

研究报告

## 雷公藤植物内生 *Micromonospora* sp. M66 生产的一组吲哚生物碱

谢萌<sup>1</sup> 熊子君<sup>2</sup> 赵立兴<sup>2</sup> 邓子新<sup>1</sup> 林双君<sup>1\*</sup>

(1. 上海交通大学 微生物代谢国家重点实验室 上海 200240)

(2. 云南大学 云南省微生物研究所 云南 昆明 650091)

**摘要:**【目的】研究稀有放线菌——雷公藤内生小单孢菌(*Micromonospora* sp. M66)的次级代谢产物,为微生物药物或农用生物制剂开发提供结构多样的化合物资源。【方法】利用薄层层析、正(反)相硅胶柱层析、凝胶层析、液相色谱等技术对 M66 菌株中次级代谢产物进行分离纯化,利用波谱技术对化合物进行结构鉴定。【结果】最终分离纯化了 7 个单体化合物,结合质谱与核磁共振技术对这 7 个化合物进行了结构解析和鉴定,它们属于一组吲哚生物碱。化合物 2 是重要的植物生长调节剂,化合物 3 对淋巴细胞性白血病细胞 P388、枯草芽孢杆菌和酿酒酵母的增殖有抑制作用,化合物 6 对金黄色葡萄球菌有很好的抑制作用。【结论】化合物 3-7 首次从小单孢菌中鉴定出来,表明该小单孢菌具有较强的利用吲哚或色氨酸合成次级代谢产物的能力和挖掘生物碱类药物的潜力。

**关键词:** 放线菌,小单孢菌 M66,次级代谢产物,吲哚生物碱,色氨酸

## Indole alkaloids from endophytic *Micromonospora* sp. M66 of *Tripterygium wilfordii* Hook. f.

XIE Meng<sup>1</sup> XIONG Zi-Jun<sup>2</sup> ZHAO Li-Xing<sup>2</sup> DENG Zi-Xin<sup>1</sup> LIN Shuang-Jun<sup>1\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Microbial Metabolism, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

(2. Yunnan Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming, Yunnan 650091, China)

**Abstract:** [Objective] We studied secondary metabolites of endophytic *Micromonospora* sp. M66 of *Tripterygium wilfordii* Hook. f., a rare actinomycete, provide structurally diverse compounds for microbial drugs and pesticides development. [Methods] Combining thin-layer chromatography, silica gel column chromatography, gel chromatography and semi-preparative high-performance liquid chromatography, we purified the secondary metabolites from *Micromonospora* sp. M66. By using the spectroscopic techniques, we elucidated their chemical structures. [Results] Seven compounds were purified and their chemical structures were elucidated through spectroscopic analysis including mass spectroscopies and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopies. These 7 compounds were a set

**Foundation item:** The Key Project of Chinese Ministry of Education (No. 311018)

\*Corresponding author: Tel/Fax: 86-21-34206722; E-mail: linsj@sjtu.edu.cn

Received: January 30, 2015; Accepted: February 27, 2015; Published online (www.cnki.net): June 12, 2015

基金项目: 教育部重大科学研究项目(No. 311018)

\*通讯作者: Tel/Fax: 86-21-34206722; E-mail: linsj@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2015-01-30; 接受日期: 2015-02-27; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-06-12

of indole alkaloids derived from tryptophan or indole. Compound **2** was an important plant growth regulator. Compound **3** showed a notable growth inhibition of lymphocytic leukemia cell P388, *Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisiae*, whereas compound **6** exhibited a significant inhibiting activity against *Staphylococcus aureus*. **[Conclusion]** Compounds from the bacteria of the genus of *Micromonospora* produce indole alkaloid-like secondary metabolites by using indole or tryptophan as a starting material and have potential as new alkaloid-like drugs.

**Keywords:** Actinomycetes, *Micromonospora* sp., Secondary metabolites, Indole alkaloids, Tryptophan

微生物次级代谢产物作为天然产物的重要组成部分,在医药、抗生素和农用药物的研究与开发中发挥着重要作用。以链霉菌为主体的放线菌是微生物药物的主要生产者,然而,近年来从链霉菌中筛选和分离鉴定的新化合物越来越少,严重制约了微生物药物研究。因此,人们逐渐把目光投向了以小单孢菌为代表的稀有放线菌。小单孢菌科作为稀有放线菌中产生活性物质最多的一个科,产生的活性化合物占到稀有放线菌所产生化合物总量的约40%,至今已有750多个生物活性化合物成功地从小单孢菌中分离鉴定出来,这些次级代谢产物的生物活性十分多样,包括抗细菌活性、抗真菌活性和抗肿瘤活性等<sup>[1]</sup>。近二十年来,小单孢菌的次级代谢产物中新抗生素的发现数量已经超越链霉菌,使得其已然成为放线菌中最具生产力的活性天然产物产生菌<sup>[2]</sup>。

小单孢菌产生的生物活性化合物主要是抗生素,包含以下几种类型:氨基糖苷类、大环内酯类、安莎类、蒽环类、多环咕吨酮和醌类、烯二炔类等。(1) 氨基糖苷类:庆大霉素是从小单孢菌中鉴定的第一个氨基糖苷类抗生素,由此拉开了小单孢菌活性物质研究的序幕<sup>[3]</sup>。1970年,Weinstein等发现一株小单孢菌 *Micromonospora zionensis* 能够产生西索米星,它同样属于氨基糖苷类抗生素且化学结构和抗菌谱与庆大霉素类似,但对绿脓杆菌抗性相对更强<sup>[4]</sup>。(2) 大环内酯类:红霉素是临床上经常使用的大环内酯类抗生素,在小单孢菌 *Micromonospora megalomicea* 中分离得到红霉素 B 具有十分重要的意义,因为这是首次从链霉菌之外的微生物中分离得到该类抗生素,有力地证实了小

单孢菌产生抗生素等生物活性物质的巨大潜力<sup>[5]</sup>。

(3) 安莎类:安莎类抗生素分为卤霉素和利福霉素两个亚类,而能够产生这两类抗生素的小单孢菌菌株均已被报道<sup>[6]</sup>。(4) 蒽环类: Micromonomycin 是从小单孢菌中分离得到的蒽环类抗生素,具备较强的抗金黄色葡萄球菌和抗肺炎链球菌活性,对真菌也有一定的杀灭作用<sup>[7]</sup>。另一种报道的蒽环类抗生素 Dynemicins 分离自茶新那小单孢菌 (*Micromonospora chersina*),其抗肿瘤活性很强且毒性较小,具有较好的药物开发前景<sup>[8]</sup>。(5) 多环咕吨酮和醌类:从小单孢菌 *Micromonospora* sp. Tü 6 368. I 分离得到的多环咕吨酮类抗生素 Retymicin 具有很好的抗肿瘤活性,特别是对胃癌细胞和肝癌细胞的生长抑制作用比较明显<sup>[9]</sup>。而醌环类抗生素 Kosinostatin 分离自菌株 *Micromonospora* sp. TP-A0 468,能够抑制21种人类癌细胞的生长<sup>[10]</sup>。(6) 烯二炔类: Calicheamicin 是一种结构新颖的烯二炔类抗生素,最初由 CYANAMID 公司的科学家在1987年分离自棘孢小单孢菌亚种 *Micromonospora echinospora* subsp. *calichensis*,其抗肿瘤活性大约是 Doxorubicin 的4000倍,抗肿瘤疗效明显,经过多年的研究,已在2000年作为药物成功上市<sup>[11]</sup>。

为了获取更多的结构多样的次级代谢产物,本文选取一株稀有放线菌——小单孢菌 M66,以 HPLC-MS 技术指导代谢产物的分离纯化过程,从中分离鉴定了7个吡啶生物碱类次级代谢产物,为新型微生物药物和农业生物制剂开发提供了有益信息。

## 1 材料与方 法

### 1.1 菌株和培养基

菌株 M66 分离自云南特有的药用植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 的根, 经 16S rRNA 基因和形态鉴定为 *Micromonospora* sp., 编号为 M66。Bennet 培养基(g/L)<sup>[12]</sup>; 种子培养基(g/L): 淀粉 20.0, 葡萄糖 5.0, 酵母提取物 5.0, 胰蛋白胨 5.0, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5, CaCO<sub>3</sub> 0.5, pH 7.2; 发酵培养基(g/L): 糊精 35.0, 豆粉 20.0, 葡萄糖 10.0, 胰蛋白胨 10.0, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5, CaCO<sub>3</sub> 1.0, pH 7.2。

### 1.2 主要试剂和仪器

试剂: 丙酮、氯仿、二氯甲烷, 国药集团化学试剂公司; 甲醇、石油醚、乙酸乙酯, 上海凌峰试剂公司; 氘代试剂, Cambridge Isotope Laboratory; HPLC 级试剂, Hipure Chem; 柱层析硅胶、硅胶 GF254 薄层层析高效板, 青岛海洋化工厂; C<sub>18</sub> 反相层析硅胶 (50–75 μm), YMC\*GEL; Sephadex LH-20, GE Healthcare。

仪器: 旋转蒸发仪, Buchi (荷兰); Innova 44 摇床, New Brunswick Scientific (美国); HPLC, LC-MS, Agilent 1260 Infinity (德国); 分析色谱柱 ZORBAX SB-C<sub>18</sub> (5 μm, 4.6 mm×150 mm), Agilent, 半制备色谱柱 ZORBAX ODS (5 μm, 9.4 mm×250 mm), Agilent; 500M 核磁共振仪, Bruker (德国)。

### 1.3 菌株的培养及发酵

将菌种划线接种于 Bennet 平板, 在 30 °C 培养 3 d, 刮取 1 cm<sup>2</sup> 的菌落, 接种于 50 mL 种子培养基, 30 °C、200 r/min 摇床培养 2 d。取种子液, 5% 接种量接种到 500 mL 发酵培养基中, 30 °C、200 r/min 摇床培养 7 d。

### 1.4 次级代谢产物的提取

对小单孢菌 M66 进行大批量发酵, 共 40 L。将收集到的发酵液先经过 6 000 r/min 离心 20 min, 合并上清液。随后用等体积乙酸乙酯反复萃取 3 次, 将萃取后的有机相于 30 °C 减压蒸馏, 除去有机溶

剂, 得到粗产物。

### 1.5 次级代谢产物分离及纯化

使用正相硅胶柱对粗产物进行粗分。分离条件为石油醚:乙酸乙酯=10:1、石油醚:乙酸乙酯=5:1、石油醚:乙酸乙酯=2:1、石油醚:乙酸乙酯=1:2、乙酸乙酯、乙酸乙酯:甲醇=10:1、乙酸乙酯:甲醇=5:1、乙酸乙酯:甲醇=1:1、甲醇。收集洗脱液, 采用薄层层析进行样品分析, 最终合并为 FR1–FR16 (FR: Fraction) 共 16 个组分。

对组分 FR7 进行反相硅胶吸附柱色谱分离, 用甲醇-水进行梯度洗脱, 甲醇浓度依次为 10%、30%、50%、70% 和 100%, 收集洗脱液用 HPLC 检测, 合并得到 FR7A、FR7B 和 FR7C 三个组分。再对 FR7A 组分用 Sephadex LH-20 柱色谱进行分离, 甲醇作流动相, HPLC 检测并合并, 得到组分 FR7A1 和化合物 6。之后, 对 FR7A1 组分用半制备型 HPLC 进行分离制备, 得到化合物 1 和化合物 2。

对组分 FR8 用 Sephadex LH-20 柱色谱进行分离, 甲醇作流动相, HPLC 检测并合并得到组分 FR8A、组分 FR8B 和化合物 7。之后, 对 FR8B 组分用半制备型 HPLC 进行分离制备, 得到化合物 3 和化合物 5。

对组分 FR9 用 Sephadex LH-20 柱色谱进行分离, 甲醇作流动相, 得到化合物 4。

最终得到化合物 1 (15 mg), 化合物 2 (10 mg), 化合物 3 (10 mg), 化合物 4 (25 mg), 化合物 5 (10 mg), 化合物 6 (20 mg), 化合物 7 (15 mg) (图 1、2)。

## 2 结构鉴定

化合物 1 为淡黄色粉末, 易溶于甲醇和二甲基亚砜, 微溶于氯仿。紫外吸收如图 3 所示。对化合物 1 进行液-质(LC-MS)分析, 结果显示其准分子离子峰 ( $m/z$ ) 为 146.062 7 [M+H]<sup>+</sup>, 其分子式为 C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>NO<sup>+</sup>, 理论分子量为 146.060 0。将化合物 1 溶解于 0.6 mL 的氘代甲醇中, 进行核磁共振谱(NMR)分析, 以 TMS (Tetramethylsilane) 为内标。根据其 <sup>1</sup>H NMR 谱图(图 4)和高分辨质谱, 确定该化合物为已

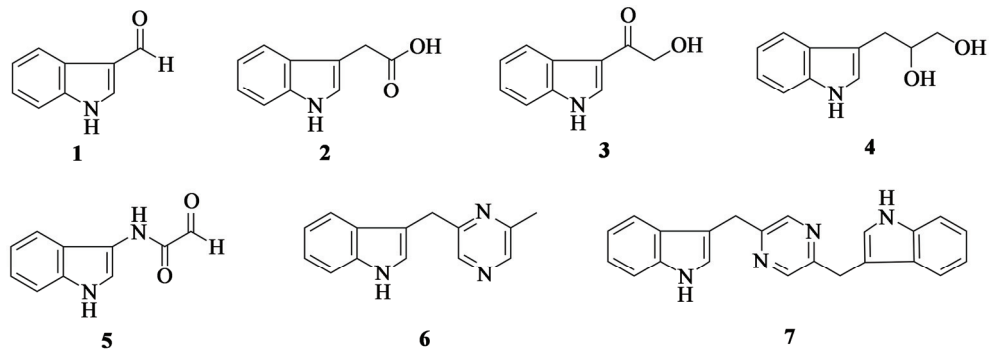


图 1 化合物 1-7 的化学结构

Figure 1 The chemical structures of compounds 1-7

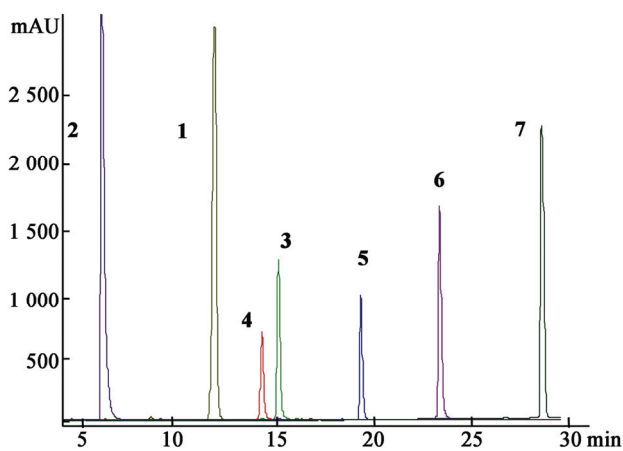


图 2 化合物 1-7 的 HPLC 色谱图

Figure 2 HPLC chromatograms of compounds 1-7

注: HPLC 分析条件: 乙腈 30%–100% (0–30 min).

Note: HPLC analysis condition: ACN 30%–100% (0–30 min).

知化合物 1H-Indole-3-carboxaldehyde, 是重要的化学合成中间体。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  9.89 (s, 1H), 8.16 (d, 7.5 Hz, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.47 (d, 7.5 Hz, 1H), 7.27 (td, 7.0, 1.0 Hz, 1H), 7.23 (td, 7.5, 1.0 Hz, 1H)。

化合物 2 是淡黄色粉末, 易溶于甲醇和二甲基亚砜, 微溶于氯仿。其与化合物 1 的紫外吸收相似, HPLC 分析的出峰时间在 6.5 min 左右(图 2)。对化合物 2 进行液-质(LC-MS)分析, 结果显示其准分子离子峰( $m/z$ )为 176.072 0 [M+H]<sup>+</sup>, 其分子式为 C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>2</sub><sup>+</sup>, 理论分子量为 176.070 6。将化合物 2 溶解于 0.6 mL 的氘代甲醇中, 进行核磁共振谱

(NMR)分析, 以 TMS 为内标。其 <sup>1</sup>H NMR 图谱(图 5)和高分辨质谱表明, 该化合物为已知化合物 1H-Indole-3-acetic acid。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  7.57 (d, 8.0 Hz, 1H), 7.30 (d, 8.5 Hz, 1H), 7.14 (s, 1H), 7.06 (td, 8.0, 1.0 Hz, 1H), 6.97 (td, 8.0, 1.0 Hz, 1H), 3.65 (s, 2H)。

化合物 3 是淡黄色粉末, 易溶于甲醇和二甲基亚砜, 微溶于氯仿。其与化合物 1 和 2 的紫外吸收相似, HPLC 分析的出峰时间在 15 min 左右(图 2)。对化合物 3 进行液-质(LC-MS)分析, 其准分子离子峰( $m/z$ )为 176.071 0 [M+H]<sup>+</sup>, 其分子式为 C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>2</sub><sup>+</sup>, 理论分子量为 176.070 6, 与化合物 2 的分子量完全相同, 那么它们属于同分异构体。将化合物 3 溶解于 0.6 mL 的氘代甲醇中, 进行核磁共振谱(NMR)分析, 以 TMS 为内标。比较化合物 3 的 <sup>1</sup>H NMR 谱图(图 6)与化合物 2 的 <sup>1</sup>H NMR 谱图, 尽管芳香氢的化学位移不同, 但是裂分方式是相同的, 可见均是 3-位取代的吲哚环; 二者均含有一个 CH<sub>2</sub> 单元, 而化合物 3 的 CH<sub>2</sub> 出现在  $\delta_{\text{H}}$  4.73 (s), 表明这个 CH<sub>2</sub> 与氧相连。结合高分辨质谱, 推测该化合物为已知化合物 3-Hydroxyacetyl-indole。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  8.22 (dd, 7.5, 1.5 Hz, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.45 (dd, 7.0, 1.5 Hz, 1H), 7.24 (td, 7.5, 1.0 Hz, 1H), 7.21 (td, 7.5, 1.5 Hz, 1H), 4.74 (s, 2H)。

化合物 4 是淡黄色粉末, 微溶于甲醇, 易溶于

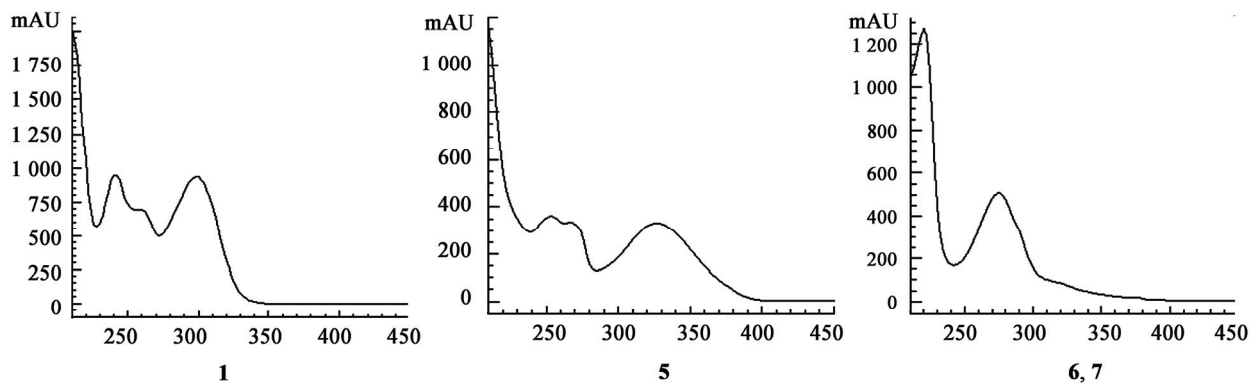


图3 代表性化合物 1、5、6、7 的紫外吸收光谱  
Figure 3 UV absorbance spectra of compounds 1, 5, 6, 7

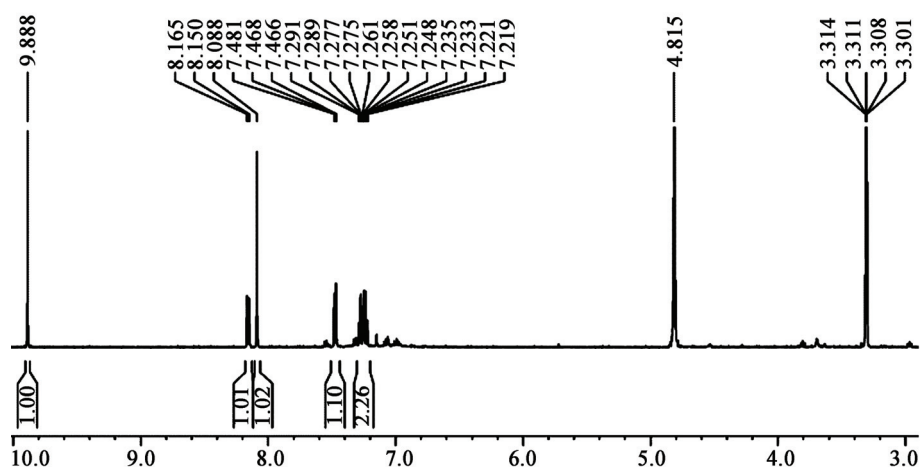


图4 化合物 1 的核磁共振氢谱(500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  
Figure 4 The <sup>1</sup>H NMR of compound 1 (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

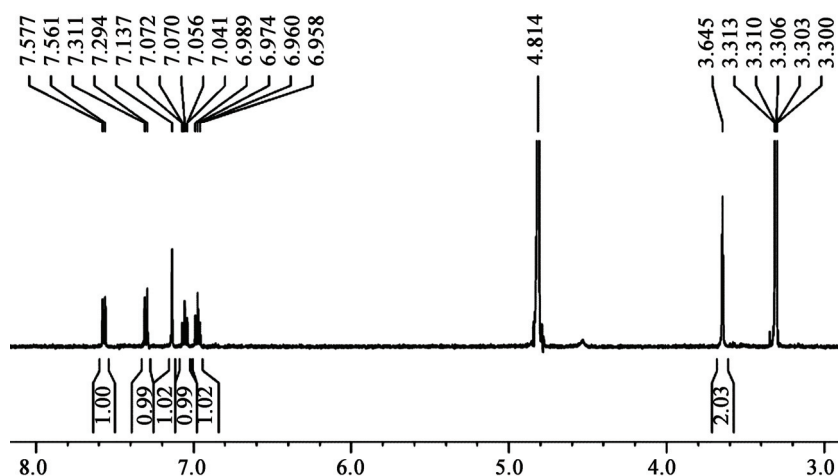


图5 化合物 2 的核磁共振氢谱(500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  
Figure 5 The <sup>1</sup>H NMR of compound 2 (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

氯仿。与化合物 **1**、**2** 和 **3** 的紫外吸收相似, HPLC 分析的出峰时间在 14 min 左右(图 2)。对化合物 **4** 进行液-质(LC-MS)分析, 其准分子离子峰( $m/z$ )为 190.085 9  $[M-H]^-$ , 其分子式为  $C_{11}H_{12}NO_2^-$ , 理论分子量为 190.087 4。将化合物 **4** 溶解于 0.6 mL 的氘代氯仿中, 进行核磁共振谱(NMR)分析, 以 TMS 为内标。利用核磁共振光谱数据如  $^1H$  NMR (图 7)、 $^{13}C$  NMR、HMBC、HMQC 和 COSY 谱鉴定该化合物为已知化合物 3-(2,3-Dihydroxypropyl) indole。 $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.06 (brs, 1H), 7.62 (d, 8.0 Hz, 1H), 7.38 (d, 8.0 Hz, 1H), 7.22 (td, 8.0, 1.0 Hz, 1H), 7.14 (td, 7.5, 0.5 Hz, 1H), 7.10 (d, 2.0 Hz, 1H), 4.07 (m, 1H), 3.76 (dd, 11.0, 3.5 Hz, 1H), 3.59 (dd, 11.0, 7.0 Hz, 1H), 3.00 (dd, 9.5, 5.0 Hz, 1H), 2.92 (dd, 9.5, 8.0 Hz, 1H)。 $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  136.6, 127.7, 123.0, 122.5, 119.8, 119.0, 111.7, 111.4, 72.0, 66.5, 29.5。

化合物 **5** 是淡黄色粉末, 易溶于甲醇和二甲基亚砜。紫外吸收略不同于以上 4 个化合物的紫外吸收图谱, 如图 1 所示。对化合物 **5** 进行液-质谱(LC-MS)分析, 结果显示其准分子离子峰( $m/z$ )为 211.044 0  $[M+Na]^+$ , 其分子式为  $C_{10}H_8N_2NaO_2^+$ , 理论分子量为 211.047 8。将化合物 **5** 溶解于 0.6 mL 的氘代甲醇中, 进行核磁共振谱(NMR)分析, 以

TMS 为内标。根据其  $^1H$  NMR (图 8)、 $^{13}C$  NMR 谱和高分辨质谱数据, 确定该化合物为已知化合物 N-(1H-Indol-3-yl)-2-oxo-acetamide。 $^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ ):  $\delta$  8.72 (s, 1H), 8.30 (dd, 7.0, 1.0 Hz, 1H), 7.47 (dd, 7.0, 2.0 Hz, 1H), 7.27 (td, 7.5, 2.0 Hz, 1H), 7.24 (td, 7.5, 1.5 Hz, 1H)。 $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CD_3OD$ ):  $\delta$  183.4, 168.6, 139.8, 138.3, 128.2, 125.1, 124.1, 123.3, 114.3, 113.4。

化合物 **6** 是淡黄色粉末, 易溶于氯仿和二甲基亚砜。紫外吸收图谱见图 1。对化合物 **6** 进行液-质(LC-MS)分析, 结果显示其准分子离子峰( $m/z$ )为 224.122 6  $[M+H]^+$ , 其分子式为  $C_{14}H_{14}N_3^+$ , 理论分子量为 224.118 2。将化合物 **6** 溶解于 0.6 mL 的氘代氯仿中, 进行核磁共振光谱(NMR)分析, 以 TMS 为内标。根据  $^1H$  NMR (图 9)、 $^{13}C$  NMR、HMBC、HMQC 和 COSY 谱, 鉴定该化合物为已知化合物 1H-Indole, 3-[(5-methyl-2-pyrazinyl)methyl], 是 2013 年从一株深海稀有放线菌 *Serinicoccus profundus* sp. nov. 分离鉴定的<sup>[13]</sup>。 $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8.27 (d, 3.5 Hz, 2H), 8.09 (brs, 1H), 7.56 (d, 8.0 Hz, 1H), 7.36 (d, 8.0 Hz, 1H), 7.19 (t, 8.0 Hz, 1H), 7.09 (t, 7.5 Hz, 1H), 7.07 (d, 1.5 Hz, 1H), 4.28 (s, 2H), 2.56 (s, 3H)。 $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  155.6, 152.9, 142.0, 141.6, 136.6, 127.4,

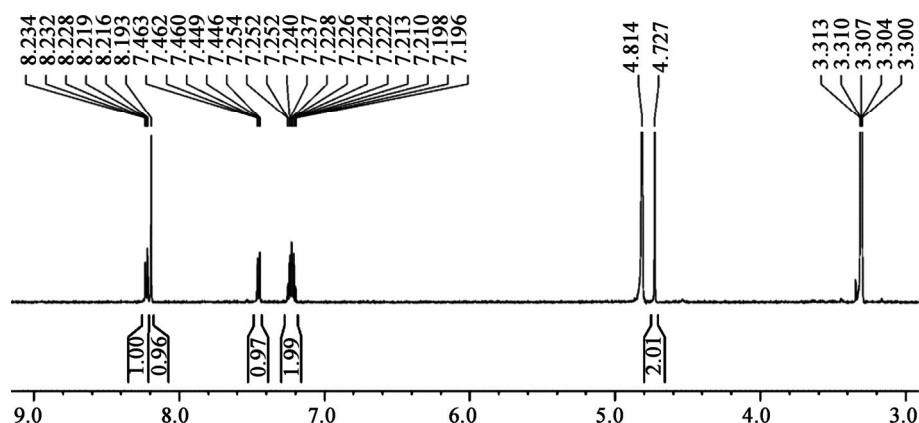


图 6 化合物 **3** 的核磁共振氢谱(500 MHz,  $CD_3OD$ )

Figure 6 The  $^1H$  NMR of compound **3** (500 MHz,  $CD_3OD$ )



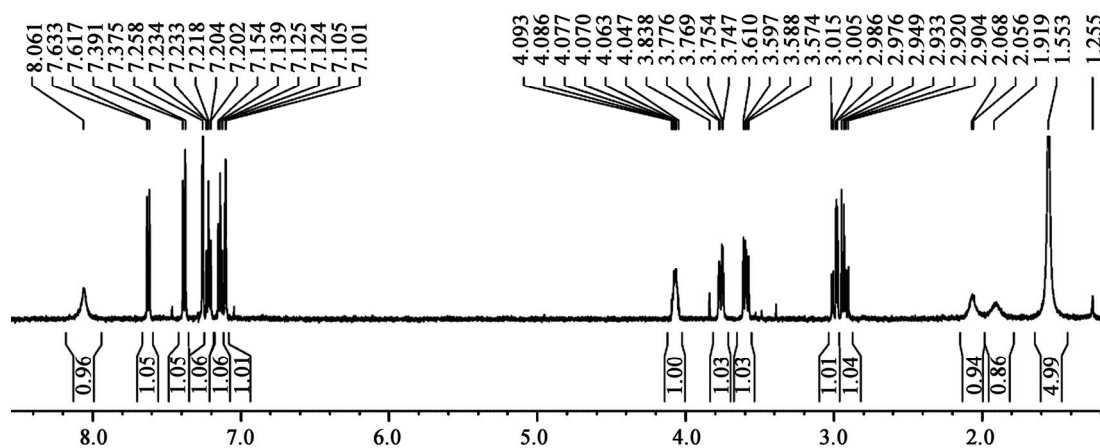


图 7 化合物 4 的核磁共振氢谱(500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  
Figure 7 The <sup>1</sup>H NMR of compound 4 (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

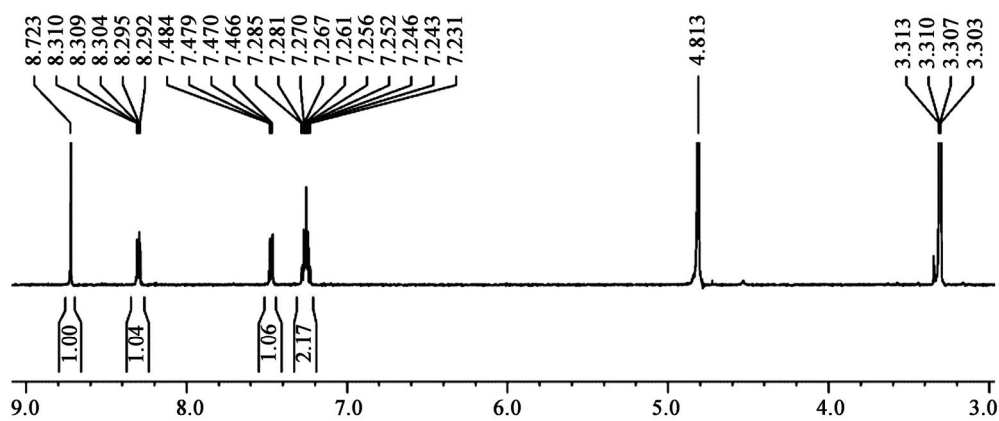


图 8 化合物 5 的核磁共振氢谱(500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  
Figure 8 The <sup>1</sup>H NMR of compound 5 (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

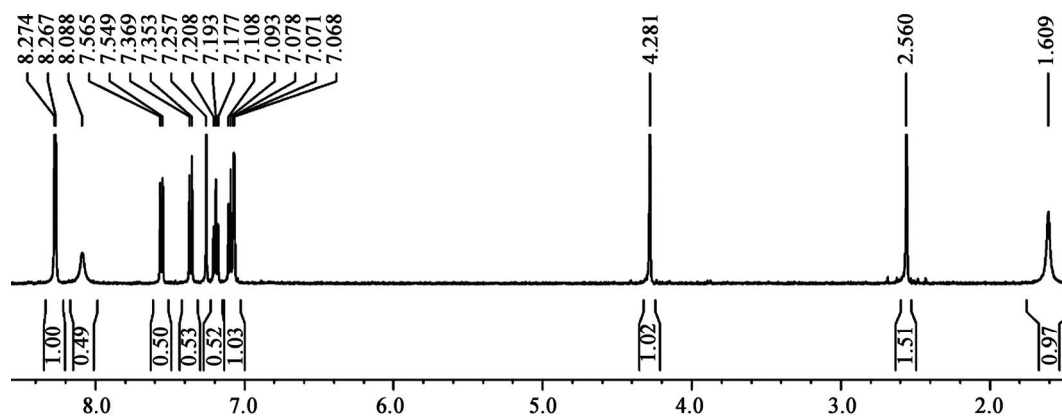


图 9 化合物 6 的核磁共振氢谱(500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  
Figure 9 The <sup>1</sup>H NMR of compound 6 (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

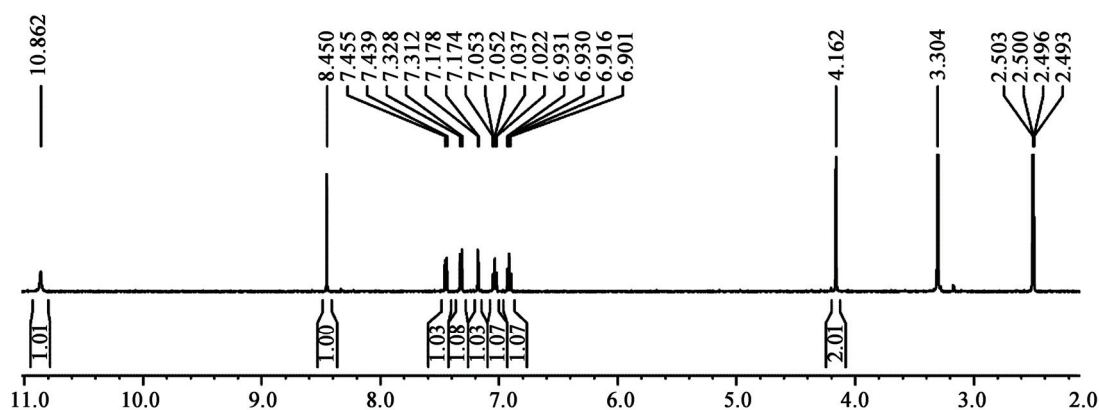


图 10 化合物 7 的核磁共振氢谱(500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  
Figure 10 The <sup>1</sup>H NMR of compound 7 (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)

122.7, 122.4, 119.8, 119.2, 113.1, 111.3, 32.2, 21.7。此外,一些结构类似的化合物被报道从微生物中分离鉴定或通过化学合成方法合成出来<sup>[14-15]</sup>。

化合物 7 是淡黄色粉末,微溶于甲醇和氯仿,易溶于二甲基亚砷。紫外吸收如图 1 所示。对化合物 7 进行液-质谱(LC-MS)分析,结果显示其准分子离子峰( $m/z$ )为 339.159 8 [M+H]<sup>+</sup>,其分子式为 C<sub>22</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub><sup>+</sup>,理论分子量为 339.160 4。将化合物 7 溶解于 0.6 mL 的氘代二甲基亚砷中,进行核磁共振谱(NMR)分析,以 TMS 为内标。根据 <sup>1</sup>H NMR (图 10)、<sup>13</sup>C NMR 谱和高分辨质谱数据,确认该化合物为已知化合物 1H-Indole, 3,3'-[2,5-pyrazinediylbis(methylene)]bis-。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  10.86 (brs, 1H), 8.45 (s, 1H), 7.45 (d, 8.0 Hz, 1H), 7.32 (d, 8.0 Hz, 1H), 7.18 (d, 2.5 Hz, 1H), 7.04 (td, 7.5, 0.5 Hz, 1H), 6.92 (td, 7.5, 0.5 Hz, 1H), 4.16 (s, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  153.7, 142.9, 136.2, 126.8, 123.4, 121.0, 118.4, 118.4, 111.6, 111.4, 30.8。

### 3 讨论

通过上述结构鉴定可知,化合物 1-7 均为吲哚衍生物,其中化合物 1-5 都具有一个吲哚环和一个 3 位上取代的不同支链,化合物 6 和 7 是吲哚-吡嗪衍生物,从生源上推测这些化合物均可能来源于色

氨酸的代谢途径产生的中间体或者色氨酸与其他化合物形成的衍生物。其中,化合物 2 是重要的植物生长调节剂,在植物体内,一般由色氨酸合成;在一些植物根际微生物中,也发现了能够产生此化合物的物种<sup>[16-17]</sup>。化合物 3 也是一种重要的植物生长调节剂;Pettit 等报道其对淋巴细胞性白血病细胞 P388 的增殖有抑制作用;Ashour 等报道其对枯草芽孢杆菌和酿酒酵母生长有抑制作用<sup>[18-20]</sup>。化合物 6 由 Zhang 等 2013 年在深海放线菌 *Serinicoccus profundus* sp. nov. 中首次分离得到,具有一定的抗金黄色葡萄球菌的活性<sup>[13]</sup>。化合物 3-7 首次在小单孢菌中分离得到,体现了小单孢菌合成代谢产物结构多形性的能力。从我们鉴定的代谢产物的化学结构分析表明,此株小单孢菌合成这些吲哚类化合物可能通过吲哚或者色氨酸经一系列的修饰反应来完成的,预示着该菌株中蕴含着较丰富的吲哚或色氨酸的后修饰反应酶。因此,在将来的工作中或许可以通过喂养吲哚或者色氨酸,增强小单孢菌 M66 产生此类次级代谢产物的能力和效率,获得结构更加复杂、新颖的次级代谢产物。

### 参考文献

- [1] Cheng YR, Zheng W. *Micromonospora* spp. and their second metabolites[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2006(6): 321-327 (in Chinese)  
程元荣, 郑卫. 小单孢菌及其产生的次级生物活性代谢产物[J]. 中国抗生素杂志, 2006(6): 321-327



- [2] Tiwari K, Gupta RK. Rare actinomycetes: a potential storehouse for novel antibiotics[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2012, 32(2): 108-132
- [3] Weinstein MJ, Wagman GH, Marquez JA, et al. Verdamicin, a new broad spectrum aminoglycoside antibiotic produced by a new species of *Micromonospora*[C]. *Abest Papers No.136*, 13th intersci conf Antimicrob Agents and Chemoth, Washington, Sept., 1973
- [4] Weinstein MJ, Marquez JA, Testa RT, et al. Antibiotic 6640, a new *Micromonospora*-produced aminoglycoside antibiotic[J]. *Journal of Antibiotics*, 1970, 23(11): 551-554
- [5] Asaka T, Manaka A, Sugiyama H. Recent developments in macrolide antimicrobial research[J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2003, 3(9): 961-989
- [6] Weinstein MJ, Luedemann GM, Oden EM, et al. Halomicin, a new *Micromonospora*-produced antibiotic[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1967, 7: 435-441
- [7] Yang SW, Chan YM, Terracciano J, et al. A new anthracycline antibiotic micromonomycin from *Micromonospora* sp.[J]. *Journal of Antibiotics*, 2004, 5(8): 634-646
- [8] Megumi M, Naoko M, Yoshiyuki T, et al. Facile reductive rearrangement of dynemicin A to dynemicin H: the direct evidence for the phenylene diradical intermediate[J]. *Tetrahedron Letters*, 1991, 32(42): 224-230
- [9] Bulaj G, Buczek O, Goodsell I, et al. Efficient oxidative folding of conotoxin and the radiation of venomous cone snails[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2003, 100: 14562-14568
- [10] Tamtsu F, Yasuhiro I, Hiroko H, et al. Kosinostatin, a quinocycline antibiotic with antitumor activity from *Micromonospora* sp. TP-A0468[J]. *Antibiotics*, 2002, 55(2): 128-130
- [11] Cheng YR, Huang J. Antifungi immunosuppressives[J]. *Chinese New Drugs Journal*, 2005, 14(3): 268 (in Chinese)  
程元荣, 黄捷. 抗真菌抗生素和免疫抑制剂[J]. *中国新药杂志*, 2005, 14(3): 268
- [12] Huang LZ, Hu ZN, Guo ZY, et al. Study on selective isolation and antibiotic activity of rare actinomycetes from soil[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2007(1): 59-65 (in Chinese)  
黄路枝, 胡兆农, 郭正彦, 等. 土壤稀有放线菌的选择性分离及其抗菌活性研究[J]. *农药学报*, 2007(1): 59-65
- [13] Zhang GF, Yang XW, Ying JX, et al. Isolation, characterization, and bioactivity evaluation of 3-((6-methylpyrazin-2-yl)methyl)-1H-indole, a new alkaloid from a deep-sea-derived actinomycete *Serinicoccus profundus* sp. nov.[J]. *Marine Drugs*, 2013, 11(1): 33-39
- [14] Yin WB, Joshua B, Jin BK, et al. A nonribosomal peptide synthetase-derived iron(III) complex from the pathogenic fungus *Aspergillus fumigatus*[J]. *Journal of the American Society*, 2013, 135(6): 2064-2067
- [15] Anggi EP, Kei T, Hatsuki T, et al. Transition-metal-catalyzed regioselective alkylation of indoles with alcohols[J]. *European Journal of Organic Chemistry*, 2013(5): 6344-6354
- [16] Wagman GH, Weinstein MJ. Antibiotic from *Micromonospora*[J]. *Annual Review of Microbiology*, 1980, 34: 537-557
- [17] Fierro-Coronado RA, Quiroz-Figueroa FF, Garcia-Perez LM, et al. IAA-producing rhizobacteria from chickpea (*Cicer arietinum* L.) induce changes in root architecture and increase root biomass[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2014, 60(10): 639-648
- [18] Bernart M, Gerwick WH. 3-(Hydroxyacetyl) indole, a plant growth regulator from the Oregon red alga *Prionitis lanceolata*[J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(12): 3697-3698
- [19] Ashour M. Indole alkaloid from the Red Sea sponge *Hyrtios erectus*[J]. *Archive for Organic Chemistry*, 2007(15): 225
- [20] Du J, Pettit GR, Pettit RK, et al. The Manitoba bacterium *Streptomyces* sp.[J]. *Journal of Natural Products*, 2006, 69(5): 804-806