

香豆素类化合物的抑菌活性研究

杨亮, 姚晓远, 丁伟*

天然产物农药研究室 西南大学植物保护学院, 北碚 400716

摘要: 香豆素类化合物是自然界非常重要的一大类天然化合物, 在医学方面应用广泛, 具有抗癌、抗炎、抗凝血及抗菌等多方面活性, 香豆素类化合物的农用生物活性也逐渐被重视。本文综述了近年来香豆素类化合物在抑菌生物活性方面的研究成果, 医学上主要对象是金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞菌、 β -溶血性链球菌、流感嗜血杆菌、霍乱弧菌等; 在农用抑菌方面则集中在青枯雷尔氏菌、辣椒疫霉病菌、白粉病菌、番茄灰霉病菌、小麦赤霉病菌等。进一步, 列举了 23 种潜在的香豆素类化合物及其抑菌活性, 简要分析了香豆素类化合物抑菌活性的构效关系和作用机理。香豆素类化合物母核具有多个取代位点, 可作为一种先导化合物, 合成更加有效的香豆素类化合物衍生物, 具有广阔的应用价值。

关键词: 香豆素类化合物; 抑菌活性; 构效关系; 作用机理

中图分类号: R914; S842

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.2.026

The Advances on Antibacterial Activity of Coumarins

YANG Liang, YAO Xiao-yuan, DING Wei*

Laboratory of Natural Products Pesticides, College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: Coumarins are naturally derived compounds fused benzene and α -pyrone rings which are found in large range of plant sources. Recently, several studies have been conducted on the biological activity of coumarins, such as anticancers, anti-inflammatory, anticoagulants, antibacterial and antifungals. In this study, the advances on the antibacterial activity of coumarins were summarized. The main target in medicine is *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, β -hemolytic streptococcus, *Haemophilus influenzae* and *Vibrio cholera*, etc., in the agricultural areas are concentrated in *Ralstonia solanacearum*, *Phytophthora capsici*, *Powdery mildew*, *Botrytis cinerea* and *Fusarium graminearum*, etc. Indeed, the structure-activity relationship and mechanism action of coumarins were analyzed. Coumarins have multiple substitution sites and can used as a kind of lead compound to synthesize more effective coumarin derivatives with widely application values.

Key words: coumarins; antibacterial activity; structure-activity relationship; mechanism action

香豆素类化合物(Coumarins)化学名称: 2H-1-benzopyran-2-one, 具有苯并 α -吡喃酮母核, 主要分布在伞形科、豆科、菊科、茄科、瑞香科等植物中, 在动物及微生物代谢产物中也有发现^[1]。根据环上取代基及其位置的不同, 常将香豆素类化合物分为简单香豆素、呋喃香豆素、吡喃香豆素和其他香豆素^[2]。本文通过对香豆素类化合物抑菌活性、构效关系、作用机理等进行综述, 突出香豆素类化合物作为农用杀菌剂的潜在可能, 希望能引起相关研究者的关注, 为香豆素类化合物的生物活性研究提供有

价值的信息和参考。

1 香豆素类化合物

1820 年, 首次报道了新型的植物源活性物质-香豆素类化合物, 该物质从熏草豆 (*Dipteryx odorata* Willd, *Fabaceae*) 中分离获得^[3]。直到 1945 年, 发现双香豆素对多种病原细菌具有抑菌活性, 相应成果刊登在国际顶级期刊 *Science*^[4]。香豆素类化合物具有来源广、种类繁多等特点, 在超过 800 种植物或微生物中发现了 1000 多种香豆素类化合物及其衍生物^[5]。因此, 化合物的生物活性挖掘和作用机制引起科学家的重视, 其中研究最为深入的是简单香豆素类化合物(图 1)。香豆素类化合物主要以单体或异糖苷的形式存在于双子叶植物中, 包括伞形科、

菊科、桑科、蔷薇科、茜草科、芸香科、茄科;多种单子叶植物如禾本科植物和兰花^[6]。香豆素类化合物存在植物体内的各个部位^[7,8],但植物不同部位中的化合物含量存在差异,其中叶片是主要合成部位,而果实中含量最高,随后是根和茎。此外,香豆素类化合物的形成与植保素生物活性密切相关,植物在受到病原菌侵染或胁迫条件时,会诱导产生多种结

构的代谢产物,其中包括含酚羟基的香豆素类化合物。在植物受到毫摩尔浓度病原物侵染时,植保素能够在侵染部位迅速聚集,扮演着非特异性杀菌作用^[9]。东莨单内酯作为一种香豆素类化合物,是烟草体内的重要植保素,在抵御病原菌侵染过程中发挥着重要作用^[10]。

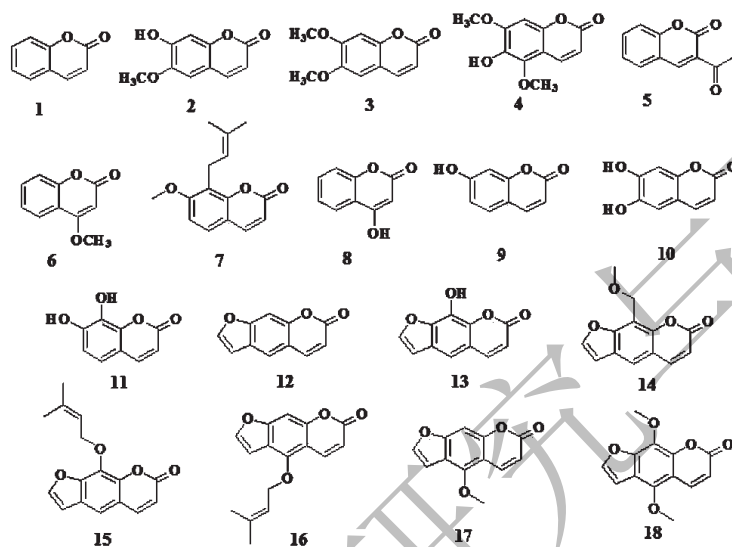


图1 香豆素类化合物结构式

Fig. 1 The chemical structures of the coumarins

2 香豆素类化合物的抑菌活性研究进展

2.1 香豆素类化合物抑菌活性在医学上的应用

近年来,香豆素类化合物对动物致病细菌和真菌的抑菌(杀菌)活性得到了广泛研究^[11]。许多香豆素类化合物杀菌谱广,对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、病原真菌均具有抑制活性。研究发现秦皮乙素和花椒毒素对多种致病菌如大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)具有明显的抑制作用^[12,13],另外香豆素类化合物在 C-3、C-4 位点上有羟基取代时,抑制铜绿假单胞杆菌生长,抑制生物膜形成和群集感应^[14]。从 *Ferulago carduchorum* 中分离得出了佛手内酯有效抑制了金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的抑菌活性最佳^[15]。Dastan 等从 *Ferula pseudalliacea* 中分离得到了多种香豆素类化合物,其中倍半萜类香豆素有效抑制了金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、铜绿假单胞杆菌^[16]。杜鹃花提取物中分离鉴定出香豆素类化合物包括瑞香甙、瑞香素、瑞香素苷、伞形花内酯等,对金黄色葡

萄球菌、大肠杆菌、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌均表现出较好的抑菌活性,其中瑞香素的抑菌效果最佳,对金黄色葡萄球菌、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)为 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。通过取代基比较发现,香豆素类化合物在 C-8 位点上有游离的羟基取代基,具有更好的抑菌活性,而乙酰基衍生物降低了其抑菌活性^[17]。Kayser 等评价了 14 种简单香豆素类化合物的抑菌效果,发现 7-羟基-5,6-二甲氧基香豆素、6,8-二羟基-5,7-二甲氧基香豆素对金黄色葡萄球菌、 β -溶血性链球菌、肺炎链球菌、大肠埃希氏菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、变形杆菌、流感嗜血杆菌等 8 种不同病原菌的最小抑菌浓度 MIC 是 0.9 ~ 2.1 μM ^[18]。为了进一步分析香豆素类化合物的抑菌生物活性,Smyth 等采用浊度法在 96 孔板中检测了 43 种天然或合成的香豆素类化合物对金黄色葡萄球菌的抑菌活性,结果发现,20 余种香豆素化合物对金黄色葡萄球菌具有抑菌活性,其中 16 种香豆素化合物对抗性菌株具有较强的抑菌活

性,有助于提高现用的抗菌药剂的药理活性^[19]。Céspedes 等研究表明,7,8-二羟基-6-甲氧基香豆素和瑞香素(7,8-二羟基香豆素)分别是在 C-7 和 C-8 位上有羟基取代基,对细菌的抑菌活性最强;伞形花内酯(7-羟基香豆素)、秦皮乙素(6,7-二羟基香豆素)分别在 C-7 和 C-6、C-7 这两个位置上有羟基取代基,抑制了霍乱弧菌生长;而 8-甲氧基补骨酯素、6,7-二甲氧基-4-甲基香豆素、滨蒿内酯对霍乱弧菌抑菌效果最差,表明 C-7 和 C-8 可能是香豆素类化合物抗细菌活性的重要位点。7,8-二羟基-6-甲氧基香豆素的抑菌活性优于 7,8-二羟基香豆素,对霍乱弧菌的 MIC 分别是 25、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$,对大肠杆菌的 MIC 分别是 250、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在这种情况下,可能是 C-6 位上的甲氧基以及相邻的两个羟基,以电子的方式激活苯环并增加化合物的亲脂性,导致这些化合物对细菌具有更好的抑制活性。在对真菌的抑

制效果上,6,7-二甲氧基-4-甲基香豆素、滨蒿内酯表现最佳,其次是 7-甲氧基香豆素,这可能与化合物的脂溶性和抗氧化性有关^[20]。此外,从白芷(*Angelica dahurica*)^[21]、非洲曼密苹果(*Mammea africana*)^[22]、墨西哥龙蒿叶(*Mexican Tarragon*)^[20]、缙叶石蛇床(*Petroselinum crispum*)^[22]、芸香(*Ruta graveolens*)^[23]、亚麻叶瑞香^[24]、*Ferulago campestris*^[25]、*Angelica lucida*^[26]等多种植物的根、果实或茎叶提取所得香豆素类化合物也具有一定的抑菌活性。

根据香豆素的母核,合成新型的香豆素类化合物及其衍生物,并评价生物活性也是近年来的研究热点。研究发现,3-乙酰基香豆素化合物及其衍生物、4-羟基香豆素化合物及其衍生物、香豆素噻唑类化合物对病原细菌具有抑制活性^[27-29],同时,也有部分研究表明,合成的香豆素类化合物具有显著的抑真菌活性^[30]。

表 1 具有抑菌活性的香豆素类化合物资源

Table 1 Coumarins with antibacterial activity

编号 No.	来源 Sources	科属 Family & Genus	活性部位 Active agent	化合物 compounds	作用对象 Target pathogens	参考文献 Ref.
1	杜鹃花 <i>Rhododendron lepidotum</i> Wall	杜鹃花科 杜鹃属	花	瑞香甙、瑞香素、瑞香素苷、rhodonetin、rhodonin、伞形花内酯	金黄色葡萄球菌 ATCC-29213 (<i>Staphylococcus aureus</i>)、耐甲氧西林大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i> resistente à metilina)、金黄色葡萄球菌 ATCC-15187 (<i>Staphylococcus aureus</i>)、铜绿假单胞菌 ATCC-9027 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	17
2	白芷 <i>Angelica dahurica</i>	伞形科当 归属	根	异欧前胡素、欧前胡素、珊瑚素、白当归素、东莨菪内酯、	枯草芽孢杆菌 (<i>Bacillus subtilis</i>)、大肠埃希氏菌 (<i>Escherichia coli</i>)、草本支孢霉 (<i>Cladosporium herbarum</i>)、白曲菌 (<i>Aspergillus candidus</i>)	21
3	非洲曼密苹果 <i>Mammea africana</i>	山竹子科 藤黄属	果实	4-苯基香豆素类化合物 (Mammea A/AA, Mammea A/BA, MAB 3)	金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)、热带假丝酵母 (<i>Candida tropicalis</i>)、鳃弧菌 (<i>Vibrio anguillarum</i>)	22
4	墨西哥龙蒿叶 <i>Mexican Tarragon</i>	菊科紫菀 属	花、叶、茎	瑞香素、伞形花内酯、滨蒿内酯、秦皮乙素、6-羟基-7-甲氧基香豆素、7-甲氧基香豆素、东莨菪内酯	枯草芽孢杆菌 (<i>Bacillus subtilis</i>)、大肠埃希氏菌 (<i>Escherichia coli</i>)、变形杆菌 (<i>Proteus mirabilis</i>)、肺炎克雷伯菌 (<i>Klebsiella pneumoniae</i>)、伤寒沙门氏菌 (<i>Salmonella typhi</i>)、沙门氏菌 (<i>Salmonella sp.</i>)、鲍氏志贺菌 (<i>Shigella boydii</i>)、志贺菌 (<i>Shigella sp.</i>)、产气肠杆菌 (<i>Enterobacter aerogenes</i>)、成团肠杆菌 (<i>Enterobacter agglomerans</i>)、藤黄八叠球菌 (<i>Sarcina lutea</i>)、表皮葡萄球菌 (<i>Staphylococcus epidermidis</i>)、金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)、霍乱弧菌 (<i>Vibrio cholerae</i>)、黑曲霉 (<i>Aspergillus niger</i>)、青霉 (<i>Penicillium notatum</i>)、串珠镰孢菌 (<i>Fusarium moniliforme</i>)、镰孢菌 (<i>Fusarium sporotrichum</i>)、水稻纹枯病菌 (<i>Rhizoctonia solani</i>)	20
5	亚麻叶瑞香 <i>Daphne gnidium</i> L.	瑞香科瑞 香属	茎	瑞香素、瑞香甙、乙酰基伞形花内酯、西瑞香素	地衣芽孢杆菌 (<i>Bacillus lentus</i>)、大肠埃希氏菌 (<i>Escherichia coli</i>)	24

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	来源 Sources	科属 Family & Genus	活性部位 Active agent	化合物 compounds	作用对象 Target pathogens	参考文献 Ref.
6	<i>Angelica lucida</i>	伞形科当 归属	叶	欧前胡素、白芷属 脑、水合氧化前胡 素、独活素	金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)、表皮葡萄球菌 (<i>S. epidermidis</i>)、大肠埃希氏菌 (<i>Escherichia coli</i>)、阴沟肠杆菌 (<i>Enterobacter cloacae</i>)、肺炎克雷伯菌 (<i>Klebsiella pneumoniae</i>)、铜绿假单胞菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)、白色念珠菌 (<i>Candida albicans</i>)、热带假丝酵母 (<i>C. tropicalis</i>)、光滑念珠菌 (<i>C. glabrata</i>)	26

2.2 香豆素类化合物的农用抑菌活性

在自然界中,香豆素类化合物作为植物合成的苯并烷类次生代谢产物,具有许多重要的生物活性,如抗微生物活性、调节病原菌与植物互作反应和紫外线保护作用等。许多病原菌会诱导植物产生苯并烷类化合物,其在体外具有抑菌活性,能够在侵染部位阻止病原菌入侵,被认为是一类植保素^[31]。羟基香豆素类化合物会在病原真菌、细菌和病毒侵染部位迅速聚集,这种现象通常发生在植物的叶部和茎部,在阳光紫外线的照射,通过激发态质子转移反应抑制病原真菌或细菌生长^[32]。

东莨菪内酯是茄科作物中重要的一种植保素,具有抗病原细菌、真菌活性^[33]。Modafar 首次发现在斑鸠菊接种长喙壳菌,会诱导产生东莨菪内酯。然而,后续研究发现东莨菪内酯在病原菌侵染部位聚集速度较慢,很难完全抑制分生孢子的生长,喙壳菌在接种点周围会缓慢繁殖^[34]。Rodriguez 等研究了从木薯中分离的东莨菪内酯的抗菌活性,在体内和体外检测了它对多种真菌和细菌的生物活性^[35]。Garcia 等研究疫霉病菌侵染 *H. brasiliensis* 后,侵染部位会产生东莨菪内酯,当浓度达到 2 mM 时,能够有效抑制真菌的胚芽管伸长率和分生孢子萌发。同时通过原位测试,发现接种 24 h 后,在大部分抗性克隆体中分生孢子萌发和侵染点显著降低。东莨菪内酯对橡胶树炭疽病和黄瓜褐斑病菌也有抑菌活性,完全抑制病菌孢子萌发和芽管生长的浓度要求较高,是之前疫霉抑制浓度的 2 倍甚至更高^[36]。橡胶树接种疫霉菌后发现东莨菪内酯含量在侵染部位急剧增加,同时 2 mM 东莨菪内酯能够有效抑制 *P. palmivora* 菌丝生长。为了进一步筛选有效的抗真菌化合物,从苦楝籽仁中成功分离东莨菪内酯、香兰素、松脂醇等物质,采用微量稀释法测得东莨菪内酯的最小抑菌浓度为 1.50 mg/mL (折合 7.8 mM)。尽管单一物质的活性较低,但当东莨菪内酯与上述物质混合,其生物活性能够大大加强,仅仅添加 MIC

的 5% 就能达到完全抑菌的效果^[37]。东莨菪内酯作为一种抗真菌剂,作用机理主要通过抑制芽管生长及分生孢子萌发。羟基香豆素类化合物对病原细菌具有较好的抑菌活性,其中瑞香素(7,8-二羟基香豆素)、秦皮乙素(6,7-二羟基香豆素)、伞形花内酯(7-羟基香豆素)对茄科青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)的 EC₅₀ 分别为 8.73 mg/L、24.75 mg/L、37.15 mg/L,显著高于对照药剂噻菌铜(Thiodiazole Copper)^[38]。蛇床子素作为一种香豆素类化合物,具有苯骈 α-吡喃酮的核心结构外,还有异戊烯结构,异戊烯结构化合物作为植保素在抗病中发挥着重要作用^[39]。王超等研究了蛇床子素对辣椒疫霉病菌、番茄灰霉病菌、小麦赤霉病菌等病原真菌具有显著的抑制作用^[40],尤其是对瓜类白粉病菌具有特效,通过在江苏、山东、云南等地不同环境条件的田间示范表明,1% 蛇床子素水乳剂对瓜类、草莓、花卉白粉病有特效(防效在 95% 以上),另对蔬菜霜霉病和蚜虫有兼治作用,目前产品已通过法国爱科赛尔(北京)认证中心的有机农药认证^[41,42]。

整体而言,香豆素类化合物的农用抑菌活性大部分集中在抗真菌活性,而对细菌的抑制作用和作用机理方面研究尚处于起步阶段。

2.3 香豆素类化合物抑菌活性的构效关系研究

香豆素类化合物的取代基及取代基的位点影响着抑菌活性,3-乙氧香豆素类化合物的抗菌活性可随酰基团链的延长而提高;通过构效关系评价发现,高抗菌活性的化合物需要具备脂溶性(被动扩散进入菌体)及平面型结构而避免长链结构(辅助化合物更易进入细菌细胞壁)^[43]。另外,香豆素类化合物母环上 C-6 和 C-7 位点上的游离羟基是抑制细菌活性的重要官能团,同时在 C-8 位点上有游离的羟基取代基,具有更好的抑菌活性,而乙酰基衍生物会降低化合物的抑菌活性^[17]。也有研究发现,香豆素类化合物在 C-7 和 C-8 位上有羟基取代基,表现出对细菌最强的抑菌活性。母环上 7 位有一个甲氧

基,6位和(或)8位存在游离羟基使得香豆素类化合物具有广谱性抑菌活性,具有游离羟基香豆素的抗菌活性可能与其酚羟基结构的消除自由基、抗氧化功能有关^[20]。香豆素类化合物上含甲氧基取代基的存在对其抗真菌活性至关重要,其抑菌活性可能与含甲氧基数量相关,同时化合物取代基的电位和极性对抑菌活性也有一定的影响^[18]。通过整合文献,我们发现香豆素类化合物抑菌活性(细菌和真菌)的作用官能团不尽相同,整体而言,香豆素类化合物的抗细菌活性与游离的羟基有关,在C-6、C-7、C-8位点有羟基取代基时,抑菌活性显著增强;抗真菌方面则与甲氧基取代相关。但是关于香豆素类化合物抑菌活性的构效关系研究,还没有形成完整、系统的认识,有待进一步研究和完善。

3 香豆素类化合物的抑菌作用机理研究

目前,香豆素类化合物的抑菌作用机理研究还较少,取得的进展分为以下几个方面:

3.1 破坏细胞膜(细胞壁)的正常功能

简单香豆素化合物的抑菌活性可能与其被动扩散有关,由化合物的亲脂性和平面分子结构决定。香豆素化合物取代基简单化、避免大基团,有利于促进化合物穿透细菌细胞膜^[44]。香豆素化合物的抑菌作用机理与细胞膜密切相关^[18]。研究表明,羟基香豆素化合物攻击病原菌的细胞膜或细胞壁,导致细胞膜功能受损,使得细胞内容物外泄,造成细胞出现中空现象,最终导致病原菌死亡。Lee等研究发现,伞形花内酯(Umbelliferone)、秦皮乙素(Esculetin)和香豆素(coumarin)能够破坏细胞膜结构,显著抑制大肠杆菌生物膜的形成^[45]。我们课题组通过香豆素类化合物对病原细菌的抑菌活性研究,发现瑞香素(Daphnetin)、秦皮乙素(Esculetin)和伞形花内酯(Umbelliferone)破坏青枯菌细胞膜结构,造成细胞中空现象^[38]。

3.2 抑制病原菌生长所需的调控蛋白

病原菌的多种生长所需的调控蛋白也是香豆素类化合物的重要靶标位点,研究表明,香豆素类化合物在对细菌和真菌具有强烈的抑制作用,以香豆素为基础的抗生素药物香豆霉素A1、新霉素和氯霉素等通过抑制拓扑异构酶 β 亚基与ATP的结合,阻止其催化ATP的水解而阻碍DNA复制^[46]。细菌二分裂过程也是香豆素类化合物作用靶标位点之一,有

研究发现东莨菪内酯对大肠杆菌(*Escherichia coli*)有较好的抑菌作用,其作用位点在细菌二分裂必需蛋白FtsZ的T7回路,通过分子对接发现,主要与T7回路的的天冬氨酸(Asn)结合^[47]。

3.3 肽脱甲酰基酶和DNA连接酶

目前,大量植物源活性化合物对病原菌潜在的作用靶标蛋白集中在肽脱甲酰基酶、DNA旋转酶、DNA拓扑异构酶IV、UDP半乳糖变位酶、蛋白酪氨酸磷酸酶、细胞色素P450、DNA连接酶等。Setzer等研究发现,561种抗菌化合物中的酚类化合物对上述六种靶标蛋白的结合程度最佳,而萜类化合物的靶向结合程度最差,酚类化合物中包括了11种香豆素类化合物,而最敏感的靶标蛋白是肽脱甲酰基酶和DNA连接酶^[48]。

4 展望

在国家提倡两减“减少农药的用量、减少化肥的用量”的背景下,采用植物材料或植物源化合物防治植物病虫害不失为一种绿色、生态的防治策略。香豆素类化合物作为一种重要的植物源化合物,具有来源广、生物活性多样、对环境友好、不易产生抗药性等优势。因此,选择合适的植物源化合物,进行生物活性评价和机理研究,有助于切实解决农作物病害难防难治问题,能够成为一种开发绿色农药的重要渠道。

我国虽然具有极其丰富的植物资源,但香豆素类化合物的研究起步较晚,且多数研究集中在有效化合物的分离鉴定及初步活性评价方面。大量的香豆素类化合物生物活性和作用机理仍未清楚。针对分离、纯化得到的香豆素类化合物进行生物活性评价,寻找高效低毒的先导化合物,在此基础上进一步挖掘同类化合物的定量构效关系和潜在的新型靶标,从定量构效关系和新型靶标位点出发,筛选出效果更加突出的香豆素类衍生物,从而为农作物病害防控提供理论依据。但将其开发成行之有效的药剂,仍需要开展大量的研究工作。

4.1 3D-QSAR解析香豆素类化合物的抑菌活性和定量构效关系,定量分析化合物的结构参数与抑菌活性的关系。

筛选已报道具有抑菌活性的香豆素类化合物,评价对茄科青枯雷尔氏菌、野火菌的抑菌活性,根据结构特点进行二维定量构效关系分析(2D-QSAR)、三维定量构效关系分析(3D-QSAR),构建定量构效

关系模型,筛选与抑菌活性最相关的取代基或理化参数。

4.2 目前香豆素类化合物生物活性研究仍处于起步阶段,进一步明确化合物的靶标蛋白,靶向合成和筛选更加有效化合物。

目前,香豆素类化合物对动物病原细菌的作用靶标集中在丝状温度敏感蛋白 Z (FtsZ) 和 DNA 拓扑异构酶^[47-49]。但在植物病原菌的作用机理方面,香豆素类化合物的作用靶标仍是未知的。因此,选择青枯雷尔氏菌和野火菌等模式病原菌,采用转录组测序和基因芯片等高通量测序技术,明确香豆素类化合物对病原菌的作用靶标位点,更有助于筛选对靶标蛋白抑制最为理想的靶标导向活性化合物。

参考文献

- Kong LY (孔令义). Coumarins chemistry [M]. Chemical industry publishing house (化学工业出版社), 2008.
- Kai K *et al.* Accumulation of coumarins in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67:379-386.
- Bruneton J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants [M]. Lavoisier publishing, 1995.
- Goth A. The antibacterial properties of dicumarol [J]. *Science*, 1945, 101:383.
- National Toxicology Program. NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Coumarin (CAS No. 91-64-5) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies) [J]. *National Toxicology Program technical report series*, 1993, 422:1.
- Weinmann I. History of the development and applications of coumarin and coumarin-related compounds [J]. *Coumarins: biology, applications and mode of action*. John Wiley & Sons, Inc, New York, NY, 1997.
- Murray RDH. Naturally occurring plant coumarins [M]// Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Springer Vienna, 1991:83-316.
- Zhang SY (张韶瑜) *et al.* Advances on biological activities of coumarins [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica* (中国中药杂志), 2005, 30:410-414.
- Lay FT, *et al.* Defensins-components of the innate immune system in plants [J]. *Current Protein and Peptide Science*, 2005, 6(1):85-101.
- Costet L, *et al.* Scopoletin expression in elicitor-treated and tobacco mosaic virus-infected tobacco plants [J]. *Physiologia plantarum*, 2002, 115:228-235.
- Cao LD (高立东), *et al.* Advances in antimicrobial activity of coumarins [J]. *Current Biotechnology* (生物技术进展), 2017, 7:116-120.
- Mokdad-Bzeouich I *et al.* Oligomerization of esculin improves its antibacterial activity and modulates antibiotic resistance [J]. *The Journal of antibiotics*, 2015, 68:148-152.
- Walasek M, *et al.* Bioactivity-guided isolation of antimicrobial coumarins from *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier (Apiaceae) fruits by high-performance counter-current chromatography [J]. *Food Chem*, 2015, 186:133-138.
- D'Almeida RE, *et al.* Comparison of seven structurally related coumarins on the inhibition of quorum sensing of *Pseudomonas aeruginosa* and *Chromobacterium violaceum* [J]. *Bioorganic Chem*, 2017.
- Golfakhrabadi F, *et al.* In vitro antimicrobial and acetylcholinesterase inhibitory activities of coumarins from *Ferulago carduchorum* [J]. *Med Chem Res*, 2016, 25:1623-1629.
- Dastan D, *et al.* New coumarin derivatives from *Ferula pseudalliacea* with antibacterial activity [J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30:2747-2753.
- Shakeel-u-Rehman RK, *et al.* Isolation, characterisation and antibacterial activity studies of coumarins from *Rhododendron lepidotum* Wall. ex G. Don, Ericaceae [J]. *Revista Brasileira De Farmacognosia-Brazilian, J Pharm*, 2010, 20:886-890.
- Kayser O, *et al.* Antibacterial activity of simple coumarins: structural requirements for biological activity [J]. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 1999, 54:169-174.
- Smyth T, *et al.* A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins [J]. *International J Antimicrobial Agents*, 2009, 33:421-426.
- Céspedes CL, *et al.* Antifungal and antibacterial activities of Mexican tarragon (*Tagetes lucida*) [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54:3521-3527.
- Kwon YS, *et al.* Antimicrobial constituents of *Angelica dahurica* roots [J]. *Phytochemistry*, 1997, 44:887-889.
- Ouahouo BMW, *et al.* Cytotoxic and antimicrobial coumarins from *Mammea africana* [J]. *Annals Tropical Med Parasitology*, 2013.
- Ojala T, *et al.* Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland [J]. *J Ethnopharm*, 2000, 73:299-305.
- Cottigli F, *et al.* Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. [J]. *Phyto-medicine*, 2001, 8:302-305.
- Basile A, *et al.* Antimicrobial and antioxidant activities of coumarins from the roots of *Ferulago campestris* (Apiaceae) [J]. *Molecules*, 2009, 14:939-952.
- Widelski J, *et al.* Coumarins from *Angelica lucida* L. antibacterial activities [J]. *Molecules*, 2009, 14:2729-2734.

- 27 Al-Ayed AS, *et al.* A New and efficient method for the synthesis of novel 3-Acetyl coumarins oxadiazoles derivatives with expected biological activity [J]. *Molecules*, 2014, 19: 911-924.
- 28 Mladenovic M, *et al.* Synthesis and molecular descriptor characterization of novel 4-hydroxy-chromene-2-one derivatives as antimicrobial agents [J]. *Molecules*, 2009, 14: 1495-1512.
- 29 He DX (何典雄), *et al.* Synthesis and antibacterial activity of coumarin Thiazole Derivatives [J]. *Chem Reagents* (化学试剂), 2017, 39(1): 11-14.
- 30 Al-Amieri AA, *et al.* Antifungal activities of new coumarins [J]. *Molecules*, 2012, 17: 5713-5723.
- 31 Dixon RA, *et al.* Stress-induced phenylpropanoid metabolism [J]. *Plant Cell*, 1995, 7: 1085.
- 32 Simkovitch R, *et al.* Photoprotolytic processes of umbelliferone and proposed function in resistance to fungal infection [J]. *J Physical Chem B*, 2015, 119: 14683-14696.
- 33 Kai K, *et al.* Scopoletin is biosynthesized via ortho-hydroxylation of feruloyl CoA by a 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 2008, 55: 989-999.
- 34 El Modafar C, *et al.* Inoculation of *Platanus acerifolia* with *Ceratocystis fimbriata* f. sp. platani induces scopoletin and umbelliferone accumulation [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34: 1271-1276.
- 35 Rodríguez MX, *et al.* Production of antimicrobial compounds in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) roots during post-harvest physiological deterioration [C]//Cassava Biotechnology: Proceedings of the IV International scientific Meeting of the Cassava Biotechnology Network, 1998.
- 36 Garcia D, *et al.* Accumulation of scopoletin in *Hevea brasiliensis* infected by *Microcyclus ulei* (P. Henn.) V. ARX and evaluation of its fungitoxicity for three leaf pathogens of rubber tree [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1995, 47: 213-223.
- 37 Carpinella MC, *et al.* Antifungal synergistic effect of scopoletin, a hydroxycoumarin isolated from *Melia azedarach* L. fruits [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53: 2922-2927.
- 38 Yang L, *et al.* New insights into the antibacterial activity of Hydroxycoumarins against *Ralstonia solanacearum* [J]. *Molecules*, 2016, 21: 468.
- 39 Chappell J. The biochemistry and molecular biology of isoprenoid metabolism [J]. *Plant Physiology*, 1995, 107(1): 1.
- 40 Shi ZQ (石志琦), *et al.* Inhibition mechanism of Osthol to plant fungus pathogens [J]. *Chin J Pesticide Sci* (农药学报), 2004, 6(4): 28-32.
- 41 Wang CM (王春梅), *et al.* Study on control of powdery mildew of cucumber by Osthol [J]. *Jiangsu Agric Sci* (江苏农业科学), 2005(4): 57-58.
- 42 Shi ZQ (石志琦). Plant-derived pesticides, Osthol, certified by organic pesticides [J]. *Pesticide Market News* (农药市场信息), 2010, 8: 052.
- 43 Gangjee A, *et al.* Synthesis and Biological Evaluation of Non-classical 2, 4-Diamino-5-methylpyrido [2, 3-d] pyrimidines with Novel Side Chain Substituents as Potential Inhibitors of Dihydrofolate Reductases 1 [J]. *J Med Chem*, 1997, 40: 479-485.
- 44 Rauckman B *et al.* 2, 4-Diamino-5-benzylpyrimidines and analogs as antibacterial agents. 10. 2, 4-Diamino-5-(6-quinolylmethyl)-and-[(tetrahydro-6-quinolyl) methyl] pyrimidine derivatives. Further specificity studies [J]. *J Med Chem*, 1989, 32: 1927-1935.
- 45 Lee JH, *et al.* Coumarins reduce biofilm formation and the virulence of *Escherichia coli* O157: H7 [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21: 1037-1042.
- 46 Maxwell A. The interaction between coumarin drugs and DNA gyrase [J]. *Molecular Microbiology*, 1993, 9: 681-686.
- 47 Duggirala S *et al.* Phytochemicals as inhibitors of bacterial cell division protein FtsZ: coumarins are promising candidates [J]. *Applied Biochemistry Biotechnology*, 2014, 174: 283-296.
- 48 Snow Setzer M, *et al.* The search for herbal antibiotics: An in-silico investigation of antibacterial phytochemicals [J]. *Antibiotics*, 2016, 5(3): 30.
- 49 Sridevi D *et al.* Mutation at G103 of MtbFtsZ altered their sensitivity to coumarins [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8.