

海洋来源真菌 *Aspergillus* sp. SCSIO 41501 中含氮化合物马 宣^{1,2}, 农旭华¹, 黄钟辉^{1,2}, 梁 潇^{1,2}, 王 洁¹, 漆淑华^{1*}¹中国科学院南海海洋研究所中国科学院海洋生物资源可持续利用重点实验室, 广州 510301;²中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 通过多种色谱柱层析(包括凝胶 Sephadex LH-20、正相硅胶、中压液相色谱和高效液相色谱)分离手段, 从来源于南海柳珊瑚 *Melitodessquamata* 的一株共附生真菌 *Aspergillus* sp. SCSIO 41501 的发酵液中分离纯化了 11 个含氮化合物, 它们的化学结构通过核磁共振和质谱等技术分别鉴定为 13-(*S*)-赭曲霉素 A(1)、13-(*S*)-甲酯化赭曲霉素 A(2)、13-(*R*)-赭曲霉素 A(3)、4-(*R*)-OH-赭曲霉素 A(4)、18-OH-赭曲霉素 A(5)、transtorine(6)、quinolactacin C1(7)、marinamide(8)、methyl marinamide(9)、aspergilliamide(10)、anoectochine(11)。所有化合物进行了抗菌实验, 其中化合物 2 对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌具有较强的活性, 其 MIC 值分别为 31.25、7.8、15.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 化合物 3 显示中等抗菌活性, 其 MIC 值分别为 62.5、31.25、62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

关键词: 海洋真菌; *Aspergillus* sp. SCSIO 41501; 含氮化合物

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.7.010

N-containing Compounds of Marine-derived Fungus *Aspergillus* sp. SCSIO 41501MA Xuan^{1,2}, NONG Xu-hua¹, HUANG Zhong-hui^{1,2}, LIANG Xiao^{1,2}, WANG Jie¹, QI Shu-hua^{1*}¹Key Laboratory of Marine Bio-resources Sustainable Utilization, Guangdong Key Laboratory of

Marine MateriaMedica, Research Center for Marine Microbes, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese

Academy of Science, Guangzhou 510301, China; ²Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Eleven N-containing compounds were isolated from a culture broth of the fungal strain *Aspergillus* sp. SCSIO 41501 isolated from the China South Sea gorgonian *Melitodessquamata*. They were identified as 13-(*S*)-ochratoxin A (1), 13-(*S*)-ochratoxin A methyl ester (2), 13-(*R*)-ochratoxin A (3), 4-(*R*)-OH-ochratoxin A (4), 18-OH-ochratoxin A (5), transtorine (6), quinolactacin C1 (7), marinamide (8), methyl Marinamide (9), aspergilliamide (10), and anoectochine (11) on the basis of spectroscopic analyses (1D NMR and ESI-MS) and by comparison of the NMR data with literatures. All the compounds were tested for their antibacterial activity. Compounds 2 and 3 showed moderate antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* with MIC values of 31.25, 7.8, 15.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for 2, and 62.5, 31.25, 62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for 3, respectively.

Key words: marine fungus; *Aspergillus* sp. SCSIO 41501; secondary metabolism

结构新颖、生物活性独特的天然产物是新药及新药先导化合物的重要来源^[1-3]。近年来, 来源于海洋生物的活性次生代谢产物的研究成为焦点, 新发现的海洋天然产物类型多样, 并且具有抗肿瘤、抗病毒、抗附着等生物活性^[4,5], 而海洋微生物在海洋中由于其所处环境的特殊性, 决定了微生物具有一些特异的代谢途径及遗传背景而占有重要的一席之地^[6], 许多海洋共附生微生物的次级代谢产物与其

宿主次生代谢产物相似, 被认为参与了宿主活性物质的合成过程, 甚至是活性物质的真正生产者^[7,8]。海洋真菌是海洋微生物的重要组成部分, 具有代谢产物丰度大、生物活性好等特点, 成为海洋天然产物的一个重要来源。本实验室曾对一株来源于南海柳珊瑚 *Melitodessquamata* 共附生真菌 *Aspergillus* sp. SCSGAF 0076^[9] (现编号为 *Aspergillus* sp. SCSIO 41501) 的次生代谢产物进行了研究, 从中分离到一些生物活性较好的环脂肽和其它含氮类化合物^[9]。基于该菌株次生代谢产物的结构多样性, 为挖掘其产含氮化合物的潜能, 我们摸索了多种改变该菌株培养基的发酵条件, 最终选择了在原培养基基础上,

收稿日期: 2017-02-13 接受日期: 2017-05-02

基金项目: 国家自然科学基金(41376160; 81673326)

* 通信作者 E-mail: shuhuaqi@scsio.ac.cn

将 L-色氨酸的比例从 0.05% 提高到 0.2%, 并从该改良培养基的发酵产物中分离到其他含氮类型的化合物。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Bruker AVANCE 500 型超导核磁共振仪, 内标为 TMS; Shimadzu GC-MS QP5050A 型质谱仪 (ES-MS); 正相硅胶 (100 ~ 200 目, 200 ~ 300 目, H 细硅胶, 青岛海洋所化工厂); 反相硅胶 (型号 Rp-18, 80-100 目, Pharmacia 公司), 凝胶 (型号 Sephadex LH-20, Pharmacia 公司); 薄层色谱预制板 (型号 HSG-F₂₅₄, 烟台市化学工业研究所), 高效液相色谱仪 (HPLC, Shimadzu LC-20AT pump with a Shimadzu SPD-M20A Photodiode Array Detector)。

1.2 实验方法

1.2.1 菌种的鉴定与发酵培养

真菌 SCSIO 41501 从采自于中国海南三亚的柳珊瑚 *Melitodessquamata* 中分离得到, 通过 DNA 的提取、Intertek Testing Services (ITS) 序列的扩增及对比 (GenBank database), 鉴定为 *Aspergillus* sp.^[9], 该菌种保存于中国科学院海洋微生物中心 (KJ564278)。

发酵培养基为液体培养基, 在原配方为山梨醇 20 g/L, 酵母膏 3 g/L, 麦芽糖 20 g/L, 谷氨酸钠 10 g/L, 色氨酸 2 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.3 g/L, KH₂PO₄ 0.5 g/L, 海盐 30 g/L, 甲醇 5 mL/L, pH6.5 的基础上, 将色氨酸的浓度从 0.05% 提高到 0.2%, 并添加了 0.5% 的甲醇。从 PDA 培养基的平板上, 用竹签刮取该菌株的孢子, 用移液枪接种于 1 L 的三角瓶 (内含 300 mL 培养基, 每瓶接种 5 mL 刮取的孢子液), 于 26 °C 静置培养 30 d, 得到发酵液 100 L。

1.2.2 发酵产物提取与分离

将 100 L 发酵液的菌体与菌液分离, 菌体经过丙酮浸泡破碎后, 浸取液回收丙酮后剩余水相用乙酸乙酯萃取浓缩得到菌体浸膏, 菌液经过大孔树脂过滤, 无水乙醇冲洗蒸干得到菌液浸膏, 共得到浸膏 85 g。经过正相硅胶柱层析, 先用溶剂二氯甲烷/丙酮 (1:0 ~ 0.5:0.5) 冲洗, 后用二氯甲烷/甲醇 (1:0 ~ 0.5:0.5) 洗脱, 最后洗脱液通过 TLC 检测合并得到 8 个组分 (Fr1 ~ Fr8)。

Fr3 经过正相硅胶柱层析 (洗脱液为二氯甲烷/甲醇 1:0 ~ 0.5:0.5) 得到 7 个亚组分 (Fr3.1 ~ Fr3.7), 其中 Fr3.2 经过凝胶柱层析后 HPLC 制备得到

化合物 3 (16 mg) 和 10 (36.2 mg)。Fr3.4 经过 ODS 和 HPLC 纯化后得到化合物 8 (10 mg)。Fr3.6 通过中压反相硅胶柱 (ODS) 以甲醇/水 (10% ~ 100%) 梯度洗脱后, 用制备型 HPLC 分离得到化合物 1 (4.3 mg) 和 2 (18 mg)。

Fr5 通过正相硅胶柱层析 (先用洗脱液二氯甲烷/丙酮 1:0 ~ 0.5:0.5, 后用二氯甲烷/甲醇 1:0 ~ 0.5:0.5) 后得到三个亚组分 (Fr5.1 ~ Fr5.3), Fr5.3 经过 ODS 以甲醇/水 (20% ~ 100%) 梯度洗脱后, 再经凝胶柱层析除杂, 用 HPLC 分离得到化合物 7 (9.0 mg) 和 9 (3.5 mg)。

组分 Fr7 经过硅胶柱层析 (二氯甲烷/甲醇 1:0 ~ 0.5:0.5) 得到 6 个亚组分 (Fr7.1 ~ Fr7.6), Fr7.4 经过 ODS 和 HPLC 分离得到化合物 4 (9.7 mg)、5 (4.5 mg)、6 (2.1 mg)。Fr7.6 经过 ODS 和 HPLC 制备得到化合物 11 (23 mg)。

1.2.3 抗菌活性测定

抗菌实验先采用纸片法, 将已灭菌的 LBA 培养基倒平板, 凝固后使用。将指示菌用 LB 液体培养基培养, 于摇床培养 24 h (30 °C) 后用酶标仪测其 OD 值, 稀释至需要的菌体浓度 (OD 值在 0.1 ~ 0.5), 涂布于凝固的培养基上。各单体化合物以 DMSO 溶解配制成 10 mg/mL 浓度的溶液, 将 5 μL 溶液加到直径为 6 mm 的已灭菌纸片上 (50 μg/disc), 以青霉素 (10 μg/mL) 和氯霉素 (100 μg/mL) 做阳性对照, DMSO 做空白对照, 置于已涂菌的平板中, 使其紧贴培养基。每个菌做三个平行实验, 30 °C 下培养两天, 观察现象。

MIC 值: 先通过纸片法初筛化合物对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌的抗菌活性, 对有活性的化合物进行 MIC 值的测定。采用 96 孔板法测定, 先对指示菌的 OD 值进行测定, 并稀释至需要的菌体浓度 (OD 值在 0.01 ~ 0.05)。第一个孔加入 900 μL 的菌液和 100 μL 的化合物溶液, 第二个孔至第八个孔, 分别加入 500 μL 的菌液, 从摇匀后的第一个孔吸 500 μL 混合液加入到第二个孔, 从第二个孔吸 500 μL 混合液加入到第三个孔, 以此类推, 样品的最终浓度分别为 1000、500、250、125、62.5、31.25、15.125、7.8125 μg/mL, 以 DMSO 做空白对照, 氯霉素 (100 μg/mL) 做阳性对照, 在 30 °C 条件下培养, 12 ~ 24 h 后观察现象, 得出实验结果。

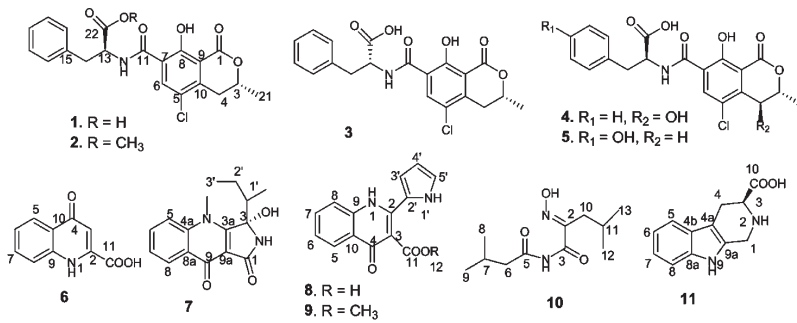


图1 化合物1~11的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1-11

2 实验结果

2.1 结构鉴定

化合物 1 3-(*S*)-Ochratoxin A: 白色固体, 紫外灯 360 nm 下显示蓝色荧光; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 1.46 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-21), 2.92 (1H, dd, *J* = 17.5, 12 Hz, H-4), 3.23 (1H, m, H-4), 3.09 (1H, dd, *J* = 13.5, 8 Hz, H-14), 3.19 (1H, dd, *J* = 13.5, 3 Hz, H-14), 4.72 (1H, m, H-3), 4.86 (1H, m, H-13), 7.21-7.28 (5H, m, H-(16-20)), 8.07 (1H, s, H-6), 12.66 (1H, s, OH-8); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 20.3 (C-21), 32.1 (C-4), 36.7 (C-14), 54.4 (C-13), 75.9 (C-3), 111.9 (C-9), 120.5 (C-5), 121.9 (C-7), 127.1 (C-18), 128.8 (C-17, C-19), 129.7 (C-16, C-20), 136.4 (C-6), 137.5 (C-15), 142.3 (C-10), 158.8 (C-8), 163.3 (C-1), 168.7 (C-11), 172.8 (C-22)。以上氢谱和碳谱数据与文献¹⁰报道的化合物 13-(*S*)-ochratoxin A 一致。

化合物 2 13-(*S*)-Ochratoxin A methyl ester: 淡黄色固体; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 1.46 (3H, d, *J* = 6, H-21), 2.92 (1H, dd, *J* = 17, 11.5 Hz, H-4), 3.10 (1H, dd, *J* = 14, 8.5 Hz, H-4), 3.19 (1H, dd, *J* = 13.5, 3 Hz, H-14), 3.24 (1H, dd, *J* = 17, 2.5 Hz, H-14), 3.67 (3H, s, H-23), 4.78 (1H, dd, *J* = 13, 7.5 Hz, H-13), 4.85 (1H, m, H-3), 7.21-7.38 (5H, m, H-16/H-17/H-18/H-19/H-20), 8.03 (1H, s, H-6), 8.67 (1H, d, *J* = 5 Hz, NH-12), 12.63 (1H, s, OH-8); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 20.0 (C-21), 31.7 (C-4), 36.4 (C-14), 52.1 (C-23), 54.0 (C-13), 75.4 (C-3), 111.4 (C-9), 120.0 (C-5), 121.4 (C-7), 126.7 (C-18), 128.3 (C-17,

C-19), 129.1 (C-16, C-20), 135.7 (C-6), 136.7 (C-15), 141.8 (C-10), 158.2 (C-8), 163.0 (C-1), 168.2 (C-11), 171.4 (C-22)。以上氢谱和碳谱数据与文献¹⁰报道的化合物 13-(*S*)-ochratoxin A methyl ester 一致。

化合物 3 13-(*R*)-Ochratoxin A: 淡黄色固体; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 1.57 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-21), 2.28 (1H, dd, *J* = 17.5, 11.5 Hz, H-4), 3.20 (1H, m, H-4), 3.25 (1H, dd, *J* = 17.5, 3 Hz, H-14), 3.31 (1H, dd, *J* = 14, 5 Hz, H-14), 4.73 (1H, m, H-3), 5.02 (1H, m, H-13), 7.06-7.28 (5H, m, H-16/H-17/H-18/H-19/H-20), 8.39 (1H, s, H-6), 8.51 (1H, d, *J* = 7 Hz, NH-12), 12.85 (1H, s, OH-22); ¹³C NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 20.6 (C-21), 32.2 (C-4), 37.3 (C-14), 54.3 (C-13), 76.0 (C-3), 110.0 (C-9), 120.2 (C-5), 123.1 (C-7), 127.2 (C-18), 128.6 (C-17, C-19), 129.2 (C-16, C-20), 135.7 (C-6), 138.9 (C-15), 140.1 (C-10), 159.0 (C-8), 163.0 (C-1), 169.7 (C-11), 175.1 (C-22)。以上氢谱和碳谱数据与文献¹¹报道的化合物 13-(*R*)-ochratoxin A 一致。

化合物 4 4-(*S*)-OH-Ochratoxin A: 淡黄色固体, 紫外灯 360 nm 下显示蓝色荧光; 低分辨质谱 (ESIMS) 在 *m/z* 处给出分子离子峰 442.2 [M + Na]⁺。 ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 1.45 (3H, d, *J* = 4.5 Hz, H-21), 3.09 (1H, dd, *J* = 10, 6 Hz, H-14), 3.22 (1H, dd, *J* = 11.5, 3.5 Hz, H-14), 4.71 (1H, dd, *J* = 12.5, 7.5 Hz, H-4), 4.73 (1H, m, H-13), 4.81 (1H, m, H-3), 7.22-7.24 (5H, m, H-16/H-17/H-18/H-19/H-20), 8.09 (1H, s, H-6), 8.63 (1H, s, NH-12), 12.64 (1H, s, OH-8); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 16.1 (C-21), 63.2 (C-4),

36.9 (C-14), 54.5 (C-13), 78.9 (C-3), 111.3 (C-9), 122.0 (C-5), 122.4 (C-7), 127.1 (C-18), 128.8 (C-17, C-19), 129.7 (C-16, C-20), 136.9 (C-6), 137.5 (C-15), 142.7 (C-10), 158.3 (C-8), 163.1 (C-1), 168.7 (C-11), 172.8 (C-22)。以上氢谱和碳谱数据与文献¹²报道的化合物 4-(S)-OH-ochratoxin A 一致。

化合物 5 黄色固体, 紫外灯 360 nm 下显示蓝色荧光; 低分辨质谱 (+)-ESIMS 在 m/z 处给出分子离子峰 442.2 [M + Na]⁺, 推出该分子式为 C₂₀H₁₈O₇NCl; NMR 数据与化合物 4 相似, 不同的是化合物 4 中是 CH-4 位上有一个羟基取代, 而化合物 5 中 OH 取代发生在碳 18 位上; 从氢谱中可以看出, δ : 7.02 (2H, d, $J = 5.5$ Hz), 7.65 (2H, d, $J = 5.5$ Hz) 分别是 H-16, 17, 19, 20 位上 H 的化学位移, 且是对称的, 故推断碳 18 位被羟基取代, 得出化合物 5 的结构, 确定为 18-OH-ochratoxin A。以下是该化合物的 NMR 数据: ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 1.47 (3H, d, $J = 4$ Hz, H-21), 2.93 (1H, m, H-4), 3.23 (1H, dd, $J = 12.5, 1.5$ Hz, H-4), 3.09 (1H, dd, $J = 10, 3$ Hz, H-14), 2.96 (1H, m, H-14), 4.86 (1H, m, H-3), 4.64 (1H, m, H-13), 7.02 (2H, d, $J = 5.5$ Hz, H-16, 20), 7.65 (2H, d, $J = 5.5$ Hz, H-17, 19), 8.10 (1H, s, H-6), 8.56 (1H, s, NH-12)。9.27 (1H, s, OH-18); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 20.5 (C-21), 32.1 (C-4), 36.2 (C-14), 54.7 (C-13), 75.9 (C-3), 111.5 (C-17, C-19), 111.9 (C-9), 120.5 (C-5), 127.2 (C-7), 130.4 (C-16, C-20), 130.6 (C-18), 136.5 (C-6), 138.4 (C-15), 142.3 (C-10), 156.5 (C-8), 163.1 (C-1), 168.2 (C-11), 172.9 (C-22)。以上氢谱与碳谱数据与文献¹³报道的化合物 18-OH-ochratoxin A 一致。

化合物 6 Transtorine: 白色固体; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 6.63 (1H, s, H-3), 7.37 (1H, t, $J = 5.5$ Hz, H-7), 7.70 (1H, t, $J = 6$ Hz, H-6), 7.95 (1H, d, $J = 6$ Hz, H-8), 8.08 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-5); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 110.3 (C-3), 120.1 (C-8), 124.3 (C-10), 125.1 (C-6), 126.2 (C-5), 132.9 (C-7), 139.7 (C-9), 140.5 (C-2), 164.2 (C-11), 178.0 (C-4)。以上氢谱和碳谱数据与文献¹⁴报道的化合物 transtorine 一致。

化合物 7 Quinolactacin C1: 黄色固体; ¹H NMR

(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 0.54 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, Me-1'), 1.12 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-3'), 1.15 (1H, m, H-2'), 2.01 (1H, m, H-2'), 2.20 (1H, m, H-1'), 4.05 (3H, s, Me-4N), 6.92 (1H, s, 3-OH), 7.52 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-7), 7.84 (1H, t, $J = 7$ Hz, H-6), 7.89 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 8.26 (1H, d, $J = 8$ Hz, H-8); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 12.3 (C-3'), 13.1 (C-1'-Me), 22.4 (C-2'), 34.5 (C-4-N-Me), 40.7 (C-1'), 88.8 (C-3), 108.8 (C-9a), 117.3 (C-5), 124.7 (C-7), 125.7 (C-8), 128.4 (C-8a), 132.8 (C-6), 141.4 (C-4a), 163.4 (C-3a), 166.7 (C-1), 171.6 (C-9)。以上氢谱与碳谱数据与文献¹⁵报道化合物 quinolactacin C1 一致, 故确定该化合物为 quinolactacin C1。

化合物 8 Marinamide: 淡黄色固体; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 6.28 (1H, s, H-4'), 6.82 (1H, m, H-5'), 7.14 (1H, m, H-3'), 7.52 (1H, t, $J = 5$ Hz, H-6), 7.83 (1H, t, $J = 5$ Hz, H-7), 7.88 (1H, d, $J = 10$, H-8), 8.23 (1H, d, $J = 10$ Hz, H-5), 11.82 (1H, s, NH-1'), 12.46 (1H, s, NH-1), 16.09 (1H, s, OH-11); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 106.3 (C-3), 108.8 (C-4'), 113.5 (C-5'), 119.1 (C-8), 122.9 (C-10), 123.0 (C-3'), 123.5 (C-2'), 124.9 (C-5), 125.3 (C-6), 133.7 (C-7), 138.8 (C-9), 147.5 (C-2), 166.1 (C-11), 178.3 (C-4)。以上氢谱与碳谱数据与文献¹⁶报道化合物 marinamide 一致。

化合物 9 Methyl Marinamide: 淡黄色固体; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 3.68 (3H, s, H-12), 6.26 (1H, dd, $J = 10, 5$ Hz, H-4'), 6.48 (1H, m, H-5'), 7.13 (1H, m, H-3'), 7.36 (1H, t, $J = 5$ Hz, H-6), 7.68 (1H, t, $J = 5$ Hz, H-7), 7.38 (1H, d, $J = 10$ Hz, H-8), 8.08 (1H, d, $J = 10$ Hz, H-5), 11.59 (1H, s, H-1'), 11.68 (1H, s, H-1); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 52.3 (C-12), 113.9 (C-3), 110.3 (C-4'), 123.1 (C-5'), 119.0 (C-8), 124.6 (C-10), 112.5 (C-3'), 123.3 (C-2'), 125.2 (C-5), 124.2 (C-6), 132.8 (C-7), 140.0 (C-9), 141.2 (C-2), 168.1 (C-11), 174.2 (C-4)。以上氢谱与碳谱数据与文献¹⁶报道化合物 methyl Marinamide 一致。

化合物 10 Aspergilliamide: 白色固体; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 0.86 (6H, d, $J = 5$ Hz, H-12, H-13), 0.91 (6H, d, $J = 5$ Hz, H-8, H-9), 1.93

(1H, m, H-11), 2.02 (1H, m, H-7), 2.39 (2H, d, $J = 5$ Hz, H-10), 2.49 (2H, overlapped, H-6), 9.99 (1H, s, OH-1), 12.3 (1H, s, NH-4); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 Hz) δ : 22.7 (C-12), 22.7 (C-13), 23.0 (C-8), 23.0 (C-9), 32.0 (C-10), 25.1 (C-11), 26.3 (C-7), 46.0 (C-6), 153.0 (C-3), 163.2 (C-2), 172.9 (C-5)。以上氢谱与碳谱数据与文献¹⁰报道化合物 aspergilliamide 一致。

化合物 11 anoectochine: 棕黄色粉末; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 3.06 (1H, dd, $J = 16, 10.5$ Hz, H-4), 3.32 (1H, dd, $J = 16, 5$ Hz, H-4), 4.44 (2H, s, H-1), 4.50 (1H, dd, $J = 10, 5$ Hz, H-3), 7.04 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-7), 7.13 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-6), 7.39 (1H, d, $J = 8$ Hz, H-8), 7.51 (1H, d, $J = 8$ Hz, H-5), 9.94 (2H, s, NH-2, NH-9), 11.19 (1H, s, OH-10); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 Hz) δ : 21.96 (C-4), 40.3 (C-1), 54.1 (C-3), 104.6 (C-8), 111.4 (C-5), 117.9 (C-6), 119.1 (C-7), 121.8 (C-4a), 125.7 (C-4b), 126.3 (C-9a), 136.3 (C-8a), 170.2 (C-10)。以上氢谱与碳谱数据与文献¹⁷报道化合物 (3S)-1, 2, 3, 4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid 一致。

2.2 抗菌活性

对所有化合物做了抗菌活性筛选, 指示菌为大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、以及铜绿假单胞菌。结果显示, 化合物 **1**~**3** 都对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌具有不同程度的抑制活性, 其中化合物 **2** 显示较强的抗性, 其 MIC 值分别为 31.25、7.8、15.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 化合物 **3** 显示中等活性, 其 MIC 值分别为 62.5、31.25、62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1号化合物显示较弱的活性。所有化合物对铜绿假单胞菌均无抗菌活性。

参考文献

- Butler MS. The role of natural product chemistry in drug discovery. *J Nat Prod*, 2006, 69: 172-172.
- Harvey A. Natural products in drug discovery. *Drug Discov Today*, 2008, 13: 894-901.
- Li JWH, Vederas JC. Drug discovery and natural products: End of an era or an endless frontier? *Science*, 2009, 325: 161-165.
- Donia M, Hamann MT. Marine natural products and their po-

- tential applications as anti-infective agents. *Lancet Infect Dis*, 2003, 3: 338-348.
- Wang CY (王长云), Geng MY (耿美玉), Guan HS (管华诗). Current and future trends in the investigation of marine drugs. *Chin New Drugs* (中国新药杂志), 2005, 14: 278-282.
- Blunt JW, Copp BR, Hu WP, et al. Marine natural products. *Nat Prod Rep*, 2009, 26: 170-244.
- König GM, Kehraus S, Seibert SF, et al. Natural products from marine organisms and their associated microbes. *Chem-BioChem*, 2006, 7: 229-238.
- Li Z. Advances in marine microbial symbionts in the china sea and related pharmaceutical metabolites. *Mar Drugs*, 2009, 7: 113-129.
- Bao J, Zhang XY, Xu XY, et al. New cyclic tetrapeptides and asteltoxins from gorgonian-derived fungus *Aspergillus* sp. SC-SGAF 0076. *Tetrahedron*, 2013, 69: 2113-2117.
- Xu XY, He F, Zhang XY, et al. New mycotoxins from marine-derived fungus *Aspergillus* sp. SC-SGAF0093. *Food Chem Toxicol*, 2013, 53: 46-51.
- Cramer B, Konigs M, Humpf HU. Identification and *in vitro* cytotoxicity of ochratoxin A degradation products formed during coffee roasting. *J Agric Food Chem*, 2008, 56: 5673-5681.
- Xiao H, Marquardt RR, Abramson D, et al. Metabolites of ochratoxins in rat urine and in a culture of *Aspergillus ochraceus*. *Appl Environ Microbiol*, 1996, 62: 648-655.
- Yang S, Zhang H, De Seager S, et al. *In vitro* and *in vivo* metabolism of ochratoxin A: a comparative study using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole/time-of-flight hybrid mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, 2015, 407: 3579-3589.
- Al-Khalil S, Alkofahi A, El-Eisawi D, et al. Transthorine, a new quinoline alkaloid from *Ephedra transitoria*. *J Nat Prod*, 1998, 61: 262-263.
- Clark B, Capon RJ, Lacey E, et al. Quinolactacins revisited: from lactams to imide and beyond. *Org Biomol Chem*, 2006, 4: 1512-1519.
- Zhu F, Chen G, Wu J, et al. Structure revision and cytotoxic activity of marinamide and its methyl ester, novel alkaloids produced by co-cultures of two marine-derived mangrove endophytic fungi. *Nat Prod Res*, 2013, 27: 1960-1964.
- Wang X, Liu R, Yang Y, et al. Isolation, purification and identification of antioxidants in an aqueous aged garlic extract. *Food Chem*, 2015, 187: 37-43.