *Antibiot* 49, 817 (1996)
- 13 Wirth J , Martínez Del Pozo A , Mancheno J M , Martínez-Ruiz A , Lacadena J , Onaderra M , Gavilanes J G *Arch Biochem Biophys* 343, 188 (1997)
- 14 Grafe U , Ihn W , Ritzau M , Schade W , Stengel C , Schlegel B , Fleck W F , Kunkel W , Haitl A , Gutsche W J *Antibiot* 49, 126 (1995)
- 15 Strobel G A , Hess W M *Chem Biol* 4, 529 (1997)
- 16 D'Auria M V , Paloma L G , Minale L , Zampella A J *Nat Prod* 58, 121 (1995)
- 17 Iwamoto T , Ujie A , Nitta K , Hashimoto S , Okuhara M , Kohsaka M J *Antibiot* 47, 1092 (1994)
- 18 Alfatafta A A , Gloer J B , Scott J A , Malloch D J *Nat Prod* 57, 1696 (1994)
- 19 Thines E , Arendholz W R , Anke H , Sterner O J *Antibiot* 50, 13 (1997)
- 20 Whyte A C , Gloer J B , Scott J A , Malloch D J *Nat Prod* 59, 765 (1996)
- 21 Wang H J , Gloer J B , Scott J A , Malloch D *Tetrahedron Lett* 36, 5847 (1995)
- 22 Kato Y , Koshino H , Uzawa J , Anzai K *Biosci Biotech Biochem* 60, 2081 (1996)
- 23 Kinsman O S , Chalk P A , Jackson H C , Middleton R F , Shuttleworth A , Rudd B A , Jones C A , Noble H M , Wildman H G , Dawson M J , Styll C , Sidebottom P J , Lamont B , Lynn S , Hayes M V J *Antibiot* 57, 41 (1998)
- 24 Breinhold J , Ludvigsen S , Rassing B R , Rosendahl C N , Nielsen S E , Olsen C E J *Nat Prod* 60, 33 (1997)
- 25 Breinhold J , Demuth H , Herde M , Jensen G W , Moller I L , Nielsen R I , Olsen C E , Rosendahl C N *Acta Chem Scand* 50, 443 (1996)
- 26 Engler M , Anke T , Sterner O , Brandt U J *Antibiot* 50, 325 (1997)
- 27 Dawson M J , Farthing J E , Marshal P S , Middleton R F , O'Neill M J , Shuttleworth A , Styll C , Tait R M , Taylor P M , Wildman H G J *Antibiot* 45, 639 (1992)
- 28 Sidebottom P J , Highcock R M , Lane S J , Procopiou P A , Watson N S J *Antibiot* 45, 648 (1992)
- 29 Jones C A , Sidebottom P J , Cannel R J P , Noble D , Rudd B A M J *Antibiot* 45, 1492 (1992)
- 30 Gorman J A , Chang L P , Clark J , Gustavson D R , Lam K S , Mamber S W , Pirnik D , Ricca C , Fernandes P B , O'Sullivan J J *Antibiot* 49, 547 (1996)
- 31 Leet J E , Huang S , Klohr S E , Mcbrien K D J *Antibiot* 49, 553 (1996)
- 32 Mandala S M , Thornton R A , Frommer B R , Curotto J E , Rozdilsky W , Kurtz M B , Giacobbe R A , Bills G F , Cabello M A , Martin I J *Antibiot* 48, 349 (1995)
- 33 Anke T , Werle A , Zapf S J *Antibiot* 48, 725 (1995)
- 34 Kobayashi H , Sunaga R , Funhata K , Morisaki N , Iwasaki S J *Antibiot* 48, 42 (1995)
- 35 Gamble W R , Gloer J B , Scott J A , Malloch D J *Nat Prod* 58, 1983 (1995)
- 36 Morns S A , Curroto J E , Zink D L , Dreinkorn S , Jenkins R , Bills G F , Thompson J R , Vicente F , Basilio A , Liesch J M , Schwrtz R E *Tetrahedron Lett* 36, 9101 (1995)
- 37 Harngan G G , Armentrout B L , Gloer J B , Shearer C A J *Nat Prod* 58, 1467 (1995)
- 38 Fujimoto Y , Miygawa H , Tsurushima T , Irie H , Okamura K , Ueno T *Biosci Biotechnol Biochem* 57, 1222 (1993)
- 39 Engler M , Anke T J *Antibiot* 48, 884 (1995)
- 40 Petersen F , Moerker T , Vanzanella F , Peter H H J *Antibiot* 47, 1098 (1994)
- 41 Wood K A , Kau D A , Wngley S K , Beneyto R , Renno D V , Ainsworth A M , Penn J , Hill D , Killacky J , Depledge P J *Nat Prod* 59, 646 (1996)
- 42 Monno T , Nishimoto M , Itou N , Nishikiori T J *Antibiot* 47, 1546 (1994)
- 43 Mandala S M , Thornton R A , Rosenbach M , Milligan J , Garcia-Calvo M , Bull H G , Kurtz M B J *Biol Chem* 272, 32709 (1997)
- 44 Berova N , Breinholt J , Jensen G W , Kjaer A , Lo L Ch , Nakanishi K , Nielsen R I , Olsen C E , Pedersen Ch , Stidsen C E *Acta Chem Scand* 48, 240 (1994)
- 45 Onishi J C , Milligan J A , Basilio A , Bergstrom J , Curroto J , Huang L , Meinz M , Nallin-Omstead M , Pelaez F , Rew, D , Salvatore M , Thompson J , Vicente F , Kurtz M B J *Antibiot* 50, 334 (1997)
- 46 Mandala S M , Thornton R A , Frommer B R , Dreikon S , Kurtz M B J *Antibiot* 50, 339 (1997)

K. Lešová and M. Šturdíková (*Department of Biochemical Technology, Faculty of Chemical Technology, Slovak Technical University, Bratislava, Slovak Republic*) **Antifungal Metabolites Produced by Micromycetes**

The number of new antifungal compounds is steadily growing due to the increase in the number of diseases associated with the impairment of the immunity system and the resulting spreading of fungi as predominant pathogens. The paper surveys fungicides isolated from micromycetes since 1994. The metabolites are arranged according to the Berdy system of chemical classification of antibiotics. The metabolites described are representatives of glycoside antibiotics, peptides and non-typical amino acids as well as heterocyclic, alicyclic, aromatic and aliphatic antibiotics. The classes of peptides, non-typical amino acids and heterocyclic antibiotics are most frequent. The substances in classes are briefly characterized from the viewpoint of their structure, antifungal properties and production microorganisms. Total 38 micromycetes metabolites with fungicide properties are described. Search and research of new antifungal therapeutics rapidly continues satisfying the pronounced and growing needs of human and veterinary medicine. The paper provides a brief survey of these substances with their basic characteristics.