

# 春砂仁内生真菌 *Letendraea helminthicola* A696 的次级代谢产物研究

张捷<sup>1,2</sup>, 刘洪新<sup>2</sup>, 刘昭明<sup>2</sup>, 李赛妮<sup>2</sup>, 陈玉婵<sup>2</sup>, 章卫民<sup>2\*</sup>, 郭波红<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>广东药科大学药学院, 广州 510006; <sup>2</sup>广东省科学院微生物研究所 省部共建华南应用微生物国家重点实验室  
广东省菌种保藏与应用重点实验室 广东省微生物应用新技术公共实验室, 广州 510070

**摘要:** 研究春砂仁内生真菌 *Letendraea helminthicola* A696 的次级代谢产物, 采用硅胶柱色谱、ODS 反相柱色谱、凝胶柱色谱及高效液相色谱等方法从该菌株的发酵液中分离得到 8 个化合物, 通过理化性质及谱学数据分析, 分别鉴定为 11-hydroxyl tricinoic acid (**1**)、3-(3,5-二叔丁基-4-羟基苯基) 丙酸甲酯 (**2**)、gibepyrone F (**3**)、gibepyrone D (**4**)、对羟基苯甲醛 (**5**)、对甲氧基苯乙酸 (**6**)、间羟基苯乙酸 (**7**)、麦角甾醇 (**8**), 其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **2**~**8** 均为首次从 *Letendraea* 属真菌中分离得到。选取化合物 **1**~**5** 进行了抗菌和抗肿瘤活性试验, 结果表明化合物 **1**~**5** 在 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度下均无抗菌和抗肿瘤活性。

**关键词:** 内生真菌; 春砂仁; *Letendraea helminthicola*; 次级代谢产物

中图分类号: R914.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)5-0773-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.5.008

## Secondary metabolites of endophytic fungus *Letendraea helminthicola* derived from *Amomum villosum*

ZHANG Jie<sup>1,2</sup>, LIU Hong-xin<sup>2</sup>, LIU Zhao-ming<sup>2</sup>,  
LI Sai-ni<sup>2</sup>, CHEN Yu-chan<sup>2</sup>, ZHANG Wei-min<sup>2\*</sup>, GUO Bo-hong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

<sup>2</sup>State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Guangdong Provincial Key  
Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Open Laboratory of Applied  
Microbiology, Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510070, China

**Abstract:** To study the secondary metabolites of endophytic fungus *Letendraea helminthicola* derived from *Amomum villosum*, eight compounds were isolated and purified from the culture of the fermentation by the silica gel, reverse phase gel silica, Sephadex LH-20 and high performance liquid chromatography (HPLC), their structures were identified by physical and chemical properties and spectroscopic data. Eight compounds including one new sesquiterpene 11-hydroxyl tricinoic acid (**1**) and seven known compounds were isolated and identified as methyl 3-(3,5-di-ter-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate (**2**), gibepyrone F (**3**), gibepyrone D (**4**), p-hydroxybenzaldehyde (**5**), p-methoxyphenylacetic acid (**6**), m-hydroxyphenylacetic acid (**7**), ergosterol (**8**). Compounds **2-8** were first isolated from the genus *Letendraea*. Compounds **1-5** were evaluated for their cytotoxic activities against human tumor cell lines by the SRB assay and their antibacterial activities against bacteria were evaluated by microdilution method. However, all the measurement compounds showed no antimicrobial and anticancer activities even at the concentration at 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

**Key words:** endophytic fungus; *Amomum villosum*; *Letendraea helminthicola*; secondary metabolities

中药砂仁属于姜科 (Zingiberaceae) 植物成熟的

果实, 广泛分布于中国南方地区, 老挝、越南、柬埔寨、泰国。以广东省阳春市所产的阳春砂仁最为有名, 春砂仁具有化湿和胃, 理气安胎等功效<sup>[1-3]</sup>。寄生于春砂仁根部内生真菌也成为发现结构新颖及活性显著的研究对象, 植物内生真菌是寄居在植物组

收稿日期: 2020-09-28

接受日期: 2021-01-12

基金项目: 国家自然科学基金 (31699271); 广东省科技计划 (2107A020211023)

\* 通信作者 Tel: 86-013600499900; E-mail: wmzhang@gdum.cn

织与植物共生的真菌种类<sup>[4]</sup>,植物内生真菌具有丰富的物种多样性,能产生结构新颖复杂、活性多样的次生代谢产物,因此已成为发现新天然活性物质的重要资源<sup>[5]</sup>。真菌 *Letendreaea helminthicola* 属于稀缺的种属<sup>[6]</sup>,有研究报道<sup>[7,8]</sup>表明与海绵相关的该种属真菌产生了两个具有污水防治作用的化合物 3-methyl-N-(2-phenylethyl) butanamide 和 cyclo-(D-Pro-D-Phe);Huang 等<sup>[9]</sup>报道了从海蟹肠道真菌 *Letendreaea* sp. 分离到两个新的含有苯二氢比喃环和四氢咪喃环骨架的螺环聚酮立体异构体 letenketals A 和 B,经过抗菌和抗肿瘤活性测试显示几乎没有抗菌活性,在 40  $\mu\text{M}$  时有较弱的抗肿瘤作用;Xu 等<sup>[10]</sup>从海洋来源的真菌 *Letendreaea* sp. 5XNZ4-2 中分离得到七个新的聚酮类化合物,分别是 phomopsiketones D~G 和 letendronols A~C,其中 phomopsiketone E 显示较弱的抑制脂多糖活化巨噬细胞中一氧化氮的产生的活性。本课题组以从春砂仁中分离得到的一株内生真菌 *Letendreaea helminthicola* A696 为研究对象,对其化学成分及抗肿瘤和抗菌活性进行研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验仪器

核磁共振波谱仪(AVANCE III型 400 MHz 或 AVANCE III型 600 MHz,瑞士 Bruker 公司);液质联用仪(12900-6430A 三重四级杆型,美国 Agilent Technologies 公司);高效液相色谱仪(LC 3000 制备型,北京创新通恒科技有限公司);高效液相色谱仪(LC-20A 半制备型,日本岛津公司);YMC-pack ODS-AQ 制备柱(250 mm  $\times$  20 mm, 5  $\mu\text{m}$ );YMC-pack ODS-AQ 半制备柱(250 mm  $\times$  10 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) (日本 YMC 公司);旋转蒸发器(OSB-2100 型,日本东京理化器械株式会社);大容量普通摇床(PZ1000B 旋转式,武汉瑞华仪器设备有限公司);Sephadex LH-20 (18~110  $\mu\text{m}$ , 瑞典 Amersham Bioscience 公司);C<sub>18</sub>反相硅胶(40~75  $\mu\text{m}$ , 日本富士硅化学株式会社);柱色谱硅胶(100~200、200~300 目, 山东青岛海洋化工厂);薄层层析硅胶板(GF<sub>254</sub>, 德国 Merck 公司);石油醚、乙酸乙酯、正己烷、二氯甲烷、甲醇(分析纯,广州化学试剂厂);甲醇、乙腈、正己烷、异丙醇(色谱纯,美国 BCR 公司)。

### 1.2 实验材料

春砂仁内生真菌 A696 于 2016 年 4 月自广东省阳春市马水镇采集的春砂仁根分离得到,春砂仁由

广东药科大学严寒静教授鉴定为 *Amomum villosum*。将分离得到的菌株通过液氮冻融法提取菌株的基因组 DNA,采用引物 ITS1 和 ITS4 扩增其 rDNA ITS 区,并对产物进行测序,测序结果提交 GenBank,登录号为 KU529827,通过 BLAST(核苷酸序列比对程序)进行序列比对,结果显示该菌株与 *Letendreaea helminthicola* B1A0062SNA2CC1081 (GenBank 号: KP263123)的序列相似度为 100%,因此该菌株被鉴定为 *Letendreaea helminthicola*,菌株保藏于广东省科学院微生物研究所。

## 1.3 发酵培养

### 1.3.1 培养基

发酵培养基为马铃薯葡萄糖液体培养基(PDB):马铃薯 200 g/L、葡萄糖 2%、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.3%、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.15%、VitB<sub>1</sub> 10 mg/L、海盐 0.3%。

### 1.3.2 发酵条件

在无菌条件下,将活化后的菌株接种至装有 250 mL 马铃薯葡萄糖培养基的 500 mL 三角瓶中,在 28  $^{\circ}\text{C}$ 、120 rpm 条件下振荡培养 5 天,获得种子液。将适量种子液转接到装有 1.5 L 马铃薯葡萄糖培养液的 3 L 三角瓶中,在相同条件下培养 20 天,共发酵 55 L。

## 1.4 分离纯化

将 A696 菌株发酵液经多层纱布过滤,分别得到滤液和菌丝体。用等体积的乙酸乙酯萃取滤液 3 次,再减压回收溶剂后得浸膏 7.5 g。浸膏经硅胶柱层析(100~200 目),以石油醚-乙酸乙酯,体积比 1:0 $\rightarrow$ 1:3 梯度洗脱,并用薄层色谱(TLC)检测,合并相似组分,得到 7 个粗组分 Fr. 1~7。Fr. 1 经正相硅胶柱层析(正己烷-乙酸乙酯,体积比 20:1 $\rightarrow$ 5:1)得到 Fr. 1.2, Fr. 1.2 通过 Ace 5 C<sub>18</sub> PFP 半制备柱(乙腈-水,体积比 7:1, 2.0 mL/min)到化合物 2(2.2 mg)。Fr. 3 经硅胶柱层析(正己烷-乙酸乙酯,10:1 $\rightarrow$ 3:1)得到 Fr. 3.1, Fr. 3.1 通过 Ace 5 C<sub>18</sub> PFP 半制备柱(乙腈-水,体积比 60:40, 2.0 mL/min)得到化合物 3(1.2 mg)。Fr. 5 组分通过硅胶柱正相柱层析(正己烷-乙酸乙酯,体积比 10:1 $\rightarrow$ 1:1)得到 Fr. 5.1、Fr. 5.2 和 Fr. 5.3。Fr. 5.1 通过 Sephadex LH-20 纯化得到化合物 8(3.5 mg);Fr. 5.2 通过半制备柱(正己烷/异丙醇,体积比 5:1, 2.0 mL/min)得到化合物 6(2.4 mg);Fr. 5.3 通过 C<sub>18</sub> 半制备柱(甲醇-水,体积比 45:55, 2.0 mL/min)分别得到化合物 5

(1.8 mg), 化合物 **4** (1.2 mg), 化合物 **7** (1.5 mg)。Fr. 7 经正相硅胶柱层析(正己烷-乙酸乙酯, 体积比 5:1→1:3) 得到 Fr. 7. 2; Fr. 7. 2 通过 Schiral A 半制备柱(正己烷-异丙醇, 体积比 5:1, 2.0 mL/min) 得

到 Fr. 7. 2. 1。Fr. 7. 2. 1 经 Sephadex LH-20 柱纯化后得到化合物 **1** (3.1 mg)。

## 2 实验结果

### 2.1 结构鉴定

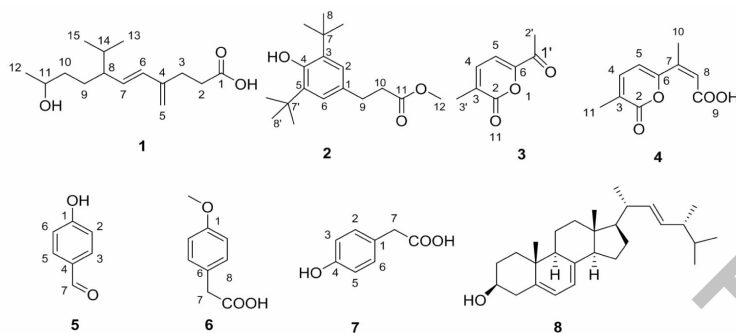


图 1 化合物 **1**~**8** 的结构式

Fig. 1 Structures of compounds **1**-**8**

**化合物 1** 白色固体粉末; mp. 121 ~ 122 °C;  $[\alpha]_D^{25} + 15.4$  ( $c$  0.5, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 230 (3.918) nm; IR (KBr)  $\nu_{\max}$  3 398, 2 958, 2 927, 1 712, 970, 887, 667  $\text{cm}^{-1}$ ; HRESI-MS;  $m/z$  255. 196  $1 [M + H]^+$ , 结合其  $^1\text{H}$  NMR 谱和  $^{13}\text{C}$  NMR 谱可推断出其分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_3$ , 不饱和度为 3; IR 光谱显示 3 398 和 1 712  $\text{cm}^{-1}$  的吸收谱带, 显示结构中存在羟基和羧基官能团。根据化合物 **1** 的  $^1\text{H}$  NMR 谱可知该分子中含有三个甲基, 四个亚甲基, 三个次甲基(含一个连氧质子), 四个双键质子; 化合物 **1** 的  $^{13}\text{C}$  NMR 谱显示 15 个碳信号, 包括羧基碳  $\delta_c$  175.5 (C-1), 两个双键碳  $\delta_c$  144.6 (C-4)、132.3 (C-6)、132.2 (C-7)、112.7 (C-5), 一个羰基及两个双键信号的存在正好符合分子中存在三个不饱和度, 因而分子结构中不存在其他的环系。化合物 **1** 的  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 谱(见图 2)表明结构中存在四个连续的片段 H-2/H-3/H-5、H-6/H-7/H-8、H-11/H-12 和 H-13/H-14。基于  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 片段 H-6/H-7/H-8, HMBC 谱上显示的关键碳氢远程相关 H-6 到 C-4、3、5 和 H-7 到

C-4 说明两个双键通过 C-4 和 C-6 直接相连接; 同时, 结合 H-2/H-3/H-5 片段, 由 HMBC 谱中 H-3 到 C-5、C-6、C-2 和 C-1 以及 H-2 到 C-1 和 C-4 的关键相关, 说明羧基碳 C-1 链接在脂肪链的末端; 由两个甲基  $\text{H}_3$ -13 和  $\text{H}_3$ -14 分别与 C-8 和 C-15 的相关可以得出分子中含有一个异丙基片段; 再基于  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 片段 H-9/H-10/H-11/H-12, 以及 HMBC 谱中 H-9 到 C-7 得知 C-15 的相关, 可以连接此片段和异丙基片段。此外, 鉴于 H-6 和 H-7 之间的耦合常数 15.8 MHz, 可判断 C-6 的双键构型为反式。经过文献检索, 化合物 **1** 与已知化合物 tricinoic acid 具有极为相似的平面结构<sup>[11]</sup>, 它们仅有的区别为已知化合物中 C-11 的羰基在新化合物中被还原成了羟基。这从另一个方面确证了化合物 **1** 的结构, 因而化合物 **1** 被鉴定为一个新的倍半萜类化合物, 并将其命名为 (+)-11-hydroxyl tricinoic acid。化合物 **1** 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载 ([www.trew.ac.cn](http://www.trew.ac.cn))。

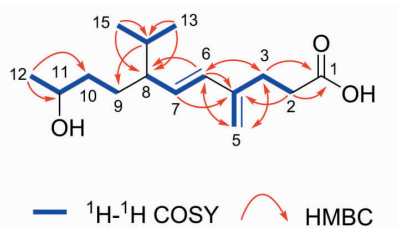
表 1 化合物 **1** 的  $^1\text{H}$  NMR 和  $^{13}\text{C}$  NMR 数据 ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Table 1  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz) and  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz) data for **1** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Position	<b>1</b>		Position	<b>1</b>	
	$\delta_{\text{H}}$ (J in Hz)	$\delta_{\text{C}}$		$\delta_{\text{H}}$ (J in Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1		175.5 s	9	1.20 d (15.8)	28.3 t
2	2.37 d (7.2)	32.6 d		1.54 dq (13.9, 6.9)	
3	2.42 d (7.2)	27.0 d	10	1.20 d (15.8)	37.0 t

续表 1 (Continued Tab. 1)

Position	1		Position	1	
	$\delta_{\text{H}} (J \text{ in Hz})$	$\delta_{\text{C}}$		$\delta_{\text{H}} (J \text{ in Hz})$	$\delta_{\text{C}}$
4		144.7 s		1.29 dtd(11.9,10.6,6.5)	
5	4.82 d(9.4)	112.7 t	11	3.59 m	67.4 d
6	5.92 d(15.8)	132.4 d	12	1.03 d(6.2)	21.9 q
7	5.42 dd(15.8,9.4)	132.2 d	13	0.76 d(6.9)	18.0 q
8	1.70 dt(9.4,5.1,4.6)	49.9 d	14	1.53 dq(13.9,6.9)	31.9 d
15	0.81 d(6.8)	19.8 q			

图 2 化合物 1 的  $^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY and HMBC 的主要相关Fig. 2 Key  $^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY and HMBC correlations of compound 1

**化合物 2** 棕色油状物;ESI-MS:  $m/z$  291.3  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 分子式  $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{O}_3$ 。 $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.84 (2H, s, H-2, 6), 1.42 (18H, s, H-8, 8'), 2.87 (2H, m, H-9), 2.61 (2H, m, H-10), 3.69 (3H, s, H-12);  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 151.9 (C-4), 135.8 (C-3), 131.1 (C-1), 124.4 (C-2, 6), 34.2 (C-7, 7'), 30.9 (C-8, 8'), 36.3 (C-9), 30.9 (C-10), 51.5 (C-12), 173.6 (C-10)。以上数据与文献<sup>[12]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 2 为 3-(2,6-二叔丁基-4-羟基苯基)丙酸甲酯。

**化合物 3** 黄色油状物;ESI-MS:  $m/z$  175  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 分子式  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ 。 $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.23 (1H, dq,  $J = 6.7, 1.4$  Hz, H-4), 6.93 (1H, d,  $J = 6.7$  Hz, H-5), 2.46 (3H, s, H<sub>3</sub>-2'), 2.14 (3H, s, H<sub>3</sub>-3');  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 161.3 (C-2), 137.8 (C-3), 138.0 (C-4), 107.3 (C-5), 153.0 (C-6), 191.4 (C-1'), 25.6 (C-2'), 17.5 (C-3')。以上数据与文献<sup>[13]</sup>对照基本一致,故鉴定化合物 3 为 gibepyrone F。

**化合物 4** 无色油状物; $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.41 (1H, dt,  $J = 7.1, 1.1$  Hz), 6.71 (1H, d,  $J = 7.0$  Hz), 6.61 (1H, s, H-8), 2.36 (3H, s, H-7), 2.11 (3H, s, H-3);  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 172.02 (C-9), 166.78 (C-2), 161.06 (C-

6), 146.06 (C-7), 143.79 (C-4), 130.55 (C-3), 122.60 (C-8), 109.76 (C-5), 19.23 (3-CH<sub>3</sub>), 16.09 (7-CH<sub>3</sub>)。上述数据与文献<sup>[14]</sup>对照基本一致,故鉴定化合物 4 为 gibepyrone D。

**化合物 5** 白色粉末;分子式  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$ 。 $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 9.78 (1H, s, H-7), 7.79 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-2, 5), 6.93 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz, 2H, H-3, 5);  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 192.8 (C-7), 165.2 (C-4), 133.4 (C-2, 6), 130.3 (C-1), 116.9 (C-3, 5)。以上数据与文献报道<sup>[15]</sup>基本一致,将鉴定化合物 5 为对羟基苯甲醛。

**化合物 6** 白色粉末;ESI-MS: 165  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 分子式  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$ 。 $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.14 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2, 6), 6.77 (2H, d, 8.4 Hz, H-3, 5), 3.69 (3H, s, OMe), 3.55 (2H, s, H-7);  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 172.8 (C-8), 155.1 (C-4), 130.8 (C-1), 126.4 (C-2, 6), 115.8 (C-3, 5), 52.4 (OMe), 40.6 (C-7)。以上数据与文献报道<sup>[16]</sup>一致,将化合物 6 鉴定为对甲氧基苯乙酸。

**化合物 7** 白色粉末;ESI-MS:  $m/z$  175.1  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ 。 $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 3.55 (2H, s, H-7), 7.09 (2H, m, H-2, 6), 6.74 (2H, t,  $J = 7.5$ , H-3, 5);  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 176.2 (C-8), 156.6 (C-4), 131.9 (C-2), 129.0 (C-6), 122.7 (C-1), 120.2 (C-3), 115.8 (C-5), 36.5 (C-7)。以上数据与文献<sup>[17]</sup>报道一致,故鉴定化合物 7 为间羟基苯乙酸。

**化合物 8** 棕色固体物质;ESI-MS:  $m/z$  395.1  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 分子式为  $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}$ 。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.62 (3H, s, H<sub>3</sub>-18), 0.83 (6H, d,  $J = 6.4$  Hz, H<sub>3</sub>-26, H<sub>3</sub>-27), 0.9 (3H, d,  $J = 6.9$  Hz, H<sub>3</sub>-28), 0.94 (3H, s, H<sub>3</sub>-19), 1.03 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, H<sub>3</sub>-21), 3.63 (1H, m, H-3), 5.19 (2H, dd,  $J = 9.2,$

7. 1 Hz, H-22/H-23), 5. 38 (1H, m, H-7), 5. 57 (1H, m, H-6); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 12. 2 (C-18), 16. 4 (C-19), 17. 8 (C-28), 19. 8 (C-21), 20. 1 (C-26), 21. 2 (C-11, C-15), 23. 1 (C-27), 28. 4 (C-12), 32. 1 (C-2), 33. 2 (C-25), 37. 1 (C-10), 38. 5 (C-1), 39. 2 (C-16), 40. 6 (C-20), 40. 9 (C-4), 42. 9 (C-24, C-13), 46. 3 (C-9), 54. 7 (C-14), 55. 8 (C-17), 70. 6 (C-3), 116. 4 (C-7), 119. 7 (C-6), 132. 1 (C-23), 135. 7 (C-22), 139. 9 (C-8), 141. 5 (C-5)。以上数据与文献<sup>[18]</sup>报道的基本一致,故鉴定化合物 **8** 为麦角甾醇。

## 2.2 细胞毒和抗菌活性测试

采取 SRB 法<sup>[19]</sup>测试化合物 **1**~**5** 对四种肿瘤细胞株包括人神经癌细胞 (SF-268)、人乳腺癌细胞 (MCF-7)、人肝癌细胞 (HepG-2) 和人肺癌细胞株 (A594) 的细胞毒活性,结果显示:化合物 **1**~**5** 在 100 μg/mL 下对四种肿瘤细胞株的增殖抑制率均在 20% 以下,阳性对照为顺铂 (IC<sub>50</sub>: 3. 20 μM),表明无细胞毒活性。

采用微量稀释法<sup>[20]</sup>测定化合物 **1**~**5** 对铜绿假单胞杆菌 CMCC10104 (*Pseudomonas aeruginosa*)、大肠杆菌 CMCC44102 (*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌 CMCC26003 (*Staphylococcus aureus*) 和枯草芽孢杆菌 CMCC63501 (*Bacillus subtilis*) 的抗菌活性,结果显示化合物 **1**~**5** 在浓度为 100 μg/mL 时对上述受试菌的抑制率低于 40%,阳性对照为氨苄西林 (MIC: 1 μg/mL),表明化合物 **1**~**5** 无抗菌活性。

## 3 讨论与结论

真菌 *Letendreaa helminthicola* 属于稀缺的微生物种属,本文是关于该属真菌关于次级代谢产物的第四次报道,该属真菌产生过二酮哌嗪类、螺环聚酮类化合物<sup>[7-10]</sup>,本研究从春砂仁内生真菌 A696 发酵液中分离得到 8 个单体化合物,丰富了该属真菌的次级代谢产物类型,其中化合物 **1** 为新的倍半萜类化合物;化合物 **2** 是一种抗氧化剂,也是合成抗氧化剂 1076 和 1010 等的主要原料;化合物 **3** 和 **4** 均为 α-吡喃酮结构化合物,化合物 **3** 被报道是首次从天然产物中分到的 α-吡喃酮结构,通常以 gibepyrone B 为原料进行合成;化合物 **5**、**6**、**7** 均为芳香苯环小分子化合物;化合物 **8** 为麦角甾醇,在医药化学上已经得到应用,已经做为维生素 D<sub>2</sub> 的前体,也是生产激素类药物中间体。该菌的粗提物显示一定的抗菌抗肿瘤活性,但化合物 **1** 通过活性测试发现没有抗

菌和抗肿瘤活性,很可能是一些具有抗菌抗肿瘤活性次级代谢产物并没有从粗提物中成功分离到。因此,可以从发酵产物量上进行大规模发酵,以期得到活性次级代谢产物;本次液体发酵的时间长达 20 天可能也是导致培养基中产生一些结构简单的基本代谢产物的原因,这为以后的发酵时长提供前车之鉴;另一方面,研究表明倍半萜类化合物具有抗菌、抗癌、杀虫、调节植物生长等活性<sup>[21]</sup>,今后可以对该化合物进行其他活性测试,以挖掘该化合物其他的生物活性。

## 参考文献

- 1 Sun L, Yu JG, Zhou LD, et al. Studies on chemical constituents of effective part of *Gastrodia elata* [J]. Chin J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2002, 27(1): 36-38.
- 2 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2010: 236-237.
- 3 Yin H, Dan WJ, Fan BY, et al. Anti-inflammatory and α-glucosidase inhibitory activities of labdane and norlabdane diterpenoids from the rhizomes of *Amomum villosum* [J]. J Nat Prod, 2019, 82: 2963-2971.
- 4 Zhang N, Mi CX. Research progress of medicinal plants endophytic fungi [J]. J Anhui Agr (安徽农业科学), 2015, 43(21): 81-82.
- 5 Wang M, Chen YC, Li HH, et al. A new cochlioquinone from endophytic fungus *Bipolaris sorokiniana* derived from *Pogostemon cablin* and its bioactivity [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2016, 47: 2601-2605.
- 6 Akulov OY. First data about fungicolous fungus *Letendreaa helminthicola* (Berk. et Bromme) Weese ex Petch in Ukraine [J]. Stud Biol, 2015, 9: 137-144.
- 7 Yang LH, Miao L, Lee OO, et al. Effect of culture conditions on antifouling compound production of a sponge-associated fungus [J]. Biotech Prod Process Eng, 2007, 74: 1221-1231.
- 8 Yang LH. Antifouling compounds from the marine sponge *Acanthella cavernosa* and its associated microbes [D]. Hong Kong: Hong Kong University of Science and Technology (香港科技大学), 2006.
- 9 Huang R, Xu Y, Ye B, et al. Letenketals A and B, two novel spirocyclic polyketides from a marine crab-derived *Letendreaa* sp. fungus [J]. Phytochem Lett, 2019, 30: 165-168.
- 10 Xu Y, Huang RB, Liu HW, et al. New polyketides from the marine-derived fungus *Letendreaa* sp. 5XNZ4-2 [J]. Mar Drugs, 2019, 18(1): 18.

- 11 Elsebai MF. Secondary metabolites from the marine-derived fungus *Phaeosphaeria spartinae*[J]. Nat Prod Res, 2021, 35: 1504-1509.
- 12 Chen XC, Liu N. Nuclear magnetic resonance study of several bucembrol compounds[J]. J Spectrosc, 1989, 6:501-508.
- 13 Li Y, Tang HF, Tian XR. Three new cytotoxic isomalabaricane triterpenes from the marine sponge *Stelletta tenuis*[J]. Fitoterapia, 2015, 106:226-230.
- 14 Wang QX, Li SF, Zhao F, et al. Chemical constituents from endophytic fungus *Fusarium oxysporum* [J]. Fitoterapia, 2011, 82:777-781.
- 15 Li XJ, Chen T, Li MX, et al. Chemical constituents and antimicrobial activities of endophytic fungus *Penicillium* sp. 12Y25 isolated from *Perilla frutescens*[J]. J Northwest A&F Univ(西北农林科技大学学报), 2015, 43(10):64-69.
- 16 Jin DZ, Li YP, Li HM, et al. Chemical constituents from *Croton caudatus* var. *tomentosus*[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2013, 25:1658-1661.
- 17 An XL, Kong FD, Ma QY, et al. Secondary metabolites from marine-derived fungus *Aspergillus* sp. SCS-KFD66 [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50:3001-3007.
- 18 Chen SC, Chen YC, Li SN, et al. Study on the secondary metabolites from the deep-sea fungus *Phomopsis tersa* and the cytotoxic activities[J]. Chin J Mar Drugs(中国海洋药物), 2019, 38(6):8-14.
- 19 Dudhe R, Sharma PK, Verma PK. Anticancer activity of ribose fused pyrimidine derivative by SRB assay method[J]. Int J Pure Appl Chem, 2013, 7:333-339.
- 20 Griffin SG, Wyllie SG, Markham JL, et al. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity[J]. Flavour Frag J, 2015, 14: 322-332.
- 21 Li HQ, Zhang R, Cao F, et al. Proversilins A-E, drimane-type sesquiterpenoids from the endophytic *Aspergillus versicolor* [J]. J Nat Prod, 2020, 83:2200-2206.

## 《天然产物研究与开发》青年编委会

### 青年编委(以姓氏笔划为序)

#### Members

王红兵	戈惠明	尹文兵	尹 胜	吕兆林	刘相国
WANG Hongbing	GE Huiming	YIN Wenbing	YIN Sheng	LV Zhaolin	LIU Xiangguo
孙昊鹏	孙桂波	李良成	李国友	邱 莉	汪海波
SUN Haopeng	SUN Guibo	LI Liangcheng	LI Guoyou	QIU Li	WANG Haibo
沐万孟	张炳火	陈益华	林昌俊	欧阳杰	易华西
MU Wanneng	ZHANG Binghuo	CHEN Yihua	LIN Changjun	OU Yangjie	YI Huaxi
罗应刚	周 文	胡友财	袁 涛	夏永刚	高慧敏
LUO Yinggang	ZHOU Wen	HU Youcai	YUAN Tao	XIA Yonggang	GAO Huimin
唐金山	黄胜雄	韩秀珍	韩淑燕	曾克武	蓝蔚青
TANG Jinshan	HUANG Shengxiong	HAN Xiuzhen	HAN Shuyan	ZENG Kewu	LAN Weiqing
廖晨钟	薛永波				
LIAO Chenzhong	XUE Yongbo				