

◆海洋科学◆

广西北海竹林盐场烟曲霉 GXIMD 00544 的次级代谢产物研究^{*}张耿思, 李海艳, 傅春青, 苏志维, 周冬梅, 高程海, 刘永宏, 徐新亚^{**}

(广西中医药大学海洋药物研究院, 广西海洋药物重点实验室, 广西南宁 530200)

摘要:为研究一株广西北海竹林盐场来源真菌烟曲霉(*Asperigillus fumigatus*) GXIMD 00544 中的次级代谢产物并考察其抗菌活性, 本研究采用多种柱色谱分离并结合波谱数据, 分析确定次级代谢产物的化合结构, 再进一步采用 96 孔板法测定其抗菌活性。结果表明, 该菌株的乙酸乙酯萃取物分离后可得到 11 个化合物, 包括 4 个烟曲霉酸类化合物(1—4)和 7 个酚酸类化合物(5—11), 分别鉴定为 maunakeanolic acid A (1)、6-deacytyl-1,2-dihydrohelvolic acid (2)、helvolic acid (烟曲霉酸, 3)、helvolinic acid (4)、8'-O-methylasteric acid (5)、methylated asteric acid (6)、dimethyl 2,3'-dimethylsoate (7)、dimethylsulochrin (8)、sulochrin (9)、monomethylsulochrin (10)、trypacidin (11)。其中, 化合物 1、3、4 对人类致病菌耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)表现出较强的抑制作用, 最小抑菌浓度(Minimal Inhibitory Concentration, MIC)分别为 5.12、5.68、2.63 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 对海洋污损细菌轮虫弧菌(*Vibrio rotiferianus*)也有较强的抑制作用, 最小抑菌浓度分别为 6.40、7.10、13.15 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 对海洋污损细菌海弧菌(*V. pelagius*)表现出抑制作用。烟曲霉酸类化合物1—4均具有较强的广谱抗菌活性。

关键词:盐场来源真菌; 烟曲霉; 烟曲霉酸; 酚酸衍生物; 抗菌

中图分类号:P745 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2025)02-0322-08

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20250624.013

海洋蕴含着丰富的微生物资源, 但相比陆生微生物, 海洋微生物相关的研究及利用较少。海洋微生物包括真核微生物、原核微生物等, 其生物量占海洋总生物量的 90%^[1]。海洋真菌能够产生结构新颖独特

的次级代谢产物, 是天然药物的重要来源之一^[2]。包括烟曲霉(*Asperigillus fumigatus*)在内的曲霉属(*Asperigillus*)真菌代谢产物丰富, 其结构类型包括生物碱类、内酯类、聚酮类等^[3], 并且具有抗菌、抗炎、

收稿日期:2023-12-11

修回日期:2023-12-22

^{*} 国家自然科学基金项目(42066006, U20A20101), 广西创新研究团队项目(2020GXNSFGA297002), 广西自然科学基金-粤桂联合基金项目(2021GXNSFDA075010), 广西八桂学者专项经费项目(05019055), 广西中医药大学桂派杏林拔尖人才资助项目(2022C011), 中药学广西一流学科项目(桂教科研[2022]1号)和广西研究生教育创新计划项目(JGY2022181, YCSW2023381)资助。

【第一作者简介】

张耿思(1999—), 男, 在读硕士研究生, 主要从事海洋天然产物化学研究, E-mail:879545878@qq.com。

【**通信作者简介】

徐新亚(1981—), 男, 研究员, 主要从事海洋天然产物化学研究, E-mail:xuxy@gxtcmu.edu.cn。

【引用本文】

张耿思, 李海艳, 傅春青, 等. 广西北海竹林盐场烟曲霉 GXIMD 00544 的次级代谢产物研究[J]. 广西科学, 2025, 32(2):322-329.

ZHANG G S, LI H Y, FU C Q, et al. Secondary Metabolites of a Beihai Zhulin Saltern-Derived Fungus *Asperigillus fumigatus* GXIMD 00544 [J]. Guangxi Sciences, 2025, 32(2):322-329.

抗肿瘤等活性。冯婷等^[4]从烟曲霉中发现了具有抗菌活性的次级代谢产物 6-methoxyspirotryprostatin B 和 fumitremorgin C, 最小抑菌浓度 (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) 分别为 64、8 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。王宇等^[5]从烟曲霉的提取物中分离到具有抗肿瘤活性的一系列化合物, 分别为 fumiquinazoline A、fumiquinazoline F、fumiquinazoline G、fumiquinazoline J, 这些化合物对人单核细胞白血病细胞 (U937) 的半数抑制浓度 (Half maximal Inhibitory Concentration, IC_{50}) 分别为 87.1、16.4、33.3、8.6 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

天然海洋盐场拥有高盐度、高渗透压的极端环境。这种极端环境可能激活海洋微生物的沉默基因, 从而产生特殊的次级代谢产物。因此, 天然海洋盐场是发现新颖微生物结构活性化合物的重要来源。北海竹林盐场是广西最大的海晶盐生产基地, 其年生产能力 3—4 万吨。目前, 北海竹林盐场来源海洋微生物及其活性成分的相关研究较少。陈显强等^[6]从北海竹林盐场中分离得到 11 种真菌, 隶属于 3 科 4 属。其中, 真菌 *Epicoccum sorghinum* GXIMD02001 的提取物对 FGFR2 过表达的乳腺癌细胞 MDA-MB-231-(S252W) 增殖有较强的抑制作用, 其 IC_{50} 为 11.02 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 真菌 *Aspergillus versicolor* GXIMD02004、*Penicillium citrinum* GXIMD02009 对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和 MDA-MB-231 (S252W) 增殖抑制的 IC_{50} 为 11.94—16.41 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。本课题组前期也从竹林盐场分离了 16 株海洋真菌, 鉴定为 6 科 6 属 12 种, 部分菌株具有较好的抗菌活性^[7-8]。

本研究拟在前期研究基础上, 以一株具有抗菌活性的竹林盐场来源烟曲霉 GXIMD 00544 为研究对象, 挖掘并阐明其抗菌活性的物质基础。本研究将结合菌株的发酵、提取、分离和化合物结构鉴定, 并以人类致病菌耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)、海洋污损细菌轮虫弧菌 (*Vibrio rotiferianus*) 和海弧菌 (*V. parvulus*) 为指示菌, 测定其次级代谢产物的抗菌活性。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Bruker Ascend 500 型超导核磁共振仪 (美国布鲁克有限公司), Prominence LC-2030C 3D 型高效液相色谱仪 (日本株式会社岛津制作所), NanoChrom

C-18 型色谱柱 (10 mm×250 mm, 5 μm , 苏州纳谱分析技术有限公司), 中压制备色谱仪 (赛谱锐思北京科技有限公司), MLS-3781L-PC 型高压蒸汽灭菌锅 (日本 PHC 株式会社), ZYJ-S 型超净工作台 (苏州净化设备有限公司), Eyelan-1100V-W 型旋转蒸发仪 (日本东京理化株式会社), ZWYR-2102 型立式恒温培养振荡器 (上海智城分析仪器制造有限公司), VIC-TOR Nivo 型酶标仪 (美国珀金埃尔默股份有限公司), 薄层色谱及柱色谱用硅胶 (100—200 目、200—300 目, 烟台江友硅胶开发有限公司), 石油醚、乙酸乙酯、甲醇 (分析纯, 上海泰坦科技股份有限公司), 乙腈 (ACN, 色谱纯, 上海星可高纯溶剂有限公司)。

1.2 菌株

菌株 GXIMD 00544 分离自北海竹林盐场池水样品, 保存于广西中医药大学海洋药物研究院北部湾海洋微生物资源库。经过 ITS 测序和 Blast 分析, 该菌株被鉴定为烟曲霉, Genbank 保藏号为 OR492492。

人类致病菌 MRSA、海洋污损细菌轮虫弧菌和海弧菌, 均由华南农业大学海洋学院张晓勇副教授惠赠。

1.3 菌株发酵

菌株 GXIMD 00544 经活化后接种于马铃薯葡萄糖培养基 (PDB 培养基, 土豆提取粉 1.2 g、葡萄糖 4 g、海盐 6 g、水 200 mL) 的 1 L 锥形瓶中, 置于振荡培养箱 (180 r·min⁻¹) 中室温培养 72 h, 得种子液。再取适量种子液接种到 100 瓶灭菌 (121 $^{\circ}\text{C}$, 20 min) 后的大米培养基 (80 g 大米、酵母膏 0.4 g、葡萄糖 0.4 g、海盐 3.6 g、水 120 mL) 中, 25 $^{\circ}\text{C}$ 下静置发酵 30 d, 得发酵产物。

1.4 次级代谢产物提取与分离

在发酵产物中加入等体积的乙酸乙酯后, 捣碎大米并超声萃取 3 次, 减压浓缩得到提取物浸膏 170 g。浸膏中加 100—200 目硅胶拌样后, 经 200—300 目正相硅胶柱色谱进行梯度洗脱 (石油醚: 乙酸乙酯 = 100:0—95:5—90:10—80:20—70:30—50:50—30:70—0:100)、薄层色谱 (TLC) 分析, 合并相似馏分后得到 12 个组分 Fr. 1—Fr. 12。Fr. 4 (4 g) 组分经反相硅胶 (ODS) 柱色谱进行梯度洗脱 (ACN: H_2O = 15:85—98:2) 得到 23 个亚组分 sFr. 4-1—sFr. 4-23, sFr. 4-22 经高效液相色谱 (HPLC, ACN: H_2O = 60:40) 纯化得到化合物 **3** (t_{R} = 33.1 min, 5.2 mg), sFr. 4-13 经 HPLC (ACN: H_2O = 25:

75) 纯化得到化合物 **5** ($t_R = 21.9$ min, 15.5 mg), sFr. 4-20 经 HPLC (ACN : H₂O = 57 : 43) 纯化得到化合物 **6** ($t_R = 30.2$ min, 6.6 mg), sFr. 4-17 经 HPLC (ACN : H₂O = 47 : 53) 纯化得到化合物 **8** ($t_R = 27.2$ min, 17.1 mg), sFr. 4-15 经 HPLC (ACN : H₂O = 33 : 67) 纯化得到化合物 **9** ($t_R = 24.4$ min, 9.1 mg)。Fr. 5 (5.6 g) 组分经 ODS 反相色谱梯度洗脱 (ACN : H₂O = 10 : 90—98 : 2) 得到 24 个亚组分 sFr. 5-1—sFr. 5-24, 其中 sFr. 5-20 经 HPLC (ACN : H₂O = 55 : 45) 纯化得到化合物 **2** ($t_R = 31.5$ min, 17.8 mg) 和化合物 **4** ($t_R = 31.1$ min, 25.6 mg)。Fr. 6 (1.6 g) 组分经 ODS 反相色谱梯度洗脱 (ACN : H₂O = 15 : 85—95 : 5) 得到 17 个亚组分 sFr. 6-1—sFr. 6-17, sFr. 6-16 经 HPLC (ACN : H₂O = 50 : 50) 纯化得到化合物 **1** ($t_R = 32.1$ min, 10.3 mg), sFr. 6-12 经 HPLC (ACN : H₂O = 46 : 54) 纯化得到化合物 **7** ($t_R = 25.6$ min,

9.3 mg) 和化合物 **11** ($t_R = 26.0$ min, 2.4 mg), sFr. 6-13 经 HPLC (ACN : H₂O = 40 : 60) 纯化得到化合物 **10** ($t_R = 26.8$ min, 7.3 mg)。以上比值均为体积比。

1.5 化合物抗菌活性测定

参照陆春菊等^[9]的抗菌实验方法, 以 MRSA、轮虫弧菌和海弧菌为指示菌, 采用 96 孔板法测定化合物的抗菌活性及其 MIC。以青霉素和氯霉素为阳性对照。

2 结果与分析

2.1 化合物结构鉴定

从北海竹林盐场来源烟曲霉 GXIMD 00544 的乙酸乙酯萃取物中分离得到 4 个烟曲霉酸类化合物 (**1—4**) 和 7 个酚酸类化合物 (**5—11**), 它们的结构如图 1 所示。

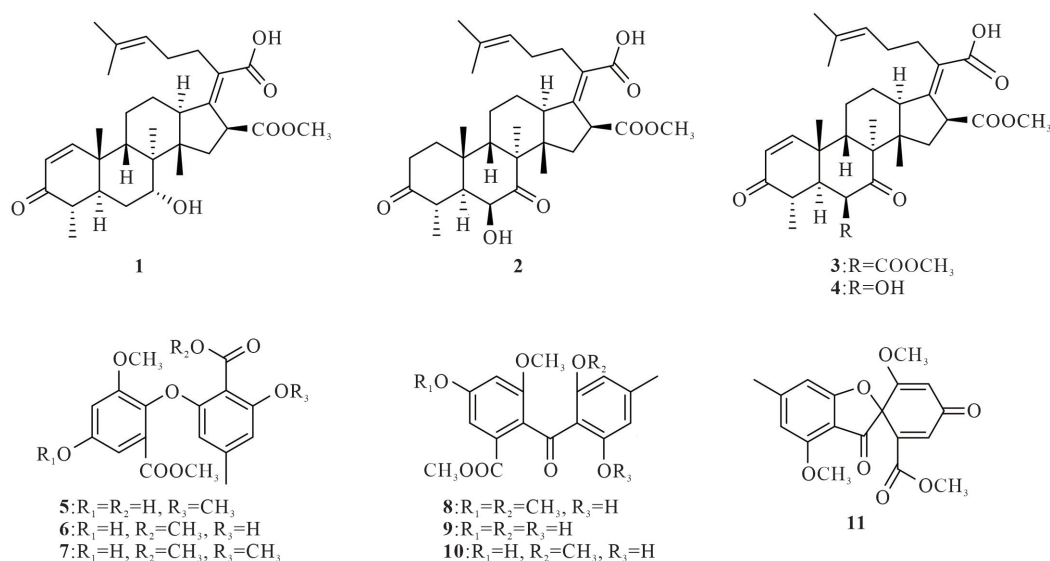


图 1 化合物 **1—11** 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds **1—11**

化合物 **1**: 白色固体。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.28 (s, 1H, H-1), 5.86 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H-2), 5.84 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H, H-16), 5.09 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-24), 4.15 (dd, $J = 7.5, 2.8$ Hz, 1H, H-7), 2.77—2.70 (m, 1H, H-22 β), 2.53—2.48 (m, 1H, H-13), 2.37—2.32 (overlapped, 4H, H-4, H-5, H-12 α , H-22 α), 2.26—2.18 (m, 1H, H-15 α), 1.98 (s, 3H, H-31), 1.95 (overlapped, 1H, H-11 α), 1.87 (m, 1H, H-6 β), 1.75—1.70 (m, 1H, H-12 β), 1.68 (s, 3H, H-27), 1.66 (overlapped, 1H, H-9), 1.61—1.57 (overlapped, 2H, H-6 α , H-11 β),

1.59 (s, 3H, H-26), 1.50—1.45 (m, 1H, H-15 β), 1.17 (s, 3H, H-19), 1.12 (d, $J = 3.5$ Hz, 3H, H-28), 1.01 (s, 3H, H-18), 0.96 (s, 3H, H-29)。¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 202.37 (C-3), 174.43 (C-30), 170.79 (C-21), 158.75 (C-1), 149.06 (C-17), 132.88 (C-20), 132.86 (C-25), 127.86 (C-2), 123.06 (C-24), 74.35 (C-16), 69.32 (C-7), 49.36 (C-13), 48.28 (C-8), 44.59 (C-9), 44.00 (C-14), 42.66 (C-4), 42.08 (C-5), 41.34 (C-15), 38.82 (C-10), 33.19 (C-6), 28.84 (C-22), 28.39 (C-23), 25.88 (C-12), 25.85 (C-11), 25.74 (C-27), 25.25

(C-19), 20.74 (C-31), 18.87 (C-18), 17.89 (C-26), 12.82 (C-28), 12.31 (C-29)。以上核磁数据与 Zaman 等^[10]报道的基本一致, 该化合物鉴定为 mau-nakeanolic acid A。

化合物 2: 黄色固体。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.85 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, H-16), 5.09 (d, $J=7.3$ Hz, 1H, H-24), 3.92 (s, 1H, H-6), 2.89 (dq, $J=13.4, 6.8$ Hz, 1H, H-4), 2.60 (d, $J=13.2$ Hz, 1H, H-9), 2.53 (overlapped, 1H, H-13), 2.52 (overlapped, 2H, H-2), 2.52 (overlapped, 1H, H-22 α), 2.43 (m, 1H, H-22 β), 2.32 (m, 1H, H-12 α), 2.29 (m, 1H, H-15 α), 2.10 (overlapped, 2H, H-23), 2.04 (overlapped, 1H, H-1 α), 1.95 (s, 3H, H-31), 1.87 (overlapped, 1H, H-5), 1.85 (overlapped, 1H, H-11 α), 1.82 (overlapped, 1H, H-15 β), 1.76 (dd, $J=12.5, 3.5$ Hz, 1H, H-12 β), 1.67 (s, 3H, H-27), 1.66 (overlapped, 1H, H-1 β), 1.59 (s, 3H, H-26), 1.44 (m, 1H, H-11 β), 1.39 (s, 3H, H-19), 1.23 (s, 3H, H-29), 1.09 (d, $J=6.6$ Hz, 3H, H-28), 0.93 (s, 3H, H-18)。¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 216.1 (C-3), 213.4 (C-7), 174.7 (C-30), 170.8 (C-21), 148.7 (C-17), 132.9 (C-20), 130.4 (C-25), 122.9 (C-24), 74.0 (C-16), 73.5 (C-6), 52.7 (C-8), 49.4 (C-13), 46.8 (C-14), 46.0 (C-5), 41.8 (C-4), 41.1 (C-9), 40.8 (C-15), 37.4 (C-2), 35.1 (C-10), 33.8 (C-1), 28.6 (C-22), 28.5 (C-23), 26.2 (C-12), 25.8 (C-27), 24.0 (C-19), 23.0 (C-11), 20.6 (C-31), 18.4 (C-18), 17.9 (C-26), 17.2 (C-29), 12.5 (C-28)。以上核磁数据与 Zaman 等^[10]报道的基本一致, 该化合物鉴定为 6-deacetyl-1,2-dihydrohelvolic acid。

化合物 3: 白色固体。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.30 (d, $J=10.0$ Hz, 1H, H-1), 5.87 (dd, $J=9.9, 5.5$ Hz, 2H, H-2, H-16), 5.23 (s, 1H, H-6), 5.10 (m, 1H, H-24), 2.82–2.72 (m, 1H, H-4), 2.62 (d, $J=12.9$ Hz, 1H, H-9), 2.59 (t, $J=3.5$ Hz, 1H, H-13), 2.57–2.45 (m, 2H, H-22), 2.45–2.39 (m, 1H, H-12 α), 2.30–2.17 (m, 2H, H-23), 2.28 (d, $J=12.3$ Hz, 1H, H-5), 2.24 (d, $J=12.2$ Hz, 1H, H-15 α), 2.15 (m, 1H, H-11 α), 2.11 (s, 3H, 32-COCH₃), 1.94 (s, 3H, H-31), 1.92 (d, $J=15.0$ Hz, 1H, H-15 β), 1.85–1.78 (m, 1H, H-12 β), 1.69 (s, 3H, H-27), 1.61 (s, 3H, H-26), 1.60–

1.52 (m, 1H, H-11 β), 1.45 (s, 3H, H-19), 1.28 (d, $J=6.8$ Hz, 3H, H-28), 1.18 (s, 3H, H-29), 0.92 (s, 3H, H-18)。¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 208.9 (C-7), 201.5 (C-3), 174.2 (C-21), 170.3 (C-30), 169.0 (32-COCH₃), 157.4 (C-1), 148.0 (C-17), 133.1 (C-25), 130.4 (C-20), 128.0 (C-2), 122.9 (C-24), 73.9 (C-6), 73.6 (C-16), 52.8 (C-8), 49.6 (C-13), 47.4 (C-5), 46.7 (C-14), 41.9 (C-9), 40.8 (C-15), 40.5 (C-4), 38.3 (C-10), 28.7 (C-22), 28.5 (C-23), 27.7 (C-19), 26.1 (C-12), 25.9 (C-27), 24.1 (C-11), 20.9 (32-COCH₃), 20.6 (C-31), 18.5 (C-29), 18.1 (C-18), 17.9 (C-26), 13.2 (C-28)。以上核磁数据与孙世伟等^[11]报道的基本一致, 该化合物鉴定为 helvolic acid(烟曲霉酸)。

化合物 4: 白色固体粉末。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.32 (d, $J=10.0$ Hz, 1H, H-1), 5.84 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, H-2), 5.84 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, H-16), 5.08 (d, $J=7.5$ Hz, 1H, H-24), 3.97 (s, 1H, H-6), 3.02 (m, 1H, H-4), 2.66 (d, $J=12.9$ Hz, 1H, H-9), 2.55 (d, $J=12.6$ Hz, 1H, H-13), 2.52–2.41 (m, 2H, H-22), 2.37 (d, $J=12.7$ Hz, 1H, H-12 α), 2.22 (dd, $J=15.1, 8.8$ Hz, 1H, H-15 α), 2.13 (d, $J=12.1$ Hz, 1H, H-5), 2.10–2.02 (m, H-23 α), 1.96 (s, 3H, H-31), 1.93 (m, 1H, H-11 α), 1.88 (d, $J=14.8$ Hz, 1H, H-15 β), 1.80 (d, $J=12.6$ Hz, 1H, H-12 β), 1.67 (s, 3H, H-26), 1.62 (m, 1H, H-23 β), 1.59 (s, 3H, H-27), 1.55 (m, 1H, H-11 β), 1.53 (s, 3H, H-19), 1.20 (d, $J=6.7$ Hz, 3H, H-28), 1.11 (s, 3H, H-29), 0.93 (s, 3H, H-18)。¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 215.6 (C-7), 202.6 (C-3), 173.9 (C-21), 171.0 (C-30), 158.6 (C-1), 147.5 (C-17), 132.9 (C-25), 130.7 (C-20), 127.6 (C-2), 122.9 (C-24), 73.9 (C-6), 73.8 (C-16), 52.5 (C-8), 50.8 (C-13), 47.2 (C-5), 46.5 (C-14), 41.5 (C-9), 40.9 (C-15), 40.0 (C-4), 38.4 (C-10), 28.6 (C-22), 28.4 (C-23), 28.2 (C-19), 26.0 (C-27), 25.8 (C-12), 24.2 (C-11), 20.6 (C-31), 18.3 (C-29), 18.0 (C-18), 17.9 (C-26), 12.5 (C-28)。以上核磁数据与 Zhang 等^[12]报道的基本一致, 该化合物鉴定为 helvolinic acid。

化合物 5: 淡黄色固体。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.77 (d, $J=2.8$ Hz, 1H, H-5), 6.74 (d, $J=2.7$ Hz, 1H, H-3), 6.47 (s, 1H, H-4'), 5.76

(s, 1H, H-6'), 3.75 (s, 3H, H-8'), 3.68 (s, 3H, H-8), 3.61 (s, 3H, H-9), 2.14 (s, 3H, H-9')。¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 166.7 (C-7'), 165.5 (C-7), 156.3 (C-3'), 155.5 (C-1'), 155.2 (C-4), 153.5 (C-2), 139.5 (C-5'), 133.6 (C-1), 125.9 (C-6), 107.4 (C-5), 105.7 (C-6'), 105.2 (C-4'), 104.8 (C-3), 56.0 (C-9), 55.7 (C-8'), 52.1 (C-8), 21.6 (C-9')。以上核磁数据与 Xie 等^[13]报道的数据基本一致, 该化合物鉴定为 8'-*O*-methylasteric acid。

化合物 6: 白色固体粉末。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 6.98 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H, H-5), 6.71 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H, H-3), 6.35 (s, 1H, H-4'), 5.84 (s, 1H, H-6'), 3.91 (s, 3H, H-8'), 3.85 (s, 3H, H-10), 3.82 (s, 3H, H-9'), 3.75 (s, 3H, H-8), 3.75 (s, 3H, H-9), 2.19 (s, 3H, H-10')。¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ: 166.9 (C-7'), 166.4 (C-7), 157.5 (C-3'), 157.1 (C-1'), 156.7 (C-2), 154.2 (C-4), 141.4 (C-5'), 136.9 (C-1), 126.2 (C-6), 110.3 (C-2'), 106.6 (C-5), 105.3 (C-4'), 105.3 (C-6'), 105.2 (C-3), 56.7 (C-9), 56.1 (C-9'), 55.9 (C-10), 52.6 (C-8), 52.4 (C-8'), 22.3 (C-10')。以上核磁数据与 Lee 等^[14]报道的基本一致, 该化合物鉴定为 methylated asteric acid。

化合物 7: 黄色固体粉末。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 6.98 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, H-5), 6.69 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, H-3), 6.35 (s, 1H, H-4'), 5.85 (s, 1H, H-6'), 3.91 (s, 3H, H-8'), 3.81 (s, 3H, H-9'), 3.72 (s, 3H, H-8), 3.70 (s, 3H, H-9), 2.18 (s, 3H, H-10')。¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 167.3 (C-7'), 166.6 (C-7), 157.5 (C-3'), 156.8 (C-1'), 154.3 (C-2), 154.0 (C-4), 141.6 (C-5'), 136.1 (C-1), 126.0 (C-6), 110.0 (C-2'), 108.7 (C-5), 106.6 (C-6'), 105.3 (C-3), 105.3 (C-4'), 56.5 (C-9), 56.1 (C-9'), 52.6 (C-8), 52.6 (C-8'), 22.3 (C-10')。以上核磁数据与 Liu 等^[15]报道的基本一致, 该化合物鉴定为 dimethyl 2,3'-dimethylsoate。

化合物 8: 淡红色固体粉末。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 12.98 (s, 1H, 2'-OH), 7.00 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-5), 6.60 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, H-3), 6.45 (s, 1H, H-5'), 6.06 (s, 1H, H-3'), 3.69 (s, 3H, H-9), 3.67 (s, 3H, H-8), 3.49 (s, 3H, H-11), 3.37 (s, 3H, H-7'), 2.28 (s, 3H, H-8')。¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 199.8 (C-10), 166.4 (C-7),

164.4 (C-6'), 161.1 (C-2'), 157.2 (C-2), 156.7 (C-4), 148.1 (C-4'), 128.5 (C-6), 127.9 (C-1), 111.1 (C-1'), 110.6 (C-5'), 108.0 (C-5), 103.4 (C-3'), 103.1 (C-3), 56.3 (C-9), 55.8 (C-7'), 52.4 (C-8), 51.0 (C-11), 22.6 (C-8')。以上核磁数据与 Hamasaki 等^[16]报道的基本一致, 该化合物鉴定为 dimethylsulochrin。

化合物 9: 黄色固体粉末。¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.90 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, H-5), 6.68 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, H-3), 6.07 (s, 2H, H-3', H-5'), 3.64 (s, 3H, H-9), 3.63 (s, 3H, H-8), 2.14 (s, 3H, H-7')。¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 199.7 (C-10), 165.7 (C-7), 161.7 (C-2', C-6'), 158.2 (C-4), 156.8 (C-2), 147.4 (C-4'), 127.9 (C-6), 126.2 (C-1), 109.2 (C-1'), 107.5 (C-3', C-5'), 107.2 (C-5), 103.4 (C-3), 56.0 (C-9), 52.0 (C-8), 21.6 (C-8')。以上核磁数据与 Ohashi 等^[17]报道的基本一致, 该化合物鉴定为 sulochrin。

化合物 10: 黄色固体粉末。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 12.98 (s, 1H, 2'-OH), 7.01 (s, 1H, H-5), 6.59 (s, 1H, H-3), 6.45 (s, 1H, H-5'), 6.06 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H, H-3'), 3.67 (s, 6H, H-9, H-8), 3.50 (s, 1H, 4-OH), 3.37 (s, 3H, H-7'), 2.29 (s, 3H, H-8')。¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 199.9 (C-10), 166.4 (C-7), 164.4 (C-6'), 161.1 (C-2'), 157.2 (C-2), 156.6 (C-4), 148.3 (C-4'), 128.5 (C-6), 127.9 (C-1), 111.1 (C-1'), 110.5 (C-5'), 108.1 (C-5), 103.4 (C-3'), 103.1 (C-3), 56.3 (C-9), 55.8 (C-7'), 52.4 (C-8), 22.6 (C-8')。以上核磁数据与 Liu 等^[15]、张志杰等^[18]报道的基本一致, 该化合物鉴定为 monomethylsulochrin。

化合物 11: 黄色固体粉末。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.11 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H-2'), 6.55 (s, 1H, H-7), 6.37 (s, 1H, H-5), 5.77 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H-4'), 3.95 (s, 3H, 4-OCH₃), 3.69 (s, 3H, 1'-COOCH₃), 3.66 (s, 3H, 5'-OCH₃), 2.44 (s, 3H, H-6a)。¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 190.6 (C-3), 185.8 (C-3'), 174.5 (C-7a), 169.6 (C-5'), 163.6 (1'-COOCH₃), 158.5 (C-4), 152.3 (C-6), 138.4 (C-1'), 137.3 (C-2'), 108.5 (C-3a), 105.7 (C-7), 105.5 (C-5), 104.1 (C-4'), 84.0 (C-2), 56.9 (5'-OCH₃), 56.2 (4-OCH₃), 52.9 (1'-COOCH₃), 23.3 (C-6a)。以上核磁数据与鲁春华等^[19]报道的基本一

致,该化合物鉴定为 trypacidin。

2.2 抗菌活性

为进一步了解烟曲霉 GXIMD 00544 次级代谢产物的抗菌活性,对其 MIC 进行测定(表 1)。烟曲霉酸类化合物 **1**—**4** 均具有较强的广谱抗菌活性。化合物 **1**—**4** 对海弧菌具有抑制作用, MIC 分别为 51.20、52.80、28.40、52.60 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。其中,化合物 **1**、**3**、**4** 对轮虫弧菌具有较强的抑制作用, MIC 分别为 6.40、7.10、13.15 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,与阳性对照药物活性相当。化合物 **1**、**3**、**4** 对 MRSA 也具有较强的抑制作用, MIC 分别为 5.12、5.68、2.63 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,与阳性对照氯霉素活性相当。

表 1 烟曲霉 GXIMD 00544 次级代谢产物的最小抑菌浓度
Table 1 Minimal inhibitory concentrations of secondary metabolites isolated from *Aspergillus fumigatus* GXIMD 00544
Unit: $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

化合物 Compound	耐甲氧西林金 黄色葡萄球菌 MRSA	海弧菌 <i>V. pelagius</i>	轮虫弧菌 <i>V. rotiferianus</i>
1	5.12	51.20	6.40
2	13.20	52.80	26.40
3	5.68	28.40	7.10
4	2.63	52.60	13.15
11	34.40	—	—
Penicillin	0.85	15.37	13.70
Chloramphenicol	3.54	4.36	6.87

3 讨论

烟曲霉酸是一类四环三萜类化合物,该类化合物具有较好的抗真菌、抗细菌活性。Zaman 等^[10]发现烟曲霉酸衍生物 maunakeanolic acid A、maunakeanolic acid B 对金黄色葡萄球菌均有抑制作用, MIC 均为 6.25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,与本研究中的活性数据相当。Ávila-Hernández 等^[20]报道了 3 个烟曲霉酸类化合物,分别为 16-*O*-propionyl-16-*O*-deacetylhelvolic acid、6-*O*-propionyl-6-*O*-deacetylhelvolic acid 和 helvolic acid,均对无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)有抑制作用, MIC 分别为 16、2、8 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。本研究报道了烟曲霉酸类化合物 maunakeanolic acid A (**1**)、6-deacetyl-1,2-dihydrohelvolic acid (**2**)、helvolic acid (**3**)、helvolinic acid (**4**)的抗海洋弧菌活性,为高盐环境微生物的开发和利用提供了参考。

简单酚酸类化合物是含有一个或多个酚性羟基苯环的化合物,包括二苯醚、二苯酮、缩酚酸等,常见

于植物和微生物,具有多种生物活性。Guo 等^[21]发现两个具有细胞毒性的酚酸类化合物,分别为 chloroisosulochrin 和 pestalotether D,其中 chloroisosulochrin 对细胞株人类宫颈癌(HeLa)表现出适度的细胞毒性, IC_{50} 为 35.2 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; pestalotether D 对 HeLa 和人类乳腺癌细胞系(MCF-7)也有细胞毒性, IC_{50} 分别为 60.8、22.6 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。本研究发现酚酸类化合物 **11** 对 MRSA 也有一定的抑制作用,但未进一步进行细胞毒性相关的研究。

4 结论

本研究从一株北海竹林盐场来源烟曲霉 GXIMD 00544 中分离得到 11 个化合物,经鉴定分别为 4 个烟曲霉酸类化合物(**1**—**4**)以及 7 个酚酸类化合物(**5**—**11**),烟曲霉酸类化合物 **1**—**4** 均具有较强的广谱抗菌活性,对 3 株测试菌株均有抑制作用。

参考文献

- [1] 徐新亚,杨宏,宁小清,等. 北部湾海洋微生物物种多样性与化学多样性研究进展[J]. 广西科学, 2020, 27(5): 433-450, 461.
- [2] 安昶亮,孔凡栋,马青云,等. 海洋真菌 *Aspergillus* sp. SCS-KFD66 的次级代谢产物研究[J]. 中草药, 2019, 50(13): 3001-3007.
- [3] 雷丹丹,刘俊,龙星美,等. 内生菌 *Aspergillus terreus* PC-038 次生代谢产物中抗菌化学成分研究[J]. 化学试剂, 2021, 43(8): 1143-1150.
- [4] 冯婷,孙建,王玉妃,等. 北部湾海洋真菌 *Aspergillus fumigatus* DL-p0m-g2 的化学成分及药理活性研究[J]. 热带海洋学报, 2024, 43(1): 154-166.
- [5] 王宇,李占林,白皎,等. 海洋真菌烟曲霉 *Aspergillus fumigatus* YK-7 次级代谢产物的分离鉴定及抗肿瘤活性[J]. 中国药物化学杂志, 2017, 27(5): 382-387.
- [6] 陈显强,邢楠楠,黄亮华,等. 嗜盐真菌多样性及其抗肿瘤活性研究[J]. 广西科学, 2020, 27(5): 526-531.
- [7] 李海艳,陆春菊,张耿思,等. 北海竹林盐场极端嗜盐真菌的多样性及其抑菌活性研究[J]. 广西科学, 30(3): 478-484.
- [8] WANG J M, QIN Y N, LIN M P, et al. Marine natural products from the Beibu Gulf: sources, chemistry, and bioactivities [J]. Marine Drugs, 2023, 21(2): 63.
- [9] 陆春菊,陆玫霖,刘昕明,等. 广西涠洲岛柳珊瑚共附生真菌多样性及其抑菌活性[J]. 热带海洋学报, 2021, 40(5): 45-52.
- [10] ZAMAN K A U, HU Z Q, WU X H, et al. NF- κ B inhibitory and antibacterial helvolic and fumagillin deriv-

- atives from *Aspergillus terreus* [J]. Journal of Natural Products, 2020, 83(3): 730-737.
- [11] 孙世伟, 付娟, 周会楠, 等. 红树林来源黑曲霉 *Aspergillus niger* ZHN2-20 次级代谢产物的研究[J]. 中国海洋药物, 2014, 33(6): 1-7.
- [12] ZHANG Z B, DU S Y, JI B, et al. New helvolic acid derivatives with antibacterial activities from *Sarocladium oryzae* DX-THL3, an endophytic fungus from Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) [J]. Molecules, 2021, 26(7): 1828.
- [13] XIE F, LI X B, ZHOU J C, et al. Secondary metabolites from *Aspergillus fumigatus*, an endophytic fungus from the liverwort *Heteroscyphus tener* (Steph.) Schiffn [J]. Chemistry & Biodiversity, 2015, 12(9): 1313-1321.
- [14] LEE H J, LEE J H, HWANG B Y, et al. Fungal metabolites, asteric acid derivatives inhibit vascular endothelial growth factor (VEGF)-induced tube formation of HUVECs [J]. The Journal of Antibiotics, 2002, 55(6): 552-556.
- [15] LIU R, ZHU W M, ZHANG Y P, et al. A new diphenyl ether from marine-derived fungus *Aspergillus* sp. B-F-2 [J]. The Journal of Antibiotics, 2006, 59(6): 362-365.
- [16] HAMASAKI T, KIMURA Y. Isolation and structures of four new metabolites from *Aspergillus wentii* [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1983, 47(1): 163-165.
- [17] OHASHI H, ISHIKAWA M, ITO J, et al. Sulochrin inhibits eosinophil degranulation [J]. The Journal of Antibiotics, 1997, 50(11): 972-974.
- [18] 张志杰, 屈凌波, 周雨朦, 等. 植物内生真菌 SIPI3. 0550 的分类鉴定及代谢产物研究[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(16): 1402-1406.
- [19] 鲁春华, 黄耀坚, 沈月毛. 真菌 *Aspergillus fumigatus* var. *fumigatus* 的次生代谢产物[J]. 中国天然药物, 2005, 3(5): 269-271.
- [20] ÁVILA-HERNÁNDEZ J G, AGUILAR-ZÁRATE P, CARRILLO-INUNGARAY M L, et al. The secondary metabolites from *Beauveria bassiana* PQ2 inhibit the growth and spore germination of *Gibberella moniliformis* LIA [J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2022, 53(1): 143-152.
- [21] GUO L F, LIN J, NIU S B, et al. Pestalotiones A-D: four new secondary metabolites from the plant endophytic fungus *Pestalotiopsis theae* [J]. Molecules, 2020, 25(3): 470.

Secondary Metabolites of a Beihai Zhulin Saltern-Derived Fungus *Aspergillus fumigatus* GXIMD 00544

ZHANG Gengsi, LI Haiyan, FU Chunqing, SU Zhiwei, ZHOU Dongmei, GAO Chenghai, LIU Yonghong, XU Xinya^{* *}

(Guangxi Key Laboratory of Marine Drugs, Institute of Marine Drugs, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530200, China)

Abstract: This study aims to investigate the secondary metabolites of a Beihai Zhulin saltern-derived fungus *Aspergillus fumigatus* GXIMD 00544 and explore their antibacterial activities. Multiple column chromatography methods and the spectral data were employed to identify the chemical structures of the secondary metabolites. Furthermore, the 96-well plate method was employed to determine the antibacterial activities of these metabolites. Eleven compounds, helvolic acids (**1**–**4**) and phenolic acid derivatives (**5**–**11**), were separated from the ethyl acetate extract of this strain. These compounds were identified as maunakeanolic acid **1**, 6-deacetyl-1, 2-dihydrohelvolic acid (**2**), helvolic acid (**3**), helvolinic acid (**4**), 8'-O-methylasteric acid (**5**), methylated asteric acid (**6**), dimethyl-2, 3'-dimethylsoate (**7**), dimethylsulochrin (**8**), sulochrin (**9**), monomethylsulochrin (**10**), and trypacidin (**11**). Among them, compounds **1**, **3**, and **4** showed strong inhibitory

effects on the human pathogenic bacterium Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), with minimum inhibitory concentrations (MIC) of 5.12, 5.68, and 2.63 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. Furthermore, they exhibited strong inhibitory effects on the marine biofouling bacterium *Vibrio rotiferianus*, with MIC of 6.40, 7.10, and 13.15 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. In addition, the three compounds demonstrated inhibitory effects on the marine biofouling bacterium *V. pelagius*. The helvolic acids **1**–**4** all demonstrated strong broad-spectrum antibacterial activities.

Key words: saltern-derived fungus; *Aspergillus fumigatus*; helvolic acids; phenolic acid derivatives; antibacterial

责任编辑:米慧芝,南 旭



微信公众号投稿更便捷

联系电话:0771-2503923

邮箱:gxkx@gxas.cn

投稿系统网址: <http://gxkx.ijournal.cn/gxkx/ch>