

梵净山土壤链霉菌 *Streptomyces* sp. FJS 31-2 生产的 III 型聚酮类化合物

钱声艳^{1,2}, 杨彩玲³, 陈荣祥⁴, 吴明松¹, 李彩玉¹, 付少彬³, 刘建国^{1*}

¹ 遵义医学院医学与生物学研究中心 贵州省普通高等学校口腔疾病研究特色重点实验室;

² 遵义医学院医学与生物学研究中心 贵州省普通高等学校微生物资源及药物开发特色重点实验室;

³ 遵义医学院药学院; ⁴ 遵义医学院医学与生物学研究中心 贵州省遵义市理化分析测试工程技术研究中心, 遵义 563000

摘要: 研究特殊生境梵净山土壤来源链霉菌 *Streptomyces* sp. FJS31-2 次级代谢产物, 为微生物药物开发提供结构复杂新颖物质来源, 也为其衍生物的合成提供先导物。通过薄层层析、反复正(反)相硅胶柱层析等技术对 *Streptomyces* sp. FJS31-2 次级代谢产物纯化分离; 利用质谱、核磁共振波谱技术进行结构鉴定。从 *Streptomyces* sp. FJS31-2 发酵产物分离得到 3 个化合物, 结合质谱、核磁共振波谱技术进行结构解析, 鉴定为 2-(2'-羟基丙基)-7-羟基色原酮(1)、Aloesone(2) 和 3,4-dihydro-3-(2-oxo-propyl)-3,6,8-trihydroxy-1(2H)-naphthalenone(3), 都为 III 型聚酮类化合物。化合物 1~3 是首次从放线菌家族中分离鉴定得到天然产物。

关键词: 链霉菌 *Streptomyces* sp. FJS31-2; 次级代谢产物; III 型聚酮

中图分类号: R914; Q93-3

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.7.011

III Type Polyketone Compounds Produced by *Streptomyces* sp. FJS 31-2 from the Soil of Fanjing Mountain

QIAN Sheng-yan^{1,2}, YANG Cai-ling³, CHEN Rong-xiang⁴, WU Ming-song¹, LI Caiyu¹, FU Shao-bin³, LIU Jian-guo^{1*}

¹ Special Key Laboratory of Oral Disease Research, Higher Education Institution in Guizhou Province, Zunyi Medical University;

² Guizhou Key Laboratory of Characteristic Microbial Research & Drug Development, Zunyi Medical University;

³ school of pharmacy, Zunyi Medical University;

⁴ Zunyi Engineering Technology Research Center of Physical and Chemical Analysis, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China

Abstract: The article aim to research on secondary metabolites of *Streptomyces* sp. FJS 31-2 from the soil of special habitat Fanjing mountain, not only provide complicated novel compounds for microbial drug but also provide primer for their derivatives synthesis. The secondary metabolites of *Streptomyces* sp. FJS 31-2 were isolated by means of thin-layer chromatography (TLC), repeated silica column chromatography and RP-silica column chromatography. Its structure was identified on the basis of their mass spectrometry (MS) and nuclear magnetic resonance (NMR) methods. Three III type polyketone compounds obtained from the strain *Streptomyces* sp. FJS 31-2 and identified as 2-(2'-S-hydroxypropyl)-7-hydroxychromone, Aloesone and 3,4-dihydro-3-(2-oxo-propyl)-3,6,8-trihydroxy-1(2H)-naphthalenone combining with MS and NMR. Those compounds were obtained for the first time from *Streptomyces* genus.

Key words: *Streptomyces* sp. FJS31-2; secondary metabolites; III type polyketones

链霉菌产的天然产物数量庞大、结构复杂新颖, 生物活性多样如具有抗菌^[1,4]、抗肿瘤^[5,6]、抗病毒^[7]、抗炎^[8]、抗氧化^[9]、细胞毒^[10]等活性, 长期以来一直在创新药物发展占据非常重要的战略地位。

近年随着高通量测序技术的飞速发展推动了微生物全基因组测序的全面开展, 生物信息学分析显示, 许多微生物基因组中含有多个次级代谢产物生物合成基因簇, 特别是许多放线菌基因簇与次级代谢产物相关^[11]。聚酮合成酶(polyketide synthase, PKS)是一类复杂的多酶体系, 多以脂酰 CoA 为底物, 通过重复的脱羧缩合过程产生线性聚酮化合物或环状的酮内酯, 其过程类似于脂肪酸合酶催化的脂肪酸生

收稿日期: 2018-03-06 接受日期: 2018-05-23

基金项目: 遵义医学院硕士启动基金(F-757); 遵义市科技局市校联合基金(E-215); 贵州省普通高等学校微生物资源与药物开发特色重点实验室开放课题(GZMRD-2015-001)

* 通信作者 Tel: 86-851-28643466; E-mail: 13087891001@163.com

物合成^[12]。PKS 分为 PKS I、PKS II、PKS III。聚酮类化合物 (polyketide, PK) 主要由细菌、真菌、放线菌或植物产生一大类结构复杂新颖、活性多样的天然产物,具有抗菌^[13,14]、抗肿瘤^[15]、杀虫^[16]等活性,并广泛应用于农业,医药领域,例如在医药领域广泛使用的红霉素,四环素,灰黄霉素,洛伐他丁、雷帕霉素、利福霉、阿维菌素、埃波霉素等。

课题组对贵州典型生境梵净山土壤来源的 1 株稀有链霉菌分离菌株 *Streptomyces* sp. FJS31-2 进行活性化合物分离,得到新型卤化 II 型聚酮类化合物 zunyimycin A 及其系列衍生物^[17,18]。为了继续研究 zunyimycin 系列化合物的其他生物活性及抗金黄色葡萄球菌的活性作用机制,对 *Streptomyces* sp. FJS31-2 进行菌株活化、扩大培养、发酵产物的分离纯化及结构鉴定,从链霉菌 *Streptomyces* sp. FJS31-2 中分离鉴定了三个由 III 型聚酮合成酶催化产生的聚酮类化合物,为进一步开发 III 型聚酮化合物及研究该菌株中 III 型聚酮合成酶奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

发酵菌株:链霉菌 *Streptomyces* sp. FJS31-2 (菌种保藏号:CGMCC4.7321) 从贵州梵净山海拔 800 ~ 1 000 m 的次生林地 10 ~ 20 cm 深的表层土壤中分离得到。

发酵培养基:GYM (glucose-yeast-malt) 固体培养基(葡萄糖 4 g, CaCO₃ 2 g, 麦芽抽提物 10 g, 酵母抽提物 4 g, 琼脂粉 15 g, 加去离子水定容 1 L), 培养基原料来自于碧迪(上海)生物公司。

硅胶:反相硅胶 RP-18 (Merck 公司, 德国); 薄层层析硅胶 GF₂₅₄ 板及柱层析 200 ~ 300 目硅胶(青岛谱科分离材料有限公司, 中国)。

普通化学试剂:甲醇、乙醇、氯仿、乙酸乙酯、丙酮等试剂、溶剂等均为分析纯(成都科龙化工试剂厂, 中国)。

1.2 仪器与设备

AVANCE III Bruker-600 MHz NMR 核磁共振波谱仪(Bruker 公司, 德国); Sepacore 中压制备液相色谱系统(步琦有限公司, 瑞士); HD-21-2 紫外检测仪(上海予腾生物科技有限公司, 中国); R-210 旋转蒸发仪(步琦有限公司, 瑞士); BSP-400 培养箱(上海博讯医疗生物仪器股份有限公司, 中国); E002092 超级洁净工作台(苏州市金净净化设备科

技有限公司, 中国); JA2003 电子天平(上海越平科学仪器有限公司, 中国); ZF-1 三用紫外分析仪(杭州齐威仪器有限公司, 中国); DZ-900 英培摇床(太仓市实验设备厂, 中国); Master-E 超纯水机(上海和泰仪器有限公司, 中国)。

1.3 方法

1.3.1 菌株 *Streptomyces* sp. FJS31-2 活化与发酵

配制 75 L 固体 GYM 培养基, 按每瓶 150 mL 分装至 500 mL 的三角瓶中灭菌, 室温静置挥发干表面水分, 备用。以无菌接种环挖取 1 环斜面保存的菌株 *Streptomyces* sp. FJS31-2 的孢子, 划线接种于直径 11 cm 的 GYM 培养基平板, 28 °C 静置培养 3 天以活化目的菌株。

将活化菌株 *Streptomyces* sp. FJS31-2 接种至 20 块直径 11 cm 的 GYM 固体培养基, 28 °C 静置培养 5 天以获得目的菌株的种子菌。

无菌接种环刮取 2 环培养的孢子茂密的种子菌的孢子, 均匀涂布于三角瓶的 GYM 固体培养基表面, 28 °C 静置培养 8 天, 捣碎固体培养基, 搅拌均匀, 继续培养 7 天。

1.3.2 菌株发酵产物萃取

取固体发酵产物(含固体培养基), 加入培养基等体积(即 150 mL) 乙酸乙酯, 置于落地摇床于室温, 110 rpm 萃取 12 h, 共萃取 3 次。收集萃取液, 置于旋转蒸发仪中, 减压浓缩回收萃取液, 得到粗提浸膏 38 g。

1.3.3 目标代谢产物分离纯化

8% 硫酸乙醇溶液显色: 将硅胶板置于 8% 硫酸乙醇溶液中, 迅速取出后用吹风机热风吹数分钟, 使其缓慢显色。

装柱及拌样: 将获得发酵产物浸膏与硅胶按照质量比 1:1.5 的比例均匀拌样(即共获得粗提浸膏 38 g, 加入 60 g 的硅胶), 待溶剂挥发后作为装柱样品备用。称取 25 倍样品的硅胶粉, 与洗脱剂混合, 不断搅拌以除去空气泡, 缓慢倾入玻璃层析柱中。加入洗脱剂, 将附着于管壁的硅胶粉洗下, 打开阀门, 使洗脱剂从层析柱内自然流出, 平衡 2 ~ 3 次至硅胶面不再下降, 待液面流至柱面上方 5 cm 左右时, 沿着玻璃层析柱管壁缓缓加入样品, 注意勿使硅胶面翻起, 使液面始终保持平整。

薄层层析(Thin-layer-chromatography, TLC): 样品用合适的溶剂溶解后, 将含有样品溶液的毛细管点到 GF₂₅₄ 薄层板上, 样品点距硅胶板底端 5 mm 左

右。待溶剂挥发完全后,将硅胶板放入被展开剂饱和的合适层析缸中,采用上行方式展开。当展开剂上行到距硅胶板顶端 5 mm 左右时,取出硅胶板,用吹风机吹干溶剂后,先后用紫外灯显色及 8% 硫酸乙醇溶液显色。

洗脱:采取氯仿丙酮洗脱系统(纯氯仿、30:1、15:1、8:1、4:1、2:1),每个三角瓶收集 250 mL 洗脱溶剂,用旋转蒸发仪在 40 °C 减压浓缩回收洗脱溶剂后,用少量丙酮溶剂溶解转移到 20 mL 西林瓶中,TLC 点板,分别在波长为 254 nm 及 360 nm 紫外灯下观察是否有荧光,随后用 8% H₂SO₄ 乙醇加热显色,合并相同的迁移值,得到 8 个组分(F1→F8)。

F3(7.01 g)采用正相硅胶柱色谱,按上述方法装柱及拌样,用石油醚:乙酸乙酯洗脱溶剂系统(8:1、6:1、4:1、2:1、乙酸乙酯)梯度洗脱,每三角瓶收集 100 mL 洗脱溶剂,用旋转蒸发仪在 40 °C 减压浓缩回收洗脱溶剂后,用少量丙酮溶剂溶解转移到 20 mL 西林瓶中,TLC 点板,分别在波长为 254 nm 及 360 nm 紫外灯下观察是否有荧光,随后用 8% H₂SO₄ 乙醇加热显色,合并相同的迁移值,得到 5 个组分(F3-1→F3-5)。

F3-3(2.48 g)反相中压柱色谱,流速 20 mL/min,最大柱压为 40 bar,30%~80% 甲醇水梯度洗脱,每管收集 250 mL 洗脱液后,用旋转蒸发仪在 53 °C 减压浓缩回收洗脱溶剂后,用少量丙酮溶剂溶解转移到 20 mL 西林瓶中,TLC 点板,分别在波长为 254 nm 及 360 nm 紫外灯下观察是否有荧光,随后用 8% H₂SO₄ 乙醇加热显色,合并相同的迁移值,得到 F3-3-1→F3-3-7。

F3-3-2(171 mg),甲醇加少量水反复重结晶得到化合物 1,量为 14.5 mg。

F3-3-4(79 mg),甲醇加少量水结晶得到化合物 2,量为 25.5 mg。

F3-3-6(61 mg),采用正相硅胶柱色谱,利用上述方法装柱及拌样,用石油醚:乙酸乙酯=4:1 等度洗脱,用 20 mL 西林瓶收集洗脱液,TLC 点板,用展开剂展开,分别在波长为 254 nm 及 360 nm 紫外灯下观察是否有荧光,随后用 8% H₂SO₄ 乙醇加热显色,合并相同的迁移值,得到化合物 3,量为 7.2 mg。

1.3.4 代谢产物结构鉴定

核磁共振谱(nuclear magnetic resonance):称取化合物 A 8 mg,氘代丙酮溶剂溶解转移到核磁管(最好不要超过核磁管 1.5 cm),放到核磁共振仪中

进行测试(在此过程中先开电源,使核磁管悬浮在均匀磁场中)。测试包括:¹H NMR、¹³C NMR 和 DEPT。

采用电喷雾质谱(electrospray ionization mass spectrometry,ESI-MS)测定:样品加热气化,进入离子化室,随后电离,得到化合物的分子离子峰及其他离子碎片峰。

1.3.5 抗菌活性筛选

1.1.1.1 测试菌株

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、布氏杆菌(*Bacterium burgeri*)、变形杆菌(*Proteus vulgaris*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)以及产超广谱 β-内酰胺酶大肠杆菌(*Escherichia coli* produced extended spectrum beta-lactamases)。

1.1.1.2 培养基

MH(A)培养基(北京索莱宝公司,中国)。

1.1.1.3 测试菌株纯化

用接种环分别挑取枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、布氏杆菌(*Bacterium burgeri*)、变形杆菌(*Proteus vulgaris*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)以及产超广谱 β-内酰胺酶大肠杆菌(*Escherichia coli* produced extended spectrum beta-lactamases),划线接种至 MH(A)培养基,36 °C、5% CO₂ 培养 12 h。

1.1.1.4 测试菌株菌悬液制备

纯化好的测试菌用一次性拭子(已灭菌)沾取单菌落,置于含 5 mL 生理盐水的玻璃试管中,润湿拭子头部轻轻在管壁上涂抹均匀,直至菌悬液比浊度 0.44~0.56 MCF。

1.1.1.5 化合物溶液制备

称取化合物 1、2 及 3 各 3 mg 溶解于 1 mL DMSO 溶液中备用。

1.1.1.6 琼脂扩散法测定抗菌活性

分别将制作好的菌悬液测试菌交叉再均匀划线涂抹在 MH(A)培养基上,待平板干后,用打孔器(已灭菌)打出直径 8 mm 的孔,每个孔中心距离 >24 mm,每个平板 3 个孔,在每个孔中分别加入 100 μL 的待测化合物,每个平板用 DMSO 作为阴性对照,做好标记倒置于微生物培养箱 37 °C 培养 24 h 后,测量抑菌圈直径。

2 结果

2.1 结构鉴定

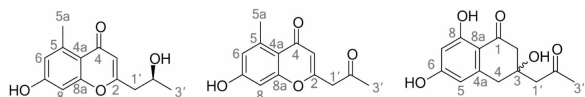


图 1 化合物 1~3 化学结构

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1-3

化合物 **1** 为白色粉末,易溶于丙酮、氯仿、二甲亚砜等有机溶剂。HR-ESIMS 给出分子式 $C_{13}H_{14}O_4$ (m/z 233. 0815 $[M-H]^-$, m/z 235. 0961 $[M+H]^+$), 有 7 个不饱和度。在 1H NMR (600 MHz, Acetone- d_6) 中, δ_H 9. 41 (1H, br s, 7-OH) 推断出该化合物具有连在苯环上的羟基基团, 此外 δ_H 6. 69 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8) 和 6. 67 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 根据化学位移及耦合常数也证明该化合物含有 1, 2, 3, 5 位四取代的苯环; 最后 δ_H 2. 71 (3H, s, H-5a) 及 1. 26 (3H, d, $J=6.2$ Hz, H-3') 证明该化合物含有两个甲基, 从化学位移及耦合常数推断出 δ_H 2. 71 (3H, s, H-5a) 该甲基连接在苯环上, 另一个甲

基信号 1. 26 (3H, d, $J=6.2$ Hz, H-3') 连接在三级碳原子上, 详见附图 2。

从 ^{13}C NMR (151 MHz, Acetone- d_6) 和 DEPT 可以看出, 化学位移 δ_C 179. 4 说明该化合物含有一个羰基基团; 碳原子化学位移 δ_C 161. 6 (s, C-7), 160. 7 (s, C-8a), 143. 2 (s, C-5), 117. 2 (d, C-6), 116. 3 (s, C-4a), 101. 7 (d, C-8) 结合氢原子化学位移及羟基化学位移也证明该化合物含有四取代苯环; 碳原子化学位移 δ_C 165. 6 (s, C-2), 112. 8 (d, C-3) 结合 1H NMR (600 MHz, Acetone- d_6) 中 δ_H 5. 98 (1H, s, H-3) 该化合物除了苯环还含有一个双键, 并且根据化学位移可以推断出该双键与杂原子相连, 以上的推出的结论及结合分子式和不饱和度, 证明该化合物具有色原酮的结构母核; 最后结合氢核磁共振谱图, 碳信号 44. 3 (t, C-1') 及 2. 60-2. 68 (2H, m, H-1'), 65. 7 (d, C-2') 及 4. 21 (1H, m, H-2') 推出化合物还具有一个亚甲基及次甲基。最终结合分子式、不饱和度、 1H NMR、 ^{13}C NMR, 对比 DNP 数据库及 SciFinder Scholor 数据库, 与文献^[19] 对照数据一致, 故确定化合物为 2-(2'S-羟基丙基)-7-羟基色原酮。

表 1 化合物 1 和化合物 2 在氘代丙酮溶剂中核磁共振碳和氢谱数据 (ppm)
Table 1 1H and ^{13}C NMR (Acetone- d_6 151 and 600 MHz) of compounds 1 and 2 (ppm)

| 化合物 1 Compound 1 | | | 化合物 2 Compound 2 | |
|---------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|
| 编号 | δ_C | δ_H | δ_C | δ_H |
| 2 | 165. 6, C | | 161. 4, C | |
| 3 | 112. 8, CH | 5. 98, s, 1H | 114. 0, CH | 6. 04, s, 1H |
| 4 | 179. 4, C | | 179. 3, C | |
| 4a | 116. 3, C | | 116. 2, C | |
| 5 | 143. 2, C | | 143. 3, C | |
| 5a | 22. 9, CH ₃ | 2. 71, s, 3H | 22. 9, CH ₃ | 2. 72, s, 3H |
| 6 | 117. 2, CH | 6. 67, d, $J=2.1$ Hz, 1H | 117. 4, CH | 6. 67, d, $J=2.3$ Hz, 1H |
| 7 | 161. 6, C | | 161. 8, C | |
| 8 | 101. 7, CH | 6. 69, d, $J=2.1$ Hz, 1H | 101. 6, CH | 6. 69, d, $J=2.3$ Hz, 1H |
| 8a | 160. 7, CH | | 160. 7, C, | |
| 1' | 44. 3, CH ₂ | 2. 60-2. 68, m, 2H | 48. 5, CH ₂ | 3. 82, s, 2H |
| 2' | 65. 7, CH | 4. 21, m, 1H | 202. 3, C | |
| 3' | 23. 9, CH ₃ | 1. 26, d, $J=6.2$ Hz, 3H | 28. 9, CH ₃ | 2. 27, s, 3H |
| 7-OH | | 9. 41, br s, 1H | | 9. 47, br s, 1H |

化合物 **2** 白色粉末; 易溶于丙酮、甲醇、二甲亚砜等有机溶剂。在 1H NMR (600 MHz, Acetone- d_6)

中, 该化合物具有羟基基团 [δ_H 9. 47 (1H, br s, 7-OH)], 两个甲基基团 [δ_H 2. 72 (3H, s, H-5a); 2. 27

(3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-3')], 苯环上间位取代的氢质子信号 [δ_{H} 6.69 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8); 6.67 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-6)] 及一个氢质子信号 [6.04 (1H, s, H-3)]。 ^{13}C NMR (151 MHz, Acetone- d_6) 和 DEPT 可以看出, 化合物 2 由 13 个碳原子组成, 2 个伯碳原子 [22.9 (q, C-5a), 28.9 (q, C-3')], 1 个仲碳原子 [48.5 (t, C-1')], 3 个叔碳原子 [101.6 (d, C-8), 114.0 (d, C-3), 117.4 (d, C-6)] 及 7 个季碳原子 [202.3 (s, C-2'), 179.3 (s, C-4), 161.8 (s, C-7), 161.4 (s, C-2), 160.7 (s, C-8a), 143.3 (s, C-5), 116.2 (s, C-4a)], 通过仔细对比化合物 1 和化合物 2 的 1D-NMR 核磁共振谱发现两个化合物的化学位移及耦合常数非常相似, 其唯一差异是化合物 1 的 C-2' 的羟基氧化成羰基基团 [δ_{C} 202.3 (s, C-2')], 通过查阅 DNP 数据库及 SciFinder Scholar 数据库, 并与文献^[19] 对照数据一致, 故确定化合物 2 为 Aloesone。

表 2 化合物 3 在氘代丙酮溶剂中核磁共振碳和氢谱数据 (ppm)

Table 2 ^1H and ^{13}C NMR (Acetone- d_6 151 and 600 MHz) of compound 3 (ppm)

| 编号 No. | δ_{C} | δ_{H} |
|--------|-----------------------|--|
| 1 | 202.0, C | |
| 2 | 50.2, CH ₂ | 2.95, d, $J = 17.0$ Hz, 1H 2.69, dd, $J = 17.0, 2.0$ Hz, 1H |
| 3 | 72.3, C | |
| 4 | 42.0, CH ₂ | 3.13, d, $J = 16.3$ Hz, 1H 2.95, dd, $J = 16.3, 1.4$ Hz, 1H |
| 4a | 145.9, C | |
| 5 | 109.0, CH | 6.24, br s, 1H |
| 6 | 165.5, C | |
| 7 | 101.3, CH | 6.15, d, $J = 1.9$ Hz, 1H |
| 8 | 166.1, C | |
| 8a | 111.4, C | |
| 1' | 53.1, CH ₂ | 2.85-2.90, m, 2H |
| 2' | 209.1, C | |
| 3' | 32.1, CH ₃ | 2.19, s, 3H |
| 6-OH | | 9.52, s, 1H |
| 8-OH | | 12.70, s, 1H |

化合物 3 棕色胶状; 溶于丙酮、甲醇、二甲亚砜等有机溶剂。从 ^1H NMR (600 MHz, Acetone- d_6) 可以知道, δ_{H} 12.70 (1H, s, 8-OH) 和 9.52 (1H, s, 6-OH) 推断出该化合物具有两个羟基, 且 δ_{H} 12.70 (1H, s, 8-OH) 的羟基与羰基相邻; δ_{H} 6.24 (1H, br

s, H-5) 和 6.15 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-7) 表明化合物 3 含有苯环结构片段, 且苯环上氢原子根据耦合常数可以进一步知道这两个氢原子位于间位; δ_{H} 2.19 (3H, s, H-3') 含有 1 个甲基。从 ^{13}C NMR (151 MHz, Acetone- d_6) 和 DEPT 可以看出, 碳原子化学位移 [δ_{C} 166.1 (s, C-8), 165.5 (s, C-6), 145.9 (s, C-4a), 111.1 (s, C-4a), 109.0 (d, C-5), 101.3 (d, C-7)], 结合苯环上的氢原子化学位移和耦合常数 [δ_{H} 6.24 (1H, br s, H-5), 6.15 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-7)] 以及羟基 [δ_{H} 12.70 (1H, s, 8-OH), 9.52 (1H, s, 6-OH)], 可以推出该化合物含有 1 个苯环结构; 除了含有苯环外, 化合物 3 还含有 2 个羰基 [δ_{C} 209.1 (s, C-2'), 202.0 (s, C-1)], 3 个亚甲基 [52.2 (t, C-1'), 49.3 (t, C-2), 41.2 (t, C-4)], 一个季碳原子 [72.3 (s, C-3)], 1 个甲基 [31.2 (q, C-3')]. 通过与化合物 1 比较, 仔细对比 1D NMR 和 DEPT 谱, 可以得出可能化合物 3 的分子式 $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_5$, 通过 SciFinder 数据库查询, 并与文献^[20] 对照一致, 故确定化合物为 3,4-dihydro-3-(2-oxo-propyl)-3,6,8-trihydroxy-1(2H)-naphthalenone。

化合物 1~3 结构式详见图 1, 其数据归属详见

表 2。

2.2 抗菌活性结果

采用琼脂扩散法测定抗菌活性, 以枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、布氏杆菌 (*Bacterium burgeri*)、变形杆菌 (*Proteus vulgaris*)、表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)、白色念珠菌 (*Candida albicans*) 以及产超广谱 β -内酰胺酶大肠杆菌 (*Escherichia coli* produced extended spectrum beta-lactamases) 为测试菌, 结果表明化合物 1~3 对测试菌株均无抗菌活性。

3 结论

从特殊生境来源的贵州梵净山土壤来源链霉菌 *Streptomyces* sp. FJS31-2 次级代谢产物中分离鉴定了 3 个化合物。文献报道化合物 1~3 主要来源真菌次级代谢产物中, 化合物 1 具有抗氧化作用^[21] 其 IC_{50} 值为 27.1 μM , 而化合物 2 主要来源内生真菌, 具有抑制蘑菇酪氨酸酶作用^[22] 其 IC_{50} 值为 0.75 mM, 化合物 1~3 首次从放线菌家族中分离鉴定 III 型聚酮类化合物, 证明该菌株基因组除了含有 II 型聚酮合成酶外, 还含有 III 型聚酮合成酶, 为下一步研究该菌株 III 型聚酮合成酶奠定基础。

参考文献

- 1 Khalil ZG, Raju R, Piggott AM, *et al.* Aranciamycins I and J, Antimycobacterial anthracyclines from an Australian marine-derived *Streptomyces* sp. [J]. *J Nat Prod*, 2015, 78: 949-952.
- 2 Bae M, Kim H, Moon K, *et al.* Mohangamides A and B, new dilactone-tethered pseudo-dimeric peptides inhibiting *Candida albicans* isocitrate lyase [J]. *Org Lett*, 2015, 17: 712-715.
- 3 Lacret R, Ovescostales D, Gómez C, *et al.* New ikarugamycin derivatives with antifungal and antibacterial properties from *Streptomyces zhaozhouensis* [J]. *Mar Drugs*, 2014, 13: 128-140.
- 4 Song XQ(宋现芹), Jiang X(蒋鑫), Sun JB(孙建彬), *et al.* Antibacterial secondary metabolites produced by mangrove-derived actinomycete *Streptomyces costaricanus* SCSIO ZS0073 [J]. *Nat Prod Res* (天然产物研究与开发), 2017, 29: 410-414.
- 5 Zhang X(张欣), Yang HJ(杨煌建), Zhou J(周剑), *et al.* Isolation, purification and structural identification of component with antitumor activity produced by *Streptomyces* strain BAF-0711 [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2017, 28: 696-698.
- 6 Jing W, Wu XP, Song XM, *et al.* F-01A, an antibiotic, inhibits lung cancer cells proliferation [J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12: 284-289.
- 7 Liu LF, Qi H, Zhang H, *et al.* A new sarkomycin analog from *Streptomyces* sp. HS-HY-144 [J]. *J Antibiot*, 2015, 68: 760-762.
- 8 Hassan HM, Boonlarpradab C, Fenical W. Actinoquinolines A and B, anti-inflammatory quinoline alkaloids from a marine-derived *Streptomyces* sp. strain CNP975 [J]. *J Antibiot*, 2016, 69: 511-514.
- 9 Matsumoto K, Sera Y, Abe Y, *et al.* Antimicrobial and antioxidant activities of a new benzamide from endophytic *Streptomyces* sp. YIM 67086 [J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29: 331-335.
- 10 Fu P, Johnson M, Chen H, *et al.* Carpatamides A-C, cytotoxic arylamine derivatives from a marine-derived *Streptomyces* sp [J]. *J Nat Prod*, 2014, 77: 1245-1248.
- 11 Feng JF(冯健飞), Zhou RC(周日成), Guo XT(郭兴庭), *et al.* Polyketide and its application [J]. *Mod Agric Sci Technol*, 2011, 3: 24-26.
- 12 Yang KR(杨凯睿), Gao XD(高向东), Gu JF(顾觉奋). Advances in application research of polyketide synthases [J]. *World Note Antibiot* (国外医药: 抗生素分册), 2012, 33: 99-103.
- 13 Ortega HE, Shen YY, Karen TD, *et al.* Polyhydroxylated macrolide isolated from the endophytic fungus *Pestalotiopsis mangiferae* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2014, 55: 2642-2645.
- 14 Huang HB, Wang FZ, Luo MH, *et al.* Halogenated anthraquinones from the marine-derived fungus *Aspergillus* sp. SC-SIO F063 [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75: 1346-1352.
- 15 Lin XL(李新兰), Xu Y(徐颖), Pan DR(潘冬瑞), *et al.* Five Anticancer Anthraquinone Derivates from Mangrove Endophytic Fungus *Paecilomyces* sp. (tree1-7) [J]. *J China Three Gorges Univ: Nat Sci* (三峡大学学报: 自科版), 2010, 32: 101-105.
- 16 Xing Q(邢倩), Yang KL(杨凯琳), Wang Y(王毓), *et al.* Study on anthraquinone derivatives isolated from a marine-derived fungus *Nigrospora* sp. and their biological activities [J]. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物), 2014, 33: 8-14.
- 17 Lv YH, Yue CW, Shao MY, *et al.* Molecular genetic characterization of an anthrabenzoquinone gene cluster in *Streptomyces* sp. FJS31-2 for the biosynthesis of BE-24566B and Zunyimycin A [J]. *Molecules*, 2016, 21: 711-719.
- 18 Lv YH, Shao MY, Wang YY, *et al.* Zunyimycins B and C, New chloroanthrabenzoquinone antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Enterococci* from *Streptomyces* sp. FJS31-2 [J]. *Molecules*, 2017, 22: 251-259.
- 19 Khamthong N, Rukachaisirikul V, Tadpetch K, *et al.* Tetrahydroanthraquinone and xanthone derivatives from the marine-derived fungus *Trichoderma aureoviride* PSU-F95 [J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35: 461-468.
- 20 Isaka M, Yangchum A, Rachtawee P, *et al.* Dihydronaphthalenones from the endophytic fungus *Botryosphaeria*, sp. BCC 8200 [J]. *Phytochem Lett*, 2009, 2: 207-210.
- 21 Hu L, Chen NN, Hu Q, *et al.* An unusual piceatannol dimer from *Rheum australe* D. Don with antioxidant activity [J]. *Molecules*, 2014, 19: 11453-11464.
- 22 Piao LZ, Park HR, Park YK, *et al.* Mushroom tyrosinase inhibition activity of some chromones [J]. *Chem Pharm Bull*, 2010, 33: 134-134.