

曲霉属真菌 *Aspergillus clavatonanicus* HNMF114 的 次生代谢产物及其抗菌活性研究

王府润¹, 张圣良², 孔凡栋², 马青云², 谢晴宜², 戴好富³, 陈萍^{1*}, 赵友兴^{2*}

¹海南大学园艺学院, 海口 570228; ²中国热带农业科学院热带生物技术研究所海口市热带天然产物研究与利用重点实验室;

³中国热带农业科学院海南热带农业资源研究院, 海口 571101

摘要: 本文对一株来自中华紫蛤的附生真菌 HNMF114 进行次生代谢产物的研究。从中分离鉴定了 1 个新化合物和 8 个已知化合物。分别鉴定为 clavatone (**1**)、cyclo-(*L*-Trp-*L*-Trp) (**2**)、2,4-(1*H*,3*H*)-quinazolin-4(3*H*)-one (**3**)、clavatol (**4**)、kotanin (**5**)、orlandin (**6**)、desmethylkotanin (**7**)、(*S*)-2-(1-Hydroxy-2,2-dimethylpropyl)quinazolin-4(3*H*)-one (**8**)、(*S*)-2-methyl-1-(4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl)propyl acetate (**9**)。新化合物 **1** 对大肠杆菌的生长具有一定的抑制作用, 最小抑菌浓度 (MIC) 为 2 μg/mL。化合物 **4**、**9** 对金黄色葡萄球菌有一定的抑制作用, 最小抑制浓度分别为 1 μg/mL 和 4 μg/mL。化合物 **5** 对枯草芽孢杆菌有一定的抑制作用, 最小抑制浓度分别为 8 μg/mL。化合物 **4**、**5** 和 **9** 对李斯特菌有一定的抑制作用, 最小抑制浓度分别为 4、4 和 8 μg/mL。

关键词: *Aspergillus clavatonanicus*; 次生代谢产物; 抗菌活性

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)6-0971-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.6.010

Secondary metabolites and their antibacterial activity from the marine fungus *Aspergillus clavatonanicus* HNMF114

WANG Fu-run¹, ZHANG Sheng-liang², KONG Fan-dong²,

MA Qing-yun², XIE Qing-yi², DAI Hao-fu³, CHEN Ping^{1,*}, ZHAO You-xing^{2,*}

¹College of Horticulture, Hainan University, Haikou 570228, China;

²Haikou Key Laboratory for Research and Utilization of Tropical Natural Products, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, CATAS;

³Hainan Academy of Tropical Agricultural Resource, CATAS, Haikou 571101, China

Abstract: The secondary metabolites of an endophytic fungus HNMF114 from the bivalve mollusk *Sanguinolaria chinensis* of China were studied in this paper. One new compound and eight known compounds were isolated and purified from the epiphytic fungus *Aspergillus clavatonanicus*, and the structures were identified as clavatone (**1**), cyclo-(*L*-Trp-*L*-Trp) (**2**), 2,4-(1*H*,3*H*)-quinazolin-4(3*H*)-one (**3**), clavatul (**4**), kotanin (**5**), orlandin (**6**), desmethylkotanin (**7**), (*S*)-2-(1-hydroxy-2,2-dimethylpropyl)quinazolin-4(3*H*)-one (**8**), (*S*)-2-methyl-1-(4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl)propyl acetate (**9**). The new compound **1** showed obvious inhibitory activity against *Escherichia coli* with the minimum inhibitory concentration (MIC) value of 2 μg/mL. Compounds **4** and **9** showed obvious inhibitory activity against *Staphylococcus aureus* with the MIC values of 1 μg/mL and 4 μg/mL, respectively. Compound **5** showed moderate inhibitory activity against *Bacillus subtilis* with the MIC value of 8 μg/mL. Compounds **4**, **5** and **9** showed moderate inhibitory activity against *Listeria monocytogenes*, with MIC values of 4, 4 and 8 μg/mL, respectively.

Key words: *Aspergillus clavatonanicus*; secondary metabolites; antibacterial activity

收稿日期: 2020-11-04 接受日期: 2021-02-22

基金项目: 海南省自然科学基金创新团队项目 (2019CXTD411); 海南省自然科学基金 (320RC491); 农业农村部财政专项 (NFZX2018); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项 (17CXTD-15)

* 通信作者 Tel: 86-898-66989095; E-mail: chenping199607@163.com, zhaoyouxing@itbb.org.cn

在众多真菌中, 曲霉属真菌作为海洋真菌中的优势菌株之一, 有丰富的酶类, 能够产生多种类型的、具有生理活性的次级代谢产物^[1]。曲霉属真菌是一种丝状真菌, 在自然界广泛存在, 代谢产物结构类型多样, 且具有多种生物活性^[1]。海洋灰绿曲霉

(*Aspergillus glaucus*)所产生的次级代谢产物灰绿霉素 A 是聚酮类的产物之一,目前聚酮类药物在市场所占畅销药的比例高达 20%^[2]。在我们从海洋真菌中寻找活性代谢产物的过程中,对一株海口市中华紫蛤共附生真菌 *Aspergillus clavatonanicus* HNMF114 的活性代谢产物进行研究,从中发现一些喹唑啉酮生物碱类化合物,部分化合物具有细菌群体感应抑制活性^[3]。本文继续对真菌 *A. clavatonanicus* HNMF114 的非喹唑啉酮生物碱类次生代谢产物进行了研究,测定了次生代谢产物的抗菌活性,以期丰富海洋真菌生物活性物质类型。

1 材料与方法

1.1 菌株

海洋真菌 *Aspergillus* sp. HNMF114 分离自海南文昌海域的中华紫蛤,菌落正面浅肉桂褐色,反面黄褐色。分生孢子头初为棒形,少量生自气生菌丝。GenBank 登录号为 MK732953。现保藏于中国热带农业科学院热带生物技术研究所。

1.2 仪器和试剂

旋转蒸发器(EYELA 公司,日本);核磁共振光谱仪(AVANCE-500,德国 Bruker 公司);质谱仪(MicroMass Autospec-Uitima TOF);单人单面净化工作台(SW-CJ-1FD 型苏州净化有限公司);高效液相色谱仪(安捷伦 1260 分析型,美国安捷伦科技有限公司);半制备高效液相色谱仪(SUM-MITP680A,戴安,美国);酶标仪(ELX-800, Bio Tex 公司);鼓风干燥箱(上海智城分析仪器公司);万分之一电子天平(美国丹佛仪器公司);pH 计(瑞士梅特勒-托利多);循环水真空泵(SHZ-D, 郑州予华仪器制造公司);摇床(上海福玛实验设备公司);柱色谱硅胶和薄层色谱硅胶板(青岛海洋化工厂产品);氘代试剂购自 Merck 公司;色谱乙腈购自天津康科德公司;其他试剂均为重蒸工业试剂。

1.3 培养基

1.3.1 PDA 培养基

马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 mL,pH 6.5。

1.3.2 真菌二号

葡萄糖 10 g,麦芽糖 20 g,味精 10 g,酵母膏 3 g,玉米浆 1 g,甘露醇 20 g,MgSO₄ 0.3 g,KH₂PO₄ 0.5 g,水 1 L,pH 6.5。

1.3.3 酸水

0.1%三氟乙酸。

1.4 菌株发酵

将菌株在 PDA 培养皿培养三天,接种于装有 150 mL PDB 培养基的 500 mL 三角瓶中,180 rpm,25 °C 摇 3 天,制成种子液。配制真菌二号培养基 60 L,每瓶分装 300 mL 于 1 000 mL 的三角瓶中。灭菌后将种子液接种于真菌二号培养基,每瓶 1 mL,室温静置发酵 30 天。

1.5 提取与分离

发酵结束后,过滤,分离菌丝和发酵液,使用与发酵液同体积的乙酸乙酯分别萃取发酵液和破碎处理过的菌丝三次。合并萃取液并旋蒸,最终得到浸膏 47.13 g。浸膏使用减压硅胶柱(石油醚:乙酸乙酯)进行分离,以 8:1→1:2 的梯度洗脱,分段收集。得到 15 个组分(Fr. 1~Fr. 15)。其中 Fr. 3(0.49 g)经过反相硅胶柱色谱(甲醇/水,20%→100%)梯度洗脱后,得到了化合物 9(15 mg)和 1(7.8 mg)。Fr. 11(2.37 g)经过反相硅胶柱色谱(甲醇/水系统,20%→100%),结合半制备 HPLC(C₁₈ 半制备柱,25% 甲醇/酸水系统)得到化合物 3(4.1 mg,4 mL/min,*t_R* = 18.0 min)。Fr. 4(1.01 g)经过反相硅胶柱色谱(甲醇/水系统,30%→100%)梯度洗脱得到 5 个组分(Fr. 4.1~Fr. 4.5),其中 Fr. 4.3 经过反相硅胶柱色谱(乙腈/水系统,20%→60%)得到化合物 8(0.9 mg)。Fr. 6(7.37 g)经过反相硅胶柱色谱(甲醇/水系统,20%→70%)梯度洗脱后得到化合物 4(45.7 mg)。Fr. 14(1.33 g)经过反相硅胶柱色谱(甲醇/水系统,10%→90%)梯度洗脱得到 7 个组分(Fr. 14.1~Fr. 14.7),Fr. 14.5 通过半制备 HPLC(C₁₈ 半制备柱,50% 甲醇/水系统)得到化合物 6(1.5 mg,4 mL/min,*t_R* = 5.0 min)、7(2.1 mg,4 mL/min,*t_R* = 6.4 min)和 5(5.5 mg,4 mL/min,*t_R* = 8.5 min),Fr. 14.6 经过反相硅胶柱色谱(甲醇/水系统,20%→50%),结合半制备 HPLC(C₁₈ 半制备柱,25% 乙腈/酸水系统)得到化合物 2(3.5 mg,4 mL/min,*t_R* = 10.7 min)。

1.6 抑菌活性测试

采用 96 孔板微量法^[4,5],测定化合物对常见四种致病菌的抑制活性。这四种菌分别是金黄色葡萄球菌,枯草芽孢杆菌,李斯特菌,大肠杆菌。将待测样品溶液配制成 100 μg/mL 的溶液,置于 4 °C 冰箱备用。无菌 96 孔板的第 1 列加入 197.44 μL 灭菌

的 LB 液态培养基 (0.3% 牛肉膏, 0.2% 酵母浸粉, 1% 蛋白胨, 0.5% NaCl, pH 7.5), 第 2~12 列加入 100 μL 灭菌的 LB 液态培养基。第 1 列加入 2.56 μL 待测化合物, 混匀后, 二次稀释法^[6] 稀释至 11 列, 第 11 列不加菌作为阴性对照, 第 12 列不加药作为空白对照。取 100 μL 病原菌 ($1 \times 10^8 \sim 2 \times 10^8$ CFU/mL) 加入至 100 mL LB 培养基中, 混匀得病原菌菌液。取 100 μL 加入上述制备好的无菌 96 孔板的第 1~10 列及第 12 列。此时, 第 1~10 孔内浓度分别为 64、32、16、8、4、2、1、0.5、0.25、0.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。置 37 $^\circ\text{C}$ 恒温培养箱培养 18~22 h 观察结果, 如该孔中呈浑浊状态, 说明相应浓度的化合物无抗菌活性。若孔内澄清, 说明小孔内细菌被完全抑制生长, 该浓度为化合物对该种病菌的最低药物浓度 (MIC)。

2 结果与分析

2.1 结构鉴定

化合物 1 棕褐色油状物; 分子式是 $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_2$; 旋光: $[\alpha]_D^{25} + 14.0$ (c 0.1, MeOH); UV (CH₃OH) λ_{\max} (log ϵ) 203 (3.64) nm; ECD (MeOH) λ_{\max} ($\Delta\epsilon$) 195 (-1.99), 210 (0.17) nm; 其不饱和度为 3; HR-ESI-MS: m/z 177.0877 [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ (calcd for $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_2\text{Na}$, 177.0891); 红外光谱在 3412、2928、1597、1597、1391、1106 和 1027 cm^{-1} 有特征吸收峰, 显示其有羟基、次甲基、碳碳双键官能团和酮羰基。通过 ¹³C NMR (125 MHz) 和 DEPT 可知, 该化合物共有 9 个碳, 包括两个次甲基 δ_c 52.6 (C-5) 和 68.9 (C-6), 一个亚甲基 δ_c 35.2 (C-4), 三个甲基 δ_c 18.8 (C-7)、 δ_c 7.8 (C-8) 和 δ_c 17.1 (C-9), 两个双键季碳 δ_c 136.9 (C-2) 和 173.7 (C-3), 以及一个酮羰基 δ_c 212.6 (C-1)。化合物 COSY 谱图给出 H₃-7/H-6/H-5/H₂-4 的相关信号 (图 1)。在化合物的 HMBC 谱图中 (图 1), H₃-8 与 C-1、C-2 和 C-3 相关; H₃-9 与 C-2、C-3 和 C-4 相关; H-6 和 C-1 相关。综合以上谱图信息, 最终确定该化合物结构为 5-(1-hydroxyethyl)-2,3-dimethylcyclopent-2-en-1-one^[7] (图 1), 被命名为 clavatone。化合物 1 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载 (www.trew.ac.cn)。

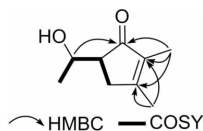


图 1 化合物 1 的 HMBC 和 COSY 相关信号

Fig. 1 Key HMBC and COSY correlations of compound 1

表 1 化合物 1 的 ¹H NMR (500 MHz) 和 ¹³C NMR (125 MHz) 数据 (CD₃OD)

Table 1 ¹H NMR (500 MHz) and ¹³C NMR (125 MHz) data of compound 1 (CD₃OD)

Position	δ_c	δ_H (J in Hz)
1	212.6 s	-
2	136.9 s	-
3	173.7 s	-
4	35.2 t	2.62 (1H, overlap) 2.45 (1H, br d, 18.3)
5	52.6 d	2.60 (1H, overlap)
6	68.9 d	4.05 (1H, m)
7	18.8 q	1.05 (3H, d, 6.4)
8	7.8 q	1.65 (3H, s)
9	17.1 q	2.10 (3H, s)

化合物 2 黄色油状物; 分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2$; ESI-MS: m/z 395 [$\text{M} + \text{Na}$]⁺; ¹H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.17 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-7/7'), 7.11 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-4/4'), 6.87 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-5/5'), 6.78 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-6/6'), 6.40 (1H, s, H-2/2'), 3.69 (1H, s, H-11/11'), 2.51 (1H, dd, $J = 14.2, 3.4$ Hz, H-10a/10'a), 1.97 (1H, dd, $J = 14.2, 5.8$ Hz, H-10b/10'b); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 124.5 (d, C-2/2'), 111.4 (s, C-3/3'), 108.8 (d, C-4/4'), 121.0 (d, C-5/5'), 118.7 (d, C-6/6'), 118.5 (d, C-7/7'), 136.1 (s, C-8/8'), 127.4 (s, C-9/9'), 30.1 (t, C-10/10'), 55.4 (d, C-11/11'), 166.9 (s, C-12/12')。以上数据与文献^[8] 报道基本一致, 故确定该化合物为 Cyclo(*L*-Trp-*L*-Trp)。

化合物 3 黄色油状物; 分子式为 $\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2$; ESI-MS: m/z 161 [$\text{M}-\text{H}$]⁻; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.83 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-5), 7.58 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-7), 7.12 (1H, m, H-6), 7.12 (1H, m, H-8); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 150.3 (s, C-2), 162.9 (s, C-4), 127.0 (d, C-5), 122.4 (d, C-6), 135.0 (d, C-7), 115.4 (d, C-8), 114.3 (s, C-4a), 140.8 (s, C-8a)。以上数据与文献^[9] 报道基本一致, 故确定该化合物为 2,4(1*H*,3*H*)-quinazolin-1-one。

化合物 4 白色粉末状物; 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3$; ESI-MS: m/z 179 [$\text{M}-\text{H}$]⁻; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.26 (1H, s, H-6'), 2.28 (3H, s, H-1),

1.95 (3H, s, H-8'), 1.85 (3H, s, H-7'); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 26.1 (q, C-1), 203.7 (s, C-2), 113.4 (s, C-1'), 162.0 (s, C-2'), 111.2 (s, C-3'), 161.1 (s, C-4'), 116.3 (s, C-5'), 130.8 (d, C-6'), 7.9 (q, C-7'), 16.2 (q, C-8')。以上数据与文献^[10]报道基本一致,故确定该化合物为 clavatul。

化合物 5 黄色油状物;分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{O}_8$; ESI-MS: m/z 473 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$; ^1H NMR (500 MHz, $\text{DM-SO}-d_6$) δ : 6.94 (1H, s, H-6/6'), 5.56 (1H, s, H-3/3'), 3.89 (3H, s, H-11/11'), 3.68 (3H, s, H-13/13'), 2.64 (3H, s, H-12/12'); ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 161.5 (s, C-2/2'), 87.5 (d, C-3/3'), 169.5 (s, C-4/4'), 138.4 (s, C-5/5'), 111.7 (d, C-6/6'), 59.3 (s, C-7/7'), 107.7 (s, C-8/8'), 152.9 (s, C-9/9'), 106.8 (s, C-10/10'), 56.8 (q, C-11/11'), 23.6 (q, C-12/12'), 56.2 (q, C-13/13')。以上数据与文献^[11]报道基本一致,故确定该化合物为 kotanin。

化合物 6 淡黄色油状物;分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_8$; ESI-MS: m/z 409 $[\text{M}-\text{H}]^-$; ^1H NMR (500 MHz, $\text{DM-SO}-d_6$) δ : 6.41 (1H, s, H-6/6'), 5.33 (1H, s, H-3/3'), 3.82 (3H, s, H-11/11'), 2.45 (3H, s, H-12/12'); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 170.0 (s, C-2/2'), 85.1 (d, C-3/3'), 154.3 (s, C-4/4'), 135.8 (s, C-5/5'), 118.3 (d, C-6/6'), 156.4 (s, C-7/7'), 109.1 (s, C-8/8'), 162.1 (s, C-9/9'), 107.1 (s, C-10/10'), 56.3 (q, C-11/11'), 23.3 (q, C-12/12')。以上数据与文献^[12]报道基本一致,故确定该化合物为 orlandin。

化合物 7 淡黄色油状物;分子式为 $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{O}_8$; ESI-MS: m/z 423 $[\text{M}-\text{H}]^-$; ^1H NMR (500 MHz, $\text{DM-SO}-d_6$) δ : 6.88 (1H, s, H-6), 6.49 (1H, s, H-6'), 5.52 (1H, s, H-3), 5.34 (1H, s, H-3'), 3.86 (3H, s, H-11), 3.82 (3H, s, H-11'), 3.64 (3H, s, H-13), 2.61 (3H, s, H-12), 2.45 (3H, s, H-12'); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 162.1 (s, C-2), 87.4 (d, C-3), 170.1 (s, C-4), 137.7 (s, C-5), 111.6 (d, C-6), 159.5 (s, C-7), 107.0 (s, C-8), 153.2 (s, C-9), 109.8 (s, C-10), 56.8 (q, C-11), 23.6 (q, C-12), 21.4 (q, C-13), 161.8 (s, C-2'), 87.4 (d, C-3'), 169.6 (s, C-4'), 136.9 (s, C-5'), 111.2 (d, C-6'), 159.5 (s, C-7'), 105.4 (s, C-8'), 154.1 (s, C-9'), 107.6 (s, C-10'), 56.1 (q, C-11'), 23.4 (q, C-12')。以上数据与

文献^[13]报道基本一致,鉴定化合物为 desmethylkotanin。

化合物 8 无色油状物;分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$; ESI-MS: m/z 217 $[\text{M}-\text{H}]^-$; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 8.31 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-2), 7.68 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-7), 7.76 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-8), 7.51 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-1), 4.57 (1H, d, $J = 3.7$ Hz, H-9), 2.32 (1H, m, H-10), 1.15 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-12), 0.92 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-11); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 135.0 (d, C-1), 127.3 (d, C-2), 126.9 (s, C-3), 156.9 (s, C-4), 148.5 (s, C-5), 141.1 (s, C-6), 126.8 (d, C-7), 136.7 (d, C-8), 75.5 (d, C-9), 33.8 (d, C-10), 19.3 (q, C-11), 15.7 (q, C-12)。以上数据与文献^[14]报道基本一致,故确定该化合物为 (*S*)-2-(1-hydroxy-2,2-dimethylpropyl)quinazolin-4(3*H*)-one。

化合物 9 黄棕色油状物;分子式为 $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$; ESI-MS: m/z 259 $[\text{M}-\text{H}]^-$; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 8.20 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-2), 7.82 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, H-8), 7.68 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-7), 7.53 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, H-1), 5.14 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-9), 2.30 (1H, m, H-10), 2.16 (3H, s, H-14), 1.06 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-12), 0.98 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-11); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 128.2 (d, C-1), 127.2 (d, C-2), 119.4 (s, C-3), 160.5 (s, C-4), 154.2 (s, C-5), 146.0 (s, C-6), 128.0 (d, C-7), 136.0 (d, C-8), 79.6 (d, C-9), 33.1 (d, C-10), 18.8 (q, C-11), 18.4 (q, C-12), 172.2 (s, C-13), 20.6 (q, C-14)。以上数据与文献^[15]报道基本一致,故确定该化合物 (*S*)-2-methyl-1-(4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl) propyl acetate。

2.2 抑菌活性测试结果

对分离得到的部分化合物分别进行乙酰胆碱酯酶抑制活性和抑菌活性测试。乙酰胆碱酯酶没有明显活性。新化合物 **1** 对大肠杆菌的生长具有一定的抑制作用,最小抑菌浓度 (MIC) 为 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。化合物 **4, 9** 对金黄色葡萄球菌有一定的抑制作用,最小抑制浓度分别为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。化合物 **5** 对枯草芽孢杆菌有一定的抑制作用,最小抑制浓度分别为 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。化合物 **4, 5, 9** 对李斯特菌有一定的抑制作用,最小抑制浓度分别为 4, 4 和 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。见表 2。

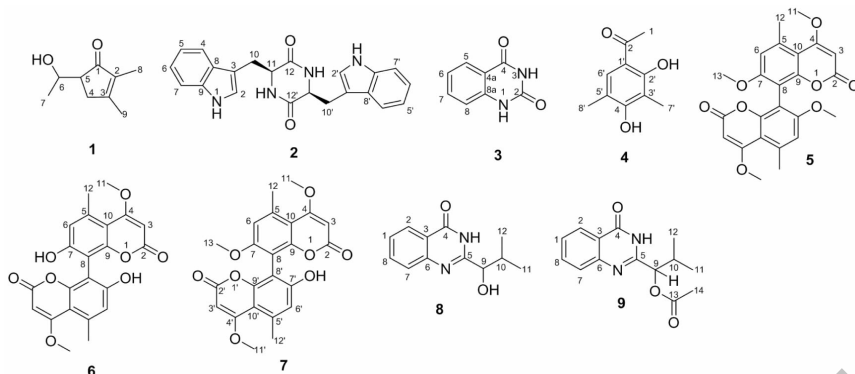


图2 化合物1~9的化学结构

Fig. 2 Chemical structures of compounds 1-9

表2 化合物1~9的MIC值

Table 2 The MIC values of compounds 1-9

化合物 Compound	最小抑制浓度 MIC ($\mu\text{g/mL}$)			
	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> (CGMCC1.3358)	李斯特菌 <i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC33090)	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i> (ATCC11229)
1	-	-	-	2
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	1	-	4	-
5	-	8	4	-
6	-	-	-	-
7	-	-	-	-
8	-	-	-	-
9	4	-	8	-
氨苄青霉素 Ampicillin ^a	0.5	0.5	0.5	0.5

注:^a 阳性对照。Note:^a Positive control.

3 结论

本研究从真菌 HNMF114 发酵产物中分离得到了9个化合物,包括1个新化合物,按照结构类型可分为香豆素类、喹唑啉类和环二肽类等。抗菌活性测试显示新化合物1对大肠杆菌的生长具有较强的抑制作用,最小抑菌浓度(MIC)为2 $\mu\text{g/mL}$,化合物4、9对金黄色葡萄球菌有抑制作用。这些化合物没有显示乙酰胆碱酶抑制活性。有研究报道化合物5和6对尖孢镰刀菌有明显的抑制作用^[16]。喹唑啉类化合物是一类重要的含氮稠杂环化合物,相关研究报道该化合物有抑制组织蛋白激酶 C- θ ^[17]的活性以及镇痛、抗炎^[18]的作用。从海洋放线菌中发现的新异戊烯二酮哌嗪^[19]与化合物2结构类似,其中具有桥连结构的 nocardioazine A 被证明是一个膜蛋白外排泵 P-糖蛋白的非细胞毒性抑制剂。曲霉属真

菌被报道具有多种生物活性物质,本研究团队在番木瓜中发现了曲霉等属的一些真菌,并且部分真菌具有保鲜功效^[20]。但因次生代谢产物非菌体生长必需物质,故而产量较低,且对其具体生物合成途径了解不够,后期可结合基因组学、生物合成等技术对曲霉属真菌次生代谢产物做深入挖掘,为合理开发利用热带生物附生真菌资源提供科学理论依据。

致谢:中国热带农业科学院热带生物技术研究所所在分离鉴定工作中提供的部分设备和帮助。

参考文献

- 1 Song S, Xu JY. New natural products from the marine-derived *Aspergillus* fungi—a review[J]. Acta Microbiol Sin(微生物学报), 2016, 56: 331-362.
- 2 Hong X, Wu T, Chen CK, et al. Advances in the research of

- antibacterial active substances derived from marine *Aspergillus fungi*[J]. *Biotic Resour*(生物资源),2020,42:382-387.
- 3 Kong FD, Zhang SL, Zhou SQ, et al. Quinazoline-containing indole alkaloids from the marine-derived fungus *Aspergillus* sp. HNMF114[J]. *J Nat Prod*,2019,82:3456-3463.
 - 4 Gong QY, Xu YC, Zuo MX, et al. Secondary metabolites of endophytic *Penicillium mallochii* GZWMJZ-068 from *Eucomia ulmoides*[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2018,30:1721-1727.
 - 5 Li D. The secondary metabolites from two marine symbiotic fungi and their chemical ecological effects[D]. Qingdao: Ocean university of China(中国海洋大学),2012.
 - 6 Fang YS, Yang MH, Cai L, et al. New phenylpropanoids from *Bulbophyllum retusiusculum*[J]. *Arch Pharm Res*,2018,41:1074-1081.
 - 7 Heck MP, Matt C, Wagner A, et al. New cyclotrimerization of aldehydes to cyclopentenone or tetrahydrofuran induced by dibromotriphenylphosphorane[J]. *Eur J Org Chem*, 2010, 41:966-971.
 - 8 Lu CH, Xie F, Shan C, et al. Two novel cyclic hexapeptides from the genetically engineered *Actinosynnema pretiosum* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*,2016,7:2273-2279.
 - 9 Chen XX, Zhao MH, Rui WJ, et al. Chemical constituents of the roots from *Wrightia pubescens* R. Br. [J]. *Mil Med Sci*(军事医学),2018,42:550-554.
 - 10 Yang GH, Nenkep VN, Siwe XN, et al. An acetophenone derivative, clavatul, and a benzodiazepine alkaloid, circumdatin A, from the marine-derived fungus *Cladosporium* [J]. *Nat Prod Sci*,2009,15(3):130-133.
 - 11 Nozawa K, Nakajima S, Kawai KI, et al. Bicomarins from ascostromata of *Petromyces alliaceus* [J]. *Phytochemistry*, 1994,35:1049-1051.
 - 12 Cutler HG, Crumley FG, Cox RH, et al. Orlandin: a nontoxic fungal metabolite with plant growth inhibiting properties[J]. *J Agr Food Chem*,1979,27:592-595.
 - 13 Laakso JA, Narske ED, Gloer JB. Isokotanins A-C: new bicomarins from the sclerotia of *Aspergillus alliaceus* [J]. *J Nat Prod*,1994,57(1):128-133.
 - 14 Cakici M, Catir M, Karabuga S, et al. Synthesis of 4, 40-biquinazoline alcohols as chiral catalysts in enantioselective alkynylation of aldehydes with phenyl acetylene [J]. *Tetrahedron*,2009,20:2845-2853.
 - 15 Cakici M, Catir M, Karabuga S, et al. Synthesis and biological evaluation of (S)-4-aminoquinazoline alcohols [J]. *Tetrahedron*,2010,21:2027-2031.
 - 16 Li W, Xiong P, Zheng WX, et al. Identification and antifungal activity of compounds from the mangrove endophytic fungus *Aspergillus clavatus* R7 [J]. *Mar Drugs*,2017,15(8):259.
 - 17 Katoh T, Takai T, Yukawa T, et al. Discovery and optimization of 1,7-disubstituted-2,2-dimethyl-2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-ones as potent and selective PKC θ inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*,2016,24:2466-2475.
 - 18 El-Sabbagh OI, Ibrahim SM, Baraka MM, et al. Synthesis of new 2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-one derivatives for analgesic and anti-inflammatory evaluation [J]. *Archiv der Pharmazie*,2010,343:274-281.
 - 19 Raju R, Piggott AM, Huang HC, et al. Nocardioazines: a novel bridged diketopiperazine scaffold from a marine-derived bacterium inhibits P-glycoprotein [J]. *Org Lett*,2011,13:2770-2773.
 - 20 Ke SW. Isolation and Identification of endophytic Fungi from Papaya and their Biological activities [D]. Haikou: Hainan University (海南大学),2019.