

· 论著 ·

海绵共附生土曲霉的化学成分研究

于 熙¹, 王玉婷¹, 林厚文², 孙雅婷¹ (1. 沈阳医学院药学院, 辽宁 沈阳 110034; 2. 上海交通大学医学院附属仁济医院药学部, 上海 200127)

[摘要] 目的 对海绵共附生真菌土曲霉 *Aspergillus terreus* 中的化学成分进行研究。方法 采用葡聚糖凝胶柱色谱、硅胶柱色谱和高效液相色谱等手段分离纯化; 通过波谱数据鉴定化合物结构; 采用 PNPG 法和 DPPH 法分别对分离得到的化合物进行 α -葡萄糖苷酶抑制活性和抗氧化活性测试。结果 从土曲霉 *Aspergillus terreus* 中分离得到 8 个化合物, 分别鉴定为 methyl-3,4,5-trimethoxy-2-(2-(nicotinamido) benzamido) benzoate (1)、terrelumamide A (2)、emeheterone (3)、(8R,9S)-dihydroisoflavipucine (4)、(8S,9S)-dihydroisoflavipucine (5)、cyclo(S-Pro-S-Phe) (6)、brevianamide F (7)、terrein (8)。活性测试结果表明, 化合物 3 具有较强的 α -葡萄糖苷酶的抑制活性, IC_{50} 值为 $14.28 \mu\text{mol/L}$ 。结论 化合物 3、4、5、7 为首次从土曲霉 *Aspergillus terreus* 中分离得到。

[关键词] 土曲霉; 化学成分; α -葡萄糖苷酶抑制活性

[中图分类号] R284

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2022)02-0120-05

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202107019

Study on chemical constituents of sponge-associated *Aspergillus terreus*

YU Xi¹, WANG Yuting¹, LIN Houwen², SUN Yating¹ (1. School of Pharmacy, Shenyang Medical College, Shenyang 110034, China; 2. Department of Pharmacy, Renji Hospital Affiliated to Medical College, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200127, China)

[Abstract] **Objective** To study the chemical constituents of *Aspergillus terreus* from sponge epiphytic fungal. **Methods** Sephadex LH-20 column chromatography, silica gel column chromatography and high performance liquid chromatography were used to separate and purify the compounds. The structures of compounds were identified by spectroscopic data. The α -glucosidase inhibitory activity and antioxidant activity of the compounds were tested by PNPG and DPPH methods, respectively. **Results** Eight compounds were isolated from *Aspergillus terreus* and identified as methyl-3,4,5-trimethoxy-2-(2-(nicotinamido) benzamido) benzoate (1), terrelumamide A (2), emeheterone (3), (8R,9S)-dihydroisoflavipucine (4), (8S,9S)-dihydroisoflavipucine (5), cyclo(S-Pro-S-Phe) (6), brevianamide F (7), terrein (8). Compound 3 showed strong inhibitory activity against α -glucosidase and the IC_{50} value was $14.28 \mu\text{mol/L}$. **Conclusion** Compounds 3, 4, 5, and 7 were obtained from *Aspergillus terreus* for the first time.

[Key words] *Aspergillus terreus*; chemical constituent; α -glucosidase inhibitory activity.

海绵是具有代表性的海洋生物, 其共附生微生物也是近年来研究的热点。在海洋高盐、高压、低温、寡营养的生存环境下, 海绵共附生微生物能够产生结构新颖、生物活性良好的次级代谢产物。其中海绵共附生真菌是海绵化学多样性的重要来源^[1]。

曲霉属 (*Aspergillus* sp) 真菌分布广泛而且研究丰富。海洋曲霉属真菌的次级代谢产物主要包括聚酮类^[2]、生物碱类^[3]、肽类^[4]、萜类^[5]等化合物,

具有抗肿瘤^[6]、抗菌^[7]、抗病毒^[4]等生物活性。本课题的土曲霉 (*Aspergillus terreus*) 是从我国南海西沙永兴岛海域的棕色扁海绵 *Phakellia fusca* 中分离得到的, 属于散囊菌目 (Eurotiales) 发菌科 (Trichocomaceae) 的一种真菌, 在海洋动植物和陆地植物中均有分布。该菌的次级代谢产物具有多样性, 包括生物碱类化合物^[8]、丁烯酸内酯类化合物^[9]、萜类化合物^[10]、环肽类化合物^[11]等。本文采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、高效液相色谱等多种分离方法从土曲霉 *Aspergillus terreus* 中共分离得到 8 个单体化合物。通过理化常数测定、波谱数据分析等方法确定了化合物的结构。化合物 1~8 的结构见图 1。

[基金项目] 沈阳医学院博士科研启动基金(20195073)

[作者简介] 于熙, 本科生, Email: yx15164040791@163.com

[通信作者] 孙雅婷, 博士, 讲师, 研究方向: 海洋药物化学, Email: sunyatingna@163.com

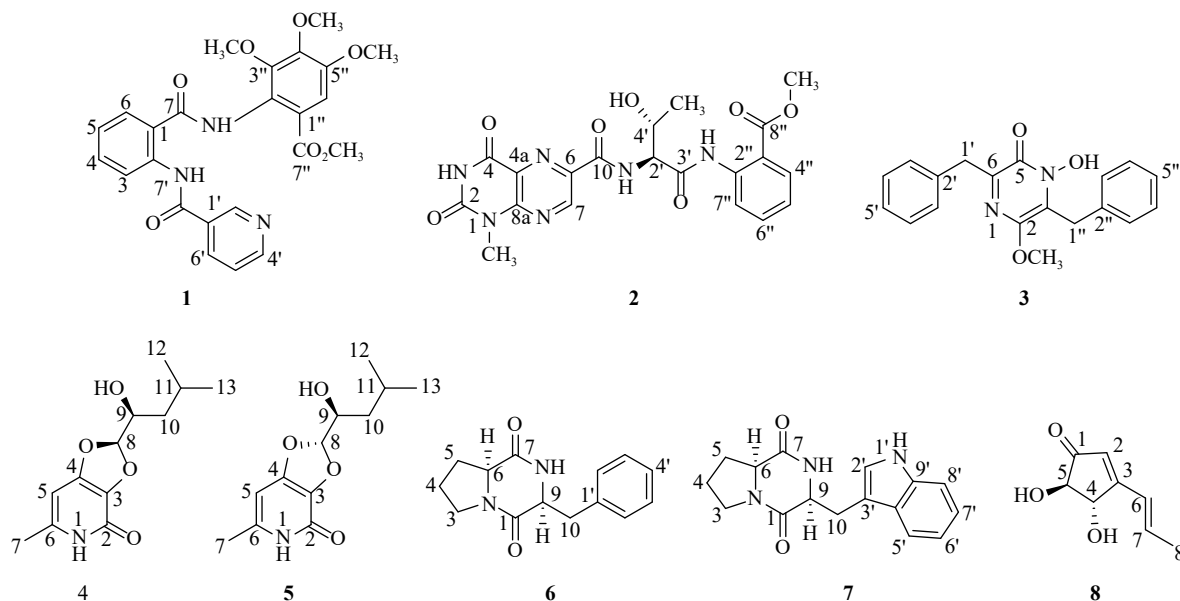


图 1 化合物 1~8 的化学结构式

1 材料和方法

1.1 样品

菌株来源于棕色扁海绵 *Phakellia fusca*, 由上海交通大学海洋药物研究中心鉴定为 *Aspergillus terreus*, 菌株保存在上海交通大学医学院附属仁济医院药学部海洋药物研究中心(菌株编号 152805)。

1.2 仪器与试剂

Agilent 600 核磁共振波谱仪(美国 Agilent 公司); Waters 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); XBridge C₁₈ 半制备型液相色谱柱(10 mm×250 mm, 5 μm); 快速制备色谱仪(法国 Interchim 公司); OSB-2 100 旋转蒸发仪(日本 EYELA 公司); 振荡培养箱(上海知楚)。薄层硅胶、200~300 目柱色谱用硅胶(青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 凝胶(瑞典 GE Healthcare 公司); 色谱纯试剂(天津康科德科技有限公司); 其他分析纯有机试剂(上海化学试剂公司); 氘代试剂(剑桥同位素实验室)。

1.3 发酵与萃取

取 *Aspergillus terreus* 单菌落接种到装有 100 ml PDB 培养液的 250 ml 三角瓶中, 28 °C, 220 r/min 震荡培养 3 d, 以该发酵液 10% 的接种量接到装有 500 ml 的真菌 2 号培养液(甘露醇 20 g, 麦芽糖 20 g, CaCO₃ 15 g, 葡萄糖 10 g, 谷氨酸钠 10 g, 酵母提取物 3 g, 玉米浆 1 g, KH₂PO₄ 0.5 g, MgSO₄·7H₂O 0.3 g, 海盐 30 g, 蒸馏水 1 L)的 1 L 三角瓶中, 28 °C, 220 r/min 震荡培养 10 d, 获得菌株的发酵物。收集发酵液 24 L, 用等体积的乙酸乙酯萃取 3 次, 浓缩后得到乙酸乙酯相浸膏 9.3 g。

1.4 提取分离

乙酸乙酯相浸膏首先经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇(体积比为 1 : 1)作为溶剂进行洗脱, 得到组分 Fr.1 ~ Fr.4。组分 Fr.2 经硅胶柱色谱(石油醚: 丙酮 = 100 : 1 ~ 0 : 100)分离得到组分 Fr.2-1 ~ Fr.2-9。组分 Fr.2-5 经反相中压柱色谱分离得到 8 个亚组分, 其中 Fr.2-5d 经重结晶得到化合物 **3** (2.5 mg)。组分 Fr.2-6 经 LH-20 凝胶柱色谱和反相半制备 HPLC(38% 乙腈-水)分离得到化合物 **1** (3.5 mg, *t_R* = 21.0 min)。化合物 **2** (3.5 mg, *t_R* = 13.0 min) 由组分 Fr.2-7 经反相半制备 HPLC, 以 33% 乙腈-水为流动相等梯度洗脱得到。组分 Fr.2-8 以乙腈-水(体积比 10 : 90 ~ 100 : 0)为流动相, 经反相中压柱色谱和反相半制备 HPLC(20% 乙腈-水)分离得到化合物 **4** (2.0 mg, *t_R* = 30.0 min)、化合物 **5** (4.0 mg, *t_R* = 28.0 min) 和化合物 **6** (9.0 mg, *t_R* = 14.0 min)。Fr.3 经过硅胶柱色谱分离得到 7 个组分, 其中 Fr.3-3 经反相半制备 HPLC 进一步纯化得到化合物 **7** (1.7 mg, *t_R* = 12.0 min)。组分 Fr.3-4 以 20% ~ 100% 的乙腈-水为流动相, 经反相中压柱色谱和反相半制备 HPLC(15% 乙腈-水)分离得到化合物 **8** (18.0 mg, *t_R* = 8.0 min)。

2 结构鉴定

化合物 **1** 为黄色粉末(甲醇), 硫酸/香草醛显色为黄色, ESIMS 给出的分子离子峰 $[M+H]^+ m/z$ 466.15。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) 中, δ_H 12.23 (1H, s) 为氨基质子信号; 一组邻位二取代的苯环质子信号 δ_H 8.82 (1H, dd, *J* = 8.5, 0.8 Hz, H-3), 7.89

(1H, dd, $J=7.9$, 1.3 Hz, H-6), 7.60 (1H, td, $J=8.5$, 1.3 Hz, H-4), 7.22 (1H, m, H-5), 芳香质子信号 δ_{H} 9.21 (1H, brs, H-9), 8.70 (1H, d, $J=4.5$ Hz, H-1'), 8.25 (1H, dt, $J=8.0$, 2.2 Hz, H-3'), 7.36 (1H, dd, $J=8.0$, 4.5 Hz, H-2'), 提示 3-取代吡啶环的存在; 1 个芳香质子信号 δ_{H} 7.27 (1H, s, H-10'); 4 个甲氧基质子信号 δ_{H} 3.97 (3H, s, 4''-OCH₃), 3.91 (3H, s, 3''-OCH₃), 3.90 (3H, s, 5''-OCH₃), 3.82 (3H, s, 7''-OCH₃)。 ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) 共显示 24 个碳信号, 结合 DEPT 谱, 推断 δ_{C} 168.2, 167.2, 164.0 为羰基碳信号; 17 个芳香碳信号; δ_{C} 61.3, 61.3, 56.5, 52.7 为 4 个甲氧基碳信号。碳信号归属为: δ_{C} 168.2 (C-7)、167.2 (C-7'')、164.0 (C-7')、152.6 (C-4')、151.5 (C-5'')、149.3 (C-2')、148.8 (C-3'')、146.9 (C-4'')、140.4 (C-2)、135.2 (C-6')、133.6 (C-4)、130.3 (C-1')、127.9 (C-6)、125.8 (C-2'')、123.8 (C-5)、123.6 (C-5')、121.8 (C-3)、120.4 (C-1'')、119.0 (C-1)、108.8 (C-6'')、61.3 (3''-OCH₃)、61.3 (4''-OCH₃)、56.5 (5''-OCH₃)、52.7 (7''-OCH₃)。该化合物核磁数据与参考文献 [11] 对照基本一致, 确定化合物为 methyl-3,4,5-trimethoxy-2-(2-(nicotinamido)benzamido) benzoate。

化合物 2 为黄色粉末 (甲醇), ESIMS 给出的分子离子峰 $[M+H]^+ m/z$ 457.14。 ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) 中, δ_{H} 12.19 (1H, s, 3-NH), 11.10 (1H, s, 1''-NH), 8.52 (1H, d, $J=8.1$ Hz, 1'-NH) 为氨基质子信号; 1 个芳香质子单峰信号 δ_{H} 9.29 (1H, s, H-7); 一组邻位二取代的苯环质子信号 δ_{H} 8.44 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-7''), 7.92 (1H, dd, $J=7.9$, 1.5 Hz, H-4''), 7.63 (1H, td, $J=7.9$, 1.5 Hz, H-6''), 7.20 (1H, td, $J=7.6$, 1.5 Hz, H-5''); 2 个相邻的连接杂原子的次甲基质子信号 δ_{H} 4.55 (1H, dd, $J=8.1$, 2.9 Hz, H-2'), 4.41 (1H, m, H-4'); 3 个甲基质子信号 δ_{H} 3.70 (3H, s, H-9''), 3.52 (3H, s, H-9), 1.19 (3H, d, $J=6.4$ Hz, H-5')。 ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) 共显示 20 个碳信号, 结合 DEPT 谱, 推断 δ_{C} 168.8, 167.3, 162.7, 159.5, 150.1 为羰基碳信号; 10 个芳香碳信号; δ_{C} 65.9, 59.8 为 2 个连杂原子的次甲基碳信号; δ_{C} 52.4, 28.6, 20.5 为 3 个甲基碳信号, 结合氢谱信号, 确定有一个甲氧基和一个氮甲基。碳信号归属为: δ_{C} 168.8 (C-3'), 167.3 (C-8''), 162.7 (C-10)、159.5 (C-4)、151.2 (C-8a)、150.1 (C-2)、146.3 (C-7)、139.3 (C-2'')、138.2 (C-6)、134.2 (C-6'')、130.7 (C-4'')、127.2 (C-4a)、123.4 (C-5'')、120.7 (C-7'')、117.1 (C-3'')、65.9 (C-4')、59.8 (C-2')、52.4 (C-9'')、28.6 (C-9)、20.5 (C-5')。该化合物的比旋光值为 $[\alpha]_{\text{D}}^{20}+98$ (c

0.1, MeOH)。该核磁数据与参考文献 [12] 对照基本一致, 确定该化合物为 terrelumamide A。

化合物 3 为白色结晶 (甲醇), ESIMS 给出的分子离子峰 $[M+H]^+ m/z$ 323.13。 ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 中, δ_{H} 7.2-7.5 (10H, m, H-3'-H-7', H-3''-H-7'') 为 10 个芳香质子信号, 提示存在 2 个单取代苯基; 2 个亚甲基质子信号 δ_{H} 4.20 (2H, brs, H-1''), 3.94 (2H, brs, H-1'); 1 个甲氧基质子信号 δ_{H} 3.92 (3H, s, 2-OCH₃)。 ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) 共显示 19 个碳信号, 结合 DEPT 谱推断 δ_{C} 158.2 为羰基碳信号; 12 个芳香碳信号; δ_{C} 34.0, 30.4 为 2 个亚甲基碳信号, 提示结构中存在两个苄基基团; δ_{C} 61.8 为甲基碳信号; δ_{C} 144.2, 140.6, 129.4 为 3 个烯碳信号。碳信号归属为: δ_{C} 158.2 (C-5), 144.2 (C-6), 140.6 (C-2), 136.5 (C-2''), 135.6 (C-1'), 129.6 (C-3', 7'), 129.4 (C-3, 3'', 7''), 128.6 (C-4', 6'), 127.8 (C-4'', 6''), 126.9 (C-5', 5''), 61.8 (2-OCH₃), 34.0 (C-1''), 30.4 (C-1')。该化合物核磁数据与参考文献 [13] 对照基本一致, 确定化合物为 emeheterone。

化合物 4 为黄色粉末 (甲醇), 硫酸/香草醛显色为紫色, ESIMS 给出的分子离子峰 $[M+H]^+ m/z$ 240.12。 ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) 中, 给出 1 个芳香质子信号 δ_{H} 6.13 (1H, d, $J=0.7$ Hz, H-5); 3 个次甲基氢信号 δ_{H} 6.07 (1H, d, $J=3.0$ Hz, H-8), 3.89 (1H, dt, $J=10.5$, 3.0 Hz, H-9), 1.90 (1H, m, H-11); 1 个亚甲基质子信号 δ_{H} 1.58 (1H, ddd, $J=12.2$, 10.5, 4.6 Hz, H-10), 1.36 (1H, ddd, $J=12.2$, 10.5, 3.0 Hz, H-10); 3 个甲基质子信号 δ_{H} 2.28 (3H, s, H-7), 0.99 (3H, d, $J=6.7$ Hz, H-13), 0.96 (3H, d, $J=6.7$ Hz, H-12)。 ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) 共显示 12 个碳信号, 结合 DEPT 谱推断 δ_{C} 155.0 为羰基碳信号; 4 个芳香碳信号; δ_{C} 115.8, 70.5, 25.2 为 3 个次甲基脂肪碳信号, 结合对应的氢信号提示结构中存在 1 个缩醛碳信号和一个连氧次甲基碳信号; δ_{C} 40.4 为亚甲基碳信号; δ_{C} 24.0, 21.8, 18.8 为 3 个甲基碳信号。碳谱信号归属为: δ_{C} 157.9 (C-4)、155.0 (C-2)、143.5 (C-6)、132.7 (C-3)、115.8 (C-8)、95.0 (C-5)、70.5 (C-9)、40.4 (C-10)、25.2 (C-11)、24.0 (C-12)、21.8 (C-13)、18.8 (C-7)。该化合物的 ECD 曲线显示在 217 nm 处有负的 Cotton 效应 ($\Delta\epsilon -5.86$), 其核磁和 ECD 数据与参考文献 [14] 对照基本一致, 最终确定该化合物为 (8R, 9S)-dihydroisoflavipucine。

化合物 5 为黄色结晶 (甲醇), 硫酸/香草醛显色为紫色, ESIMS 给出的分子离子峰 $[M+H]^+ m/z$ 240.12。 ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) 中, 给出 1 个

芳香质子信号 δ_{H} 6.13 (1H, d, $J = 0.7$ Hz, H-5); 3 个次甲基氢信号 δ_{H} 6.06 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-8), 3.90 (1H, dt, $J = 10.5, 3.0$ Hz, H-9), 1.90 (1H, m, H-11); 1 组亚甲基质子信号 δ_{H} 1.56 (1H, ddd, $J = 12.3, 10.5, 4.6$ Hz, H-10), 1.36 (1H, ddd, $J = 12.3, 10.5, 3.0$ Hz, H-10); 3 个甲基质子信号 δ_{H} 2.28 (3H, s, H-7), 0.99 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-13), 0.95 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-12)。 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) 共显示 12 个碳信号, 结合 DEPT 谱推断 δ_{C} 155.0 为羰基碳信号; 4 个芳香碳信号; δ_{C} 115.8, 70.5, 25.2 为 3 个次甲基碳信号, 结合对应的氢信号提示结构中存在 1 个次甲二氧基碳信号和一个连氧次甲基碳信号; δ_{C} 40.5 为亚甲基碳信号; δ_{C} 24.0, 21.8, 18.8 为 3 个甲基碳信号。碳信号归属为: δ_{C} 157.8 (C-4)、155.0 (C-2)、143.4 (C-6)、132.8 (C-3)、115.8 (C-8)、95.1 (C-5)、70.5 (C-9)、40.5 (C-10)、25.2 (C-11)、24.0 (C-12)、21.8 (C-13)、18.8 (C-7)。该化合物的核磁数据与化合物 **4** 对比基本一致, ECD 曲线显示在 217 nm 处有正的 Cotton 效应 ($\Delta\epsilon +25.34$), 提示为化合物 **4** 的差向异构体。将此化合物的核磁和 ECD 数据与参考文献 [14] 对照基本一致, 最终确定化合物为 (8S, 9S)-dihydroisoflavipucine。

化合物 **6** 为黄色粉末 (甲醇), 硫酸/香草醛溶液无明显显色, ESIMS 给出的分子离子峰 $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ 245.12。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) 中, 给出 1 组单取代的苯环芳香质子信号 δ_{H} 7.32 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-5'), 7.26 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-4'), 7.20 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, H-6'); 2 个次甲基氢信号 δ_{H} 4.25 (1H, dd, $J = 10.5, 2.9$ Hz, H-9), 4.04 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-6); 4 组亚甲基质子信号 δ_{H} 3.65-3.50 (2H, m, H-3); 3.65-3.50 (1H, m, H-10), 2.76 (1H, dd, $J = 14.5, 10.5$ Hz, H-10); 2.30 (1H, m, H-5), 1.88 (1H, m, H-5); 1.98 (2H, m, H-4)。 ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) 共显示 14 个碳信号, 结合 DEPT 谱推断 δ_{C} 169.6, 165.3 为酰胺羰基碳信号; 6 个芳香碳信号; δ_{C} 59.3, 56.4 为 2 个连氮次甲基碳信号; δ_{C} 45.6, 37.0, 28.5, 22.7 为 4 个亚甲基碳信号, 提示结构中存在苯丙氨酸和脯氨酸片段。碳信号归属为: δ_{C} 169.6 (C-7)、165.3 (C-1)、136.1 (C-1'), 129.4 (C-2'), 129.4 (C-6'), 129.3 (C-3'), 129.3 (C-5'), 127.7 (C-4'), 59.3 (C-6)、56.4 (C-9)、45.6 (C-3)、37.0 (C-10)、28.5 (C-5)、22.7 (C-4)。该化合物的比旋光值为 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -47$ (c 0.1, MeOH), 将核磁数据与参考文献 [15] 对照基本一致, 最终确定化合物为 cyclo(S-Pro-S-Phe)。

化合物 **7** 为浅黄色粉末 (甲醇), 硫酸/香草醛显

色不明显, ESIMS 给出的分子离子峰 $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ 284.13。 ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 中给出 2 个氨基质子信号 δ_{H} 10.83 (1H, s, H-1'), 7.71 (1H, s, H-8); 1 组邻二取代的苯环芳香质子信号 δ_{H} 7.54 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 7.30 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-8'), 7.03 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-7'), 6.94 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-6'); 1 个芳香质子单峰信号 δ_{H} 7.16 (1H, s, H-2'); 2 个次甲基氢信号 δ_{H} 4.28 (1H, t, $J = 5.0$ Hz, H-9), 4.04 (1H, t, $J = 8.5$ Hz, H-6); 4 组亚甲基质子信号 δ_{H} 3.36 (1H, m, H-3), 3.23 (1H, m, H-10), 3.21 (1H, m, H-3), 3.05 (1H, m, H-10), 1.95 (1H, m, H-5), 1.66 (1H, m, H-4), 1.59 (1H, m, H-4), 1.36 (1H, m, H-5)。 ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 共显示 16 个碳信号, 结合 DEPT 谱推断 δ_{C} 169.0, 165.5 为酰胺羰基碳信号; 8 个芳香碳信号; δ_{C} 58.4, 55.2 为 2 个连氮次甲基碳信号; δ_{C} 44.6, 27.7, 25.8, 21.8 为 4 个亚甲基碳信号。碳信号归属为: δ_{C} 169.0 (C-7)、165.5 (C-1)、136.0 (C-9'), 127.3 (C-4'), 124.4 (C-2'), 120.8 (C-7'), 118.6 (C-5'), 118.2 (C-6'), 111.2 (C-8'), 109.3 (C-3'), 58.4 (C-6)、55.2 (C-9)、44.6 (C-3)、27.7 (C-5)、25.8 (C-10)、21.8 (C-4)。将核磁数据与化合物 **6** 对比, 化合物 **7** 中吡啶基取代了化合物 **6** 中的苯基。该化合物的比旋光值为 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -90$ (c 0.1, MeOH), 将该核磁数据与参考文献 [16] 对照基本一致, 最终确定化合物为 brevianamide F。

化合物 **8** 为棕黄色油状 (甲醇), ESIMS 给出的分子离子峰 $[\text{M}+\text{Na}]^+ m/z$ 177.06。 ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 中, 给出 3 个烯氢信号 δ_{H} 6.72 (1H, m, H-7), 6.37 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-6), 6.00 (1H, s, H-2), 其中一对为反式烯氢; 2 个羟基信号 δ_{H} 5.80 (1H, s, 5-OH), 5.68 (1H, s, 4-OH); 2 个连氧次甲基质子信号 δ_{H} 4.50 (1H, m, H-4), 3.89 (1H, m, H-5); 1 个甲基质子信号 δ_{H} 1.88 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, H-8)。 ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 共显示 8 个碳信号, 结合 DEPT 谱, 推断 δ_{C} 203.7 为酮羰基碳信号; 4 个双键碳信号; δ_{C} 80.8, 76.4 为 2 个连氧次甲基碳信号; δ_{C} 19.1 为甲基碳信号。碳信号归属为: δ_{C} 203.7 (C-1)、168.5 (C-3)、139.4 (C-7)、125.5 (C-6)、124.8 (C-2)、80.8 (C-5)、76.4 (C-4)、19.1 (C-8)。该化合物的比旋光值为 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +78$ (c 0.1, MeOH), 将该化合物核磁数据与参考文献 [17] 对照基本一致, 确定化合物为 terrein。

3 活性测试

对分离得到的化合物进行 α -葡萄糖苷酶抑制

活性的测试。采用 PBS 缓冲液为反应体系,利用 α -葡萄糖苷酶,以 4-硝基苯基- α -D 吡喃葡萄糖苷(PNPG)为特异性底物,以阿卡波糖作为阳性药,分别设立空白对照组、 α -葡萄糖苷酶空白组和 PNPG 空白组,评价化合物的 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。结果表明,化合物 **3** 具有较强的 α -葡萄糖苷酶的抑制活性, IC_{50} 值为 $14.28 \mu\text{mol/L}$ 。其他化合物没有明显的 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。另外,还对化合物的抗氧化活性进行测试。采用 DPPH 的方法,以抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸作为阳性药对分离得到的化合物进行了体外抗氧化活性测试。结果显示这些化合物抗氧化活性不明显。

4 讨论

本研究从棕色扁海绵共附生真菌土曲霉中分离得到了 8 个化合物,其中化合物 **3**、**4**、**5**、**7** 为首次从该菌中分离得到,丰富了土曲霉次级代谢产物的多样性,为进一步探索该属真菌的化学成分和生源途径提供了理论依据。

根据文献报道,化合物 **2** 可以提高胰岛素的敏感性^[13],化合物 **4** 和 **5** 测试了多个肿瘤细胞系,均显示细胞毒活性不明显^[15],化合物 **6** 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、黄体微球菌、白色念珠菌和隐球菌等具有很好的抗菌活性^[16],化合物 **7** 对 PaCa-2 胰腺细胞的抗癌活性和抗菌活性都不明显^[17],化合物 **8** 能够抑制雄激素依赖性前列腺癌细胞 LNCaP-CR 的血管生成素分泌,能够抑制人脐静脉内皮细胞的血管形成^[18]。为了更好的探究该真菌代谢产物的活性,对分离得到的化合物进行了 α -葡萄糖苷酶抑制活性和抗氧化活性测试。其中化合物 **3** 显示了较强的 α -葡萄糖苷酶的抑制活性, IC_{50} 值为 $14.28 \mu\text{mol/L}$,其 α -葡萄糖苷酶抑制活性的机制有待于进一步研究。

【参考文献】

[1] 朱伟明,王俊峰.海洋真菌生物活性物质研究之管见[J].菌物学报,2011,30(2):218-228.
[2] LI D H, HAN T, GUAN L P, et al. New naphthopyrones from marine-derived fungus *Aspergillus niger* 2HL-M-8 and their *in vitro* antiproliferative activity[J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30(10): 1116-1122.
[3] GU B B, JIAO F R, WU W, et al. Preussins with inhibition of IL-6 expression from *Aspergillus flocculosus* 16D-1, a fungus isolated from the marine sponge *Phakellia fusca*[J]. *J Nat*

Prod, 2018, 81(10): 2275-2281.
[4] MA X, NONG X H, REN Z, et al. Antiviral peptides from marine Gorgonian-derived fungus *Aspergillus* sp. SCSIO 41501[J]. *Tetrahedron Lett*, 2017, 58(12): 1151-1155.
[5] MIAO F P, LIANG X R, LIU X H, et al. Asperwentins A-C, norditerpenes from a cryptic pathway in an algicolous strain of *Aspergillus wentii*[J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(2): 429-432.
[6] 王宇,李占林,白皎,等.海洋真菌烟曲霉 *Aspergillus fumigatus* YK-7 中生物碱类代谢产物及其抗肿瘤活性研究[J].中国药理学杂志,2017,52(15):1308-1312.
[7] BUTTACHON S, RAMOS A A, INACIO A, et al. Bis-indolyl benzenoids, hydroxypyrrolidine derivatives and other constituents from cultures of the marine sponge-associated fungus *Aspergillus candidus* KUFA0062[J]. *Mar Drugs*, 2018, 16(4): E119.
[8] AN X, FENG B M, CHEN G, et al. Two new asterriquinols from *Aspergillus* sp. CBS-P-2 with anti-inflammatory activity[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2016, 18(8): 737-743.
[9] GUO F, LI Z L, XU X W, et al. Butenolide derivatives from the plant endophytic fungus *Aspergillus terreus*[J]. *Fitoterapia*, 2016, 113: 44-50.
[10] LIU Z M, CHEN Y, CHEN S H, et al. Asperpenacids A and B, two sesterterpenoids from a mangrove endophytic fungus *Aspergillus terreus* H010[J]. *Org Lett*, 2016, 18(6): 1406-1409.
[11] CAPON R J, RATNAYAKE R, STEWART M, et al. Aspergillazines A-E: novel heterocyclic dipeptides from an Australian strain of *Aspergillus unilateralis*[J]. *Org Biomol Chem*, 2005, 3(1): 123-129.
[12] HE F, BAO J, ZHANG X Y, et al. Asperterrestide A, a cytotoxic cyclic tetrapeptide from the marine-derived fungus *Aspergillus terreus* SCSGAF₀₁₆₂[J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(6): 1182-1186.
[13] YOU M, LIAO L J, HONG S H, et al. Lumazine peptides from the marine-derived fungus *Aspergillus terreus*[J]. *Mar Drugs*, 2015, 13(3): 1290-1303.
[14] KAWAHARA N, NOZAWA K, NAKAJIMA S, et al. Emeheterone, a pyrazinone derivative from *Emericella heterothallica* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(9): 3022-3024.
[15] CHEN T, LAM C K, CHEN W D, et al. NMR screening approach for discovery of new 6-methylpyridinone derivatives from the marine-derived fungus *Leptosphaerulina* sp[J]. *Arab J Chem*, 2017, 10(2): 288-294.
[16] WANG G H, DAI S K, CHEN M J, et al. Two diketopiperazine cyclo(pro-phe) isomers from marine bacteria *Bacillus subtilis* sp. 13-2[J]. *Chem Nat Compd*, 2010, 46(4): 583-585.
[17] WANG B, PARK E M, KING J B, et al. Transferring fungi to a deuterium-enriched medium results in assorted, conditional changes in secondary metabolite production[J]. *J Nat Prod*, 2015, 78(6): 1415-1421.
[18] ARAKAWA M, SOMENO T, KAWADA M, et al. A new terrein glucoside, a novel inhibitor of angiogenin secretion in tumor angiogenesis[J]. *J Antibiot (Tokyo)*, 2008, 61(7): 442-448.

【收稿日期】 2021-07-07 【修回日期】 2021-10-14

【本文编辑】 陈盛新