



### 老鼠芳内生曲霉HU0206的抗细菌活性代谢成分

王瑞, 陈少微, 于燕燕, 李春霞, 姚松锦, 徐良雄, 陶均

#### 引用本文:

王瑞,陈少微,于燕燕,李春霞,姚松锦,徐良雄,陶均. 老鼠内生曲霉HU0206的抗细菌活性代谢成分[J]. 热带亚热带植物学报, 2023, 31(5): 736–740.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4646>

---

#### 您可能感兴趣的其他文章

##### Articles you may be interested in

#### 杨桃叶的化学成分研究

Chemical Constituents from the Leaves of *Averrhoa carambola*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(1): 105–111 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4246>

#### 宁前胡内生真菌 *Fusarium tricinctum* 固体发酵代谢产物研究

Metabolites of *Fusarium tricinctum*, An Endophytic Fungus Isolated from Ningguo *Peucedanum praeruptorum* on Solid Fermentation

热带亚热带植物学报. 2020, 28(2): 203–208 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4135>

#### 木槿的化学成分研究

Chemical Constituents from the Stems of *Hibiscus syriacus*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(3): 331–338 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4288>

#### 薏苡糠壳的化学成分及其种子萌发活性研究

Chemical Constituents of *Coix lachryma-jobi* and Their Activities on Seed Germination

热带亚热带植物学报. 2021, 29(5): 556–562 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4339>

#### 白花鬼针草中多烯炔类成分的分离及其生物活性研究

Studies on Isolation of Polyacetylenes from *Bidens pilosa* var. *radiata* and Their Biological Activities

热带亚热带植物学报. 2021, 29(2): 216–220 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4312>

向下翻页, 浏览PDF全文

# 老鼠芳内生曲霉 HU0206 的抗菌活性代谢成分

王瑞<sup>1</sup>, 陈少微<sup>2</sup>, 于燕燕<sup>1</sup>, 李春霞<sup>1</sup>, 姚松锦<sup>2</sup>, 徐良雄<sup>2\*</sup>, 陶均<sup>1\*</sup>

(1. 海南大学热带作物学院, 海南省热带生物资源可持续利用重点实验室, 海口 570228; 2. 惠州学院生命科学学院, 广东 惠州 516007)

**摘要:** 为阐明老鼠芳内生曲霉 *Aspergillus* sp. HU0206 发酵物的抗菌物质基础, 采用色谱分离法从其玉米发酵物中分离得到 7 个化合物, 分别鉴定为 6 个甲基苯酚类化合物: sydowniol F (1)、5-methoxy-3,5'-dimethyl-2,3'-oxybiphenyl-1,1',2'-triol (2)、corynesidone A (3)、鹿蹄草素 (4)、3-羟基鹿蹄草素 (5)、4-乙氧基-3-羟甲基苯酚 (6) 和 1 个甲基环己酮二聚体 epoxydine A (7), 其中化合物 1 为新化合物。载样量为 40  $\mu\text{g}$  时, 化合物 1、2 和 4 对金黄色葡萄球菌、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、黑胫病菌和青枯病菌抑菌效果较好, 抑菌圈半径  $\geq 2$  mm, 最小抑菌浓度(MIC)为 50 或 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 化合物 3 对这 4 种菌虽有 1~2 mm 的抑菌圈, 但 MIC 大于 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。所有化合物对大肠杆菌均无抑制活性。

**关键词:** 内生曲霉; 代谢产物; 甲基苯酚; 甲基环己酮; 抗菌活性

doi: 10.11926/jtsb.4646

## Antibacterial Metabolites of Endophytic *Aspergillus* sp. HU0206 Isolated from *Spinifex littoreus*

WANG Rui<sup>1</sup>, CHEN Shaowei<sup>2</sup>, YU Yanyan<sup>1</sup>, LI Chunxia<sup>1</sup>, YAO Songjin<sup>2</sup>, XU Liangxiong<sup>2\*</sup>, TAO Jun<sup>1\*</sup>

(1. School of Tropical Crops, Hainan University, Key Laboratory of Sustainable Utilization of Tropical Biological Resources of Hainan Province, Haikou 570228, China; 2. School of Life Sciences, Huizhou University, Huizhou 516007, Guangdong, China)

**Abstract:** In order to explore the antibacterial metabolites of endophytic *Aspergillus* sp. HU0206, seven compounds were obtained from the corn fermentation of endophytic *Aspergillus* sp. HU0206 isolated from *Spinifex littoreus* using chromatographic separation method. On the basis of spectral data, they were identified as six methylphenol derivatives, such as sydowniol F (1), 5-methoxy-3,5'-dimethyl-2,3'-oxybiphenyl-1,1',2'-triol (2), corynesidone A (3), pyrolin (4), 3-hydroxylpyrolin (5), 4-ethoxy-3-hydroxymethylphenol (6), and a methylcyclohexanone, epoxydine A (7). Compound 1 was a new compound. At the dose of 40  $\mu\text{g}$ , compounds 1, 2 and 4 showed obvious antibacterial effects on *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *S. aureus*, *Pectobacterium atroseptica*, and *Ralstonia solanacearum* with radius of inhibition zone  $\geq 2$  mm, and minimum inhibitory concentrations (MICs) was 50 or 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . The radius of inhibition zone of compound 3 was 1–2 mm for above bacteria with MIC higher than 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . However, all compounds did not inhibit the growth of *Escherichia coli*.

**Key words:** Endophytic *Aspergillus*; Metabolite; Methylphenol; Methylcyclohexanone; Antibacterial activity

真菌代谢产物是发掘新抗生素的重要来源。甲基苯酚类化合物是由真菌或植物通过聚酮合成途径形成的一类重要天然产物类型, 结构相对简单、分布广泛, 常以单体、二聚体或三聚体形式存在,

其中不乏具有良好的生物活性。二聚体 Violaceol I 可抑制枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)等的生长<sup>[1]</sup>; 二聚体 diorcinol 不仅具有抗细

收稿日期: 2022-04-02 接受日期: 2022-06-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(31772032)资助

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31772032).

作者简介: 王瑞(1997年生), 男, 硕士研究生。研究方向为微生物和植物互作机制。

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: taoj@hainanu.edu.cn; xlx048@hzu.edu.cn

菌活性,且可抑制黑色素瘤和人结肠直肠癌细胞增殖<sup>[2-3]</sup>。三聚体 sydowiol C 不仅可拮抗金黄色葡萄球菌,对结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)也有良好的抑制活性<sup>[4]</sup>。

在前期活性筛选中,我们发现一株老鼠芳内生曲霉 *Aspergillus* sp. HU0206 的玉米发酵物在载样量为 500  $\mu\text{g}$  时对金黄色葡萄球菌及马铃薯黑胫病菌具有明显的抑制活性,抑菌圈半径分别为 5.5 和 3 mm,随后在活性追踪的指导下,采用天然产物化学方法对其玉米发酵物的次生代谢产物进行研究,共分离鉴定了 6 个甲基苯酚类化合物和 1 个甲基环己酮二聚体。本文对这些化合物的来源、结构鉴定和抗菌活性进行报道。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料和仪器

**供试菌株** 曲霉 *Aspergillus* sp. HU0206 由惠州学院生命科学学院徐良雄博士等分离自滨海盐生植物老鼠芳(*Spinifex littoreus*)枝条,现保藏于惠州学院天然产物化学实验室菌种库;金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) ATCC6538、大肠杆菌(*Escherichia coli*) K12-MG1655 分别购自广东省微生物菌种保藏中心和宝赛公司;耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *S. aureus*) 11646 由广州呼吸疾病研究所提供;马铃薯黑胫病菌(*Pectobacterium atroseptica*) STB009、青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*) STB020 来自惠州学院天然产物化学实验室。

**试剂和仪器** 二氯甲烷等分析纯试剂(天津大茂),色谱纯甲醇(天津康科德),氘代试剂(美国剑桥),硫酸链霉素、盐酸万古霉素(上海麦克林生化科技),甲氧西林(美国 Glpbio)。SYNERGY H1 全功能酶标仪(美国 BioTek),LC-16P 高效液相色谱仪及 LC-MS-8040 电喷雾质谱仪(日本 Shimadzu),Quantum-I 核磁共振波谱仪(武汉中科牛津),Bruker maXis 超高分辨飞行时间质谱仪(德国 Bruker)。

### 1.2 提取和分离

将活化好的菌株接种至 30 mL PDB 培养基,在 150 r/min、28  $^{\circ}\text{C}$  黑暗中培养 3 d,制得一级种子液,吸取 1 mL 接种至 200 mL PDB 培养基,相同条件培养 3 d,得二级种子液,然后接种至 200 个玉米培养基发酵瓶中(每 500 mL 含 60 g 玉米和 60 mL

自来水),28  $^{\circ}\text{C}$  黑暗静置培养 28 d。

发酵物用 95%乙醇浸提 3 次,每次 24 h,浓缩去除乙醇并以石油醚脱脂后,以二氯甲烷萃取获得抗金黄色葡萄球菌活性部位(80.0 g),载样量为 200  $\mu\text{g}$ ,该部位对金黄色葡萄球菌的抑菌圈半径为 4 mm。该部位进行正相硅胶柱(100~200 目,青岛基亿达)色谱,二氯甲烷-甲醇[100:0~50:50, V/V(下同)]梯度洗脱、合并得到流份 Fr.1~Fr.12。Fr.4 (15.8 g)经凝胶柱(Sephadex LH-20, Amersham Biosciences)色谱,甲醇洗脱得到流份 Fr.4-1~Fr.4-12。其中 Fr.4-6 经  $\text{C}_{18}$ -反相硅胶柱(75  $\mu\text{m}$ , 日本富士硅化学)色谱纯化,以甲醇-水(10:90),洗脱得化合物 7 (6.50 g); Fr.4-7 (99.7 mg)经 HPLC 纯化( $\text{C}_{18}$  柱, 5  $\mu\text{m}$ , 10 mm $\times$  250 mm, Shimadzu),以甲醇-水(20:80)洗脱得化合物 6 ( $t_{\text{R}}=37.5$  min, 3.9 mg); Fr.4-12 (105.7 mg)经 HPLC 纯化,以甲醇-水(55:45)洗脱得化合物 5 ( $t_{\text{R}}=11.5$  min, 4.0 mg)。流份 Fr.6 (2.0 g)经  $\text{C}_{18}$ -反相硅胶柱色谱,甲醇-水(10:90~100:0)梯度洗脱得 Fr.6-1~Fr.6-12,其中 Fr.6-4 (62.3 mg)经 HPLC 纯化,以甲醇-水(10:90)洗脱得化合物 4 ( $t_{\text{R}}=7.4$  min, 4.0 mg); 流份 Fr.6-11 (445.7 mg)经 HPLC 纯化,以甲醇-水(55:45)洗脱得化合物 2 ( $t_{\text{R}}=13.0$  min, 67.0 mg)、1 ( $t_{\text{R}}=32.5$  min, 5.0 mg)和 3 ( $t_{\text{R}}=17.5$  min, 11.0 mg) (图 1)。

### 1.3 抗细菌活性测试

采用滤纸片琼脂扩散法<sup>[5]</sup>测定化合物的抑菌圈半径,每滤纸片载样量为 40  $\mu\text{g}$ ,甲氧西林、硫酸链霉素和盐酸万古霉素为阳性对照(载样量为 20  $\mu\text{g}$ ),实验设 3 个重复,结果取平均值。并采用微量稀释法<sup>[6]</sup>测定活性化合物的最小抑制浓度(MIC)。

### 1.4 结构鉴定

**化合物 1** 浅黄色粉末,根据 HR-ESI-MS  $m/z$ : 411.1451 [ $\text{M} - \text{H}$ ]<sup>-</sup> ( $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{O}_7$ , 理论值为 411.1449)推断分子式为  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_7$ 。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  6.46 (1H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-6), 6.39 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-5''), 6.37 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-3'), 6.29 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-3''), 6.28 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-5'), 5.82 (1H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-4), 3.77 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 3.63 (3H, s, 2''-OCH<sub>3</sub>), 2.26 (3H, s, H-7''), 2.16 (3H, s, H-7), 1.81 (3H, s, H-7'); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  158.7 (C-4'), 151.4 (C-2'), 153.9 (C-2''), 152.3 (C-1), 152.0 (C-3), 148.2 (C-4'), 139.7 (C-1''), 136.5 (C-5), 134.9 (C-1'), 133.9 (C-6'), 130.8 (C-2), 126.9 (C-6''), 111.3 (C-6), 110.2 (C-5''), 107.7 (C-5'), 106.4 (C-4),

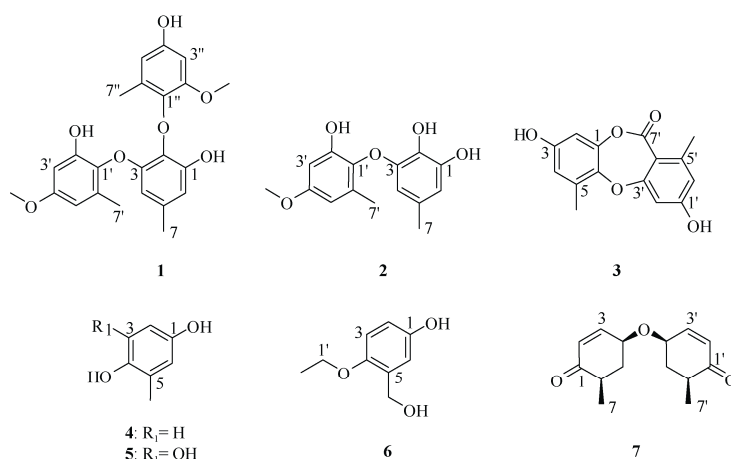


图 1 化合物 1~7 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-7

101.3 (C-3'), 100.8 (C-3''), 56.0 (4'-OCH<sub>3</sub>), 55.8 (4'-OCH<sub>3</sub>), 21.6 (C-7), 16.4 (C-7'), 16.3 (C-7'').

<sup>1</sup>H NMR 谱显示有 6 个苯环间位耦合质子 [ $\delta_{\text{H}}$  5.82 (1H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-4), 6.46 (1H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-6); 6.37 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-3'), 6.28 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-5'); 6.29 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-3''), 6.39 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-5'')], 2 个甲氧基质子 [ $\delta_{\text{H}}$  3.77 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 3.63 (3H, s, 2''-OCH<sub>3</sub>)] 和 3 个单峰甲基质子 [ $\delta_{\text{H}}$  2.16 (3H, s, H-7), 1.81 (3H, s, H-7'), 2.26 (3H, s, H-7'')] 信号。<sup>13</sup>C NMR 谱经 HSQC 归属后显示 23 个碳信号, 其中 18 个芳环碳(12 个为季碳)、2 个甲氧基碳( $\delta$  56.1, 55.8) 和 3 个甲基碳( $\delta$  21.6, 16.4, 16.3) 信号。上述信息提示该化合物由 3 个甲基苯酚单元组成。通过 HMBC 谱(图 2)对 3 个甲基苯酚单元的 NMR 数据进行归属, 结果表明其甲基苯酚单元 A 和 B 的 NMR 信号, 尤其 <sup>13</sup>C NMR 谱与 5-methoxy-3,5'-dimethyl-2,3'-oxybiphenyl-1,1',2'-triol (**2**)<sup>[7]</sup> 相近。而甲基苯酚单元 C 中的 H<sub>3</sub>-7'' 和 C-4''/5''/6'' 相关、H-3''/5'' 和 C-1'' 相关、甲氧基质子( $\delta_{\text{H}}$  3.63) 与 C-2'' ( $\delta$  153.9) 相关, 且其 NMR 数据与文献报道的 1-methoxy-3,5'-dimethyl-2,3'-oxybiphenyl-5,1',2'-triol<sup>[8]</sup> 中对应单元的基本一致, 确定该甲基苯酚单元 C 的取代情况与单元 B 相同, 但甲氧基连在 C-2'' 上, 即为新的甲基苯酚三聚体(图 2), 命名为 sydowniol F。

**化合物 2** 浅黄色固体, HR-ESI-MS  $m/z$ : 275.0929 [M - H]<sup>-</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  6.30 (1H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-4), 6.38 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-6'), 6.33 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-4'), 5.76 (1H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-6), 3.77 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz,

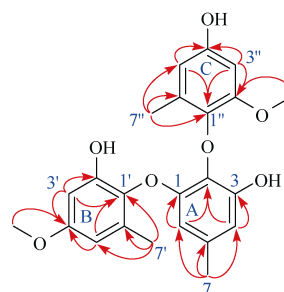


图 2 化合物 1 的关键的 HMBC (箭头) 相关

Fig. 2 Key HMBC (arrows) correlations of compound 1

CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  158.5 (C-4'), 151.7 (C-2'), 147.9 (C-3), 147.1 (C-3), 136.0 (C-1'), 133.9 (C-6'), 132.6 (C-2), 129.7 (C-5), 110.8 (C-4), 107.9 (C-5'), 106.6 (C-6), 101.3 (C-3'), 55.8 (4'-OCH<sub>3</sub>), 21.2 (C-7), 16.4 (C-7')。以上数据与文献[7]一致, 故鉴定为 5-methoxy-3,5'-dimethyl-2,3'-oxybiphenyl-1,1',2'-triol。

**化合物 3** 白色固体, ESI-MS:  $m/z$ : 271 [M - H]<sup>-</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  6.57 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-6'), 6.54 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-2'), 6.46 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-4), 6.45 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-2); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  165.2 (C-3'), 165.0 (C-7'), 163.5 (C-1'), 155.8 (C-3), 146.5 (C-5'), 146.1 (C-1), 143.3 (C-6), 132.5 (C-5), 116.6 (C-4), 114.7 (C-2), 113.4 (C-4'), 105.8 (C-2'), 105.7 (C-2), 21.3 (C-6'), 16.0 (C-7')。以上数据与文献[9]一致, 故鉴定为 corynesidone A。

**化合物 4** 白色针状结晶, ESI-MS  $m/z$ : 125 [M + H]<sup>+</sup>, 247 [2M - H]<sup>-</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  6.58 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-3), 6.52 (1H, d,  $J = 2.6$  Hz, H-6), 6.45 (1H, dd,  $J = 8.6, 2.6$  Hz, H-2),

2.12 (3H, s, H-7);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  151.0 (C-4), 149.3 (C-1), 126.5 (C-2), 118.4 (C-3), 116.3 (C-6), 113.8 (C-5), 16.4 (C-7)。以上数据与文献[10~11]一致, 故鉴定为鹿蹄草素。

**化合物 5** 白色针状结晶, ESI-MS  $m/z$ : 139  $[\text{M} - \text{H}]^-$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  6.20 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-6), 6.16 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-2), 2.15 (3H, s, H-7);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  153.1 (C-4), 144.0 (C-6), 134.3 (C-1), 127.2 (C-2), 112.1 (C-3), 102.0 (C-5), 15.3 (C-7)。以上数据与文献[12]一致, 故鉴定为 3-羟基鹿蹄草素。

**化合物 6** 白色粉末, ESI-MS  $m/z$ : 169  $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  6.73 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-6), 6.62 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-3), 6.58 (1H, dd,  $J = 8.6, 2.8$  Hz, H-2), 4.49 (2H, s, H-1'), 3.59 (2H, q,  $J = 7.2$  Hz, H-7), 1.23 (3H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-2');  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  151.1 (C-1), 149.3 (C-4), 126.5 (C-5), 116.8 (C-6), 116.7 (C-3), 116.1 (C-2), 68.9 (C-7), 66.8 (C-1'), 15.4 (C-2')。以上数据与文献[13]一致, 故鉴定为 4-乙氧基-3-羟甲基苯酚。

**化合物 7** 无定形粉末, 比旋光( $[\alpha]_D^{25} + 61.5$ ,  $c = 1.6$  mg/ml,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ), ESI-MS  $m/z$ : 469  $[2\text{M} + \text{H}]^+$ ,

233  $[\text{M} - \text{H}]^-$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  6.96 (1H, dd,  $J = 4.6, 9.9$  Hz, H-3), 6.96 (1H, dd,  $J = 4.6, 9.9$  Hz, H-3'), 5.92 (1H, d,  $J = 10.1$  Hz, H-2), 5.89 (1H, d,  $J = 10.1$  Hz, H-2'), 4.48 (1H, dd,  $J = 4.6, 9.4$  Hz, H-4'), 4.47 (1H, dd,  $J = 4.6, 9.4$  Hz, H-4), 2.72~2.76 (2H, m, H-6), 2.72-2.76 (2H, m, H-6'), 2.04~2.12 (2H, m, H-5), 2.04~2.12 (2H, m, H-5'), 1.16 (3H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-7'), 1.14 (3H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-7);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  204.3 (C-1), 203.5 (C-1'), 155.9 (C-3'), 151.6 (C-3), 129.1 (C-2), 128.9 (C-2'), 67.9 (C-4'), 63.7 (C-4), 42.4 (C-5'), 39.6 (C-5), 41.2 (C-6'), 39.1 (C-6), 15.6 (C-7), 15.2 (C-7')。以上数据与文献[14]一致, 故鉴定为 epoxydine A。

### 1.5 抗细菌活性

化合物 1~6 的活性测试表明, 载样量为 40  $\mu\text{g}$  时所有化合物对大肠杆菌没有显示明显的抑菌圈, 而化合物 1~4 分别对另外 4 株测试菌有较明显和较微弱的抑制活性。微量稀释法测试结果表明, 化合物 1、2 和 4 对金黄色葡萄球菌、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、黑胫病菌和青枯病菌抑菌效果较好, MIC 为 50 或 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 而化合物 3 的 MIC > 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (表 1)。

表 1 化合物 1~4 的细菌拮抗活性

Table 1 Antibacterial activity of compounds 1-4

化合物 Compound	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>		耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 Methicillin-resistant <i>S. aureus</i>		黑胫病菌 <i>Pectobacterium atrosepticum</i>		青枯病菌 <i>Ralstonia solanacearum</i>	
	A (mm)	B ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	A (mm)	B ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	A (mm)	B ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	A (mm)	B ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
1	1	100	1	50	1	100	1	100
2	3.5	50	3	50	2	50	2	50
3	1	>400	1	>400	2	>400	1	>400
4	5	50	5	50	4	100	5.5	100
Vancomycin	5	3.12	5.5	3.12	5	12.5	6	0.78
Methicillin	11	1.56	0.5	>200	3.5	50	13	0.39
Streptomycin	6	12.5	0	>200	6	12.5	3.5	12.5

A: 抑菌圈半径; B: 最小抑制浓度。

A: Radius of inhibition zone; B: Minimum inhibitory concentration (MIC).

## 2 结果和讨论

非还原型聚酮合酶(NRPKSs)可催化生成芳环化合物, 如苔色酸合酶催化 1 分子的乙酰辅酶 A 和 3 分子的丙二酰辅酶 A, 经缩合、脱水、烯醇化、水解等反应生成含甲基的苯甲酸——苔色酸<sup>[15]</sup>。甲基苯酚类化合物 1~6 应是苔色酸经脱羧、羟基化和脱水

缩合形成的衍生物, 但本研究还在同一发酵物中发现了大量非芳环化合物甲基环己酮二聚体 epoxydine A。最近 Liu 等<sup>[16]</sup>报道, 生防真菌绿木霉(*Trichoderma virens*)中水杨酸类似物 Salicylaldehydes 在被黄素依赖性酶 VirI 氧化成醌后, 再由 VirH 进行环氧化修饰生成环己二酮, 最后酮基被 VirK 和 VirL 还原成相应的醇, 即环氧环己醇天然产物 trichoxide。这曲

霉 HU0206 代谢产物中的甲基环己酮类物质可能是通过聚酮合成途径生成苔色酸及甲基苯酚类化合物后, 继续被修饰的产物。

活性测试表明, 化合物 **1**、**2** 和 **4** 对多株测试细菌的活性较好, 而所有化合物对大肠杆菌, 以及其它化合物对所有 5 株测试细菌均未显示明显的拮抗活性。说明此类甲基苯酚类化合物对细菌具有拮抗特异性, 芳环的羟基数量和取代位置对此类化合物的生物活性具有显著影响。

本研究从植物内生曲霉 HU0206 发酵物中得到 1 个新甲基苯酚类三聚体, 以及 6 个已知的甲基苯酚类和甲基环己酮类化合物, 并对其生源关系和抗菌活性进行了研究和探讨, 初步阐明了该菌发酵物的抗菌物质基础, 丰富了曲霉属真菌次生代谢产物的化学多样性, 对相关化合物的合成及活性研究具有一定的参考价值。

## 参考文献

- [1] FREMLIN L J, PIGGOTT A M, LACEY E, et al. Cottoquinazoline A and cotteslosins A and B, metabolites from an Australian marine-derived strain of *Aspergillus versicolor* [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(4): 666–670. doi: 10.1021/np800777f.
- [2] BUNYAPAIBOONSRI T, YOIPROMMARAT S, INTEREYA K, et al. New diphenyl ethers from the insect pathogenic fungus *Cordyceps* sp. BCC 1861 [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55(2): 304–307. doi: 10.1248/cpb.55.304.
- [3] ZHURAVLEVA O I, AFIYATULLOV S S, VISHCHUK O S, et al. Decumbenone C, a new cytotoxic decaline derivative from the marine fungus *Aspergillus sulphureus* KMM 4640 [J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35(10): 1757–1762. doi: 10.1007/s12272-012-1007-9.
- [4] LIU X R, SONG F H, MA L, et al. Sydowiols A–C: *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase inhibitors from an East China Sea marine-derived fungus, *Aspergillus sydowii* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2013, 54(45): 6081–6083. doi: 10.1016/j.tetlet.2013.08.137.
- [5] PONGTHARANGKUL T, DEMIRCI A. Evaluation of agar diffusion bioassay for nisin quantification [J]. *Appl Microb Biotechnol*, 2004, 65(3): 268–272. doi: 10.1007/s00253-004-1579-5.
- [6] WIEGAND I, HILPERT K, HANCOCK R E W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances [J]. *Nat Protoc*, 2008, 3(2): 163–175. doi: 10.1038/nprot.2007.521.
- [7] DU L, KING J B, MORROW B H, et al. Diarylcyclopentendione metabolite obtained from a *Preussia typharum* isolate procured using an unconventional cultivation approach [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(10): 1819–1823. doi: 10.1021/np300473h.
- [8] SUMILAT D A, YAMAZAKI H, KANNO S I, et al. Biphenyl ether derivatives with protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity from the freshwater fungus *Phoma* sp. [J]. *J Antibiot*, 2017, 70(3): 331–333. doi: 10.1038/ja.2016.147.
- [9] CHOMCHEON P, WIYAKRUTTA S, SRIUBOLMAS N, et al. Aromatase inhibitory, radical scavenging, and antioxidant activities of depsidones and diaryl ethers from the endophytic fungus *Corynespora cassicola* L36 [J]. *Phytochemistry*, 2009, 70(3): 407–413. doi: 10.1016/j.phytochem.2009.01.007.
- [10] PAN W W, PEI G, WANG Y M, et al. Studies on the chemical constituents isolated from *Pyrola calliantha* [J]. *NW Pharm J*, 2014, 29(3): 221–222. [潘微微, 裴刚, 王亚敏, 等. 鹿衔草的化学成分研究 [J]. *西北药学杂志*, 2014, 29(3): 221–222. doi: 10.3969/j.issn.1004-2407.2014.03.001.]
- [11] ZHOU Y B, LI H X, WANG J H, et al. Studies on the chemical constituents of *Pyrola chlorantha* Sw. [J]. *Res Inf Trad Chin Med*, 2005, 7(6): 11–13. [周玉波, 李洪侠, 王金辉, 等. 绿花鹿蹄草中的化学成分 [J]. *中药研究与信息*, 2005, 7(6): 11–13. doi: 10.3969/j.issn.1673-4890.2005.06.005.]
- [12] SEKIGUCHI J, KATAYAMA S, YAMADA Y. 6-Methyl-1,2,4-benzenetriol, a new intermediate in penicillic acid biosynthesis in *Penicillium cyclopium* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1987, 53(7): 1531–1535. doi: 10.1128/aem.53.7.1531-1535.1987.
- [13] ZHANG Z Q, ZHENG C J, CHEN G Y, et al. Chemical constituents and antibacterial activities of the stems of *Homalium stenophyllum* Merr. et Chun [J]. *Chin Trad Patent Med*, 2015, 37(10): 2203–2208. [张中奇, 郑彩娟, 陈光英, 等. 海南天料木茎化学成分和抗菌活性的研究 [J]. *中成药*, 2015, 37(10): 2203–2208. doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2015.10.022.]
- [14] QIN S, HUSSAIN H, SCHULZ B, et al. Two new metabolites, epoxydine A (I) and B (II), from *Phoma* sp. [J]. *Helv Chim Acta*, 2010, 41(21): 169–174. doi: 10.1002/hlca.200900199.
- [15] SMIT A J. Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review [J]. *J Appl Phycol*, 2004, 16(4): 245–262. doi: 10.1023/B:JAPH.0000047783.36600.ef.
- [16] LIU L, TANG M C, TANG Y. Fungal highly reducing polyketide synthases biosynthesize salicylaldehydes that are precursors to epoxy-cyclohexenol natural products [J]. *J Am Chem Soc*, 2019, 141(50): 19538–19541. doi: 10.1021/jacs.9b09669.