

极地真菌 *Geomyces* sp. 3-1 次级代谢产物的研究

李云海^{1,2}, 王晓丽^{1,2,3}, 卢小玲^{1,2}, 于豪冰^{1,2}, 刘小宇^{1,2*}

¹第二军医大学海洋生物医药研究中心; ²第二军医大学基础医学部生物化学与分子生物学教研室, 上海 200433; ³浙江海洋大学海洋科学与技术学院, 舟山 316022

摘要: 采用硅胶柱层析、ODS 反相硅胶柱层析、凝胶柱层析和高效液相 HPLC 等色谱技术, 对极地真菌 *Geomyces* sp. 3-1 的发酵液提取物进行分离纯化, 共得到 8 个化合物, 通过波谱解析结合理化性质并比较相关文献, 确定化合物为: paulownin(**1**)、demethylcisterol A3(**2**)、ergosta-7, 22-dienen-3, 6-dione(**3**)、citreoantrasteroid B(**4**)、19-norergosta-5, 7, 9, 22-tetraene-3 β -ol(**5**)、(22*E*)-5 α , 8 α -epidioxyergosta-6, 22-dien-3 β -ol(**6**)、(3 β , 5 α , 6 β , 22*E*)-6-methoxyergosta-7, 22-diene-3, 5-diol(**7**) 和 ergosta-7, 22-dien-3 β -ol(**8**)。其中, 化合物 **2**~**7** 均是首次从 *Geomyces* 属真菌中获得, 化合物 **2** 有较好的抗菌和细胞毒活性。

关键词: 极地真菌; 地丝霉属; 次级代谢产物; 生物学活性

中图分类号: R9

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.4.010

Secondary Metabolites of Polar-Derived Fungus *Geomyces* sp. 3-1

LI Yun-hai^{1,2}, WANG Xiao-li^{1,2,3}, LU Xiao-ling^{1,2}, YU Hao-bing^{1,2}, LIU Xiao-yu^{1,2*}

¹Marine Biopharmaceutical Institute, Second Military Medical University;

²Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; ³College of Marine Science and Technology, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China

Abstract: Eight compounds were obtained from the fermentation of the polar-derived fungus *Geomyces* sp. 3-1. The extract was isolated and purified by column chromatography on silica-gel, reversed phase chromatography, Sephadex LH-20 and HPLC. The structures of compounds were elucidated by physical and chemical properties and spectral analysis, and comparison with the data of literatures. The eight compounds were identified as paulownin(**1**), demethylcisterol A3(**2**), ergosta-7, 22-dienen-3, 6-dione(**3**), citreoantrasteroid B(**4**), 19-norergosta-5, 7, 9, 22-tetraene-3 β -ol(**5**), (22*E*)-5 α , 8 α -epidioxyergosta-6, 22-dien-3 β -ol(**6**), (3 β , 5 α , 6 β , 22*E*)-6-methoxyergosta-7, 22-diene-3, 5-diol(**7**) and ergosta-7, 22-dien-3 β -ol(**8**). Compounds **2-7** were firstly isolated from *Geomyces* species, and compound **2** was shown to have antibacterial and cytotoxic activities.

Key words: polar-derived fungus; *Geomyces* sp.; secondary metabolites; biological activity

众所周知, 变化极大的光照辐射、季节性的光照时间和极低的温度造就了极地微生物特殊的生物学特征^[1]。有关极地微生物的资源勘探与代谢活性产物研究, 已经成为国际微生物学研究的热点之一^[2]。然而, 极地来源地丝霉属 (*Geomyces*) 真菌的研究非常少^[3], 仅有车永胜等^[4]从南极地丝霉属 (*Geomyces*) 真菌中分离得到包括抗生素 C3368-A 在内的 8 个 asteric acid 衍生物, 其中包括 5 个新化合

物, 具有良好的抗烟曲霉菌活性。

本文对武汉大学提供的一株极地真菌 *Geomyces* sp. 3-1 (CCTCC SF 2014875) 的粗提物进行了细胞毒活性初筛, 检验其对受试肿瘤细胞株是否有增殖抑制作用; 并在此基础上, 开展对这株极地真菌的发酵产物的化学成分研究, 以期得到结构新颖且具有生物学活性的化合物。

1 材料与方法

1.1 材料与菌株

1.1.1 仪器与材料

500 MHz 核磁共振波谱仪, Bruker 公司; Wa-

收稿日期: 2016-12-19 接受日期: 2017-02-27

基金项目: 广东省海洋局公益项目 (GD2012-D01-001); 国家自然科学基金 (41306197, 41606173)

* 通讯作者 E-mail: biolxy@163.com

ters1525 型高效液相色谱仪, Waters 996 型 PDA 检测器, Waters 公司; 6538 UHD Accurate-Mass Q-TOF LC/MS, 安捷伦公司; 减压旋转蒸发器, EYELA 公司; ZQZY-C 振荡培养箱, 上海知楚仪器有限公司; 薄层色谱硅胶(涂层厚度: 0.20 ± 0.3 mm, 硅胶粉粒度: $8 \pm 2 \mu\text{m} \geq 80\%$, TLC: $10-40 \mu\text{m}$) 和柱层层析硅胶(硅胶粉粒度: $8 \pm 2 \mu\text{m} \geq 80\%$), 烟台江友硅胶开发有限公司; ODS 反相硅胶层析填料, YMC 公司; Sephadex LH-20 凝胶层析填料, GE 公司。

1.1.2 菌株及细胞毒活性指示细胞株

真菌菌株 *Geomyces* sp. 3-1 由武汉大学鉴定并提供, 经 PDA 培养后菌落呈青绿色, 并有孢子形成。细胞毒活性指示细胞株人胃癌细胞 SGC-7901 和人肝癌细胞 SMMC-7721 购自中科院上海生物化学与细胞研究所。菌种及细胞株现保存于第二军医大学生物化学与分子生物学教研室。

1.1.3 培养基和试剂

PDB 培养基, 由北京奥博星生物技术有限责任公司生产。PDA 培养基由 PDB 培养基液体培养基加 2% 的琼脂制得。磷酸缓冲盐溶液(PBS), 北京 Solarbio 科技有限公司。二甲亚砜(DMSO), 上海博光生物科技有限公司。CCK-8, 和元生物技术(上海)有限公司。DMEM 培养基和 RPMI1640 培养基, 北京 Solarbio 科技有限公司。胰蛋白酶和胎牛血清(FBS), 上海夏夷实业有限公司。其它化学试剂皆由国药集团化学试剂有限公司以及上海润捷化学试剂有限公司提供。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株的培养与发酵

种子培养: 挑取菌株 *Geomyces* sp. 3-1 菌丝体接种于装 75 mL PDB 培养基的 250 mL 三角瓶中, 在 24°C , 160 rpm 条件下振荡培养 20 h。

大批发酵: 种子液按 10% 的接种量, 接种于装有 450 mL PDB 培养基的 2 L 摇瓶中, 在 24°C , 160 rpm 条件下振荡培养 9 d。共发酵 42 L。

1.2.2 菌株粗提物的制备

发酵液离心后, 用八层纱布过滤得到菌丝体和发酵液。菌液部分加入等体积的乙酸乙酯萃取 3 次, 合并乙酸乙酯相 40°C 减压浓缩后得粗浸膏 6.2 g, 菌体部分用乙醇浸泡纱布过滤, 减压浓缩得水相, 再用等体积的乙酸乙酯萃取 3 次, 得浸膏 3.1 g。通过对比菌液与菌体的粗提物 TLC 薄层色谱图后发现两者的粗提物基本一致, 故合并其浸膏共得到

Geomyces sp. 3-1 粗提物 9.3 g。

1.2.3 菌株次级代谢产物的分离

发酵液粗提物首先经过正相硅胶柱层析, 以石油醚: 乙酸乙酯 = 100: 1 为起始流动相, TLC 检测洗脱进程, 得到 13 个组分(Fr. a-Fr. Q)。Fr. m 组分通过 ODS 硅胶柱层析, 甲醇-水梯度洗脱, TLC 检测洗脱进程, 洗脱液每 50 mL 为一收集单位, 根据薄层色谱情况合并各组分, 收集 70% 甲醇-水部分, 经 HPLC 制备得到化合物 **2** (7.4 mg); 收集 85% 甲醇-水部分, 经 HPLC 制备得到化合物 **3** (11.4 mg) 和 **4** (5.4 mg); 收集 95% 甲醇-水部分, 经 HPLC 制备得到化合物 **5** (2.3 mg) 和 **6** (2.8 mg); Fr. n 组分通过 ODS 硅胶柱层析, 甲醇-水梯度洗脱, TLC 检测洗脱进程, 洗脱液每 50 mL 为一收集单位, 根据薄层色谱情况合并各组分, 收集 75% 甲醇-水部分, 经 HPLC 制备得到化合物 **1** (3 mg); 收集 95% 甲醇-水部分, 经 HPLC 制备得到化合物 **7** (2 mg) 和 **8** (4.5 mg)。

1.2.4 化合物细胞毒活性筛选

样品准备: 取 1 mg 样品, 溶解于 1 mL PBS 溶液(含 10% DMSO)中, 使成 1 mg/mL 的样品溶液。SGC-7721 培养在含 10% 的胎牛血清的 DMEM 培养基中。SMMC-7901 培养在 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基中, 培养基中均加入青霉素(100 U/mL)和链霉素(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。采用 CCK-8 法对粗提物的细胞毒活性进行测试。具体方法是: 将生长在对数生长期的受试细胞, 用胰酶消化, 计数, 以 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 的细胞密度接种在 96 孔板中(加药后终体积为 100 μL), 置于 5% CO_2 , 37°C 培养箱内培养 24 h。向 96 孔板中加入不同浓度样品 10 μL , 于 5% CO_2 , 37°C 培养箱内培养 24 h 后, 加入 10 μL CCK-8 液继续孵育 1 h, 用酶标仪检测 450 nm 处吸光度。每个样品在测试中均设置 3 个复孔, 在结果中以标准偏差(SD)表示。按以下公式计算被测物对肿瘤细胞生长的抑制率。

$$\text{抑制率} = [\text{对照组吸光度} - \text{加药组吸光度}] / \text{对照组吸光度} \times 100\%$$

1.2.5 改良肉汤稀释法测定抗菌活性

采用改良肉汤稀释法测定化合物对大肠杆菌 [*Escherichia coli* (25922)], 枯草芽孢杆菌 [*Bacillus subtilis* (6633)] 和金黄色葡萄球菌 [*Staphylococcus aureus* (25923)] 的抑制作用。样品用甲醇溶解, 氯霉素作为阳性对照。

样品准备: 将样品配制成 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的储备

液,溶剂为 10% 的甲醇。

菌株活化:取保存在甘油管中的菌液 50 μL ,加入含营养肉汤培养基的试管,37 $^{\circ}\text{C}$,180 r/min 摇床培养 10 h。

取活化的菌液 100 μL 再次加入新鲜的含营养肉汤培养基的试管,37 $^{\circ}\text{C}$,180 rpm 摇床培养 6 h,测定吸光度为 0.6 ~ 0.8 范围内可用。将上述活化的菌液,经灭菌的营养肉汤 1:1000 稀释后备用。

样品铺板:取灭菌的 96 孔板,第一孔直接加入 200 μL 的样品原液,其余每孔加入营养肉汤 100 μL ,从第一孔中吸出 100 μL 加入第二孔,混匀再吸取 100 μL 至第 3 孔,如此连续倍半稀释至第 11 孔,并从第 11 孔中吸取 100 μL 弃去,第 12 孔为不含药

物的生长对照。混匀后第 1 孔至第 11 孔药物,使其浓度分别为 200、100、50、25、12.5 …… $\mu\text{g}/\text{mL}$,密封后置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 普通孵箱中,孵育 16 ~ 20 h 判断结果。设置空白溶剂对照,阴性对照(即不加药物的生长对照孔)和阳性药物对照(氯霉素)。以恰好能够完全抑制小孔内细菌生长的药物浓度为最低抑菌浓度(MIC)。

2 实验结果

2.1 化合物分离与鉴定

通过各种分离手段,从该真菌中共分离得到 8 个化合物,根据波谱数据和文献比对确定了化合物 1 ~ 8 的结构如下(图 1)。

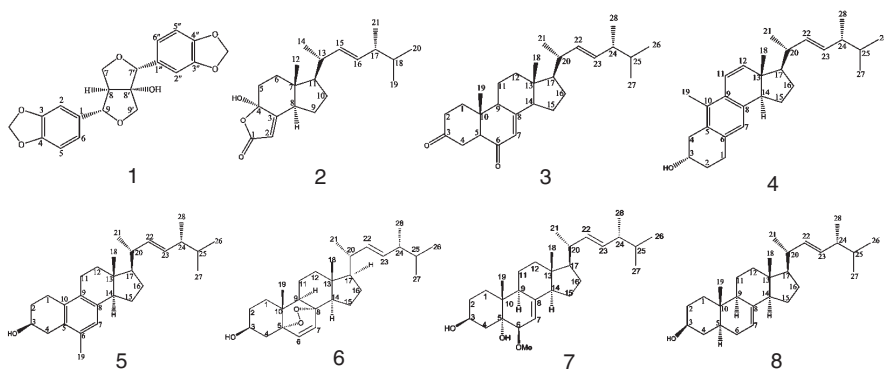


图 1 化合物 1 ~ 8 的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of compounds 1-8

化合物 1 为无色晶体;易溶于氯仿。 ^1H NMR (CD_3OD), δ_{H} : 6.78-6.94 (6H, m), 5.98 (2H, s), 5.96 (2H, s), 4.85 (1H, d, $J = 5$ Hz), 4.82 (1H, s), 4.51 (1H, dd, $J = 8, 9.5$ Hz), 4.04 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 3.91 (1H, $J = 9.5$ Hz), 3.83 (1H, dd, $J = 6, 9$ Hz), 3.02 ~ 3.06 (1H, m), 1.58 (1H, s); ^{13}C NMR (CD_3OD), δ_{C} : 147.5, 148.0, 148.1 和 148.3 (C-3, 3", 4, 4"), 134.8 (C-1), 129.3 (C-1"), 120.3 (C-6"), 120 (C-6), 108.8 (C-5"), 108.4 (C-5), 107.6 (C-2"), 107.1 (C-2), 91.8 (C-8'), 87.7 (C-7'), 86 (C-7), 75 (C-9'), 71.8 (C-9), 60.6 (C-8)。此波谱数据与文献报道^[5]的基本一致,故鉴定为 paulownin。

化合物 2 为无色晶体; ^1H NMR (CD_3OD), δ_{H} : 5.72 (1H, d, $J = 1.5$ Hz), 5.35 (1H, dd, $J = 7.5, 15$ Hz), 5.26 (1H, dd, $J = 8.5, 15.5$ Hz), 2.75 (1H, ddd, $J = 11.7, 6.7, 1.9$ Hz), 2.39 (1H, ddd, $J = 14.1, 4.2, 2.5$ Hz), 2.22 ~ 2.09 (1H, m), 2.09 ~

1.98 (2H, m), 1.98 ~ 1.91 (2H, m), 1.88 ~ 1.51 (9H, m), 1.14 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.02 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 0.94 (6H, dd, $J = 8.5, 6.7$ Hz), 0.71 (3H, s); ^{13}C NMR (CD_3OD), δ_{C} : 171.1 (C-1), 170.7 (C-3), 134.7 (C-15), 132.9 (C-16), 112.2 (C-2), 104.9 (C-4), 55.4 (C-11), 50.4 (C-8), 48.9 (C-7), 42.9 (C-17), 40.1 (C-13), 35.3 (C-6), 35.1 (C-5), 33.1 (C-18), 28.9 (C-10), 21.4 (C-9), 21 (C-14), 20 (C-19), 19.7 (C-20), 17.6 (C-21), 11.76 (C-12)。此波谱数据与文献报道^[6]的基本一致,故鉴定为 demethylcincisterol A3。

化合物 3 为无色针状晶体; ^1H NMR (CD_3OD), δ_{H} : 5.25 ~ 5.08 (1H, m), 2.63 ~ 2.43 (1H, m), 2.42 ~ 2.18 (1H, m), 2.13 ~ 1.95 (2H, m), 1.86 ~ 1.78 (1H, m), 1.78 ~ 1.56 (2H, m), 1.51 ~ 1.27 (2H, m), 1.05 ~ 0.97 (2H, m), 0.87 (1H, d, $J = 6.8$ Hz), 0.79 (2H, dd, $J = 8.1, 6.7$ Hz), 0.60 (1H, s); ^{13}C NMR (CD_3OD), δ_{C} : 211 (C-3), 198.3 (C-6), 163.9

(C-8), 135.1 (C-22), 132.8 (C-23), 123 (C-7), 56.3 (C-17), 55.9 (C-14), 54.8 (C-5), 49.9 (C-9), 44.7 (C-13), 43 (C-24), 40.4 (C-20), 38.8 (C-12), 38.5 (C-10), 38.3 (C-1), 37.4 (C-2), 37.2 (C-4), 33.3 (C-25), 28 (C-16), 22.7 (C-15), 22.2 (C-11), 21.3 (C-21), 20.1 (C-26), 19.8 (C-27), 17.8 (C-28), 12.9 (C-19), 12.8 (C-18)。此波谱数据与文献报道^[7]的基本一致,故鉴定为 ergosta-7,22-diene-3,6-dione。

化合物 4 为无色针状晶体;¹H NMR(CD₃OD), δ_{H} : 6.65 (1H, s), 6.58 (1H, d, $J = 9.9$ Hz), 6.49 (1H, d, $J = 9.9$ Hz), 5.31 ~ 5.19 (2H, m), 4.17 (1H, s), 3.06 (1H, dd, $J = 16.4, 5.4$ Hz), 2.95 ~ 2.76 (2H, m), 2.54 (1H, dd, $J = 16.5, 7.9$ Hz), 2.20 (3H, s), 1.15 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.94 (3H, d, $J = 6.9$ Hz), 0.85 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 0.83 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 0.59 (3H, s); ¹³C NMR(CD₃OD), δ_{C} : 140.2 (C-12), 137.4 (C-8), 135.4 (C-22), 134.3 (C-6), 132.6 (C-23), 132 (C-10), 131 (C-9), 130.30 (C-5), 123.7 (C-11), 123.2 (C-7), 68.2 (C-3), 51.9 (C-14), 50.4 (C-17), 43.7 (C-13), 43 (C-24), 41.1 (C-20), 36.7 (C-4), 33.3 (C-25), 31.4 (C-2), 29.7 (C-15), 28 (C-1), 22 (C-16), 21 (C-21), 20.1 (C-27), 19.8 (C-26), 17.8 (C-28), 14.6 (C-19), 11.7 (C-18)。此波谱数据与文献报道^[8]的基本一致,故鉴定为 citreanthrasteroid B。

化合物 5 为白色粉末;¹H NMR(CD₃OD), δ_{H} : 6.65 (1H, s), 5.27 ~ 5.16 (2H, m), 4.16 (1H, s), 3.07 (1H, dd, $J = 16.4, 5.5$ Hz), 2.56 (1H, dd, $J = 16.4, 8.0$ Hz), 2.23 (1H, dd, $J = 12.8, 7.1$ Hz), 2.10 (3H, s), 2.01 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 1.97 ~ 1.83 (2H, m), 1.82 ~ 1.62 (1H, m), 1.55 (7H, s), 1.53 ~ 1.33 (3H, m), 1.26 (3H, s), 1.09 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.94 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 0.85 (6H, dd, $J = 6.8, 5.8$ Hz), 0.59 (3H, s); ¹³C NMR(CD₃OD), δ_{C} : 137.9 (C-8), 135.6 (C-22), 134.2 (C-6), 132.5 (C-10), 132.1 (C-9), 132.1 (C-23), 129.7 (C-5), 123.9 (C-7), 68.2 (C-3), 55 (C-17), 51.9 (C-14), 42.9 (C-24), 41.8 (C-13), 40.6 (C-20), 37.1 (C-12), 36.6 (C-4), 33.1 (C-28), 31.4 (C-2), 29.2 (C-15), 27.6 (C-16), 25.8 (C-11), 24.2 (C-1), 21 (C-27), 20 (C-21), 19.7 (C-25), 17.7 (C-19), 14.6 (C-26), 11.4 (C-18)。此波谱数据与文献报道^[9]的基本一致,故鉴定为 19-norergosta-5,7,9,22-tetraene-3 β -ol。

化合物 6 为白色粉末;¹H NMR(CD₃OD), δ_{H} : 6.49 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 6.22 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 5.25 ~ 5.09 (2H, m), 3.94 (1H, tt, $J = 11.4, 5.0$ Hz), 2.09 (1H, ddd, $J = 13.8, 5.1, 2.0$ Hz), 2.06 ~ 1.98 (1H, m), 1.93 (2H, tdd, $J = 13.8, 6.4, 2.8$ Hz), 1.88 ~ 1.80 (3H, m), 1.79 ~ 1.64 (2H, m), 1.63 ~ 1.52 (2H, m), 1.52 ~ 1.43 (3H, m), 1.43 ~ 1.30 (2H, m), 1.22 (3H, dtt, $J = 13.0, 8.8, 3.9$ Hz), 0.99 (3H, d, $J = 6.7$ Hz), 0.90 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 0.87 (3H, s), 0.83 (3H, s), 0.81 (3H, d, $J = 1.4$ Hz), 0.80 (3H, d, $J = 2.3$ Hz); ¹³C NMR(CD₃OD), δ_{C} : 135.3 (C-22), 135.2 (C-6), 132.4 (C-23), 130.8 (C-7), 82.3 (C-5), 79.5 (C-8), 66.5 (C-3), 56.4 (C-17), 51.8 (C-14), 51.3 (C-9), 44.7 (C-13), 42.9 (C-24), 39.8 (C-20), 39.5 (C-12), 37.1 (C-4), 37.1 (C-10), 34.8 (C-1), 33.2 (C-25), 30.2 (C-2), 28.8 (C-16), 23.5 (C-11), 21 (C-21), 20.8 (C-15), 20.1 (C-27), 19.8 (C-26), 18.3 (C-19), 17.7 (C-28), 13 (C-18)。此波谱数据与文献报道^[10]的基本一致,故鉴定为 (22*E*)-5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol。

化合物 7 为白色粉末;¹H NMR(CD₃OD), δ_{H} : 5.29 ~ 5.10 (2H, m), 4.04 (1H, td, $J = 11.2, 5.4$ Hz), 3.39 (3H, s), 3.17 (1H, d, $J = 5.0$ Hz), 2.13 (1H, dd, $J = 13.1, 11.4$ Hz), 2.08 ~ 1.97 (2H, m), 1.86 (1H, dt, $J = 13.2, 6.9$ Hz), 1.75 (1H, ddd, $J = 13.3, 4.7, 2.1$ Hz), 1.55 (4H, t, $J = 8.2$ Hz), 1.44 (2H, tt, $J = 13.3, 7.4$ Hz), 1.36 ~ 1.22 (4H, m), 1.05 ~ 0.98 (6H, m), 0.91 (3H, d, $J = 6.8$ Hz), 0.83 (6H, t, $J = 6.5$ Hz), 0.59 (3H, s); ¹³C NMR(CD₃OD), δ_{C} : 143.8 (C-8), 135.6 (C-22), 132.2 (C-23), 115.1 (C-7), 82.6 (C-6), 77.4 (C-5), 68 (C-3), 56.1 (C-17), 55.1 (C-14), 44 (C-9), 44 (C-13), 43 (C-24), 40.6 (C-12), 39.7 (C-20), 39.5 (C-4), 37.4 (C-10), 33.2 (C-25), 32.9 (C-1), 31 (C-2), 28.1 (C-16), 23 (C-11), 22.3 (C-15), 21.3 (C-21), 21.3 (C-27), 20.1 (C-26), 18.5 (C-19), 17.8 (C-28), 12.5 (C-18), 58.5 (OCH₃-6)。此波谱数据与文献报道^[11]的基本一致,故鉴定为 (3 β ,5 α ,6 β ,22*E*)-6-methoxyergosta-7,22-diene-3,5-diol。

化合物 8 为无色油状物质;¹H NMR(CD₃OD), δ_{H} : 5.17 (2H, dt, $J = 15.3, 7.8$ Hz), 2.32 (1H, d, $J = 17.0$ Hz), 2.01 (2H, m), 1.90 ~ 1.71 (2H, m), 1.52 ~ 1.34 (2H, m), 1.14 ~ 0.98 (4H, m), 0.91 (2H, d, $J = 6.8$ Hz), 0.89 ~ 0.77 (8H, m), 0.55 (2H, s); ¹³C

NMR (CD₃OD), δ_c : 139.7 (C-8), 135.8 (C-22), 132.1 (C-23), 117.6 (C-7), 71.2 (C-3), 56.2 (C-17), 55.3 (C-14), 49.6 (C-9), 43.5 (C-24), 43.5 (C-13), 40.6 (C-20), 40.4 (C-5), 39.6 (C-12), 38.2 (C-4), 37.3 (C-1), 34.4 (C-10), 33.3 (C-25), 32.1 (C-2), 29.9 (C-6), 28.3 (C-16), 23.1 (C-15), 21.7 (C-11), 21.3 (C-21), 20.1 (C-27), 19.8 (C-26), 17.8 (C-28), 13.2 (C-19), 12.3 (C-18)。此波谱数据与文献报道^[12]的基本一致,故鉴定为 ergosta-7,22-dien-3 β -ol。

2.2 细胞毒活性结果

采用 CCK-8 法测定化合物 2 对 2 种肿瘤细胞的生长抑制作用,结果显示化合物 2 对 SMMC-7721 细胞株和 SGC-7901 细胞株具有较强细胞毒活性,IC₅₀ 分别为 11.4 和 13.94 $\mu\text{g}/\text{mL}$,表明该菌株中的活性成分有较强的抑制肿瘤生长能力。

2.3 抗菌活性结果

实验结果显示化合物 2 表现出较强的抗菌活性,其抗大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的 IC₅₀ 分别为 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。氯霉素对此三种指示菌的 IC₅₀ 为 0.39 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3 讨论

本次研究从极地真菌 *Geomyces* sp. 3-1 中共分离得到 8 个次级代谢产物,其结构类型主要为苯丙素类、甾体化合物类及其类似物,化合物 2~7 均为首次从地丝霉属(*Geomyces*)真菌中分离得到。其中甾体类似物 2 的基本骨架被认为衍生自甾醇母核的剧烈氧化降解,其结构中缺少了包含六个碳原子的 A 环以及 19 位的甲基^[13]。文献报道化合物 2 这类甾体类似物能够抑制源自患者的白血病和各种实体瘤的人类肿瘤细胞系生长,是一种哺乳动物 DNA 聚合酶特异性抑制剂,IC₅₀ 值的范围在 7.5 至 12 μM ^[14],本研究报道了它对肿瘤细胞株 SMMC-7721 和 SGC-7901 的中等强度抑制活性以及较强的抗菌活性;此外,化合物 1 可增强杀虫剂除虫菊酯的杀虫作用,可有效杀灭蚊蝇及其幼体^[15];化合物 5 具有 PTP1B 酶抑制活性,其 IC₅₀ 为 8.9 \pm 0.3 μM ^[9]。以上研究为极地微生物资源的进一步开发利用提供了重要依据。

参考文献

1 Ding Z(丁壮), Li DH(李德海), Gu QQ(顾谦群), et al. Research progress of polar microorganisms secondary metabo-

lites and their bioactivities. *Chin J Antibiotics* (中国抗生素杂志), 2014, 39(1): 6-13.

2 Zeng YX(曾胤新), Chen B(陈波), Zheng TL(郑天凌), et al. Polar microorganisms, a potential source for new natural medicines-A review. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), 2008, 48: 695-700.

3 Liu JT, Lu XL, Liu XY, et al. Bioactive natural products from the antarctic and arctic organisms. *Mini Rev Med Chem*, 2013, 13: 617-626.

4 Li Y, Sun B, Liu S, et al. Bioactive asteric acid derivatives from the Antarctic ascomycete fungus *Geomyces* sp. *J Nat Prod*, 2008, 71: 1643-1646.

5 Silvestre AJD, Evtuguin DV, Sousa APM, et al. Lignans from a hybrid Paulownia wood. *Biochem Syst Ecol*, 2005, 33: 1298-1302.

6 Mansoor TA, Hong J, Lee CO, et al. Cytotoxic sterol derivatives from a marine sponge *Homaxinella* sp. *J Nat Prod*, 2005, 68: 331-336.

7 Kawahara N, Sekita S, Satake M. Steroids from *Calvatia cyathiformis*. *Phytochemistry*, 1994, 37: 213-215.

8 Liu T, Zhang L, Li Z, et al. A new sulfo-xanthone from the marine-derived fungus *Penicillium sacculum*. *Chem Nat Compd*, 2012: 1-3.

9 Lee HS, Hwang IH, Kim JA, et al. Isolation of protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory constituents from the sclerotia of *Polyporus umbellatus* Fries. *Bull Korean Chem Soc*, 2011, 32: 697-700.

10 Wang JF, Huang YJ, Fang MJ, et al. 5 α , 8 α -Epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (ergosterol peroxide) methanol solvate. *Acta Crystallogr. Sect E: Struct Rep Online*, 2004, 60: 764-765.

11 Gao H, Hong K, Zhang X, et al. New steryl esters of fatty acids from the mangrove fungus *Aspergillus awamori*. *Helv Chim Acta*, 2007, 90: 1165-1178.

12 Takaishi Y, Ohashi T, Tomimatsu T. Ergosta-7,22-dien-3 β -ol glycoside from *Tylopilus neofelleus*. *Phytochemistry*, 1989, 28: 945-947.

13 De Riccardis F, Spinella A, Izzo I, et al. Synthesis of (17R)-17-methylincisterol, a highly degraded marine steroid. *Tetrahedr Lett*, 1995, 36: 4303-4306.

14 Togashi H, Mizushima Y, Takemura M, et al. 4-Hydroxy-17-methylincisterol, an inhibitor of DNA polymerase- α activity and the growth of human cancer cells *in vitro*. *Biochem Pharmacol*, 1998, 56: 583-590.

15 Matsubara H. Studies on synergist for insecticides. (XXVII): On the synergistic effect of several lignans on pyrethrins and allethrin (commemoration issue dedicated to professor Minoru Ohno On the occasion of his Retirement), 1972.