具有抑制植物病原真菌活性的含氮、硫、磷壳聚糖衍生物的研究进展

邢荣娥[1, 2, 3], 秦玉坤[1, 2, 3], 李克成[1, 2, 3], 刘　松[1, 2, 3], 李鹏程[1, 2, 3]

(1. 中国科学院海洋研究所 实验海洋生物学重点实验室, 山东 青岛 266071; 2. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室 海洋药物与生物制品功能实验室, 山东 青岛 266237; 3. 中国科学院海洋大科学研究中心, 山东 青岛 266071)

摘要: 海洋生物体内蕴含着天然活性物质, 许多都具有杀菌、杀虫、抗逆、促生长等功能, 已成为新农药创制的重要源泉, 据此研制新型海洋生物源农药, 是海洋生物产业中的一个新领域, 也是新型生物农药研发的重要途径。以虾、蟹壳为原料制备的壳聚糖是一种碱性多糖, 能够促进植物生长, 提高植物抗病、抗逆能力, 在农业上受到广泛关注。为提高壳聚糖的应用性, 通过改性提高其抑菌性是一个研究热点。本文主要基于本实验室近 20 年来在壳聚糖衍生化及抑菌活性方面开展的工作, 系统地阐述了提高壳聚糖抑菌活性的活性拼接改性策略, 即通过在不同位点接枝含氮、含磷、含硫等抑菌活性基团以提高其抑菌活性, 分析了其构效关系, 为研制新型海洋生物农药提供了理论与技术支撑。

关键词: 壳聚糖衍生物; 植物病原真菌; 抑制活性

中图分类号: P745; O636.9　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-3096(2020)07-0135-08

DOI: 10.11759/hykx20200117004

甲壳素(chitin)又名甲壳质、几丁质, 其化学名称为 β-(1→4)-2-N-乙酰氨基-2-脱氧-D-葡萄糖, 分子式为$(C_6H_{13}NO_5)_n$, 结构如图 1。甲壳素广泛存在于自然界中, 如甲壳动物外壳、真菌的细胞壁以及昆虫的外壳等, 每年生物合成量约为 100 亿吨[1], 是继纤维素后的第二大可再生生物合成资源, 在水产加工副产物中的含量甚丰, 如在虾、蟹壳中的含量可达 15%~30%。甲壳素不溶于水、乙醇等有机溶剂以及稀酸和稀碱, 可溶于浓无机酸, 但在溶解过程中主链发生降解, 乙酰基发生脱除, 分子结构发生了改变。壳聚糖, 又叫几丁聚糖, 是甲壳素的脱乙酰基的产物, 脱乙酰度通常在 50%~100%, 化学名为 β-(1→4)-2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖, 由于甲壳素分子中二位乙酰基的脱除, 其分子式为$(C_5H_{11}NO_5)_n$, 结构如图 1。壳聚糖随着乙酰基含量的减少或游离氨基含量的增加, 溶解性得到改善, 可溶于甲酸、乙酸、柠檬酸、酒石酸、稀盐酸等一些有机酸和稀的无机酸, 但不溶于稀硫酸。同时, 由于壳聚糖天然无毒、生物相容性好、可生物降解, 且是一种具有独特的物理化学结构的阳离子多糖, 而成为国内外的研究热点, 研究领域主要包括医药[2-4]、农业[5-6]、食品[7-11]、造纸[12-14]、废水处理[15-17]等, 且其在农业、食品、日用化工等行业已经研发成功多个产品并得到了广大用户的认可。

许多研究发现, 壳聚糖具有广谱的抗植物病原真菌活性。Benhamou 等[18]发现 1 mg/mL 的壳聚糖可防治由镰刀菌所引起的番茄茎腐病, 抑制效果为 70%。董秋洪等[19]研究表明, 壳聚糖对辣椒疫霉病菌的抑制效果最高可达 91.7%, 水稻恶苗病菌的抑制效果最高达 68.4%。苏村水等[20]研究发现, 施用壳聚糖后的木荷和杨梅苗木立枯病的发病率均降低, 且杨梅的发病率较未施用壳聚糖的降低达 60.6%~71.5%。由于壳聚糖对部分植物病原真菌的抑制活性, 中华人民共和国农业部于 2009 年将几丁聚糖批准为生物农药, 其作用是抗番茄晚疫病。虽然壳聚糖对真菌具有一定的抑制活性, 但仅对少部分菌种具有较好的抑制活性, 大部分抑制活性不高, 且壳聚糖不

收稿日期: 2020-01-17; 修回日期: 2020-03-02

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC0311305)

[Foundation: the National Key Research and Development Program of China, No. 2018YFC0311305]

作者简介: 邢荣娥(1975-), 女(汉族), 内蒙古牙克石市人, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事海洋生物资源高值利用研究, 电话: 0532-82898780, E-mail: xingronge@qdio.ac.cn; 李鹏程(1957-), 通信作者, 男(汉族), 山东省青州市人, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事海洋生物制品研发, 电话: 0532-82898707, E-mail: pcli@qdio.ac.cn

溶于水和大部分有机溶剂，使其在农业上的应用受到了很大限制。壳聚糖分子中含有氨基和羟基三个活性基团，通过对活性基团进行修饰，可提高壳聚糖的水溶性和抑菌性、抗氧化性等功能活性，因此改性是一种提高壳聚糖抑菌活性的有效方法。改性方法主要有交联[21-26]、接枝[27]、酰化[28]、磺化[29-35]、羧基化[36-37]、烷基化[38]、硝化[39]、磷酸化[40]、卤化[41]、螯合[42-45]等多种，壳聚糖经改性后，在溶解度、生物活性等方面均有了一定程度的改善。

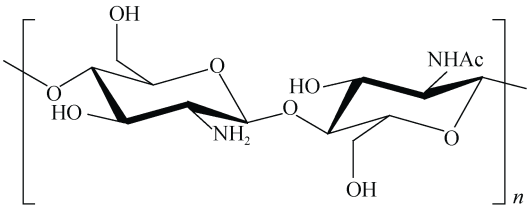


图 1　甲壳质(乙酰基含量>50%时)、壳聚糖(氨基含量>50%时)的结构式(*n* 为聚合度)

Fig. 1　Structure of chitin (acetyl content > 50 %) and chitosan (amino content >50%) (*n* = polymer degree)

大量研究表明壳聚糖骨架中引入抑菌活性基团可以显著提高其抑菌活性并拓宽抑菌谱。因此，本文系统总结了 20 年来课题组制备的含氮、含硫、含磷等功能基团壳聚糖衍生物的抑真菌特性，通过取代基团、取代位点、分子量、电负性等多种参数探讨了各衍生物对抑菌活性的影响，为研制新型海洋生物农药提供了理论基础和技术支撑。

1　含不同活性基团的壳聚糖衍生物及其抗植物病原真菌活性

1.1　壳聚糖含氮衍生物及其抑菌活性

含氮杂环化合物，如吡啶、嘧啶、三唑等化合物，生物活性高、选择性好、对温血动物及鸟类、鱼类的毒性低，且可筛选出超高效农药而成为研究的热点[46]。先灵农业化学品公司、汽巴-嘉基公司、日本组合公司等开发的嘧啶胺类化合物对灰葡萄孢等病害具有较好的防效，德国拜耳公司等开发的三唑类杀菌剂也具有很高的杀菌活性。为了验证含氮化合物与壳聚糖是否具有协同增效作用，本课题组合成了系列壳聚糖含氮衍生物，Qin 等[47-49]以壳聚糖为母体，将高抑菌活性基团三唑基团等引入到壳聚糖分子中，合成了 3-甲基-1, 2, 4-三唑壳聚糖、3-氯甲基-1, 2, 4-三唑壳聚糖等五种含氮衍生物，并研究了他们对黄瓜枯萎病原真菌(*F. oxysporum*)、葱紫斑病原真菌(*A. porri*)、茶炭疽病原真菌(*G. theae-sinensis*)等多种植物病原真菌的抑制活性，结果表明，高抑菌活性三唑基团的引入，使壳聚糖的抑菌活性和抑菌谱发生了明显的变化，但并未达到现有三唑类杀菌剂的效果。原料壳聚糖对梨轮纹病原真菌、芦笋茎枯病原真菌、黄瓜枯萎病原真菌和茶炭疽病原真菌具有较好的抑制活性，在 1 000 μg/mL 时，其抑制率达到 81.7%、100%、83.9%和 82.5%。而经改性后，壳聚糖 1, 2, 4-三唑衍生物对梨轮纹病原真菌、番茄灰叶斑病原真菌、葱紫斑病原真菌、茶炭疽病原真菌，壳聚糖 1, 2, 3-三唑衍生物对番茄灰叶斑病原真菌和葱紫斑病原真菌均具有较好的抑菌活性，也就是修饰后的壳聚糖三唑类衍生物对壳聚糖本身抑制效果差的番茄灰叶斑病原真菌、葱紫斑病原真菌抑制活性均显著提高，这说明三唑基团在改变壳聚糖的抑菌谱方面具有很大的作用，通过引入三唑基团，可以使壳聚糖的抑菌谱更宽，应用面更广。另外，三唑基团的位点对壳聚糖抑菌活性影响显著，1, 2, 4-三唑衍生物最高抑制率可达 100%，优于壳聚糖 1, 2, 3-三唑衍生物的抑菌活性。Qin 等还发现，三唑环上取代基电负性和空间位阻对抑菌活性影响较大，含有强供电性、空间位阻较小的基团的抑菌活性较强。如三唑环上取代基为甲基的抑菌活性优于体积和吸电性都比甲基大的氯甲基，而含有苯基的抑菌活性最差。对于壳聚糖 1, 2, 3-三唑衍生物，壳聚糖苯甲酸酯-1, 2, 3-三唑强于壳聚糖烟酸酯-1, 2, 3-三唑，可能是由于电负性的影响，吡啶基中氮原子的存在使长链状结构的壳聚糖 1, 2, 3-三唑衍生物的电负性明显增强，化学稳定性相应降低，抑菌活性降低，而相对于吡啶基，苯基的电子分布更加均匀，共轭效应更强，抑菌活性增加。

1.2　壳聚糖含硫衍生物及其抑菌活性

含硫化合物是一类重要的合成中间体，在医药、农药等领域具有重要的作用。目前已应用于杀虫剂、除草剂、杀菌剂。如将具有非选择性的除草剂喹唑啉衍生物中的羰基修饰变成磺酰基后，可成为专一性的对大豆和水稻的除草剂。因此，此类杀菌剂的研究得到了广泛关注[50]。本课题组 Zhong[51-54]、Qin[55-60]等依据生物等排等原理，将磺酰胺、异硫氰酸酯、酰基缩氨基硫脲、缩氨基硫脲基团、二硫代氨基氨基甲酸酯(盐)等高抑菌活性的含硫基团导入壳聚糖分子中，得到了系列新型壳聚糖含硫衍生物 40 余种，如烷基缩氨基硫脲、壳聚糖二硫代氨基甲酸酯等。

钟志梅等研究了壳聚糖磺酰胺类衍生物、酰基异硫氰酸酯类衍生物、酰基缩氨基硫脲类衍生物对棉花枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *Vasinfectum*)、葡萄炭疽病菌[*Colletotrichum gloeosporioides* (*Penz.*) *Saec*]、黄瓜灰霉病菌[*Pseudoperonospora cubeneis* (*Berk et cort*) *Rostuv*]等植物病原真菌的抑制活性，探讨了取代基的空间效应、衍生物分子量、浓度、取代基种类等对其抑制植物病原真菌活性的影响。发现取代基的空间效应、衍生物的分子量和电负性对于植物病原真菌的抑制效果影响显著。吸电子空间诱导效应和较大的分子量其抑菌效果较强，如分子量 200 kDa 的衍生物(500 μg/mL)对姜叶斑点病菌的相对抑制率达 90%，而 57 kDa 和 7 kDa 的衍生物对姜叶斑点病菌的相对抑制率分别为 46.67%和 40%。而大的空间位阻则导致抑菌活性降低。为了找到具有更高抑制病原真菌活性的含硫化合物，秦玉坤等就钟志梅等的工作进行了进一步研究，在含硫壳聚糖衍生物分子中引入卤素和苯环等基团，获得了壳聚糖乙酰基缩邻氯苯氨基硫脲、壳聚糖乙酰基缩邻氟苯氨基硫脲、壳聚糖乙酰基缩邻三氟甲基苯氨基硫脲等壳聚糖含硫衍生物。探讨了卤素和苯环引入后，衍生物抑菌活性的变化，发现电负性依然是影响衍生物活性的重要因素，氯的吸电性比氟和三氟甲基弱，因此其抑菌活性强于氟取代基和三氟甲基取代基，而三氟甲基吸电性最强，其抑菌活性最弱。但总体来讲，引入卤素和苯环等基团后，抑菌效果仍然不佳。为了增强抑菌活性，对取代基团和结构进行了进一步改进，合成了不同烷基链长度的壳聚糖烷基缩氨基硫脲衍生物，如乙基、丙基、正丁基、异丁基，结果表明壳聚糖取代苯基缩氨基硫脲衍生物的抑制植物病原真菌活性要明显高于壳聚糖烷基缩氨基硫脲衍生物，也就是在分子中引入苯环比引入烷基更加有效。尽管烷基的引入其抑菌活性未得到有效的改善，但我们发现碳链的长度对抑菌活性有较大影响，碳链越长其抑菌活性越高。为了得到抑菌活性更佳的产品，将常用农药福美双的活性基团二硫代氨基甲酸酯引入到壳聚糖骨架中，制备得到壳聚糖二硫代氨基甲酸甲酯、壳聚糖二硫代氨基甲酸乙酯含硫衍生物。抑菌结果表明二硫代氨基甲酸酯基团可以提高壳聚糖的抑菌活性和拓宽抑菌谱，在 1 000 μg/mL 浓度下，壳聚糖对茶炭疽病原真菌和葱紫斑病原真菌抑制活性分别为 82.5%和 65.1%，而壳聚糖二硫代氨基甲酸酯衍生物在该浓度下对两种菌的抑制率均显著提高，达到 100%。说明通过对壳聚糖含硫衍生物的进一步改进，有望得到抑菌效果好的生物农药。

1.3 壳聚糖含磷衍生物及其抑菌活性

具有杀菌或抑菌活性的有机磷杀菌剂的基本化学结构是磷酸酯、硫代磷酸酯、磷酰胺类等[61]。如对稻瘟病有效的克瘟散、稻瘟净等防治白粉病的磷酰胺类产品 TH184-F 和硫代磷酸酯类产品 Hoe2873 等，大多具有内吸杀菌活性，残留低，但长期使用却使病原菌产生抗药性，且有机磷杀菌剂的类型间也会产生负交互扰性，给农业安全生产带来极大威胁，对其进行改性，减少副作用和抗性是解决问题的关键。壳聚糖天然无毒，是一个很好的载体，将膦酸酯基团接枝到壳聚糖上，使衍生物既能发挥有机磷的高效杀菌活性，又能保持壳聚糖本身所具有的天然无毒副作用、可降解、生物相容性好的特性。本课题组 Zhong 等[62-63]制备了 20 种不同分子量、不同取代基的壳聚糖含磷衍生物。研究了烷基链长度对壳聚糖含磷衍生物抑菌活性的影响，发现烷基磷酸酯壳聚糖衍生物中，丁基膦酸酯壳聚糖抑菌活性大于丙基膦酸酯壳聚糖，丙基大于乙基，说明烷基链越长，其抑菌活性越强，该结果与李在国等[64]的研究结果一致，李在国等发现 α-氨基烷基膦酸酯中 α-位烷基的大小会影响 α-氨基的亲核性，并对其生物活性有影响。为进一步确定取代基对抑制植物病原真菌活性的影响，Zhong 等[62]将 α-位用含不同取代基的苯环基团替代烷基基团，探讨衍生物的结构和抑菌活性的关系。发现可能由于强给电子基团-OH 对于苯环诱导效应的影响，α-位取代基为水杨基的衍生物抑菌活性大于为苯基的衍生物，且优于 α-氨基烷基膦酸酯衍生物。在实验室原有烷基、芳香基的基础上，Qin 等[65-66]进一步研究了杂环基团对壳聚糖含磷衍生物的抑菌活性的影响，制备了壳聚糖 α-氨基杂环基膦酸酯衍生物 5 种，即苯氧基嘧啶膦酸甲酯、苯氧基嘧啶膦酸乙酯、正丙基膦酸乙酯、呋喃基膦酸甲酯和呋喃基膦酸乙酯。Qin 等发现 5 种含磷壳聚糖衍生物均具有很好的抑菌效果和广谱的抑菌性。相较于壳聚糖抑制效果较差的花生菌核病原真菌、番茄早疫病原真菌和番茄灰叶斑病原真菌，5 种含磷衍生物对三种真菌的抑制率超过 80%，与三唑酮和多抗霉素抑制效果相当。对黄瓜枯萎、芦笋茎枯、葱紫斑、茶炭疽、梨轮纹病原真菌的抑制作用尤其有效，在测试浓度下抑制效果均达到了

100%, 优于多抗霉素和三唑酮, 具有潜在的开发为新型高效、环境相容好、无残留的生物农药的价值。

2 结论与展望

壳聚糖作为一种天然的聚阳离子多糖, 在不同领域显示出许多优秀的活性。许多研究表明壳聚糖具有广谱抗植物病原真菌活性。但由于壳聚糖为天然产物, 与化学农药相比, 其杀菌活性较弱, 达到较好杀菌或抑菌效果时所用剂量较大, 相应的成本增高, 推广起来较为困难, 从而限制了其应用。对其进行衍生化提高其抗菌活性成为有效途径。为了寻找在生物农药方面有发展前景的新型壳聚糖衍生物, 本论文介绍了含氮、含硫、含磷的 200 余个壳聚糖衍生物及其抑菌活性特性。发现衍生物抑菌活性不仅受真菌类型的影响, 而且在很大程度上还受其衍生化的基团、取代基电负性、空间位阻、衍生物的正离子形式、正电性强弱、分子量大小等的影响。一般而言, 空间位阻的增大, 抑菌活性降低, 结构单元中 P-π 共轭与苯环的二面角越大, 抑菌效果越好; 取代基的电负性不同, 抑菌活性受到较大影响, 含有强的供电性的基团抑菌效果越好; 分子量较大(如 200 kDa), 抑菌效果较好; 引入杂环的抑菌效果优于苯环, 苯环优于烷基, 烷基链越长, 抑菌效果越好。而且发现各类衍生物的抑菌谱有较大差别。含氮、含硫衍生物只对部分病原真菌具有抑制作用, 而含磷衍生物对研究的供试菌种均具有好的抑制效果。因此, 可根据靶标设计不同分子量、不同取代基团的衍生物, 其开发潜力巨大。

虽然壳聚糖及其衍生物在抑制病原真菌方面的研究已经有了很多报道, 但仍有许多问题没有得到解决。主要表现在以下两个方面: (1)缺乏合理的生物分子设计, 随机性较强, 这就造成了很多情况下结构改性后壳聚糖的抑菌活性提高有限, 仍难以与现有杀菌剂相比。(2)目前用于活性研究的壳聚糖及其衍生物多为混合物, 其活性受分子量、脱乙酰度等多重因素影响, 不同的研究中往往活性存在很大的差异, 有些甚至得到截然相反的结果, 这使得很难准确评价壳聚糖及其衍生物的构效关系。如其抑菌的机制尚不明确; 衍生物的稳定性、毒理学评价、对生态环境的影响等均未报道。目前有关壳聚糖抑制植物病原真菌方面的产业化产品除壳聚糖本身(抑制番茄晚疫病, 登记号 PD20102080)外, 均为与含氮、含硫、含磷等农药的复配产品, 如具有抑制水稻稻瘟病的氨基寡糖素(2%, 壳聚糖的降解产物)与稻瘟酰胺(40%)(登记号 PD20170082), 抑制水稻纹枯病的氨基寡糖素(2%)与噻呋酰胺(40%)(登记号 PD20170113), 抑制黄瓜霜霉病的几丁聚糖(1%)和嘧菌酯(登记号 PD20161008)等, 直接衍生化的产物还未有产品问世。因此, 上述问题的解决是关键的, 这对研制新型无毒副作用、低或无耐药性的海洋生物农药具有十分重要的意义。

参考文献:

[1] 李鹏程, 宋金明. 甲壳质/壳聚糖及其衍生物化学[C]//中国甲壳资源研究开发应用学术研讨会论文集(上册), 1997, 11: 64-75.
Li Pengcheng, Song Jinming. Chemistry of chitin/chitosan and its derivatives[C]//Proceedings of the Symposium on the research, development and application of crustacean resources in China (Volume I), 1997, 11: 64-75.

[2] Şenel S, McClure S J. Potential applications of chitosan in veterinary medicine[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2004, 56(10): 1467-1480.

[3] Ilium L. Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient[J]. Pharmaceutical Research, 1998, 15(9): 1326-1331.

[4] Singla A K, Chawla M. Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects - an update[J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2001, 53(8): 1047-1067.

[5] Jiang Y, Li Y. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit[J]. Food Chemistry, 2001, 73(2): 139-143.

[6] Bautista-Baños S, Hernández-Lauzardo A N, Velázquez-del Valle M G, et al. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities[J]. Crop Protection, 2006, 25(2): 108-118.

[7] Shahidi F, Arachchi J K V, Jeon Y-J. Food applications of chitin and chitosans[J]. Trends in Food Science & Technology, 1999, 10(2): 37-51.

[8] Dutta P K, Tripathi S, Mehrotra G K, et al. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications[J]. Food Chemistry, 2009, 114(4): 1173-1182.

[9] Coma V, Martial-Gros A, Mehrotra G K, et al. Edible antimicrobial films based on chitosan matrix[J]. Journal of Food Science, 2002, 67(3): 1162-1169.

[10] Agulló E, Rodríguez M S, Ramos V, et al. Present and future role of chitin and chitosan in food[J]. Macromolecular Bioscience, 2003, 3(10): 521-530.

[11] Fernandez-Saiz P, Lagaron J M, Ocio M J. Optimization of the biocide properties of chitosan for its applica-

tion in the design of active films of interest in the food area[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(3): 913-921.

[12] Ham-Pichavant F, Sèbe G, Pardon P, et al. Fat resistance properties of chitosan-based paper packaging for food applications[J]. Carbohydrate Polymers, 2005, 61(3): 259-265.

[13] Salmon S, Hudson S M. Shear-precipitated chitosan powders, fibrids, and fibrid papers: Observations on their formation and characterization[J]. Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 1995, 33(7): 1007-1014.

[14] Kjellgren H, Gällstedt M, Engström G, et al. Barrier and surface properties of chitosan-coated greaseproof paper[J]. Carbohydrate Polymers, 2006, 65(4): 453-460.

[15] Selmer-Olsen E, Ratnaweera H C, & Pehrson R. A novel treatment process for dairy wastewater with chitosan produced from shrimp-shell waste[J]. Water Science and Technology, 1996, 34(11): 33-40.

[16] Lalov I G, Guerginov I I, Krysteva M A, et al. Treatment of waste water from distilleries with chitosan[J]. Water Research, 2000, 34(5): 1503-1506.

[17] Maruca R, Suder B J, Wightman J P. Interaction of heavy metals with chitin and chitosan. III. Chromium[J]. Journal of Applied Polymer Science, 1982, 27(12): 4827-4837.

[18] Benhamou N, Thériault G. Treatment with chitosan enhances resistance of tomato plants to the crown and root rot pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 1992, 41(1): 33-52.

[19] 董秋洪, 张祥喜. 壳聚糖对辣椒疫霉病菌和水稻恶苗病菌的抑制作用[J]. 江西农业学报, 2003, 15(2): 58-60.
Dong Qiuhong, Zhang Xiangxi. Inhibition effects of chitosan on *Phytophora capsici* and *Fusarium moniliforme*[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2003, 15(2): 58-60.

[20] 苏村水, 陈卫东, 卓海浪. 壳聚糖对苗木立枯病的防治作用及机理初探[J]. 福建林业科技, 2001, 28(1): 40-43.
Su Cunshui, Chen Weidong, Zhuo Hailang. Preliminarily approaching the action and mechanism of controlling the seedling blight by chitosan[J]. Journal of Fujian Forestry Science and Technology, 2001, 28(1): 40-43.

[21] Wang L, Xing R E, Liu S, et al. Synthesis and evaluation of a thiourea-modified chitosan derivative applied for adsorption of Hg (II) from synthetic wastewater[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2010, 46: 524-528.

[22] Wang L, Xing R E, Liu S, et al. Studies on adsorption behavior of Pb (II) onto a thiourea-modified chitosan resin with Pb (II) as template[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 81: 305-310.

[23] Wang L, Xing R E, Liu S, et al. Recovery of silver (I) using a thiourea-modified chitosan resin[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 180: 577-582.

[24] Wang L, Peng H Q, Liu S, et al. Adsorption properties of gold onto a chitosan derivative[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 51(5): 701-704.

[25] Fang S X, Wang G J, Li P C, et al. Synthesis of chitosan derivative graft acrylic acid superabsorbent polymers and its application as water retaining agent[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 115: 754-761.

[26] Fang S X, Wang G J, Xing R E, et al. Synthesis of superabsorbent polymers based on chitosan derivative graft acrylic acid-co-acrylamide and its property testing[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 132: 575-584.

[27] Jiang H L, Kim Y K, Arote R, et al. Chitosan-graft-polyethylenimine as a gene carrier[J]. Journal of Controlled Release, 2007, 117(2): 273-280.

[28] Hirano S, Mizutani C, Yamaguchi R, et al. Formatoin of the polyelectrolyte complexes of some acidic glycosaminoglycans with partially N-acylated chitosans[J]. Biopolymers, 1978, 17(3): 805-810.

[29] Xing R E, He X F, Liu S, et al. Antidiabetic activity of differently regioselective chitosan sulfates in alloxan-induced diabetic rats[J]. Marine Drugs, 2015, 13: 3072-3090.

[30] Xing R E, Liu S, Yu H H, et al. Protective effect of sulfated chitosan of C3 sulfation on glycerol-induced acute renal failure in rat kidney[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 65(5): 383-388.

[31] Xing R E, Liu S, Yu H H, et al. Preparation of high-molecular weight and high-sulfate content chitosans and their potential antioxidant activity in vitro[J]. Carbohydrate polymers, 2005, 61: 148-154.

[32] Xing R E, Liu S, Guo Z Y, et al. Relevance of molecular weight of chitosan and its derivatives and their antioxidant activities in vitro[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2005, 13(5): 1573-1577.

[33] Xing R E, Yu H H, Liu S, et al. Antioxidant activity of differently regioselective chitosan sulfates in vitro[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2005, 13(4): 1387-1392.

[34] Xing R E, Liu S, Yu H H, et al. Preparation of low-molecular weight and high-sulfate content chitosans under microwave radiation and their potential antioxidant activity in vitro[J]. Carbohydrate Research, 2004, 339: 2515-2519.

[35] Yang Y, Xing R E, Liu S, et al. Immunostimulatory effects of sulfated chitosans on RAW 264.7 mouse macrophages via the activation of P13K/Akt signaling

pathway[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 108: 1310-1321.

[36] Guo Z Y, Xing R E, Liu S, et al. The synthesis and antioxidant activity of the schiff bases of chitosan and carboxymethyl chitosan[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2005, 15: 4600-4603.

[37] Guo Z Y, Xing R E, Liu S, et al. Synthesis and hydroxyl radicals scavenging activity of quaternized carboxymethyl chitosan[J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 73(1): 173-177.

[38] Ramos V M, Rodriguez N M, Rodriguez M S, et al. Modified chitosan carrying phosphonic and alkyl groups[J]. Carbohydrate Polymers, 2003, 51(4): 425-429.

[39] Wolfrom M L, Maher G G, & Chaney A. Chitosan Nitrate[1][J]. The Journal of Organic Chemistry, 1958, 23(12): 1990-1991.

[40] Matevosyan G L, Yukha Y S, & Zavlin P M. Phosphorylation of Chitosan[J]. Russian Journal of General Chemistry, 2003, 73(11): 1725-1728.

[41] Ogawa K, Inukai S. X-Ray diffraction study of sulfuric, nitric, and halogen acid salts of chitosan[J]. Carbohydrate Research, 1987, 160: 425-433.

[42] Liu W X, Qin Y K, Liu S, et al. Synthesis of C-coordinated O-carboxymethyl chitosan metal complexes and evaluation of their antifungal activity[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 4845.

[43] Liu W X, Qin Y K, Liu S, et al. C-coordinated O-carboxymethyl chitosan metal complexes: Synthesis, characterization and antifungal efficacy[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 106: 68-77.

[44] 李鹏程, 刘卫翔, 秦玉坤, 等. 一种海洋生物多糖席夫碱衍生物及制备和作为农用杀菌剂的应用. ZL 201510645462.3[P]. 2017-04-12.
Li Pengcheng, Liu Weixiang, Qin Yukun, et al. A marine polysaccharide Schiff base derivative and its preparation and application as agricultural fungicide. ZL 201510645462.3[P]. 2017-04-12.

[45] 李鹏程, 刘卫翔, 秦玉坤, 等. 一种海洋生物多糖铜复合物及制备和作为农用杀菌剂的应用. ZL 201510645866.2[P]. 2017-04-05.
Li Pengcheng, Liu Weixiang, Qin Yukun, et al. A marine polysaccharide copper complex and its preparation and application as agricultural fungicide. ZL 201510645866.2[P]. 2017-04-05.

[46] 王大翔. 杂环化合物在农药发展中的的重要作用[J]. 农药, 1995, 34(1): 6-9.
Wang Daxiang. Important Role of heterocyclic compounds in developing pesticide[J]. Pesticides, 1995, 34(1): 6-9.

[47] 李鹏程, 秦玉坤, 邢荣娥, 等. 一种壳聚糖 1, 2, 4-三唑类衍生物及其制备方法. ZL201110378906.3[P]. 2014-01-01.
Li Pengcheng, Qin Yukun, Xing Ronge, et al. 1, 2, 4 - triazole derivative of chitosan and its preparation method. ZL201110378906.3[P]. 2014-01-01.

[48] Qin Y K, Liu S, Xing R E, et al. Synthesis and antifungal evaluation of (1, 2, 3-triazol-4-yl) methyl nicotinate chitosan[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 61(10): 58-62.

[49] 李鹏程, 秦玉坤, 邢荣娥, 等. 一种壳聚糖 1, 2, 3-三唑类衍生物及其制备方法. ZL201110378871.3[P]. 2014-07-23.
Li Pengcheng, Qin Yukun, Xing Ronge, et al. 1, 2, 3 - triazole derivative of chitosan and its preparation method. ZL201110378871.3[P]. 2014-07-23.

[50] 实光穰. 含氮、硫杂环化合物的合成及其农药活性[J]. 农药译丛, 1987, 9(4): 18-28.
Shi Guangrang. Synthesis and pesticide activity of heterocyclic compounds containing nitrogen and sulfur[J]. Pesticide translation, 1987, 9(4): 18-28.

[51] Zhong Z M, Chen R, Xing R E, et al. Synthesis and antifungal properties of sulfanilamide derivatives of chitosan[J]. Carbohydrate Research, 2007, 342(16): 2390-2395.

[52] 李鹏程, 钟志梅, 邢荣娥, 等. 壳聚糖缩氨基硫脲类衍生物及其制备方法. ZL 200710016413.9[P]. 2009-07-08.
Li Pengcheng, Zhong Zhimei, Xing Ronge, et al. Chitosan thiosemicarbazone derivatives and their preparation. ZL 200710016413.9[P]. 2009-07-08.

[53] 李鹏程, 钟志梅, 邢荣娥, 等. 一种壳聚糖磺胺类衍生物及其制备方法. ZL 200610134066.5[P]. 2009-09-23.
Li Pengcheng, Zhong Zhimei, Xing Ronge, et al. A chitosan sulfonamide derivative and its preparation method. ZL 200610134066.5[P]. 2009-09-23.

[54] 李鹏程, 钟志梅, 邢荣娥, 等. 壳聚糖硫酸酯的羟基苯二磺酰胺类衍生物及其制备方法. ZL 200710010111.0[P]. 2009-07-08.
Li Pengcheng, Zhong Zhimei, Xing Ronge, et al. Hydroxybenzene disulfonamide derivatives of chitosan sulfate and their preparation methods. ZL 200710010111.0[P]. 2009-07-08.

[55] Qin Y K, Liu S, Xing R E, et al. Synthesis and characterization of dithiocarbamate chitosan derivatives with enhanced antifungal activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 89(2): 388-393.

[56] Qin Y K, Xing R E, Liu S, et al. Synthesis of chitosan derivative with diethyldithiocarbamate and its antifungal activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 65: 369-374.

[57] Qin Y K, Xing R E, Liu S, et al. Novel thiosemicarbazone chitosan derivatives: Preparation, characterization,

and antifungal activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(4): 2664-2670.

[58] Qin Y K, Liu W X, Xing R E, et al. Cyclization reaction of acyl thiourea chitosan: Enhanced antifungal properties via structural optimization[J]. Molecules, 2018, 23: 594.

[59] 李鹏程, 秦玉坤, 邢荣娥, 等. 一种壳聚糖缩硫代氨基脲衍生物及其制备方法. ZL201110093213.X[P]. 2013-03-20.
Li Pengcheng, Qin Yukun, Xing Ronge, et al. A chitosan thiosemicarbazone derivative and its preparation method. ZL201110093213.X[P]. 2013-03-20.

[60] 李鹏程, 秦玉坤, 邢荣娥, 等. 一种壳聚糖缩取代苯氨基硫脲衍生物及其制备方法. ZL201110093239.4[P]. 2013-03-27.
Li Pengcheng, Qin Yukun, Xing Ronge, et al. A chitosan condensation substituted phenylthiosemicarbazone derivative and its preparation method. ZL201110093239.4[P]. 2013-03-27.

[61] 唐除痴, 王有名. 有机磷杀菌剂的研究进展[J]. 农药译丛, 1995, 17(5): 13-17.
Tang Chuchi, Wang Youming. Research progress of organophosphorus fungicides[J]. Pesticide translation, 1995, 17(5): 13-17.

[62] Zhong Z M, Li P C, Xing R E, et al. Preparation, characterization and antifungal properties of 2-(α-arylamino phosphonate)-chitosan[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2009, 45(3): 255-259.

[63] 李鹏程, 钟志梅, 邢荣娥, 等. 壳聚糖 α-氨基烷基膦酸酯类衍生物及其制备方法. ZL 200710113763.7[P]. 2010-06-16.
Li Pengcheng, Zhong Zhimei, Xing Ronge, et al. Chitosan α-aminoalkyl phosphonate derivatives and their preparation. ZL 200710113763.7[P]. 2010-06-16.

[64] 李在国, 黄润秋, 杨昭, 等. 含苯并噻唑杂环的 α-氨基膦酸二苯酯的合成及生物活性[J].应用化学, 1999, 16(2): 90-92.
Li Zaiguo, Huang Runqiu, Yang Zhao, et al. Synthesis and biological activity of Diphenyl N-(2-Benzothiazolyl)-α-aminoalkylphosphonate[J]. Chinese Jounal of Applied Chemistry, 1999, 16(2): 90-92.

[65] Qin Y K, Xing R E, Liu S, et al. Synthesis and antifungal properties of (4-tolyoxy)- pyrimidyl- α-aminophosphonates chitosan derivatives[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 63: 83-91.

[66] 李鹏程, 秦玉坤, 邢荣娥, 等. 一种呋喃基α-氨基膦酸酯壳聚糖衍生物及其制备方法. ZL201110410511.7[P]. 2014-02-12.
Li Pengcheng, Qin Yukun, Xing Ronge, et al. A furanyl α-aminophosphonate chitosan derivative and its preparation method. ZL201110410511.7[P]. 2014-02-12.

Research progress of chitosan derivatives containing nitrogen, sulfur and phosphorus with inhibitory activity on plant pathogenic fungi

XING Rong-e[1, 2, 3], QIN Yu-kun[1, 2, 3], LI Ke-cheng[1, 2, 3], LIU Song[1, 2, 3], LI Peng-cheng[1, 2, 3]

(1. Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Laboratory for Marine Drugs and Bioproducts, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266237, China; 3. Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Received: Jan. 17, 2020
Key words: chitosan derivatives; plant pathogenic fungi; inhibitory activity

Abstract: Marine organisms contain natural active substances, many of which have sterilization functions, insecticides, stress resistance, growth promotion, etc. have become an important source of new pesticide production. The development of new marine biological pesticides is therefore a new field in the marine biological industry and an important way of research and development of new biological pesticide. Chitosan made from shrimp and crab shell is a kind of alkaline polysaccharide that can foster plant growth, enhance plant resistance to disease and stress, and is widely involved in agriculture. It is a research hotspot to improve its bactericidal properties by alteration, to improve the application of chitosan. In this paper, based on the work of our laboratory over the last 20 years in the field of chitosan derivatization and antibacterial activity, the active splicing modification strategy is systematically defined to improve the bactericidal activity of chitosan, i.e., to improve the bacteriostatic activity of chitosan by grafting the bacteriostatic active groups such as nitrogen, phosphorus, sulfur, and metal complexes at different sites and to discuss and summarize the structure-activity relationship. It provides theoretical and technical support for the development of new marine biopesticides.

(本文编辑: 杨　悦)