



真菌 *Talaromyces stipitatus* WH4-2 中的抗菌活性成分

姜薇^{1,3*}, 张哲², 单体状¹, 赵梦冉¹, 缪莉¹

¹扬州大学海洋科学与技术研究所, 江苏 扬州 225127

²哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076

³温州医科大学药学院, 浙江 温州 325035

摘要:【目的】对真菌菌株 WH4-2 进行鉴定并分离鉴定具有抗菌活性的天然产物。【方法】综合菌落形态和 ITS 全序列分析, 鉴定菌株种属。以抗菌活性分析为导向对其中的活性组分进行分离纯化, 波谱分析鉴定结构。采用微量稀释法对化合物进行活性复筛, 得最小抑菌浓度 MIC 值。【结果】真菌菌株 WH4-2 鉴定为 *Talaromyces stipitatus*。从其土豆发酵液中分离鉴定化合物 **1** (5*S*-arugosin K)、**2** (5*R*-arugosin K)、**3** (5*S*-arugosin M)、**4** (5*R*-arugosin M) 和 **5** (Chrysophanol), 其中 **1–4** 为含异戊烯基的 dibenzo[b,e]oxepinone 类化合物, **5** 为蒽醌类化合物。**1–4** 对 *Staphylococcus aureus* ATCC43300、ATCC33591, *Enterococcus faecium* ATCC35667 和 *Bacillus subtilis* ATCC6633 具有抗菌活性。【结论】含异戊烯基的 Dibenzo[b,e]oxepinone 类化合物是真菌 *T. stipitatus* 中抗菌活性成分。

关键词: 抗菌活性, *Talaromyces stipitatus*, isopentenyl dibenzo[b,e]oxepinone

真菌 *Talaromyces stipitatus* 的次生代谢产物研究目前只报道 4 篇。早在 1982 年 Lynn 等首次从 *T. stipitatus* 中获得具有螺缩酮结构的 Talaromycins A 和 B, 发现其可阻断钾离子外流, 进而导致肌功能障碍^[1]。时隔 10 多年后从该种中发现了柄状青霉酸, 同时探讨其生物合成途径^[2]。Zang 等从该种中发现聚酮类化合物 Talaroenamines A–E, 其中 Talaroenamines D 对氯喹耐受的 *Plasmodium*

falciparum 疟原虫具有显著的抗疟活性^[3], 作者在进一步研究工作中, 还分离得到聚酮类化合物 9a-epi-bacillisporin E, Bacillisporins A 和 Bacillisporins F–H, 其中 Bacillisporin A 可显著抑制革兰氏阳性菌生长, Bacillisporin H 可抑制 Hela 肿瘤细胞和金黄色葡萄球菌生长^[4]。

含异戊烯基的 Dibenzo[b,e]oxepinone 类化合物(6-7-6 三环系统)的天然产物有 17 个, 绝大多数

基金项目: 江苏省高校自然科学基金(15KJB170020); 浙江省药学重中之重一级学科开放基金(201707); 扬州大学培育基金(2017CXJ050)

*通信作者。Tel: +86-514-89795882; E-mail: 824343063@qq.com

收稿日期: 2018-02-01; 修回日期: 2018-04-11; 网络出版日期: 2018-05-31

分离自不同种的真菌, 如 Arugosins G-H 分离自真菌 *Emericella nidulans* var. *acristata*^[5], Arugosin K-N 源自 *Talaromyces flavus*^[6], Cephalanones D-E 从 *Graphiopsis chlorocephala* 中获得^[7]。此类化合物生物活性研究报道较少, 抗菌方面的 Arugosins H 对 *Mycotypha microspora* 和 *Chlorella fusca* 有抑制活性、Arugosins A 和 B 的混合物对 *Bacillus megaterium* 有抗菌活性^[5]。抗肿瘤方面的 Arugosins A 和 B 的混合物在浓度 10 $\mu\text{g/mL}$ 时对多株肿瘤细胞表现出中等强度抑制活性^[5]。

本课题组对威海附近海域的近海底泥进行了真菌分离, 从中筛选出一株具有抗菌活性的真菌 WH4-2 (*T. stipitatus*), 发现含异戊烯基的 dibenzo [b,e] oxepinone 类化合物是其抗菌成分。本文对该菌株的种属鉴定、化合物提取分离、结构鉴定及抗菌活性测试工作进行报道。

1 材料和方法

1.1 材料

主要仪器与试剂: Bruker AV-600 型核磁共振仪测定; Autopol III-S2 型自动旋光仪测定; 分析型液相色谱仪为 HITACHI L-2000 配 L-2455 DAD 检测器, 色谱柱为 Apollo RP-18 (5 μm , 4.6 mm \times 250 mm); 半制备高效液相色谱仪为 LabTech LC600 配 UV600 紫外检测器, 色谱柱用 Kromasil RP-18 (10 mm \times 250 mm); 上海新科 318-MC 高速双波长酶标仪; 色谱用硅胶(200–300 目)和 ODS (50 μm) 分别购于阿拉丁和 YMC 公司; 分析级和色谱级的甲醇、乙腈、丙酮、乙酸乙酯、氯仿、石油醚均购于国药集团化学试剂有限公司。

菌株来源: 真菌 WH4-2 菌株分离自山东威海附近海域的近海底泥(采样时间为 2015 年 10 月),

标本现存放于扬州大学海洋科学与技术研究所。

1.2 菌株培养与规模化发酵

从 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱中取出保种的菌株, 放置至室温, 夹出含有菌丝的菌块, 贴放于 PDA (土豆 200 g/L, 葡萄糖 20 g/L、海盐 30 g/L 和琼脂 18 g/L) 培养基上, $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 倒置培养 3–5 d, 获得纯菌落。250 mL 锥形瓶中装入 100 mL 的 PDB 液体培养基, $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高温灭菌, 接种适量复苏好的菌落, 摇床 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、120 r/min 振荡培养 3 d, 获得种子液。1000 mL 锥形瓶中装入 400 mL 的 PDB 液体培养基, 高温灭菌, 按 1:40 的接种量加入种子液, 接种 100 瓶, $28\text{ }^{\circ}\text{C}$, 静置培养 40 d, 获得发酵液约 40 L。

1.3 菌种鉴定

在 PDA 固体培养基上, 菌落正面呈黄白色, 质地絮状, 菌丝体短, 边缘呈轮纹状(图 1)。菌丝形态显微结构见图 2-A, 环境扫描电子显微镜照片见图 2-B, 在扫描电镜下观察菌丝直径约 2 μm , 分生孢子单链排列, 链短, 呈卵圆形, 约 2 $\mu\text{m}\times$ 4 μm 。测定菌的 ITS 序列(生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序分析), 序列进行 BLAST 检索, 发现菌株 WH4-2 与 *Talaromyces stipitatus* AC2401 的相似性达 99%, 选取 12 株相似率较高的菌株, 应用 MEGA 5 软件, 分析并构建系统进化树(图 3), 并



图 1. 菌株 WH4-2 的菌落特征图

Figure 1. Colonial morphology of strain WH4-2.

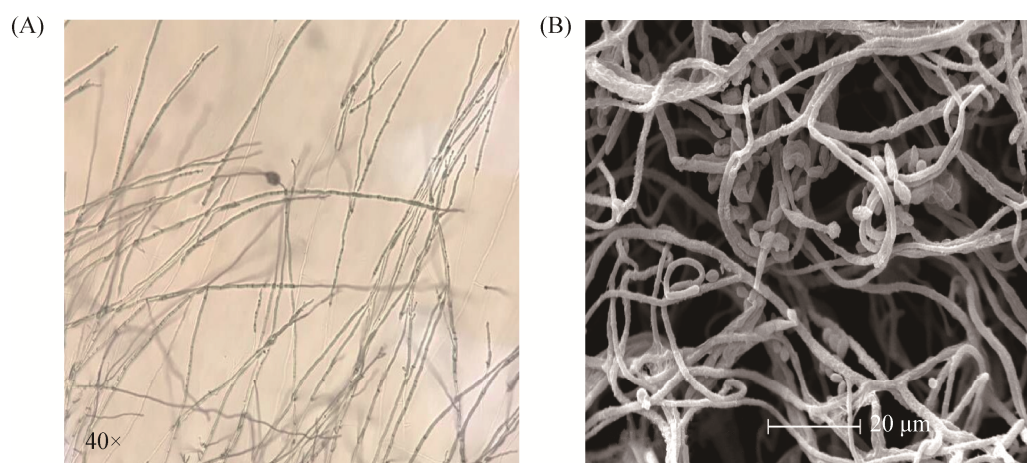


图 2. 菌株 WH4-2 菌丝形态显微结构图(A)和环境扫描电子显微镜照片(B)

Figure 2. The mycelium microstructure (A) and enviromental scanning electron microscope (B) photograph of strain WH4-2.

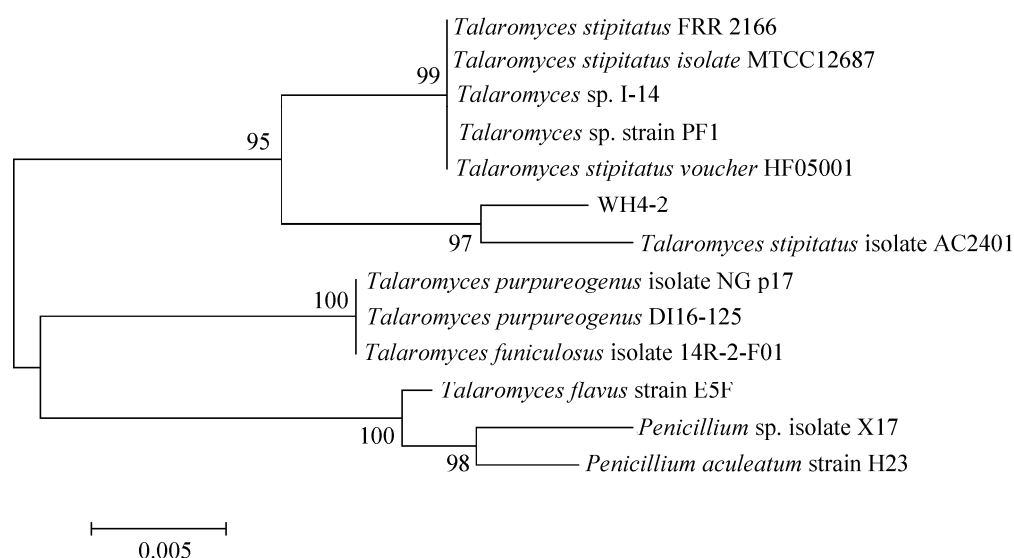


图 3. 菌株 WH4-2 的系统发育树状图

Figure 3. Phylogenetic tree based on ITS similarity of strain WH4-2 and reference strains. Numbers at branching points that indicated the bootstrap values; Bar 0.005 at the bottom was the sequence digergence.

进行了 1000 次 bootstraps 检验, 发现菌株 WH4-2 与 *Talaromyces stipitatus* 聚为一枝, 结合其形态特征和分离鉴定的化合物结构类型, 鉴定菌株 WH4-2 为 *Talaromyces stipitatus*, GenBank 序列号

为 MG877637。

1.4 抗菌活性测试

测试菌种: *Staphylococcus aureus* ATCC43300, *S. aureus* ATCC33591, *S. aureus*

ATCC25923, *S. aureus* ATCC29213, *Enterococcus faecalis* ATCC51299, *E. faecium* ATCC35667, *Escherichia coli* ATCC25922, *Bacillus subtilis* ATCC6633。

测试菌 LB 培养基(g/L): 酵母膏 5.0, 胰蛋白胨 10.0, NaCl 10.0, 纯水 1 L。固体培养基加入 18 g 琼脂粉。

滤纸片法^[8]。将灭菌后的 LB 固体培养基倒入培养皿中(直径为 90 mm), 移取已配好的菌液加入平皿中, 用涂布器将菌液涂布均匀, 用甲醇将样品配制成浓度为 50 mg/mL 的溶液, 吸取 3 μ L (即 150 μ g/片)滴加到直径为 6 mm 滤纸片上, 挥干溶剂, 将加药面贴服于培养基上, 每个样品做 2 组平行, 将贴好滤纸片的培养皿封口后置于 28 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中倒置培养 18–24 h, 测量抑菌圈直径。

微量稀释法^[9]。将备好的细菌种子培养液稀释为原来浓度的 1 : 800。取 96 孔微量稀释板, 在板的第 1 排加 198 μ L 菌液后加 2 μ L 样品, 其他孔加 100 μ L 菌液, 吸 100 μ L 第 1 排中混匀的样品及菌液, 依次往下加, 作 2 倍递减浓度稀释, 最后每个孔补齐 200 μ L, 每个浓度设 3 个平行。设氨苄青霉素钠和万古霉素阳性对照, 培养基空白对照组以及 DMSO 阴性对照, 置 28 $^{\circ}$ C 培养 18–24 h, 用酶标仪 600 nm 测吸光度, 获得抑制率公式(1)

和最小抑菌浓度(MIC)。

$$\text{抑制率(\%)} = \left(1 - \frac{\text{实验组OD值} - \text{空白组OD值}}{\text{阴性组OD值} - \text{空白组OD值}}\right) \times 100\% \quad \text{公式(1)}$$

1.5 活性导向分离

收集菌株 PDB 培养液 1 L, 用含有 5%丙酮的乙酸乙酯液萃取 2 次, 收集乙酸乙酯, 减压浓缩得粗提物 375 mg。运用滤纸片法, 发现粗提物在浓度 150 μ g/片对多株测试菌有显著抑菌圈(表 1)。对该菌株进行规模化发酵, 发酵液过滤, 收集培养液 40 L, 用含有 5%丙酮的乙酸乙酯液萃取 2 次, 收集乙酸乙酯, 减压浓缩得总浸膏 18 g。浸膏经硅胶减压柱色谱, 以氯仿/甲醇系统梯度洗脱, 得到 12 个组分, 对每个组分进行滤纸片法抗菌活性分析, 其中二氯甲烷洗脱下来的 Fr.A (1.5 g)对多株测试菌表现出强抑制活性(表 1)。Fr.A 经硅胶常压柱色谱, 以石油醚/乙酸乙酯梯度洗脱, 得到 5 个组分, 其中石油醚 : 乙酸乙酯=30 : 1 洗脱下来的 Fr.A-1 (400 mg)为抗菌活性组分(表 1)。Fr.A-1 经半制备 HPLC 纯化, 流动相甲醇 : 水=90 : 10 得到化合物 1 和 2 (5.0 mg)、3 和 4 (7.2 mg)以及 5 (20.0 mg)。

1.6 化合物活性复筛

运用微量稀释法对化合物 1–5 进行抗菌活性复筛。

表 1. 样品的抑菌圈(150 μ g/片, mm)

Table 1. The diameter (mm) of antibacterial rings of the samples (150 μ g /disk)

Sample No.	<i>S. aureus</i> ATCC43300	<i>S. aureus</i> ATCC33591	<i>S. aureus</i> ATCC25923	<i>S. aureus</i> ATCC29213	<i>E. faecalis</i> ATCC51299	<i>E. faecium</i> ATCC35667	<i>E. coli</i> ATCC25922	<i>B. subtilis</i> ATCC6633
T	15	10	—	—	6.5	17	—	15
Fr.A	12	10	—	7	—	19	—	17
Fr.A-1	10	9	—	10	—	19	—	10

The diameter of disk was 6 mm.

2 结果和分析

2.1 化合物的结构鉴定

化合物 **1** 和 **2** 的混合物为黄色粉末，二氯甲烷和甲醇均可溶。HRESI-MS 给出准分子离子 m/z 377.1376 $[M+Na]^+$ (计算值为: 377.1359)，确定其分子式为 $C_{21}H_{22}O_5$ ，不饱和度为 11。 1H NMR, ^{13}C NMR 结合 HSQC 谱提示 21 个碳由 10 个季碳，6 个 CH，1 个 CH_2 和 4 个 CH_3 组成。 1H NMR 从低场往高场，显示出 2 个 OH 活泼质子 δ_H 13.63 (1H, s, 10-OH) 和 δ_H 11.46 (1H, s, 14-OH); 4 个芳质子 δ_H 7.34 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-8), 6.94 (1H, s, H-3), 6.87 (1H, s, H-15), 6.57 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-7), 芳质子 δ_H 7.34 和 δ_H 6.57 相互耦合，提示这 2 个芳质子处于相邻位置；2 个烯质子或连氧质子 δ_H 5.65 (1H, s, H-5) 和 5.32 (1H, s, H-2'); 1 个甲氧基 δ_H 3.57 (3H, s); 1 个亚甲基 δ_H 3.33 (2H, d, $J=7.2$, H-1'); 3 个甲基 δ_H 2.38 (3H, s, H-1), 1.77 (3H, s, H-4') 和 1.73 (3H, s, H-5')。进一步通过 2D NMR 解析并比对文献，确定化合物 **1** 和 **2** 的平面结构为 arugosin K (图 4)， 1H NMR 数据归属如下(表 2)。化合物 **1**, **2** 的 ^{13}C NMR 数据如下： ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ_C 197.6 (C-12, C), 162.9 (C-10, C), 162.5 (C-14, C), 154.7 (C-6, C), 147.3 (C-2, C), 138.6 (C-4, C), 137.8 (C-8, CH), 133.4 (C-3', C), 125.0 (C-9, C), 121.9 (C-2', CH), 119.7 (C-15, CH), 117.0 (C-3, CH), 117.0 (C-13, C), 113.8 (C-9, C), 109.4 (C-7, CH), 103.5 (C-5, CH), 57.1 (5- OCH_3), 28.0 (C-1', CH_2), 26.0 (C-4', CH_3), 22.0 (C-1, CH_3), 17.9 (C-5', CH_3)。由于 C-5 为手性碳，需要进一步确定其立体构型，化合物 **1** 和 **2** 的混合物 $[\alpha]_D^{20}$ (c 0.50, $CHCl_3$)，推测其是外消旋体。查阅文献[6]，暂鉴定化合物 **1** 为 5*S*-arugosin K，化合物 **2** 为 5*R*-arugosin K。

化合物 **3** 和 **4** 的混合物为黄色粉末，二氯甲

烷和甲醇均可溶。 1H NMR 谱图显示与化合物 **1**、**2** 极为相似，除了低场区(δ_H 14-11)活泼质子化学位移差别相对较大外，其他信号基本一致，推测是 **1**、**2** 的结构异构体。经文献比对[6]，确定 **3** 和 **4** 的平面结构为 Arugosin M (图 4)。**3** 和 **4** 的混合物 $[\alpha]_D^{20}$ (c 0.50, $CHCl_3$)，暂鉴定化合物 **3** 为 5*S*-arugosin M，化合物 **4** 为 5*R*-arugosin M[6]。化合物 **3**、**4** 的 1H NMR 数据归属如表 2 所示。

化合物 **5** 为黄色粉末，二氯甲烷和甲醇均可溶。 1H NMR 中显示 δ_H 7.0–8.0 间有 5 个芳质子， δ_H 12.0 附近有 2 个羟基活泼质子，此外 δ_H 2.47 (3H, s) 是芳环上甲基，与前面化合物比较，**5** 缺乏 **1–4** 中间环上的次甲基质子(δ_H 5.65, 5.71)，推测该化合物为普通蒽醌类化合物，醌核上分别被 2 个羟基和 1 个甲基取代，芳质子 δ_H 7.11 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-2) 和 7.66 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-4) 提示醌的一个苯环是间位取代，醌的另一个苯环为单取代。具体取代位置，通过比对文献[10]，确定 **5** 为 Chrysophanol (图 4)。化合物 **5** 的 1H NMR 数据归属见表 2。

2.2 抗菌活性

抗菌活性按微量稀释法进行，MIC 数值见表 3。由于化合物 **1–5** 对测试菌 *S. aureus* ATCC25923、*S. aureus* ATCC29213、*E. coli* ATCC25922 和 *E. faecalis* ATCC51299 的 MIC 数值均 $>100 \mu g/mL$ ，这 4 株测试菌结果未列于表 3 中。化合物 **1** 和 **2** 的混合物对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 *S. aureus* ATCC43300、屎肠球菌 *E. faecium* ATCC35667 和枯草芽孢杆菌 *B. subtilis* ATCC6633 的最小抑制浓度均为 $25 \mu g/mL$ ，对 *S. aureus* ATCC33591 无活性。化合物 **3** 和 **4** 的混合物对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 *S. aureus* ATCC33591 和 *E. faecium* ATCC35667 的最小抑制浓度为 $12.5 \mu g/mL$ ，对

S. aureus ATCC43300 和 *B. subtilis* ATCC6633 的 *faecium* ATCC35667 表现出弱活性, MIC 为最小抑制浓度为 25 $\mu\text{g/mL}$ 。化合物 **5** 仅对 *E.* 50 $\mu\text{g/mL}$ 。

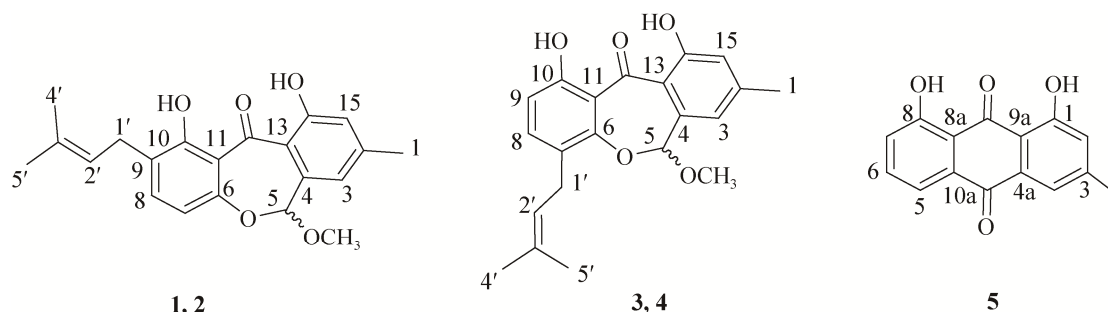


图 4. 化合物 1-5 结构图

Figure 4. Structures of compounds 1-5.

表 2. 化合物 1-5 的 ^1H NMR 数据(CDCl_3 , 600 MHz, J in Hz)

Table 2. ^1H NMR data of compounds 1-5 (CDCl_3 , 600 MHz, J in Hz)

Position	1, 2	3, 4	5
1	2.38 (3H, s)	2.39 (3H, s)	
2			7.11 (1H, d, $J=1.9$)
3	6.94 (1H, s)	6.97 (1H, s)	
3-CH ₃			2.47 (3H, s)
4			7.66 (1H, d, $J=1.9$)
5	5.65 (1H, s)	5.71 (1H, s)	7.68 (1H, d, $J=8.5$)
6			7.83 (1H, dd, $J=8.5, 8.5$)
7	6.57 (1H, d, $J=8.2$)		7.29 (1H, d, $J=8.5$)
8	7.34 (1H, d, $J=8.2$)	7.35 (1H, d, $J=8.2$)	
9		6.70 (1H, d, $J=8.2$)	
15	6.87 (1H, s)	6.87 (1H, s)	12.13 (1H, s)
1'	3.33 (2H, d, $J=7.2$)	3.33 (2H, m)	
2'	5.32 (1H, brt, $J=7.2$)	5.24 (1H, m)	
4'	1.77 (3H, s)	1.73 (3H, s)	
5'	1.73 (3H, s)	1.70 (3H, s)	
5-OCH ₃	3.57 (3H, s)	3.57 (3H, s)	
1-OH			12.02 (1H, s)
8-OH			12.13 (1H, s)
10-OH	13.63 (1H, s)	13.15 (1H, s)	
14-OH	11.46 (1H, s)	11.21 (1H, s)	

表 3. 化合物 1-5 的抗菌活性

Table 3. Antibacterial activities of compounds 1-5 [MIC ($\mu\text{g/mL}$)]

Compound No.	<i>S. aureus</i> ATCC43300	<i>S. aureus</i> ATCC33591	<i>E. faecium</i> ATCC35667	<i>B. subtilis</i> ATCC6633
1 and 2	25	>100	25	25
3 and 4	25	12.5	12.5	25
5	>100	>100	50	>100
Ampicillin sodium	25	25	<1.56	<1.56
Vancomycin	<1.56	<1.56	<1.56	<1.56

3 讨论

含异戊烯基的 dibenzo[b,e]oxepinone 类化合物的生源合成途径是由 9,10-蒽醌发生氧化裂解,还原以及异戊烯基化衍生而来,异戊烯基多以 C-C 键直接连在苯环上,也有部分异戊烯基通过醚键与苯环相连^[11-12]。此类化合物分离难度较大,多以结构和光学异构的形式混合存在,其中有些光学异构体可以运用手性柱进行拆分,而互变异构体只能以混合形态存在,如 Arugosins A 和 B^[5], 化合物 CAS: 160585-91-1 和 Arugosin N^[7]。

本实验采用抗菌活性导向法对真菌 *T. stipitatus* 中的抗菌活性成分开展分离鉴定和活性分析工作。1-4 为含异戊烯基的 dibenzo[b,e] oxepinone 类化合物,为光学异构体(5*R* 和 5*S*)混合物,5 是 9,10-蒽醌类化合物。体外抗菌实验发现 1-4 对多株测试菌均有抑制活性,3 和 4 的外消旋体抗菌活性普遍优于 1 和 2 的外消旋体,5 对所有测试菌几乎无抑制活性。构效关系分析,9,10-蒽醌(5)经氧化裂解,还原以及异戊烯基化形成含异戊烯基的 dibenzo[b,e]oxepinone 类化合物(1-4),其抗菌活性显著增强,推测中间的氧杂蒽酮是其活性中心。苯环上异戊烯基取代在羟基的对位(3 和 4)其抗菌活性要优于异戊烯基取代在羟基的邻位(1 和 2)。1-4 光学纯化合物抗菌活性如何? 互为对映异构体的两个单体化合物其抗菌活性是协同作用还是拮抗作用? 由于样品量的原因,未能完成手性拆分。化合物 1-5 对 *S. aureus* ATCC292 和 *E. faecalis* ATCC51299 未表现出抑制活性,但粗提物可抑制这两株病原菌,分析发酵产物中可能还存在其他抗菌物质有待进一步发现,或者可能是化合物间存在协同效应。

本研究从真菌 *T. stipitatus* 中分离得到含异戊烯基的 dibenzo[b,e]oxepinone 类化合物,丰富了该种的化合物结构类型。发现化合物 1-4 对多株测试菌有不同程度抑制活性。实验结果为抗菌药物的研发提供了先导化合物,也为后继抗菌药物的联合用药研究提供了思路。

参考文献

- [1] Lynn DG, Phillips NJ, Hutton WC, Shabanowitz J, Fennell DI, Cole RJ. Talaromycins: application of homonuclear spin correlation maps to structure assignment. *Journal of the American Chemical Society*, 1982, 104(25): 7319-7322.
- [2] O'Sullivan MC, Schwab JM. Verification of the mechanism of oxidative ring expansion in the biosynthesis of stipitatic acid by *Talaromyces stipitatus*. *Bioorganic Chemistry*, 1995, 23(2): 131-143.
- [3] Zang Y, Genta-Jouve G, Sun TA, Li XW, Didier B, Mann S, Mouray E, Larsen AK, Escargueil AE, Nay B, Prado S. Unexpected talaroenamine derivatives and an undescribed polyester from the fungus *Talaromyces stipitatus* ATCC10500. *Phytochemistry*, 2015, 119: 70-75.
- [4] Zang Y, Genta-Jouve G, Escargueil AE, Larsen AK, Guedon L, Nay B, Prado S. Antimicrobial oligophenalenone dimers from the soil fungus *Talaromyces stipitatus*. *Journal of Natural Products*, 2016, 79(12): 2991-2996.
- [5] Kralj A, Kehraus S, Krick A, Eguereva E, Kelter G, Maurer M, Wortmann A, Fiebig HH, König GM. Arugosins G and H: Prenylated polyketides from the marine-derived fungus *Emericella nidulans* var. *acristata*. *Journal of Natural Products*, 2006, 69(7): 995-1000.
- [6] Asai T, Otsuki S, Sakurai H, Yamashita K, Ozeki T, Oshima Y. Benzophenones from an endophytic fungus, *Graphiopsis chlorocephala*, from *Paeonia lactiflora* cultivated in the presence of an NAD⁺-dependent HDAC inhibitor. *Organic Letters*, 2013, 15(8): 2058-2061.
- [7] Sun TY, Kuang RQ, Chen GD, Qin SY, Wang CX, Hu D, Wu B, Liu XZ, Yao XS, Gao H. Three pairs of new isopentenyl dibenzo [b, e] oxepinone enantiomers from *Talaromyces flavus*, a wetland soil-derived fungus. *Molecules*, 2016, 21(9): 1184-1195.
- [8] Li CQ, Zhao L, Kang WY. Antimicrobial activity of *Psoralea corylifolia* L. and different processed products. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2012, 34(1): 109-112. (in Chinese) 李昌勤, 赵琳, 康文艺. 补骨脂生品及炮制品体外抑菌活性研究. *中成药*, 2012, 34(1): 109-112.

- [9] Appendino G, Gibbons S, Giana A, Pagani A, Grassi G, Stavri M, Smith E, Rahman MM. Antibacterial cannabinoids from *Cannabis sativa*: a structure-activity study. *Journal of Natural Products*, 2008, 71(8): 1427–1430.
- [10] Mei QX, Chen XL, Xia X, Fang ZJ, Zhou HB, Gao YQ, Dai WB, Jiang RW. Isolation and chemotaxonomic significance of chemical constituents from *Rubus parvifolius*. *Chinese Herbal Medicines*, 2016, 8(1): 75–79.
- [11] Pockrandt D, Ludwig L, Fan AL, König GM, Li SM. New insights into the biosynthesis of prenylated xanthenes: Xptb from *Aspergillus nidulans* catalyses an O-prenylation of xanthenes. *ChemBioChem*, 2012, 13(18): 2764–2771.
- [12] Simpson TJ. Genetic and biosynthetic studies of the fungal prenylated xanthone shamixanthone and related metabolites in *Aspergillus* spp. revisited. *ChemBioChem*, 2012, 13(11): 1680–1688.

Antibacterial compounds from fungus *Talaromyces stipitatus* WH4-2

Wei Jiang^{1,3*}, Zhe Zhang², Tizhuang Shan¹, Mengran Zhao¹, Li Miao¹

¹ Marine Science & Technology Institute, Yangzhou University, Yangzhou 225127, Jiangsu Province, China

² Research Center of Life and Environment Science, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, Heilongjiang Province, China

³ School of Pharmacy, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, Zhejiang Province, China

Abstract: [Objective] We isolated and identified the natural products with antibacterial activity from fungal strain WH4-2. [Methods] We identified strain WH4-2 by colonial morphological traits and ITS sequence analysis, used activity-oriented method to isolate secondary metabolites, elucidated structures by spectrographic analysis, adopted micro-dilution method to assay antibacterial activity. [Results] We identified strain WH4-2 as *Talaromyces stipitatus*. Activity-oriented separation resulted in the isolation of compound **1** (5*S*-arugosin K), **2** (5*R*-arugosin K), **3** (5*S*-arugosin M), **4** (5*R*-arugosin M) and **5** (Chrysophanol). Compounds **1** through **4** were elucidated as isopentenyl dibenzo[b,e]oxepinone, compound **5** was anthraquinone. Compounds **1** through **4** showed potent antibacterial activities against *S. aureus* ATCC43300, ATCC33591, *E. faecium* ATCC35667 and *B. subtilis* ATCC6633. [Conclusion] The antibacterial compounds isolated from fungus *T. stipitatus* were isopentenyl dibenzo[b,e]oxepinone enantiomers.

Keywords: antibacterial activities, *Talaromyces stipitatus*, isopentenyl dibenzo[b,e]oxepinone

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the Natural Science Foundation for College and University of Jiangsu Province (15KJB170020), by the Opening Project of Zhejiang Provincial Top Key Discipline of Pharmaceutical Sciences (201707) and by the Incubation Foundation of Yangzhou University (2017CXJ050)

*Corresponding author. Tel: +86-514-89795882; E-mail: 824343063@qq.com

Received: 1 February 2018; Revised: 11 April 2018; Published online: 31 May 2018