

# 链霉菌 *Streptomyces* sp. P325 的化学成分研究

唐相琴<sup>1</sup>, 姜瑞金<sup>1</sup>, 毕晓旭<sup>2</sup>, 陈秀<sup>1</sup>, 何江波<sup>1\*</sup>, 王莹<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>昆明学院医学院; <sup>2</sup>昆明学院农学与生命科学学院, 昆明 650214

**摘要:** 对 *Streptomyces* sp. P325 的化学成分进行研究。采用正相硅胶柱色谱、ODS 反相柱色谱、凝胶柱色谱及半制备高效液相色谱等分离技术对 *Streptomyces* sp. P325 发酵产物的乙酸乙酯萃取部分进行分离纯化。从中共分离得到 6 个化合物, 通过波谱数据分析和文献比对鉴定其结构, 其中包括 2 个新化合物: 四羟基十八碳二酸 I (1) 和四羟基十六碳二酸 I (2), 以及 4 个已知化合物: *iso*-frenolicin B (3)、7-acetyl-3,6-dihydroxy-8-propyl-3,4-dihydronaphthalen-1(2*H*)-one (4)、对羟基苯甲酸甲酯 (5) 和 isonicotinaldehyde (6)。对分离得到的化合物 1~6 进行细胞毒活性评价。结果显示, 化合物 3 对 HepG2 细胞系表现出显著的抑制活性 (IC<sub>50</sub> 为 13.11 μmol/L)。化合物 3 对 HeLa 细胞的抑制活性为中等 (IC<sub>50</sub> 为 25.04 μmol/L)。

**关键词:** 链霉菌; 化学成分; 分离纯化; 结构鉴定; 细胞毒活性

中图分类号: R284.2 文献标识码: A

## Study on the chemical constituents of *Streptomyces* sp. P325

TANG Xiang-qin<sup>1</sup>, JIANG Rui-jin<sup>1</sup>,

BI Xiao-xu<sup>2</sup>, CHEN Xiu<sup>1</sup>, HE Jiang-bo<sup>1\*</sup>, WANG Ying<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> School of Medicine, Kunming University; <sup>2</sup> College of Agronomy and Life Sciences, Kunming University,

Kunming 650214, China

**Abstract:** The chemical constituents of *Streptomyces* sp. P325 were investigated. The ethyl acetate extract of its fermentation broth was separated and purified using various chromatography techniques, including silica gel column, ODS reverse gel column, Sephadex LH-20 column, and semipreparative HPLC. Six compounds were isolated, and their structures were identified by spectral data analysis and literature comparison, including two new compounds, tetrahydroxy-octadecanoic acid I (1) and tetrahydroxy-hexadecanedioic acid I (2), as well as four known compounds: *iso*-frenolicin B (3), 7-acetyl-3,6-dihydroxy-8-propyl-3,4-dihydronaphthalen-1(2*H*)-one (4), methyl *p*-hydroxybenzoate (5), and isonicotinaldehyde (6). The isolated compounds 1-6 were evaluated for cytotoxic activities. The results indicated that compound 3 exhibited significant inhibitory activity against HepG2 cells with an IC<sub>50</sub> of 13.11 μmol/L. Compound 3 showed a moderate growth inhibitory effect against HeLa cells with an IC<sub>50</sub> of 25.04 μmol/L.

**Key words:** *Streptomyces* sp.; chemical constituents; separation and purification; structural identification; cytotoxic activity

链霉菌 (*Streptomyces*) 作为革兰氏阳性菌的一种, 广泛存在于土壤、海洋和淡水等生态系统中, 是重要的微生物资源之一。链霉菌产生的次生代谢产物以其结构新颖和生物活性显著而闻名<sup>[1-2]</sup>。作为微生物界中最重要的抗生素生产者, 链霉菌所产生的抗生素大约占临床使用抗生素总量的一半<sup>[3]</sup>。这些链霉菌产生的活性代谢产物在医学和农业等领域发挥着重要作用, 其中包括许多常用的抗生素, 如红霉素、丝裂霉素、金霉素和阿维菌素等<sup>[4-7]</sup>。

近年来, 特殊环境微生物的研究逐渐受到关注。链霉菌属菌株代谢产物在药物研究中具有重要地位, 其生物活性和结构多样性使其成为新药开发的重要来源。例如, 南海深海链霉

菌 *Streptomyces lusitanus* SCSIO LR32 产生的角环素类化合物, 如 grincamycin J 和 A-7884, 对乳腺癌、肺癌、结肠癌和肝癌细胞表现出显著的细胞毒性, IC<sub>50</sub> 值范围为 0.4-6.9 μmol/L<sup>[8]</sup>。海洋白浅灰链霉菌 *Streptomyces albogriseolus* A2002 代谢产生的三环缩醛内酯素类化合物, 能抑制肿瘤细胞在 G2/M 期的生长, 具有抗肿瘤潜力<sup>[9]</sup>。南海链霉菌 *Streptomyces sp. rssa1* 产生的 kanglemycin M 对巨噬细胞 RAW 264.7 具有细胞毒活性, 抑制率为 81.03%<sup>[10]</sup>。链霉菌 *Streptomyces sp.* CCCC 203679 代谢产物中鉴定出新脂肪酸类化合物<sup>[11]</sup>。本课题组前期从链霉菌 KC17012 中分离鉴定出 3 个新脂肪酰胺类化合物<sup>[12]</sup>。尽管已有许多重要研究成果, 链霉菌的活性代谢产物仍未被充分挖掘。研究链霉菌次生代谢产物不仅有助于理解其化学多样性, 也有助于发现新药先导化合物, 展示了链霉菌在生物医药技术应用中的巨大潜力。

本课题组近期从广西百色地钱中分离筛选得到一株链霉菌菌株 *Streptomyces sp.* P325, 为了深入探究该菌株所产生的活性成分, 我们对其进行了发酵, 通过分离纯化和结构鉴定, 研究其化学成分, 并对分离得到的化合物进行细胞毒活性筛选, 希望能揭示该菌株所产生的代谢物的化学结构及其生物活性。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

Bruker Avance III-600 核磁共振仪 (布鲁克); Agilent 6500 系列 Q-TOF 质谱仪 (安捷伦); Applied Photonics V100 型号的圆二色谱仪 (英国应用光物理公司); Hanbon-NP7000C 制备液相 (江苏汉邦科技); YMC-Triart C<sub>18</sub> 半制备柱 (日本株式会社 YMC, 250×10.0 mm, 5 μm); EYELA N-1100 旋转蒸发仪 (东京理化); ZWY-2102 摇床 (上海智城分析仪器制造有限公司)。

200~300 目硅胶 (青岛海洋化工厂); GF<sub>254</sub> 薄层色谱硅胶板 (青岛海洋化工厂, 50×100 mm); Sephadex LH-20 凝胶柱 (美国 GE 公司); ODS-A (日本 YMC 公司); 色谱甲醇 (上海星可高纯溶剂有限公司); 石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯为分析级有机试剂 (纯度大于 98%, ), 经过重蒸后使用。

Hela (人宫颈癌细胞) 和 HepG2 (人肝癌细胞) (中国科学院细胞库); DMEM 培养基 (批号: 8121371, 美国 Gbico 公司); 胎牛血清 (批号: SH30396, 美国 HyClone 公司); 顺铂 (批号: WA2A1210, 齐鲁制药有限公司); 青霉素-链霉素溶液 (Pen-Strep Solution, 批号: C0222)、谷氨酰胺 (批号: C0212)、二甲亚砜 (批号: ST038)、MTT 试剂盒 (批号: C0009S) (上海碧云天生物技术有限公司)。

### 1.2 菌种与培养基

菌株 P325 是从广西百色地钱中分离得到, 通过对其 16S rRNA 基因测序发现其序列与菌株 *Streptomyces xylanilyticus* SR2-123(T) 的序列相似度为 99.22%, 菌株 *Streptomyces sp.* P325 的 16S rRNA 序列在 GenBank 中的注册号为 PQ136838, 并存放于昆明学院医学院菌种库。

种子液培养基：改良 ISP 2 培养基 (g/L)，酵母膏 4 g，酵母浸粉 5 g，葡萄糖 4 g，动物蛋白胨 2 g，植物蛋白胨 1 g，微量盐 (FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.1 g、MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 0.1 g、ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.1 g) 1 mL，复合维生素少许，纯净水 1 000 mL，pH 7.2。

菌株 P325 发酵培养基：PDB 培养基 (g/L)，土豆 200 g，葡萄糖 20 g，纯净水 1 000 mL，121°C，灭菌 30 min。

### 1.3 菌株活化与种子液的培养

将保存于 4 °C 的 *Streptomyces* sp. P325 菌株接种于 PDA 平板，28 °C 培养 7 d 以进行活化。将单菌落接种至改良 ISP 2 培养基，置于摇床中，在 28 °C 和 180 r/min 的条件下培养 3 d，作为种子液。

### 1.4 菌株发酵

将种子液按 5% 体积比接种至装有 250 mL PDB 培养基的 1 000 mL 三角摇瓶中，放置于摇床中，在 28 °C，180 r/min 的条件下培养 7 d。发酵液采用四层纱布过滤，收集滤液，得到 60 L 发酵液，然后将发酵液浓缩至 3 L。

### 1.5 提取与分离

用等体积的乙酸乙酯萃取发酵液，进行 3 次萃取，得到浸膏 5.401 g。浸膏溶解于 10 mL 甲醇中，过滤后的溶液通过葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 凝胶柱，用甲醇洗脱得到 5 个组分 (A~E)。其中，C 组分通过 ODS 反相柱色谱，用甲醇-水 (10:90→100:0) 梯度洗脱，得到 11 个组分 (C1~C11)。其中 C7 经硅胶柱色谱 (200~300 目) 用二氯甲烷-甲醇 (100:1、80:1) 组成的混合溶剂进行等度洗脱得到化合物 **1** (37.3 mg)；C<sub>4</sub> 经硅胶柱色谱 (200~300 目) 用石油醚-丙酮 (10:1、8:1、6:1、4:1) 组成的混合溶剂进行等度洗脱得到化合物 **2** (86.3 mg)。D 组分通过 ODS 反相柱色谱，用甲醇-水 (10:90→100:0) 梯度洗脱，得到 20 个组分 (D1~D10)，其中 D10 上凝胶得到 2 个组分 (D10-1~D10-2)，其中 D10-2 经硅胶柱色谱 (200~300 目) 用石油醚-丙酮 (10:1、9:1) 组成的混合溶剂进行等度洗脱得到化合物 **3** (66.6 mg)；D2 上凝胶得到两个组分 (D2-1~D2-2)，其中 D2-1 用石油醚-丙酮 (10:1、9:1、8:1) 组成的混合溶剂进行等度洗脱得到 D2-11，D2-11 经半制备液相得到化合物 **4** (甲醇-水 53:47，*t<sub>R</sub>*=13.2 min，19.3 mg)。

P325 菌株经 PDB 第二次大发酵 (30 L)，用旋转蒸发器浓缩至发酵液剩 2 L，然后用等体积的乙酸乙酯连续萃取 3 次得到浸膏 3.659 g。浸膏 (3.659 g) 经过滤后上凝胶用甲醇洗脱得到 3 个组分 (A-C)，其中 B 组分通过 ODS 反相柱色谱得到 7 个组分 (B1~B7)，B5 经硅胶柱色谱 (200~300 目) 用石油醚-丙酮 (10:1、8:1、6:1、4:1) 组成的混合溶剂进行等度洗脱得到化合物 **6** (1.1 mg)；B7 经硅胶柱色谱 (200~300 目) 用石油醚-丙酮 (6:1、4:1) 组成的混合溶剂进行等度洗脱得到化合物 **5** (1 mg)。

### 1.6 细胞毒活性测试

采用 MTT 法检测不同浓度的 (0~100 μmol/L) 化合物 **1~6** 对 HeLa 和 HepG2 细胞生长

的抑制作用。细胞培养使用的 DMEM 培养基配方包括 5%谷氨酰胺、5% Pen-Strep Solution 和 10%胎牛血清。细胞以  $7 \times 10^3$  细胞/孔的密度铺设于 96 孔板中，并在含 5%  $\text{CO}_2$ 、 $37^\circ\text{C}$  的培养箱中过夜培养。次日，向孔中加入  $1 \mu\text{L}$  不同浓度的化合物（10、3.3、1.1、0.33、0.11  $\mu\text{mol/L}$ ），终浓度达到 100、33、11、3.3、1.1  $\mu\text{mol/L}$ ；阳性对照为顺铂；空白对照组加入等体积的 DMSO 处理，每个处理重复 3 个复孔。继续培养 48 h 后，加入  $20 \mu\text{L}$  的 5 mg/mL MTT 溶液，继续培养 4 h。去除培养液后，加入  $150 \mu\text{L}$  的 DMSO，在低速摇床上震荡 10 分钟，待紫色结晶充分溶解。使用吸光度值  $A$ （波长 570 nm）来评估细胞活性及代谢状况，实验重复三次。 $A_c$  为对照组吸光度， $A_s$  为待测样品吸光度。用 SPSS 26 软件进行数据分析，按以下公式计算抑制率（ $R$ ）。

$$R = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100\%$$

## 2 实验结果

### 2.1 结构鉴定

**化合物 1** 白色针状结晶（甲醇）；旋光值为  $[\alpha]_D^{22.9} - 38.4$  ( $c$  0.1,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )；HR-ESI-MS:  $m/z$  375.201 7  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{H}]^-$ （计算值  $\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_8$ , 375.202 4），确定分子式为  $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_9$ ，不饱和度为 2。红外光谱显示分子中存在羟基（ $3445 \text{ cm}^{-1}$ ）、羰基（ $1775 \text{ cm}^{-1}$ ）和醚键（ $1213 \text{ cm}^{-1}$  和  $1155 \text{ cm}^{-1}$ ）等官能团。 $^1\text{H}$  NMR 谱（见表 1）发现 4 个甲基信号（ $\delta_{\text{H}}$  0.97, d,  $J=6.6$  Hz; 0.95, d,  $J=1.3$  Hz, 0.93, d,  $J=1.3$  Hz 和 0.92, t,  $J=7.5$  Hz），6 个连氧次甲基信号（ $\delta_{\text{H}}$  4.53, d,  $J=4.8$  Hz; 4.52, d,  $J=4.8$  Hz; 4.50, m; 4.35, ddd,  $J=8.2, 6.2, 2.8$  Hz; 4.27, m; 4.26, m）。 $^{13}\text{C}$  NMR 谱（见表 1）和 DEPT 谱显示存在 18 个碳原子，包括 2 个羰基信号（ $\delta_{\text{C}}$  178.8、178.8）；8 个次甲基，包括 6 个连氧次甲基信号（ $\delta_{\text{C}}$  82.8、81.0、72.6、72.6、72.1、71.8）；4 个亚甲基信号（ $\delta_{\text{C}}$  23.1、23.1、20.1、11.7）。以上信号提示化合物 1 可能为多羟基酸。通过  $^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR、DEPT 和 HSQC 等波谱数据对所有的 H 和 C 进行了归属。HMBC 图谱（见图 2）显示  $\delta_{\text{H}}$  4.27 与  $\delta_{\text{C}}$  178.8 相关， $\delta_{\text{H}}$  4.35 与  $\delta_{\text{C}}$  72.6、35.4 相关， $\delta_{\text{H}}$  1.78 与  $\delta_{\text{C}}$  71.8 相关， $\delta_{\text{H}}$  1.61 与  $\delta_{\text{C}}$  27.7 相关，甲基质子  $\delta_{\text{H}}$  0.95 与  $\delta_{\text{C}}$  35.4、23.1 相关，甲基质子  $\delta_{\text{H}}$  0.93 与  $\delta_{\text{C}}$  35.4 相关，以及  $^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY 谱图（见图 2）显示 H-2 与 H-3 相关，H-3 与 H-4 相关，H-5 与 H-4、H-6 相关，H-7 与 H-6 相关，H-8 与 H-7 相关，H-9 与 H-7 相关，表明存在 1 个 2, 3-二羟基-7-甲基辛酸（片段 A）。HMBC 图谱（见图 2）显示  $\delta_{\text{H}}$  4.26 与  $\delta_{\text{C}}$  178.8 相关， $\delta_{\text{H}}$  4.50 与  $\delta_{\text{C}}$  72.6、32.4 相关， $\delta_{\text{H}}$  1.74 与  $\delta_{\text{C}}$  72.1 相关，甲基  $\delta_{\text{H}}$  0.92 与  $\delta_{\text{C}}$  32.4 相关，甲基  $\delta_{\text{H}}$  0.97 与  $\delta_{\text{C}}$  36.5、30.7 相关，以及  $^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY 谱图显示 H-2' 与 H-3' 相关，H-3' 与 H-4' 相关，H-5' 与 H-4'、H-6' 相关，H-6' 与 H-7'、H-9' 相关，H-8' 与 H-7' 相关，表明存在 1 个 2, 3-二羟基-6-甲基辛酸（片段 B）。HMBC 图谱中  $\delta_{\text{H}}$  4.35 与  $\delta_{\text{C}}$  178.8 不相关， $\delta_{\text{H}}$  4.50 与  $\delta_{\text{C}}$  178.8

不相关，可以排除醚键位于 C-2、C-2'、C-3、C-3'位的可能性。HMBC 图谱显示 $\delta_{\text{H}}$  4.27 与 $\delta_{\text{C}}$  81.0 相关， $\delta_{\text{H}}$  4.26 与 $\delta_{\text{C}}$  82.8 相关， $\delta_{\text{H}}$  1.74 与 $\delta_{\text{C}}$  82.8 相关，表明片段 A 和片段 B 通过在 C-4 位与 C-4'位之间形成醚键，组成完整的化合物 **1**。因此，化合物 **1** 的结构如图 1 所示，确定其为 4-((1-carboxy-1,2-dihydroxy-5-methylheptan-3-yl)oxy)-2,3-dihydroxy-7-methyloctanoic acid，并命名为四羟基十八碳二酸 **1**。化合物 **1** 和 **2** 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载 ([www.trcw.ac.cn](http://www.trcw.ac.cn))。

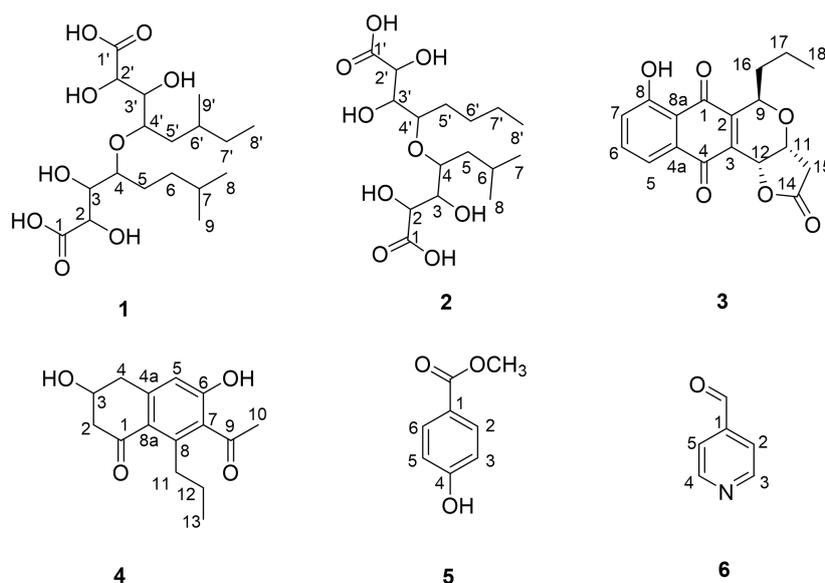


图 1 化合物 1~6 的结构式

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1-6

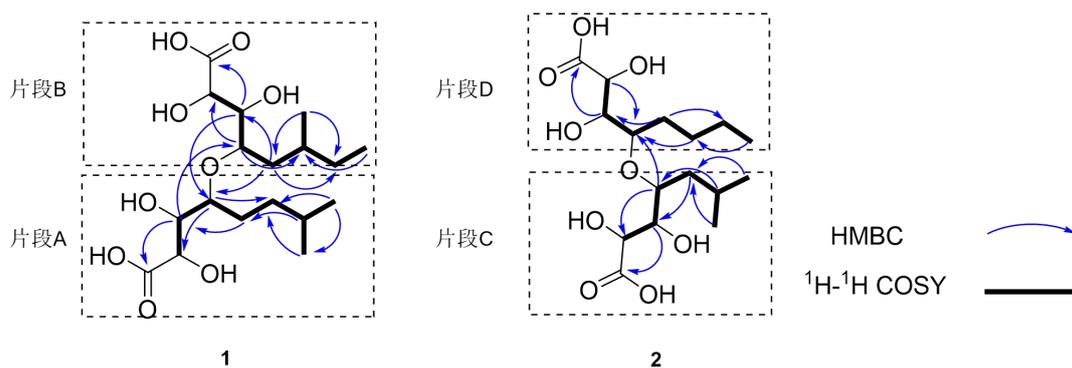


图 2 化合物 1 和 2 的关键  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 和 HMBC 相关

Fig. 2 Key  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY and HMBC correlations for compound 1 and 2

**化合物 2** 淡黄色油状；旋光值为  $[\alpha]_{\text{D}}^{22.9} - 62$  (c 0.15,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )；HR-ESI-MS:  $m/z$  347.170 6  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{H}]^-$  (计算值  $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{O}_8$ , 347.171 1)，确定分子式为  $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_9$ ，不饱和度为 2。红外光谱显示分子中存在羟基 ( $3495\text{ cm}^{-1}$  和  $3397\text{ cm}^{-1}$ )、羰基 ( $1759\text{ cm}^{-1}$ ) 和醚键 ( $1303$ 、 $1208$  和  $1156\text{ cm}^{-1}$ ) 等官能团。 $^1\text{H}$  NMR 谱 (见表 1) 发现 3 个甲基信号 ( $\delta_{\text{H}}$  0.95, t,  $J = 7.0$  Hz; 0.98, d,  $J = 3.7$  Hz; 0.99, d,  $J = 3.7$  Hz)，6 个连氧次甲基信号 ( $\delta_{\text{H}}$  4.54, d,  $J = 4.6$

Hz; 4.53, d,  $J=4.6$  Hz; 4.49, ddd,  $J=8.2, 5.1, 2.7$  Hz; 4.38, ddd,  $J=8.2, 6.1, 2.7$  Hz; 4.28, m; 4.26, m)。 $^{13}\text{C}$  NMR 谱 (见表 1) 和 DEPT 谱图显示存在 16 个碳信号, 包括 2 个羰基的信号  $\delta_{\text{C}}$  178.8、178.8; 7 个次甲基, 包括 6 个连氧次甲基信号  $\delta_{\text{C}}$  82.5、80.9、72.6、72.5、72.3、71.8; 4 个亚甲基信号, 3 个甲基信号  $\delta_{\text{C}}$  23.6、23.0、14.5。以上核磁信号提示化合物 **2** 和化合物 **1** 的结构高度相似, 很可能是一个多羟基酸, 最主要的区别在于 C-4 和 C-4' 连接的取代基不同。通过  $^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR、DEPT 和 HSQC 等波谱数据对所有的 H 和 C 进行了归属。HMBC 图谱 (见图 2) 显示  $\delta_{\text{H}}$  4.26 与  $\delta_{\text{C}}$  178.8 相关,  $\delta_{\text{H}}$  4.49 与  $\delta_{\text{C}}$  72.6 相关,  $\delta_{\text{H}}$  1.75 与  $\delta_{\text{C}}$  72.3 相关,  $\delta_{\text{H}}$  1.81 与  $\delta_{\text{C}}$  80.9 相关, 甲基质子  $\delta_{\text{H}}$  0.98 与  $\delta_{\text{C}}$  38.6 相关, 甲基质子  $\delta_{\text{H}}$  0.99 与  $\delta_{\text{C}}$  38.6 相关, 以及  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 谱图 (见图 2) 显示 H-2 与 H-3 相关, H-3 与 H-4 相关, H-5 与 H-4, H-6 相关, H-7 与 H-6 相关, H-8 与 H-6 相关, 表明存在 1 个 2, 3-二羟基-6-甲基庚酸 (片段 C)。HMBC 图谱 (见图 2) 显示  $\delta_{\text{H}}$  4.53 与  $\delta_{\text{C}}$  82.5 相关,  $\delta_{\text{H}}$  4.28 与  $\delta_{\text{C}}$  178.8 相关,  $\delta_{\text{H}}$  1.79 与  $\delta_{\text{C}}$  71.8、23.8 相关, 甲基质子  $\delta_{\text{H}}$  0.95 与  $\delta_{\text{C}}$  28.5 相关, 以及  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 谱图显示 H-2' 与 H-3' 相关, H-3' 与 H-4' 相关, H-5' 与 H-4', H-6' 相关, H-6' 与 H-7' 相关, H-8' 与 H-7' 相关, 表明存在 1 个 2, 3-二羟基-辛酸 (片段 D)。HMBC 图谱中  $\delta_{\text{H}}$  4.38 与  $\delta_{\text{C}}$  178.8 不相关,  $\delta_{\text{H}}$  4.49 与  $\delta_{\text{C}}$  178.8 不相关, 可以排除醚键位于 C-2、C-2'、C-3、C-3' 位的可能性。HMBC 图谱显示  $\delta_{\text{H}}$  4.49 与  $\delta_{\text{C}}$  82.5 相关, 表明片段 C 和片段 D 通过在 C-4 位与 C-4' 位之间形成醚键, 组成完整的化合物 **2**。因此, 化合物 **2** 的结构如图 1 所示, 经确定其为 4-((1-carboxy-1, 2-dihydroxy-5-methylhexan-3-yl)oxy)-2, 3-dihydroxyoctanoic acid, 命名为四羟基十六碳二酸 I。

表 1 化合物 **1** 和 **2** 的氢谱和碳谱的数据 (600 和 150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

Table 1  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR data of **1** and **2** (600 and 150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

No.	1		No.	2	
	$\delta_{\text{H}}$ ( $J$ in Hz)	$\delta_{\text{C}}$		$\delta_{\text{H}}$ ( $J$ in Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	—	178.8	1	—	178.8
2	4.53 (1H, d, $J=4.8$ Hz)	72.6	2	4.54 (1H, d, $J=4.6$ Hz)	72.6
3	4.27 (1H, m)	71.8	3	4.26 (1H, m)	72.3
4	4.35 (1H, ddd, $J=8.2, 6.2, 2.8$ Hz)	82.8	4	4.49 (1H, ddd, $J=8.2, 5.1, 2.7$ Hz)	80.9
5	1.78 (2H, m)	27.7	5	1.75 (1H, m)	38.6
6	1.34 (2H, m)	35.4	6	1.56 (1H, ddd, $J=14.0, 7.6, 5.1$ Hz)	—
7	1.61 (1H, m)	29.4	6	1.81 (1H, m)	26.0

8	0.95 (3H, d, $J=1.3$ Hz)	23.1	7	0.98 (3H, d, $J=3.7$ Hz)	23.6
9	0.93 (3H, d, $J=1.3$ Hz)	23.1	8	0.99 (3H, d, $J=3.7$ Hz)	23.0
1'	—	178.8	1'	—	178.8
2'	4.52 (1H, d, $J=4.8$ Hz)	72.6	2'	4.53 (1H, d, $J=4.6$ Hz)	72.5
3'	4.26 (1H, m)	72.1	3'	4.28 (1H, m)	71.8
4'	4.50 (1H, m)	81.0	4'	4.38 (1H, ddd, $J=8.2, 6.1, 2.7$ Hz)	82.5
5'	1.74 (1H, m)	36.5	5'	1.79 (1H, m)	29.4
	1.64 (1H, t, $J=7.5$ Hz)	—		1.45 (1H, m)	—
6'	1.59 (1H, m)	32.4	6'	1.73 (1H, m)	28.5
7'	1.47 (1H, m)	30.7		1.43 (1H, m)	—
	1.23 (1H, dt, $J=13.9, 7.2$ Hz)	—	7'	1.42 (2H, m)	23.8
8'	0.92 (3H, t, $J=7.5$ Hz)	20.1	8'	0.95 (3H, t, $J=7.0$ Hz)	14.5
9'	0.97 (3H, d, $J=6.6$ Hz)	11.7		—	—

**化合物 3** 橙色油状;  $[\alpha]_D^{25}+318.2$  (c 0.13, CH<sub>3</sub>OH); ESI-MS:  $m/z$  329 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub>。 <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 11.81 (1H, s, 8-OH), 7.63 (1H, m, H-5), 7.61 (1H, m, H-6), 7.26 (1H, dd,  $J=8.2, 1.4$  Hz, H-7), 5.25 (1H, d,  $J=3.2$  Hz, H-12), 4.90 (1H, dd,  $J=10.3, 3.4$  Hz, H-9), 4.64 (1H, m, H-11), 3.01 (1H, dd,  $J=17.8, 5.2$  Hz, H-15a), 2.68 (1H, d,  $J=17.8$  Hz, H-15b), 1.76 (2H, m, H-16), 1.67 (2H, m, H-17), 1.02 (3H, t,  $J=7.4$  Hz, H-18); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 188.3 (C-1), 149.5 (C-2), 135.4 (C-3), 181.7 (C-4), 131.6 (C-4a), 119.8 (C-5), 137.3 (C-6), 125.0 (C-7), 162.0 (C-8), 115.0 (C-8a), 69.8 (C-9), 66.5 (C-11), 69.0 (C-12), 174.4 (C-14), 37.0 (C-15), 33.8 (C-16), 19.7 (C-17), 13.7 (C-18)。以上数据与文献<sup>[13]</sup>报道一致, 故鉴定该化合物为 frenolicin B。

**化合物 4** 无色油状; ESI-MS:  $m/z$  263 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>。 <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 6.63 (1H, s, H-5), 4.25 (1H, m, H-3), 3.16 (1H, dd,  $J=15.8, 3.7$  Hz, H-4a), 2.92 (1H, dd,  $J=16.1, 7.8$  Hz, H-4b), 2.85 (1H, ddd,  $J=15.9, 4.1, 0.9$  Hz, H-2b), 2.82 (1H, m, H-11a), 2.76 (1H, m, H-11b), 2.60 (1H, ddd,  $J=16.4, 8.0, 0.9$  Hz, H-2a), 1.48 (2H, m, H-12), 0.95 (3H, t,  $J=7.2$  Hz, H-13); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 199.1 (C-1), 50.4 (C-2), 66.9 (C-3), 40.8 (C-4), 147.6 (C-4a),

115.1 (C-5), 159.2 (C-6), 132.3 (C-7), 145.4 (C-8), 124.2 (C-8a), 208.3 (C-9), 32.4 (C-10), 34.9 (C-11), 26.1 (C-12), 15.8 (C-13)。以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道一致,故鉴定该化合物为 7-acetyl-3, 6-dihydroxy-8-propyl-3,4-dihydronaphthalen-1(2H)-one。

**化合物 5** 无色油状; ESI-MS:  $m/z$  153 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.96 (2H, d,  $J$  = 8.7 Hz, H-2, H-6), 6.86 (2H, d,  $J$  = 8.7 Hz, H-3, H-5), 3.88 (3H, s, COOCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 122.8 (C-1), 131.8 (C-2), 115.1 (C-3), 159.6 (C-4), 115.1 (C-5), 131.8 (C-6), 166.7 (C=O), 51.8 (OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[15]</sup>报道一致,故鉴定该化合物为对羟基苯甲酸甲酯。

**化合物 6** 白色粉末, 易溶于二氯甲烷; ESI-MS:  $m/z$  108 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NO。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 9.88 (1H, s, 1-CHO), 7.82 (2H, d,  $J$  = 8.6 Hz, H-2, H-5), 6.95 (2H, d,  $J$  = 8.6 Hz, H-3, H-4); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 161.4 (C-1), 191.0 (CHO-1), 132.5 (C-2), 116.1 (C-3), 116.1 (C-4), 132.5 (C-5)。以上数据与文献<sup>[16]</sup>报道一致,故鉴定该化合物为 isonicotinaldehyde。

## 2.2 细胞毒活性测试结果

采用 HepG2 和 HeLa 细胞上评估了化合物 1~6 的细胞毒活性,结果显示化合物 3 在 HepG2 细胞中表现出了显著的抑制活性, IC<sub>50</sub> 为 13.11  $\mu$ mol/L。化合物 3 在 HeLa 细胞中呈现出中等抑制活性, IC<sub>50</sub> 为 25.04  $\mu$ mol/L。阳性对照为顺铂, IC<sub>50</sub> 为 8.50  $\mu$ mol/L。

## 3 结论

本研究探讨了链霉菌 *Streptomyces* sp. P325 的发酵产物。共分离鉴定出 6 个化合物,其中化合物 1 和 2 为新的链状多羟基酸,化合物 3~6 为已知化合物。多羟基酸类化合物因其独特的生物活性和多重功效,已成为科学研究的热点。葡萄糖酸是一种微生物的发酵产物,已广泛应用于食品添加剂和药物的原料领域<sup>[17]</sup>。其内酯形式-葡萄糖内酯,在治疗痤疮方面表现出显著的疗效<sup>[18]</sup>。多羟基酸类化合物以其较低刺激性,展示出优越的应用前景。这类化合物不仅具有抗氧化性质,在抗紫外线和保湿方面均表现出显著的效果<sup>[19]</sup>。未来的研究有必要关注多羟基酸在细胞保护、抗炎和调节皮肤屏障功能中的潜力,这将为其在生物医药和化妆品领域的广泛应用提供坚实的基础。化合物 3 的细胞毒活性测试显示出其对 HepG2 细胞中其具有显著的抑制效果, IC<sub>50</sub> 值为 13.11  $\mu$ mol/L; 化合物 3 对 HeLa 细胞则表现出中等水平的抑制活性, IC<sub>50</sub> 值为 25.04  $\mu$ mol/L。本研究不仅揭示了 *Streptomyces* sp. P325 发酵液中的化学成分,而且评估了这 6 个化合物针对 HepG2 和 HeLa 细胞的细胞毒活性,为该菌株资源的深入开发和利用奠定了理论基础。

## 参考文献

- 1 Alam K, Mazumder A, Sikdar S, et al. *Streptomyces*: The biofactory of secondary metabolites[J]. *Front*

- Microbiol,2022,13:968053.
- 2 Genilloud O.Actinomycetes:still a source of novel antibiotics[J].Nat Prod Rep,2017,34:1203-1232.
  - 3 Laskaris P,Karagouni AD.*Streptomyces*,Greek habitats and novel pharmaceuticals:a promising challenge[J].Microbiol Res,2021,12:840-846.
  - 4 Yang H,Liu K,Jin S,et al.Design,synthesis and biological evaluation of a halogenated phenazine-erythromycin conjugate prodrug for antibacterial applications[J].Org Biomol Chem,2021,19:1483-1487.
  - 5 Olano C,Méndez C,Salas JA.Antitumor compounds from actinomycetes:from gene clusters to new derivatives by combinatorial biosynthesis[J].Nat Prod Rep,2009,26:628-660.
  - 6 Nelson ML,Levy SB.The history of the tetracyclines[J].Ann N Y Acad Sci,2011,1241(1):17-32.
  - 7 Burg RW,Miller BM,Baker EE,et al.Avermectins,new family of potent anthelmintic agents:producing organism and fermentation[J].Antimicrob Agents Chemother,1979,15:361-367.
  - 8 Lai ZZ.Studies on the secondary metabolites encoded by two streptomyces strains[D].Guangzhou:Guangzhou Medical University(广州医科大学),2017.
  - 9 Gu JY.The studying on the antitumor active components of marine *Streptomyces albogriseolus* A2002[D].Shandong:Ocean University of China(中国海洋大学),2004.
  - 10 Wang R,Guo ZK,Cheng F,et al.Study on the chemical components produced by the marine *Streptomyces* sp. rssa1 from the South China Sea[J].Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2022,34:975-980.
  - 11 Zhang BY,Tang Y,Guo Z,et al.Secondary metabolites from a soil-derived *Streptomyces* sp. CPGC 203679[J].Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2022,34:960-966.
  - 12 He JB,Wang Y,Kang DW,et al.Three new acylamide compounds from *Streptomyces plumbidurans*[J].J Yunnan Univ:Nat Sci(云南大学学报:自科版),2023,45:180-185.
  - 13 Masquelin T,Hengartner U,Streith J.Naphthopyranquinone antibiotics:novel enantioselective syntheses of frenolicin B and some of its stereoisomers[J].Helv Chim Acta,1997,80:43-58.
  - 14 Ma J,Lei H,Chen X,et al.New anti-inflammatory metabolites produced by *Streptomyces violaceoruber* isolated from *Equus burchelli* feces[J].J Antibiot,2017,70:991-994.
  - 15 Ye LH,Yang XS,Ma L,et al.Non-diterpenoid constituents from *Isodon eriocalyx* distributed in Guizhou province[J].Chin Pharm J(中国药学杂志),2010,45:571-574.
  - 16 Tan SP,Cho KH,Nafiah MA.A leaf wax and small metabolites from the leaves of *Alphonsea cylindrica*[J].Chem Nat Compd,2023,59:167-169.

- 17 Canete-Rodriguez AM,Santos-Duenas IM,Jimenez-Hornero JE,et al.Gluconic acid:properties,production methods and applications-an excellent opportunity for agro-industrial by-products and waste bio-valorization[J].Process Biochem,2016,51:1891-1903.
- 18 Kantikosum K,Chongpison Y,Chottawornsak N,et al.The efficacy of glycolic acid,salicylic acid,gluconolactone,and licochalcone A combined with 0.1% adapalene vs adapalene monotherapy in mild-to-moderate acne vulgaris:a double-blinded within-person comparative study[J].Clin Cosmet Investig Dermatol,2019,12:151-161.
- 19 Audina M.A review on anti-aging properties of polyhydroxy acid[J].World J Pharm Res,2021,10:137-141.

收稿日期: 2024-05-23      接受日期:

基金项目: 云南省基础研究专项面上项目(202301AT070056); 云南省科技厅基础研究(202401AT070029), 云南省科技厅科学研究基金项目(2023J0832); 昆明学院人才引进项目(YJL2217)

\*通信作者 E-mail: wangying@kmu.edu.cn, hejiangbo@kmu.edu.cn