

一株内生真菌 *Alternaria tenuissima* Pas85 次生代谢产物研究

姜亚玲^{1,2}, 李伟平^{1,3}, 胡丞丞², 郭雪茹², 王 阳², 张鑫鑫², 李 珂¹, 李文渊^{1,2*}

(1. 郑州工业应用技术学院, 河南省水环境与健康工程技术研究中心, 河南 郑州 451100; 2. 郑州工业应用技术学院, 药学与化学工程学院, 河南 郑州 451100; 3. 郑州市生态环境局新郑分局, 河南 郑州 451100)

摘要: 采用硅胶柱色谱、葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱、高效液相色谱等多种色谱技术, 从芦苇内生真菌 *Alternaria tenuissima* Pas85 固体发酵提取物中分离得到 1 个新的生物碱类化合物 (**1**) 和 6 个已知化合物 (**2**~**7**)。通过高分辨质谱、核磁共振和红外等波谱学方法及文献比对确定其结构, 并测试了化合物 **1**~**5** 的抗 MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) 活性。化合物 **1**~**4** 表现出一定的抑制活性, MIC 值分别为 64、4、32、32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 化合物 **5** 无明显抑制活性。

关键词: 芦苇; 内生真菌; 极细链格孢菌; 次生代谢产物; 抗 MRSA 活性

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2024)12-3330-05

Study on secondary metabolites of an endophytic fungi

Alternaria tenuissima Pas85

JIANG Ya-ling^{1,2}, LI Wei-ping^{1,3}, HU Cheng-cheng², GUO Xue-ru², WANG Yang²,
ZHANG Xin-xin², LI Ke¹, LI Wen-yuan^{1,2*}

(1. Henan Engineering Research Center of Water Environment and Health, Zhengzhou University of Industrial Technology, Zhengzhou 451100, China; 2. School of Pharmacy and Chemical Engineering, Zhengzhou University of Industrial Technology, Zhengzhou 451100, China; 3. Zhengzhou Ecological Environment Bureau Xinzheng Branch, Zhengzhou 451100, China)

Abstract: A new alkaloid (**1**) and six known compounds (**2**–**7**) were isolated from the solid fermentation extract of the endophytic fungus *Alternaria tenuissima* Pas85 of *Phragmites australis* by silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, high performance liquid chromatography and other chromatographic techniques. The structures of these compounds were determined by HREIMS, NMR, IR spectroscopy, and literature comparison, and the anti MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) activity of **1**–**5** were tested. Compounds **1**, **2**, **3** and **4** exhibited certain inhibitory activity with MIC values of 64, 4, 32 and 32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively, and compound **5** showed no significant inhibitory activity.

Key words: *Phragmites australis*; endophytic fungus; *Alternaria tenuissima*; secondary metabolite; anti methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

链格孢菌 (*Alternaria* spp) 是一种在自然界许多生态系统中普遍存在的暗色真菌, 其生存方式通常

为腐生和内生^[1,2]。广泛存在于植物组织中的内生链格孢菌, 长期与宿主植物协同进化, 形成互惠共生的共生关系。链格孢菌能够产生多种次生代谢产物, 如吡喃酮、醌类、类固醇、萜类及生物碱等, 其中一些化合物具有抗炎、抗病毒、抗菌或细胞毒等生物活性^[3-5]。进一步的研究表明, 内生真菌通过产生这些抗病毒、抗真菌和抗菌活性的次生代谢物来保护其寄主植物^[6,7]。近

收稿日期: 2024-06-19; 修回日期: 2024-09-20.

基金项目: 河南省科技攻关计划项目 (232102310391); 河南省高校重点科研项目 (23B350002); 郑州工业应用技术学院博士科研启动基金项目 (2024BSKY002).

*通讯作者 E-mail: wenyuan59@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2024-0575

年来,链格孢菌因其能够产生结构新颖、活性多样的次生代谢产物,已成为微生物和天然产物领域研究的热点^[8]。

芦苇 (*Phragmites australis*) 为禾本科芦苇属草本植物,是中国传统中药“苇茎”和“芦根”的母本植株,具有清肺化痰和清热利尿的功效^[9,10]。 *Alternaria tenuissima* Pas85 是从芦苇健康的叶片组织中分离的一株内生真菌。前期活性导向的高通量筛选研究发现, *Alternaria tenuissima* Pas85 的发酵提取物对 MRSA 的生长具有一定的抑制活性。本次实验对其固体发酵提取物进行了化学成分研究,共分离得到 7 个化学成分 (图 1),其中 **1** 是一个新化合物 (被命名为 1-[5-(methoxymethyl)-1*H*-pyrrol-2-yl] ethan-1-one), **2**~**7** 是已知化合物,分别为 griseophenone C^[11] (**2**)、6-chloro-3, 8-dihydroxy-1-methylxanthone^[12] (**3**)、norlichexanthone^[13] (**4**)、griseoxanthone C^[14] (**5**)、diaporthin^[15] (**6**)、(-)-orthosporin^[16] (**7**)。这些化合物均为首次从芦苇内生真菌中分离发现。本文对新化合物 **1** 的结构进行了解析,并测试了化合物 **1**~**5** 的抗 MRSA 活性。

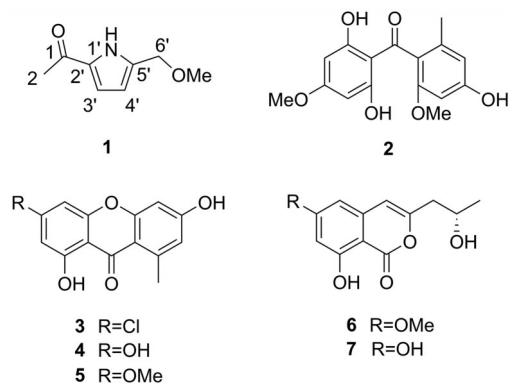


Figure 1 Chemical structures of compounds 1-7

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物 **1** 为淡黄色油状物。高分辨质谱 HREIMS 显示出其分子量 m/z 153.079 2 [M]⁺, 结合 NMR 数据 (表 1) 确定分子式为 C₈H₁₁NO₂, 不饱和度为 4。从 IR 图谱可以看到 3 414、1 716 和 1 639 cm⁻¹ 处有强吸收峰, 初步推测该化合物中含有 -NH 和羰基。¹H NMR 显示低场部分有一个活泼氢质子 [δ_{H} 10.57 (1H, br s)], 两个芳香质子 [δ_{H} 7.56 (1H, d, J = 3.3 Hz), 6.80 (1H, d, J = 3.3 Hz)]; 高场部分有一个单峰的氧化亚甲基 [δ_{H} 4.59 (2H, s)], 一个甲氧基 [δ_{H} 3.34 (3H, s)] 和一个乙酰基的质子信号 [δ_{H} 2.32 (3H, s)]。 ¹³C NMR 和 DEPT 图谱显示该分子共有 8 个碳, 其中有三个季碳 (包括一个羰基

δ_{C} 193.4, 两个不饱和季碳 δ_{C} 123.7, 122.9), 两个不饱和和次甲基 (δ_{C} 126.4, 119.2), 一个氧取代亚甲基 (δ_{C} 68.9), 一个甲氧基 (δ_{C} 58.1), 一个甲基 (δ_{C} 27.5)。结合不饱和度, 提示该化合物含有一个羰基、两个双键、一个甲氧基及一个环状结构。在紫外图谱中显示该化合物的一个最大吸收峰 247 nm, 推测该化合物具有共轭双键结构。仔细对比发现, 该化合物 NMR 数据与化合物 methyl 5-acetyl-1*H*-pyrrole-2-carboxylate^[17] 极其相似, 表明两者具有相似的结构, 而主要的不同之处在于该化合物多一个氧取代的亚甲基 (δ_{C} 68.9/ δ_{H} 4.59), 少一个酯羰基 (δ_{C} 161.5)。在 HMBC 图谱中 (图 2), H-4' (δ_{H} 6.80)、6'-OMe (δ_{H} 3.34) 与 δ_{C} 68.9 均相关, 表明 δ_{C} 68.9 即是 C-6' 的碳信号。该化合物为 methyl 5-acetyl-1*H*-pyrrole-2-carboxylate C-6' 的羰基被还原成亚甲基产物。至此, 该化合物的结构得以确定, 并命名为 1-[5-(methoxymethyl)-1*H*-pyrrol-2-yl] ethan-1-one。

Table 1 ¹H NMR (600 MHz) and ¹³C NMR (150 MHz) spectral data of compound **1** in (CD₃)₂CO

No.	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}
1	—	193.4
2	2.32, s	27.5
1' (NH)	10.57, br s	—
2'	—	123.7
3'	7.56, d (3.3)	126.4
4'	6.80, d (3.3)	119.2
5'	—	122.9
6'	4.59, s	68.9
6'-OMe	3.34, s	58.1

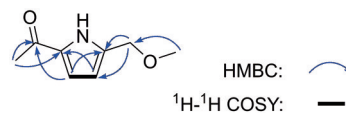


Figure 2 Key ¹H-¹H COSY and HMBC correlations of compound **1**

2 化合物活性检测

对部分化合物进行抗 MRSA 活性测试, 结果见表 2。从表中数据可以看出目标化合物对 MRSA 具有不同程度的抑制活性, 化合物 **1**~**4** 均表现出一定的抑制活性, MIC 范围为 4~64 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 其中化合物 **2** 具有很强的抗 MRSA 活性, MIC 为 4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 可作为抗 MRSA 先导化合物进行下一步研究; 新化合物 **1** 及化合物 **3**、**4** 对 MRSA 表现出温和的抑制活性, MIC 分别为 64、32、32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 化合物 **5** 并未表现出显著的抗 MRSA 活性 (MIC > 128 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

Table 2 Anti-MRSA activities of compounds 1–7. -: Not tested in bioassay

MRSA	Compound							Vancomycin
	1	2	3	4	5	6	7	
MIC/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	64	4	32	32	>128	-	-	<2

实验部分

JASCO V-650 紫外可见分光光度仪 (日本佳司科公司); Shimadzu IRTracer-100 红外光谱仪 (日本岛津公司); Rhdolph Autopol VI 全自动旋光测定仪 (美国鲁道夫公司); Thermo Q Exactive Focus 组合型四级杆 Orbitrap 高分辨质谱仪 (美国热电公司); Bruker AVANCE (600 MHz) 核磁共振仪 (德国布鲁克公司); Agilent 1260 半制备高效液相色谱仪, 液相色谱柱 (Agilent Zorbax SB-C18, 4.6/9.4 mm \times 250 mm, 5 μm) (美国安捷伦科技有限公司); ReadMax 1500 型光吸收全波长酶标仪 (上海闪谱生物科技有限公司); ZQZY-CG 型组合式光照振荡培养箱 (上海知楚仪器公司); 紫外灯 ZF-1S (上海恩谊公司) 等。柱色谱硅胶 (200~300 目) 及薄层层析硅胶 GF254 (10~40 μm , 青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 (美国通用电气公司); 分析纯石油醚、氯仿、乙酸乙酯、丙酮、甲醇和色谱甲醇、乙腈 (天津科密欧试剂公司); 薄层色谱显色剂 (8% 硫酸-乙醇溶液)。

1 提取与分离

实验用芦苇 (*Phragmites australis*) 采摘于河南省新乡市轩辕湖湿地公园, 菌株是从健康芦苇叶中分离得到的优势菌株, 送样测序后得到的 18S rRNA 基因序列在 NCBI 的 GenBank 基因库进行 BLAST 比对, 鉴定为极细链格孢菌 (GenBank Accession No.: PP914110), 菌株保存于河南省水环境与健康工程技术研究中心。 *Alternaria tenuissima* Pas85 在大米培养基的发酵袋中, 30 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 1.5 个月, 得到含次生代谢物的培养物。培养物经乙酸乙酯萃取 3 次、减压蒸馏去除溶剂后得粗浸膏 48 g。

粗浸膏经硅胶柱色谱粗分离, 石油醚-丙酮进行梯度洗脱, 得到 5 段流分, 分别为 Fr.1 (18 g), Fr.2 (6 g), Fr.3 (5 g), Fr.4 (4 g), Fr.5 (10 g)。Fr.2 以石油醚-氯仿进行梯度洗脱得 Fr.2.1~2.5, Fr.2.2 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (氯仿-甲醇 1:1) 洗脱, 得到化合物 1 (2.0 mg) 和 6 (8.8 mg)。Fr.3 以石油醚-乙酸乙酯进行梯度洗脱得 Fr.3.1~3.4, Fr.3.2 经 HPLC (RP-18 半制备柱, 9.2 mm \times 250 mm, 5 μm ; 75% 乙腈-水, 流速 3 mL $\cdot\text{min}^{-1}$) 分离纯化得到化合物 3 (4.1 mg, t_{R} = 5 min) 和 5 (7.5 mg, t_{R} = 8 min)。Fr.3.4 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 再

经 HPLC (RP-18 半制备柱, 9.2 mm \times 250 mm, 5 μm ; 68% 乙腈-水, 流速 3 mL $\cdot\text{min}^{-1}$) 分离纯化得到化合物 2 (8.0 mg, t_{R} = 7 min) 和 4 (3.9 mg, t_{R} = 10 min)。Fr.4 以石油醚-乙酸乙酯 (1:1) 等度洗脱后, 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 再制备薄层色谱 (氯仿-甲醇 10:1) 纯化得到化合物 7 (23.5 mg)。

2 结构与鉴定

化合物 1 淡黄色油状物, 易溶于甲醇、丙酮、氯仿。UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 203 (4.70), 247 (3.93) nm; IR (KBr) ν_{max} 3 414, 2 953, 2 924, 1 716, 1 639, 1 521, 1 452, 1 407, 1 083, 950, 608 cm^{-1} ; ^1H 和 ^{13}C NMR 数据见表 1; HREIMS: m/z 153.079 2 $[\text{M}]^+$ ($\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_2$, 计算值 153.079 0)。

化合物 2 无色油状物, 易溶于甲醇, ESI-MS m/z 327 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_{H} : 6.41 (1H, br s, H-5), 6.38 (1H, br s, H-3), 5.98 (1H, s, H-3'), 5.98 (1H, s, H-5'), 3.82 (3H, 4'-OMe), 3.67 (3H, s, 2-OMe), 2.12 (3H, s, Me-8); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_{C} : 196.6 (C-7), 167.6 (C-4'), 164.6 (C-2'), 164.6 (C-6'), 159.6 (C-4), 158.3 (C-2), 138.3 (C-6), 120.4 (C-1), 110.6 (C-5), 98.1 (C-3), 94.8 (C-3'), 94.8 (C-5'), 56.3 (2-OMe), 55.8 (4'-OMe), 19.1 (C-8)。以上数据与文献^[11]对比, 确定化合物 2 为 griseophenone C。

化合物 3 白色固体粉末, 易溶于甲醇, ESI-MS m/z 299 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{O}_4\text{Cl}$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_{H} : 6.51 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2), 6.49 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-4), 6.15 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-5), 6.05 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-7), 2.75 (3H, s, Me-10); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_{C} : 183.2 (C-9), 164.9 (C-3), 164.8 (C-8), 161.2 (C-4a), 158.8 (C-5a), 144.2 (C-1), 118.6 (C-2), 111.6 (C-1a), 103.4 (C-6), 103.4 (C-8a), 102.2 (C-4), 99.4 (C-7), 94.8 (C-5), 23.7 (C-10)。以上数据与文献^[12]对比, 确定化合物 3 为 6-chloro-3,8-dihydroxy-1-methyl-xanthone。

化合物 4 白色固体粉末, 易溶于甲醇, ESI-MS m/z 259 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_{H} : 6.58 (1H, br s, H-2), 6.58 (1H, br s, H-4), 6.22 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-5), 6.11 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-7), 2.76 (3H, s, Me-10); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_{C} : 183.4 (C-9), 165.4 (C-6), 164.9 (C-8), 164.2 (C-3), 161.0 (C-4a), 158.6 (C-5a), 144.7 (C-1), 117.6 (C-2), 112.6 (C-1a), 103.8 (C-8a), 101.9 (C-4), 99.4 (C-7), 94.8 (C-5), 23.7 (C-10)。以上数据与文献^[13]对比, 确定化合物 4 为 norlichexanthone。

化合物 5 无色晶体, 易溶于丙酮, ESI-MS m/z

295 [M+Na]⁺, 分子式为 C₁₅H₁₂O₅。¹H NMR (600 MHz, acetone-*d*₆) δ_H: 13.38 (1H, s, 8-OH), 9.60 (1H, br s, 3-OH), 6.65 (1H, br s, H-2), 6.65 (1H, br s, H-4), 6.28 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-5), 6.16 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-7), 3.90 (3H, s, 6-OMe), 2.75 (3H, s, Me-10); ¹³C NMR (150 MHz, acetone-*d*₆) δ_C: 183.1 (C-9), 165.5 (C-6), 164.9 (C-8), 163.6 (C-3), 160.4 (C-4a), 158.2 (C-5a), 144.3 (C-1), 116.9 (C-2), 112.8 (C-1a), 103.9 (C-8a), 101.6 (C-4), 98.8 (C-7), 94.1 (C-5), 57.4 (6-OMe), 23.5 (C-10)。以上数据与文献^[14]对比, 确定化合物 **5** 为 griseoxanthone C。

化合物 **6** 无色晶体, 易溶于氯仿, ESI-MS *m/z* 273 [M+Na]⁺, 分子式为 C₁₃H₁₄O₅。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_H: 10.95 (1H, s, 8-OH), 6.40 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-7), 6.29 (1H, s, H-4), 6.26 (1H, m, H-5), 4.25 (1H, m, H-10), 3.85 (3H, s, 6-OMe), 2.60 (2H, m, H-9), 1.30 (3H, d, *J* = 5.5 Hz, Me-11); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_C: 166.9 (C-1), 166.4 (C-6), 163.5 (C-8), 154.8 (C-3), 139.1 (C-4a), 106.2 (C-4), 104.4 (C-5), 103.6 (C-7), 99.8 (C-8a), 65.5 (C-10), 55.8 (6-OMe), 43.1 (C-9), 23.3 (C-11)。以上数据与文献^[15]对比, 确定化合物 **6** 为 diaporthin。

化合物 **7** 无色晶体, 易溶于甲醇, ESI-MS *m/z* 259 [M+Na]⁺, 分子式为 C₁₂H₁₂O₅。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ_H: 6.32 (1H, br s, H-7), 6.24 (2H, m, H-4, H-5), 4.14 (1H, m, H-10), 2.58 (2H, d, *J* = 6.3 Hz, H-9), 1.25 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, Me-11); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ_C: 169.9 (C-1), 168.2 (C-6), 165.6 (C-8), 155.9 (C-3), 141.4 (C-4a), 107.5 (C-4), 104.6 (C-5), 103.8 (C-7), 99.2 (C-8a), 66.5 (C-10), 43.9 (C-9), 23.6 (C-11)。以上数据与文献^[16]对比, 确定化合物 **7** 为 (-)-orthosporin。

3 体外抗菌活性测试

MRSA 由郑州大学第一附属医院分离提供。以万古霉素 (vancomycin) 为对照药, 不加样品的 DMSO 作空白对照, 依据参考文献^[18]采用两倍稀释法测定目标化合物的 MIC。将各单体化合物分别溶解在 DMSO 中, 初始浓度为 1 024 μg·mL⁻¹ 的溶液。指示菌接种于 LB 培养基, 37 °C 下振荡培养至对数期, 调节菌悬液 10⁶ CFU·mL⁻¹。96 孔板的第 1 行加入 LB 液体培养基 190 μL 和样品 10 μL, 第 2 至第 9 行每孔加入 LB 液体培养基 100 μL。第 1 行混合均匀后, 取培养液 100 μL 到第 2 行, 倍比稀释至第 8 行。第 1~8 行每孔加入 100 μL 菌液, 单体化合物的终质量浓度依次为 256、128、64、32、16、8、4、2 μg·mL⁻¹, 每个浓度设 3 复孔, 实验重复 3 次。37 °C 恒温培养 18~24 h 观察实

验结果, 相应澄清孔的最小浓度值为化合物的 MIC 值。

作者贡献: 姜亚玲负责实验设计、进程指导及整理实验数据; 李文渊负责论文撰写和修回工作; 张鑫鑫和王阳负责内生真菌代谢产物的分离、鉴定; 郭雪茹和李伟平负责内生真菌 Pas85 的分离、鉴定; 胡丞丞和李珂负责菌株的固体发酵、提取。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

References

- [1] Li JF, Jiang HB, Jeewon R, et al. *Alternaria*: update on species limits, evolution, multi-locus phylogeny, and classification [J]. Stud Fungi, 2023, 8: 1-61.
- [2] Woudenberg JHC, Seidl MF, Groenewald JZ, et al. *Alternaria* section *Alternaria*: species, formae speciales or pathotypes? [J]. Stud Mycol, 2015, 82: 1-21.
- [3] Lou J, Fu L, Peng Y, et al. Metabolites from *Alternaria* fungi and their bioactivities [J]. Molecules, 2013, 18: 5891-5935.
- [4] Pinto VEF, Patriarca A. *Alternaria* species and their associated mycotoxins [J]. Methods Mol Biol, 2017, 1542: 13-32.
- [5] Wang H, Guo Y, Luo Z, et al. Recent advances in *Alternaria* phytotoxins: a review of their occurrence, structure, bioactivity, and biosynthesis [J]. J Fungi, 2022, 8: 168.
- [6] Ji X, Xia Y, Zhang H, et al. The microscopic mechanism between endophytic fungi and host plants: from recognition to building stable mutually beneficial relationships [J]. Microbiol Res, 2022, 261: 127056.
- [7] Jia M, Chen L, Xin HL, et al. A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review [J]. Front Microbiol, 2016, 7: 906.
- [8] Li JX, Li YR, Luo J, et al. Highlights of natural products research from China in 2018 [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2019, 54: 1333-1347.
- [9] Li N, Yao FK, Ye DK, et al. Progress in the application of Weijing Decoction in pulmonary diseases [J]. World Chin Med (世界中医药), 2024, 19: 426-431, 436.
- [10] Miao RY, Wei RN, Li QW. An exploration of the clinical application and dosage of reed rhizome [J]. Jilin J Chin Med (吉林中医药), 2021, 41: 1510-1513.
- [11] Harris CM, Roberson JS, Harris TM. Biosynthesis of griseofulvin [J]. J Am Chem Soc, 1976, 98: 5380-5386.
- [12] Ali T, Inagaki M, Chai H, et al. Halogenated compounds from directed fermentation of *Penicillium concentricum*, an endophytic fungus of the liverwort *Trichocolea tomentella* [J]. J Nat Prod, 2017, 80: 1397-1403.
- [13] Kawakami H, Suzuki C, Yamaguchi H, et al. Norlichexanthone produced by cultured endolichenic fungus induced from *Pertusaria laeviganda* and its antioxidant activity [J]. Biosci Biotech

- Bioch, 2019, 83: 996-999.
- [14] Wang QX, Bao L, Yang XL, et al. Polyketides with antimicrobial activity from the solid culture of an endolichenic fungus *Ulocladium* sp. [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83: 209-214.
- [15] Lai D, Li J, Zhao SJ, et al. Chromone and isocoumarin derivatives from the endophytic fungus *Xylomelasma* sp. Samif07, and their antibacterial and antioxidant activities [J]. *Nat Prod Res*, 2019, 35: 4616-4620.
- [16] Zhang JL, Wang WJ, Xu XM, et al. From macrocyclic to linear and further: naturally degradable polyesters from the fungus *Ascotricha* sp. ZJ-M-5 [J]. *Tetrahedron*, 2016, 72: 4895-4901.
- [17] Khusnutdinov RI, Baiguzina AR, Mukminov RR, et al. New synthesis of pyrrole-2-carboxylic and pyrrole-2, 5-dicarboxylic acid esters in the presence of iron-containing catalysts [J]. *Russ J Org Chem*, 2010, 46: 1053-1059.
- [18] Klančnik A, Piskernik S, Jeršek B, et al. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts [J]. *J Microbiol Meth*, 2010, 81: 121-126.