



一株红树林曲霉菌 *Aspergillus* sp. WHUF0343 的次级代谢产物研究

于洪佳^{1,3}, 薛雅馨², 洪葵², 贾佳⁴, 毕洪凯⁴, 徐利剑^{1*}, 刘玲^{3*}

1 黑龙江大学现代农业与生态环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150080

2 武汉大学药学院, 湖北 武汉 430070

3 中国科学院微生物研究所, 真菌学国家重点实验室, 北京 100101

4 南京医科大学基础医学院, 江苏 南京 211166

于洪佳, 薛雅馨, 洪葵, 贾佳, 毕洪凯, 徐利剑, 刘玲. 一株红树林曲霉菌 *Aspergillus* sp. WHUF0343 的次级代谢产物研究. 微生物学报, 2022, 62(7): 2658–2670.

Yu Hongjia, Xue Yaxin, Hong Kui, Jia Jia, Bi Hongkai, Xu Lijian, Liu Ling. Secondary metabolites from a mangrove-derived fungus *Aspergillus* sp. WHUF0343. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(7): 2658–2670.

摘要: 【目的】研究分离自三亚亚龙湾红树林根系土壤的真菌 *Aspergillus* sp. WHUF0343 的次级代谢产物及其生物活性。【方法】利用硅胶柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱层析和半制备高效液相色谱等技术对该菌的发酵产物进行分离纯化; 综合利用核磁共振波谱(NMR)和质谱(MS)等现代波谱技术以及与文献数据对照确定化合物的结构; 分别采用肉汤微量稀释检测法和 MTS 法对化合物进行抗菌和肿瘤细胞毒活性测试。【结果】从真菌 *Aspergillus* sp. WHUF0343 的发酵产物共分离并鉴定了 10 个化合物, 分别为 isoechinulin A (1)、neoechinulin A (2)、neoechinulin E (3)、preechinulin (4)、neoechinulin D (5)、variecolorin J (6)、dehydroechinulin (7)、questinol (8)、emodin (9) 和 catenarin (10)。活性评价显示化合物 2、9 和 10 对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)和金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)及其耐药菌株具有较强的抑制活性; 化合物 1 对 3 株肿瘤细胞

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC0311000); 国家自然科学基金(32022002); 黑龙江大学研究生创新科研项目(YJSCX2021-217HLJU)

Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFC0311000), by the National Natural Science Foundation of China (32022002) and by the Graduate Innovation Research Project of Heilongjiang University (YJSCX2021-217HLJU)

*Corresponding authors. XU Lijian, Tel: +86-451-86609487, E-mail: xulijian@hlju.edu.cn; LIU Ling, Tel: +86-10-64807043, E-mail: liul@im.ac.cn

Received: 28 October 2021; Revised: 19 January 2022; Published online: 16 March 2022

B16、HepG2 和 MCF-7 均具有细胞毒活性。【结论】*Aspergillus* sp. WHUF0343 具有开发为微生物药物的潜在研究价值。

关键词: 红树林真菌; 次级代谢产物; 抗菌活性; 细胞毒活性

Secondary metabolites from a mangrove-derived fungus *Aspergillus* sp. WHUF0343

YU Hongjia^{1,3}, XUE Yaxin², HONG Kui², JIA Jia⁴, BI Hongkai⁴, XU Lijian^{1*}, LIU Ling^{3*}

1 College of Modern Agriculture and Ecological Environment, Heilongjiang University, Harbin 150080, Heilongjiang, China

2 School of Pharmaceutical Sciences, Wuhan University, Wuhan 430070, Hubei, China

3 State Key Laboratory of Mycology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

4 School of Basic Medical Sciences, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, Jiangsu, China

Abstract: [Objective] To investigate secondary metabolites of the mangrove-derived fungus *Aspergillus* sp. WHUF0343 from the root soil of an unidentified mangrove plant sample collected in Yalong Bay, Sanya, China, and their activity. [Methods] The column chromatography on silica gel and Sephadex LH-20, and semi-preparative high-performance liquid chromatography (HPLC) were used to isolate and purify the secondary metabolites from the fermented extract of *Aspergillus* sp. WHUF0343. Their structures were elucidated by modern spectroscopy methods such as nuclear magnetic resonance (NMR) and mass spectrometry (MS) combined with relevant literature data. Their antibacterial and cytotoxic activities were evaluated by broth microdilution assay and MTS assay, respectively. [Results] Ten compounds were isolated, which were respectively identified as isoechinulin A (1), neoechinulin A (2), neoechinulin E (3), preechinulin (4), neoechinulin D (5), variecolorin J (6), dehydroechinulin (7), questinol (8), emodin (9) and catenarin (10). Compounds 2, 9 and 10 exhibited moderate inhibitory activities against *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus* and their drug-resistant strains. Compound 1 demonstrated cytotoxic activities against malignant melanoma cell line B16, human hepatocellular carcinoma cell line HepG2 and human breast cancer cell MCF-7. [Conclusion] *Aspergillus* sp. WHUF0343 has potential research value in microbial drugs.

Keywords: mangrove fungus; secondary metabolites; antibacterial activities; cytotoxic activities

红树林真菌群落为适应高盐、高矿物组成、强酸性、强还原性、高温、寡营养等环境, 已进化出特殊的生理代谢系统, 独特的生理环境使其在代谢过程中会产生结构新颖、活性良好的天然产物^[1-2]。近年来, 从红树林曲霉中发现大量新结构化合物, 包括聚酮类、萜类和生物碱类等结构类型, 这些化合物具有抗癌、抗

菌、抗病毒和抗氧化等生物活性^[3-5]。从红树林的杂色曲霉 *Aspergillus versicolor* MA-229 中分离到 22-*epi*-aflaquinolone B, 对小麦全蚀病菌 (*Gaeumannomyces graminis*) 具有抑制活性, MIC 为 32 $\mu\text{g/mL}$, 效果等同于阳性对照两性霉素 B, 同时 14-*epi*-isochaetominine C 对小麦赤霉病菌 (*Fusarium graminearum*) 也具有明

显抑制作用, MIC 为 16 $\mu\text{g/mL}$ ^[6]。在红树林曲霉 *Aspergillus* sp. 16-5c 中分离到二倍半萜化合物 asperterpenoid A, 活性测试表明该化合物对结核分枝杆菌的酪氨酸磷酸激酶表现出明显的抑制作用, 其 IC_{50} 值为 2.20 $\mu\text{mol/mL}$, 可作为治疗肺结核的潜在药物^[7]。从红树林植物 *Avicennia marina* 的内生真菌 *Aspergillus niger* MA-132 中分离到 2 个新化合物 nigerasterols A 和 B, 在细胞毒活性测试中对 HL60 (人骨髓细胞白血病细胞) 表现出明显的抑制作用, IC_{50} 值分别为 0.30 和 1.50 $\mu\text{mol/mL}$ ^[8]。因此, 红树林曲霉菌是活性天然产物的重要来源。

本研究从 1 株分离自三亚亚龙湾红树林根系土壤的真菌 *Aspergillus* sp. WHUF0343 的发酵产物中分离获得 10 个化合物, 分别鉴定为 isoechinulin A (1)、neoechinulin A (2)、neoechinulin E (3)、preechinulin (4)、neoechinulin D (5)、varicolorin J (6)、dehydroechinulin (7)、questinol (8)、emodin (9) 和 catenarin (10)。并对化合物进行了抗菌及细胞毒活性测试。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株

真菌 WHUF0343 由武汉大学药学院洪葵课题组分自三亚亚龙湾的红树林根系土壤样品。对该菌株提取 DNA, 通过核糖体 18S rRNA 基因内部转录间隔区(internal transcribed spacer region, ITS) 序列进行比对, 鉴定该菌株为曲霉属(*Aspergillus*) 真菌。

1.1.2 培养基

马铃薯葡萄糖培养基(potato dextrose agar, PDA) (1 L): 新鲜去皮马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 15–20 g; 种子液培养基 1 L: 酵母提取物 4 g, 葡萄糖 4 g, 麦芽糖提取物 10 g; 大米培养基:

大米 100 g, 无菌水 120 mL; 海盐大米培养基: 大米 100 g, 无菌水 120 mL, 海盐 2 g。

1.1.3 主要试剂和仪器

分析纯试剂: 石油醚、乙酸乙酯、二氯甲烷、甲醇(北京化工厂); 色谱纯试剂: 色谱甲醇、色谱乙腈(Emoon 公司); Sephadex LH-20 凝胶(GE Healthcare Bio-Sciences AB), 柱层析硅胶(青岛海洋化工厂); 高压灭菌锅(HIRAYAMA 公司); 旋转蒸发器(东京理化器械株式会社); FlexStation 3 酶标仪(美谷分子仪器有限公司); 高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司); 核磁共振仪(Bruker Advance-500 III); 氘代试剂: CD_3OD (δ_{H} 3.31/ δ_{C} 49.0)、 $\text{DMSO-}d_6$ (δ_{H} 2.50/ δ_{C} 39.5)、 $\text{acetone-}d_6$ (δ_{H} 2.05/ δ_{C} 29.8, 206.1)、 CDCl_3 (δ_{H} 7.26/ δ_{C} 77.2) (上海吉至生化科技有限公司); 液相色谱质谱仪(安捷伦 1260 UHPLC-6520 QTFOMS); 质谱分析方法: 甲醇作为流动相, 设置流速 0.5 mL/min, 经色谱柱进入质谱检测。质谱采用电喷雾离子源(ESI) 正离子模式检测, 质量扫描范围在 80–2 000 m/z 。

1.2 菌种鉴定

取冻存管内 WHUF0343 菌块接种于种子液, 28 $^{\circ}\text{C}$ 、200 r/min 摇床培养 3 d 后取菌丝体, 以 ITS1 (5'-CCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 为引物^[9], 月桂酸钠法提取 DNA^[10], PCR 扩增后琼脂糖凝胶电泳验证, 由擎科生物公司完成测序。

1.3 发酵培养

取甘油冻存管内菌块接种于 PDA 培养基, 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱静置培养, 长至 2/3 培养基后, 观察记录菌落形态。切取 6–8 块约 0.5 cm^3 的菌块, 接种至已灭菌的种子液培养基(250 mL/瓶) 中, 28 $^{\circ}\text{C}$ 、200 r/min 摇床培养 3–4 d。以 5% 接种量将种子液接种至 80 g 大米固体培养基(4 kg) 内, 28 $^{\circ}\text{C}$ 避光恒温静置培养 30 d。

1.4 化合物分离纯化

为获得具有中等极性的次级代谢产物, 选用乙酸乙酯对发酵产物浸泡萃取, 减压浓缩得粗提物 16 g。粗提物经正相硅胶柱层析分离, 石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱(20:1、15:1、10:1、8:1、6:1、4:1、2:1、1:1、1:2), 合并后得到 7 个馏分(Fr. 1–Fr. 7)。Fr. 3 (石油醚:乙酸乙酯=4:1, 1.0 g)经正相硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯=15:1–1:1)洗脱, 分析合并后得 3 个馏分(Fr. 3.1–Fr. 3.3), Fr. 3.1 通过半制备 HPLC 得化合物 **9** (乙腈:0.1%甲酸水=3:2, 2 mg, $t_R=12.5$ min) 和化合物 **10** (甲醇:0.1%甲酸水=4:3, 2.2 mg, $t_R=13.0$ min); Fr. 5 (石油醚:乙酸乙酯=1:1, 0.7 g)经反相硅胶柱层析(甲醇:水=3:7–10:0)洗脱, 分析合并后得 Fr. 4.1–Fr. 4.4, Fr. 4.3 通过半制备 HPLC 得化合物 **5** (甲醇:0.1%甲酸水=31:19, 2.5 mg, $t_R=26.0$ min)、化合物 **6** (甲醇:0.1%甲酸水=3:2, 2 mg, $t_R=23.5$ min)和化合物 **7** (甲醇:0.1%甲酸水=13:7, 1.8 mg, $t_R=12.5$ min); Fr. 6 (石油醚:乙酸乙酯=6:1, 1.1 g)经反相硅胶柱层析(甲醇:水=1:4–5:0)洗脱, 分析合并后得 3 个馏分(Fr. 6.1–Fr. 6.3), Fr. 6.3 通过半制备 HPLC 得化合物 **1** (甲醇:0.1%甲酸水=17:3, 5.0 mg, $t_R=16.0$ min)、化合物 **2** (甲醇:0.1%甲酸

水=7:3, 7.0 mg, $t_R=17.0$ min)和化合物 **8** (甲醇:0.1%甲酸水=4:1, 2.5 mg, $t_R=16.5$ min); Fr. 7 (石油醚:乙酸乙酯=2:1, 1.1 g)经反相硅胶柱层析(甲醇:水=3:7–10:0)洗脱, 分析合并后得 4 个馏分(Fr. 7.1–Fr. 7.4), Fr. 7.4 馏分通过半制备 HPLC 得化合物 **3** (乙腈:0.1%甲酸水=11:9, 2.0 mg, $t_R=21.5$ min)和化合物 **4** (甲醇:0.1%甲酸水=80:20, 7.0 mg, $t_R=17.0$ min)。

1.5 活性测试

1.5.1 抗菌活性测试

采用肉汤微量稀释法^[11]对化合物 **1–10** 进行多种致病菌的抗菌实验。实验所采用的指示菌为幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)和金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*), 菌株编号见表 1。采用 96 孔板, 第 1 孔加入 178 μ L 脑心浸出液培养基(BHI)和 6.4 mg/mL 的待测化合物溶液母液 2 μ L, 在 96 孔板进行二倍倍比稀释, 每孔待测化合物终浓度分别为 64、32、16、8、4、2、1 μ g/mL, 再加入 10 μ L 待测菌液使菌液终浓度为 5×10^5 – 1×10^6 CFU/mL, 每个浓度 3 次重复, 37 $^{\circ}$ C 细菌培养箱培养 1 d 后, 幽门螺杆菌培养液需放置于微需氧培养箱培养 3 d 后, 对细菌培养液浑浊度进行观察, 培养液最澄清的最低药物浓度为该待测药物的最低抑菌浓度

表 1 化合物 **1–10** 抗细菌活性

Table 1 Antibacterial activities of compounds **1–10**

Organism (strains)	MIC/ μ g/mL									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>H. pylori</i> 26695 ^a	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	4
<i>H. pylori</i> G27 ^a	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	1
<i>H. pylori</i> 159 ^a	>16	16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	16	4
<i>H. pylori</i> 129 ^a	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	16	1
<i>S. aureus</i> ATCC 25923 ^b	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	8	2
<i>S. aureus</i> NRS271 ^b	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	>16	16	16

^a: metronidazole as a positive control, MIC value was 2–16 μ g/mL; ^b: vancomycin as a positive control, MIC value was 0.5–1.0 μ g/mL.

MIC (minimum inhibitory concentration), 甲硝唑和万古霉素作阳性对照, DMSO 作阴性对照, 空培养基作空白对照。培养 72 h 判断结果。

1.5.2 细胞毒活性测试

采用 MTS 法^[12-13]测试细胞毒性, 将人肝癌细胞(HepG2)、小鼠恶性黑色素瘤(B16)和人乳腺癌细胞(MCF-7)从液氮内取出, 于 37 °C 水浴 2 min, 离心去上清, 加入 10 mL 胎牛血清培养基(DMEM 高糖), 37 °C、5% CO₂ 静置培养。将胰酶、培养基、磷酸缓冲盐溶液(PBS)预热至 37 °C, 弃掉培养基, 用 PBS 冲洗细胞, 弃掉 PBS 后使用含 EDTA 的 0.25% 胰酶消化 2 min, 再加入同体积含血清的完全培养基终止反应。移液管吹打制成单细胞悬液, 平均分到 3-4 个培养皿内, 每皿内加入 1/4-1/3 单细胞悬液, 再补充培养基至 10 mL, 于 37 °C、5% CO₂ 静置培养, 获得传代细胞。将对数生长期的细胞消化后按 3×10^3 个/孔加入 96 孔板, 培养过夜使细胞贴壁, 去除培养基后加入无酚红无血清 DMEM 培养基 100 μ L/孔, DMSO 溶解化合物加入 96 孔板使其浓度为 100.00、50.00、25.00、12.50、6.25 和 3.13 μ mol/mL, 阳性对照顺铂采用无菌水溶解, 其终浓度为 50.00、25.00、12.50、6.25 和 3.13 μ mol/mL, 阳性对照及空白对照加入等量 DMSO, 3 组平行, 培养 48 h, 加入 20 μ L MTS: PMS=20:1 的混合溶液, 37 °C 无光照培养 90 min。酶标仪测 490 nm 处吸光度, 计算抑制率, prism 6.0 软件计算 IC_{50} 值。

2 结果与分析

2.1 菌株鉴定

WHUF0343 菌株接种到 PDA 培养基上, 25 °C 恒温避光培养 7 d, 菌落直径达到 60 mm, 初期菌丝呈乳白色, 至培养后期, 菌丝逐步转变为灰黄色(图 1A), 在光学显微镜下分生孢子

出现了典型的曲霉属分生孢子结构(图 1B), 其分生孢子梗末端略膨大呈囊状, 与姚粟等关于曲霉属形态结构的描述相类似^[14], 初步确定该菌为曲霉属真菌。

应用 DNAMAN 和 Chromas 对 ITS 序列比对拼接, 在 GenBank 数据库中进行 BLAST 同源比对, 用 MEGA-X 软件最大似然法(maximum likelihood)构建基于 WHUF0343 号菌株的 ITS 序列系统发育树(系统发育树中 ITS 序列来自 NCBI 网站的 GenBank 数据库)。结果发现, WHUF0343 号菌株与其他曲霉形成一个高支持度的单系群, 确定该菌株为曲霉属真菌, 且与冠突曲霉(*Aspergillus cristatus*) NRRL 4222 最为相近(图 2)。此外, 如果需要确认该菌株为 *Aspergillus cristatus*, 可通过基因组测序进行比较, 与该种的模式菌株同样条件下进行生理生

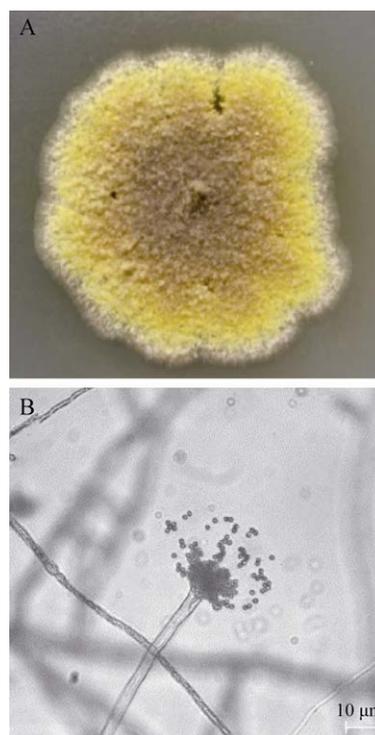


图 1 菌株 WHUF0343 的菌落和分生孢子形态
Figure 1 The colony and spore morphology of strain WHUF0343.

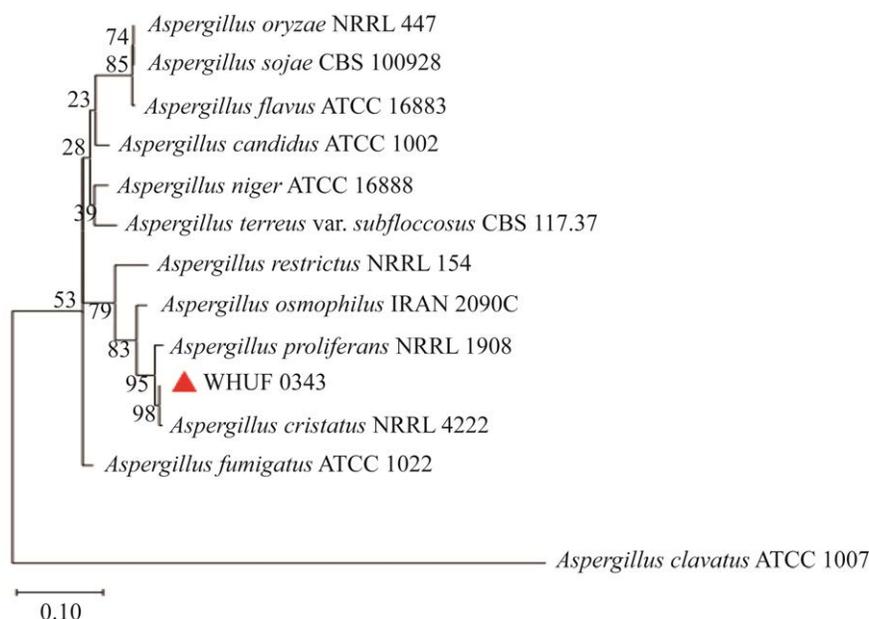


图 2 真菌 WHUF0343 的 ITS rDNA 序列系统发育树

Figure 2 ITS rDNA phylogenetic tree of fungal strain WHUF0343.

化特征和细胞组成分析。具体的生理生化特征项目主要包括生长的温度范围、pH 范围和盐度范围，抗生素敏感性，颜色反应，水解酶、氧化酶及其他特征酶的分析；细胞组成分析包括细胞壁糖、氨基酸组成和细胞膜脂质组成等分析。

2.2 结构解析

化合物 1: 淡黄色固体，质谱显示其准分子离子峰为 m/z 392.23 $[M+H]^+$ ，结合核磁共振氢谱和碳谱数据推测其分子式为 $C_{24}H_{29}N_3O_2$ 。 1H NMR 中低场区含有 3 个芳香质子 δ_H 7.20 (d, $J=8.2$ Hz, 1H), 7.05 (s, 1H) 和 6.91 (dd, $J=8.2, 1.2$ Hz, 1H), 推测含有一个 1,2,4-三取代苯环单元；碳谱中有 2 个酰胺羰基碳信号 166.9 (C-13) 和 160.4 (C-10)，以及氢谱中的 2 个 NH 活泼氢信号 7.89 (brs, 1H) 和 7.37 (brs, 1H)，推测存在一个环二肽单元。 1H NMR (500 MHz, acetone- d_6) δ_H : 10.10 (brs, 1H, 1-NH), 7.89 (brs, 1H, 14-NH), 7.37 (brs, 1H, 11-NH), 7.21 (s,

1H, H-8), 7.20 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, H-7), 7.05 (s, 1H, H-4), 6.91 (dd, $J=8.2, 1.2$ Hz, 1H, H-6), 6.14 (dd, $J=17.5, 10.5$ Hz, 1H, H-16), 5.36 (m, 1H, H-22), 5.09 (d, 1H, $J=10.5$ Hz, H-17a), 5.07 (d, 1H, $J=17.5$ Hz, H-17b), 4.28 (qd, $J=7.0, 1.8$ Hz, 1H, H-12), 3.42 (d, $J=7.5$ Hz, 2H, H-21), 1.74 (s, 3H, H-24), 1.73 (s, 3H, H-25), 1.56 (s, 3H, H-18), 1.55 (s, 3H, H-19), 1.52 (d, 3H, $J=7.0$ Hz, H-20)。 ^{13}C NMR (125 MHz, acetone- d_6) δ_C : 166.9 (C-13), 160.4 (C-10), 146.1 (C-16), 144.4 (C-2), 136.5 (C-5), 135.9 (C-7a), 132.1 (C-23), 126.4 (C-3a), 125.5 (C-22), 125.4 (C-9), 121.8 (C-6), 119.7 (C-4), 112.3 (C-17), 111.7 (C-7), 111.6 (C-8), 104.3 (C-3), 52.3 (C-12), 40.2 (C-15), 35.1 (C-21), 28.0 (C-18), 28.0 (C-19), 26.0 (C-24), 20.8 (C-20), 17.9 (C-25)。通过 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文献[15]数据比对，鉴定该化合物为 isoechinulin A (图 3)。

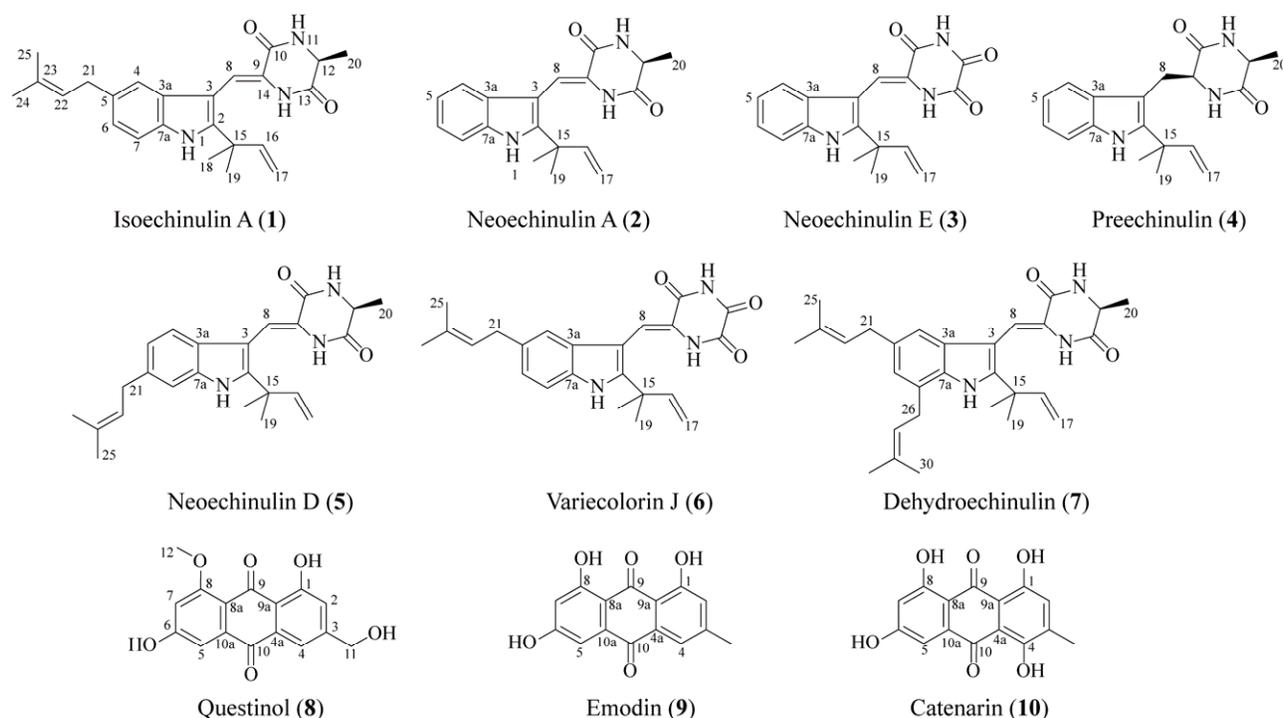


图 3 1–10 化合物结构

Figure 3 Chemical structures of compounds 1–10.

化合物 2: 淡黄色固体, 质谱显示其准分子离子峰为 m/z 324.13 $[M+H]^+$, 结合核磁共振氢谱和碳谱数据推测其分子式为 $C_{19}H_{21}N_3O_2$ 。该化合物核磁共振谱与化合物 1 相似, 不同在于缺少 2 个甲基 C-24 ($\delta_{H/C}$ 1.74/26.0) 和 C-25 ($\delta_{H/C}$ 1.73/17.9)、2 个烯烃碳 C-22 ($\delta_{H/C}$ 5.36/125.5) 和 C-23 (δ_C 132.1) 以及 1 个亚甲基 C-21 ($\delta_{H/C}$ 3.42/35.1), 说明化合物 2 比 1 少 1 个异戊烯基, 这与化合物 2 中 4 个芳香质子 δ_H 7.40 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-7)、7.30 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-4)、7.10 (td, $J=8.0, 1.2$ Hz, 1H, H-6)、7.05 (td, $J=8.0, 1.2$ Hz, H-5) 形成的 1,2-二取代苯环相吻合。 1H NMR (500 MHz, acetone- d_6) δ_H : 7.40 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-7), 7.30 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-4), 7.10 (td, $J=8.0, 1.2$ Hz, 1H, H-6), 7.05 (td, $J=8.0, 1.2$ Hz, H-5), 7.06 (s, 1H, H-8), 6.15 (dd, $J=17.3, 10.0$ Hz, 1H, H-16),

5.10 (dd, $J=10.0, 1.0$ Hz, 1H, H-17a), 5.07 (dd, $J=17.3, 1.0$ Hz, 1H, H-17b), 4.27 (q, $J=7.0$ Hz, 1H, H-12), 1.56 (s, 3H, H-18), 1.56 (s, 3H, H-19), 1.53 (d, $J=7.0$ Hz, 3H, H-20)。 ^{13}C NMR (125 MHz, acetone- d_6) δ_C : 166.9 (C-13), 160.3 (C-10), 145.9 (C-16), 144.8 (C-2), 136.2 (C-7a), 127.2 (C-3a), 126.5 (C-9), 122.1 (C-6), 120.7 (C-5), 119.7 (C-4), 112.4 (C-7), 112.3 (C-17), 110.7 (C-8), 104.3 (C-3), 52.2 (C-12), 40.0 (C-15), 27.9 (C-18), 27.9 (C-19), 20.6 (C-20)。 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文献[16]数据比对, 鉴定该化合物为 noechinulin A。

化合物 3: 淡黄色固体, 质谱显示其准分子离子峰为 m/z 324.13 $[M+H]^+$, 结合核磁共振氢谱和碳谱数据推测其分子式为 $C_{18}H_{17}N_3O_3$ 。分析其氢谱和碳谱发现化合物 3 与 2 具有相同的二酮哌嗪骨架, 但是比 2 少 1 个甲基 C-20 ($\delta_{H/C}$

1.53/20.6)和次甲基信号 C-12 ($\delta_{\text{H/C}}$ 4.27/52.2), 同时多了 1 个酰胺羰基信号 C-12 (δ_{C} 160.6), 说明 **2** 中环二肽单元的脂肪碳 C-12 在 **3** 中转变为了羰基。 ^1H NMR (500 MHz, acetone- d_6) δ_{H} : 7.50 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-7), 7.42 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-4), 7.40 (s, 1H, H-8), 7.14 (td, $J=8.0$, 1.4 Hz, 1H, H-6), 7.08 (td, $J=8.0$, 1.4 Hz, 1H, H-5), 6.16 (dd, $J=17.4$, 10.0 Hz, 1H, H-16), 5.16 (dd, $J=10.0$, 1.0 Hz, 1H, H-17a), 5.13 (dd, $J=17.4$, 1.0 Hz, 1H, H-17b), 1.59 (s, 3H, H-18), 1.59 (s, 3H, H-19)。 ^{13}C NMR (125 MHz, acetone- d_6) δ_{C} : 160.6 (C-12), 157.4 (C-13), 152.7 (C-10), 146.5 (C-16), 145.7 (C-2), 136.3 (C-7a), 127.1 (C-3a), 125.1 (C-9), 122.6 (C-6), 121.3 (C-5), 120.1 (C-4), 116.8 (C-7), 112.5 (C-17), 112.7 (C-8), 104.4 (C-3), 40.2 (C-15), 28.0 (C-18), 28.0 (C-19)。通过 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文献[17]数据比对, 鉴定该化合物为 neoechinulin E。

化合物 **4**: 淡黄色固体, 质谱显示其准分子离子峰为 m/z 326.13 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 结合核磁共振氢谱和碳谱数据推测其分子式为 $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2$ 。分析其核磁共振谱表明该化合物与化合物 **2** 结构相似, 唯一的区别是化合物 **4** 比化合物 **2** 少 2 个烯烃 C-8 ($\delta_{\text{H/C}}$ 7.06/110.7)和 C-9 (δ_{C} 126.5), 多了 1 个亚甲基信号 C-8 ($\delta_{\text{H/C}}$ 3.54, 3.28/32.2)和次甲基信号 C-9 ($\delta_{\text{H/C}}$ 4.27/57.2), 推测化合物 **4** 是化合物 **2** 中 C-8 和 C-9 双键还原的产物。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_{H} : 7.51 (d, $J=8.3$ Hz, 1H, H-7), 7.33 (d, $J=8.3$ Hz, 1H, H-4), 7.06 (td, $J=8.3$, 1.0 Hz, 1H, H-6), 6.99 (td, $J=8.3$, 1.0 Hz, 1H, H-5), 6.21 (dd, $J=17.5$, 10.0 Hz, 1H, H-16), 5.15 (dd, $J=10.0$, 1.0 Hz, 1H, H-17a), 5.11 (dd, $J=17.5$, 1.0 Hz, 1H, H-17b), 4.27 (dd, $J=10.2$, 3.8 Hz, 1H, H-9), 3.94 (qd,

$J=7.4$, 1.1 Hz, 1H, H-12), 3.54 (dd, $J=14.1$, 3.8 Hz, 1H, H-8a), 3.28 (overlap, 1H, H-8b), 1.56 (s, 3H, H-18), 1.55 (s, 3H, H-19), 1.30 (d, $J=7.4$ Hz, 3H, H-20)。 ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} : 170.7 (C-13), 170.1 (C-10), 148.0 (C-16), 143.2 (C-2), 136.7 (C-7a), 130.4 (C-3a), 122.2 (C-6), 120.0 (C-5), 119.1 (C-4), 111.9 (C-7), 111.8 (C-17), 105.4 (C-3), 57.2 (C-9), 52.1 (C-12), 40.3 (C-15), 32.2 (C-8), 28.7 (C-19), 28.6 (C-18), 21.1 (C-20)。该化合物的核磁数据与文献[18]报道的一致, 因此该化合物鉴定为 preechinulin。

化合物 **5**: 淡黄色固体, 质谱显示其准分子离子峰为 m/z 392.24 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 结合核磁共振氢谱和碳谱数据推测其分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_2$, 与化合物 **1** 具有相同的分子式。通过比较核磁数据发现化合物 **5** 苯环上的氢信号变为 7.17 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-4), 7.15 (s, 1H, H-7) 和 6.99 (dd, $J=8.0$, 1.3 Hz, 1H, H-5), 推测该化合物中异戊烯基侧链的取代位置由 C-5 位变为 C-6 位。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 7.21 (s, 1H, H-8), 7.17 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-4), 7.15 (s, 1H, H-7), 6.99 (dd, $J=8.0$, 1.3 Hz, 1H, H-5), 6.05 (dd, $J=17.5$, 10.5 Hz, 1H, H-16), 5.36 (m, 1H, H-22), 5.20 (dd, $J=10.5$, 1.0 Hz, 1H, H-17b), 5.17 (dd, $J=17.5$, 1.0 Hz, 1H, H-17a), 4.30 (qd, $J=7.0$, 2.0 Hz, 1H, H-12), 3.43 (d, $J=7.3$ Hz, 2H, H-21), 1.75 (s, 3H, H-24), 1.75 (s, 3H, H-25), 1.60 (d, $J=7.0$ Hz, 3H, H-20), 1.51 (s, 3H, H-18), 1.51 (s, 3H, H-19)。 ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} : 165.8 (C-13), 160.0 (C-10), 144.6 (C-16), 143.4 (C-2), 136.6 (C-7a), 134.9 (C-6), 132.4 (C-23), 124.3 (C-3a), 124.3 (C-9), 123.7 (C-22), 122.4 (C-5), 118.9 (C-4), 113.4 (C-17), 112.3 (C-7), 110.6

(C-8), 103.0 (C-3), 51.9 (C-12), 39.4 (C-15), 34.6 (C-21), 27.6 (C-18), 27.6 (C-19), 25.9 (C-24), 21.0 (C-20), 17.9 (C-25)。通过 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文献[19]数据比对, 鉴定该化合物为 *neoechinulin D*。

化合物 6: 淡黄色固体, 质谱显示其准分子离子峰为 m/z 392.21 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 结合核磁共振氢谱和碳谱数据推测其分子式为 $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_3$ 。核磁共振谱显示与化合物 **1** 相似, 不同在于化合物 **6** 缺少环二肽上的 C-12 ($\delta_{\text{H/C}}$ 4.28/52.3) 和 C-20 ($\delta_{\text{H/C}}$ 1.52/20.8) 信号, 而多了 1 个酰胺羰基信号 C-12 (δ_{C} 159.7), 结合质谱数据推测化合物 **1** 的 C-20 ($\delta_{\text{H/C}}$ 1.52/20.8) 和次甲基信号 C-12 (δ_{C} 4.28/52.3) 被 C=O 取代。 ^1H NMR (500 MHz, acetone- d_6) δ_{H} : 7.39 (s, 1H, H-4), 7.39 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-7), 7.23 (s, 1H, H-8), 6.94 (dd, $J=8.0, 1.5$ Hz, 1H, H-6), 6.15 (dd, $J=17.5, 10.5$ Hz, 1H, H-16), 5.36 (m, 1H, H-22), 5.15 (dd, $J=10.5, 0.8$ Hz, 1H, H-17a), 5.12 (dd, $J=17.5, 0.8$ Hz, 1H, H-17b), 3.43 (d, $J=7.5$ Hz, 2H, H-21), 1.74 (s, 3H, H-24), 1.74 (s, 3H, H-25), 1.57 (s, 3H, H-18), 1.57 (s, 3H, H-19)。 ^{13}C NMR (125 MHz, acetone- d_6) δ_{C} : 159.7 (C-12), 157.4 (C-13), 151.7 (C-10), 145.9 (C-16), 144.8 (C-2), 135.7 (C-7a), 135.5 (C-5), 131.3 (C-23), 124.3 (C-3a), 124.1 (C-22), 123.9 (C-9), 121.4 (C-6), 119.0 (C-4), 116.1 (C-8), 111.7 (C-17), 110.8 (C-7), 103.4 (C-3), 39.2 (C-15), 34.0 (C-21), 27.1 (C-18), 27.1 (C-19), 24.9 (C-24), 16.9 (C-25)。通过 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文献[15]数据比对, 鉴定该化合物为 *variecolorin J*。

化合物 7: 淡黄色固体, 质谱显示其准分子离子峰为 m/z 476.32 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 结合核磁共振氢谱和碳谱数据推测其分子式为 $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_2$ 。

通过分析核磁数据发现该化合物结构与化合物 **1** 类似, 不同在于化合物 **7** 比化合物 **1** 少 1 个芳香氢信号, 同时多出 2 个甲基信号 ($\delta_{\text{H/C}}$ 1.76/17.8, 1.79/25.9)、2 个烯烃信号 ($\delta_{\text{H/C}}$ 5.41/123.0, 133.2) 和 1 个亚甲基信号 ($\delta_{\text{H/C}}$ 3.58/35.1), 因此推测化合物 **7** 比化合物 **1** 多 1 个异戊烯基侧链。 ^1H NMR (500 MHz, acetone- d_6) δ_{H} : 7.03 (s, 1H, H-8), 6.94 (s, 1H, H-4), 6.80 (s, 1H, H-6), 6.15 (dd, $J=17.5, 11.0$ Hz, 1H, H-16), 5.41 (m, 1H, H-27), 5.34 (m, 1H, H-22), 5.11 (dd, $J=11.0, 1.1$ Hz, 1H, H-17a), 5.09 (dd, $J=17.5, 1.1$ Hz, 1H, H-17b), 4.25 (qd, $J=7.0, 2.0$ Hz, 1H, H-12), 3.58 (d, $J=7.0$ Hz, 2H, H-26), 3.35 (d, $J=7.0$ Hz, 2H, H-21), 1.79 (s, 3H, H-30), 1.76 (s, 3H, H-29), 1.70 (s, 3H, H-24), 1.70 (s, 3H, H-25), 1.55 (s, 3H, H-18), 1.55 (s, 3H, H-19), 1.54 (d, $J=7.0$ Hz, 3H, H-20)。 ^{13}C NMR (125 MHz, Acetone- d_6) δ_{C} : 166.7 (C-13), 160.3 (C-10), 146.1 (C-16), 144.4 (C-2), 134.6 (C-5), 133.4 (C-23), 133.2 (C-28), 131.9 (C-7a), 127.6 (C-3a), 126.4 (C-9), 125.4 (C-7), 125.1 (C-22), 123.4 (C-6), 123.0 (C-27), 116.8 (C-4), 112.4 (C-17), 110.8 (C-8), 104.8 (C-3), 52.6 (C-12), 40.1 (C-15), 35.1 (C-26), 30.4 (C-21), 27.9 (C-18), 27.9 (C-19), 25.9 (C-24), 25.9 (C-30), 20.8 (C-20), 17.9 (C-25), 17.8 (C-29)。该化合物核磁数据与文献[20]报道一致, 故该化合物鉴定为 *dehydroechinulin*。

化合物 8: 淡黄色固体, 质谱显示其准分子离子峰为 m/z 301.06 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 结合核磁共振氢谱和碳谱数据推测其分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR 显示存在 4 个芳香氢信号 (δ_{H} 7.59, 7.21, 7.20 和 6.82), 而 ^{13}C NMR 显示存在 12 个芳香碳信号 (δ_{C} 165.7、164.0、162.2、151.7、137.3、132.6、121.4、116.3、115.6、112.8、107.9 和

105.5), 2个酮羰基碳(δ_C 186.7和182.9), 推测化合物 **8** 是蒽醌类化合物。 ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 7.59 (d, $J=1.5$ Hz, 1H, H-4), 7.21 (d, $J=2.3$ Hz, 1H, H-2), 7.20 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, H-5), 6.82 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, H-7), 4.58 (s, 2H, H-11), 3.90 (s, 3H, H-12)。 ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 186.7 (C-9), 182.9 (C-10), 165.7 (C-6), 164.0 (C-8), 162.2 (C-1), 151.7 (C-3), 137.3 (C-10a), 132.6 (C-4a), 121.4 (C-2), 116.3 (C-4), 115.6 (C-9a), 112.8 (C-8a), 107.9 (C-5), 105.5 (C-7), 62.5 (C-11), 56.8 (C-12)。该化合物数据与文献[21]数据一致, 鉴定该化合物为 *questinol*。

化合物 **9**: 淡黄色固体, 质谱显示其准分子离子峰为 m/z 271.06 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 结合核磁共振氢谱和碳谱数据推测其分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$ 。该化合物的核磁数据与化合物 **8** 的类似, 不同在于 **9** 的核磁共振谱中缺少次甲基和甲氧基的信号, 而多了1个甲基($\delta_{\text{H/C}}$ 2.46/22.1)信号。 ^1H NMR (500 MHz, acetone- d_6) δ_H : 7.55 (d, $J=2.5$ Hz, 1H, H-4), 7.25 (d, $J=2.5$ Hz, 1H, H-5), 7.13 (d, $J=2.5$ Hz, 1H, H-2), 6.65 (d, $J=2.5$ Hz, 1H, H-7), 2.46 (s, 3H, H-11)。 ^{13}C NMR (125 MHz, acetone- d_6) δ_C : 190.8 (C-9), 182.3 (C-10), 166.7 (C-6), 166.4 (C-8), 163.4 (C-1), 149.7 (C-3), 136.7 (C-10a), 134.4 (C-4a), 125.1 (C-2), 121.6 (C-4), 114.6 (C-9a), 110.5 (C-8a), 109.9 (C-5), 109.0 (C-7), 22.1 (C-11)。以上数据与文献[22]报道数据一致, 鉴定该化合物为 *emodin*。

化合物 **10**: 黄色油状固体, 质谱显示其准分子离子峰为 m/z 287.25 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子量比化合物 **9** 多16, 结合核磁共振氢谱和碳谱数据推测其分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (500 MHz, acetone- d_6) δ_H : 7.32 (d, $J=2.2$ Hz, 1H, H-5),

7.25 (s, 1H, H-2), 6.67 (d, $J=2.5$ Hz, 1H, H-7), 2.33 (s, 3H, H-11)。 ^{13}C NMR (125 MHz, acetone- d_6) δ_C : 189.8 (C-9), 187.7 (C-10), 166.7 (C-6), 166.5 (C-8), 158.6 (C-1), 158.1 (C-4), 141.4 (C-3), 136.5 (C-10a), 130.2 (C-4a), 124.2 (C-2), 112.8 (C-9a), 111.5 (C-8a), 110.8 (C-5), 109.5 (C-7), 16.4 (C-11)。进一步通过 ^1H NMR和 ^{13}C NMR与文献[23]数据比对, 鉴定该化合物为 *catenarin*。

2.3 抗菌活性

对化合物进行抗幽门螺杆菌(*H. pylori* 26695)、幽门螺杆菌(*H. pylori* G27)、三重耐药(耐甲硝唑、克拉霉素和左氧氟沙星)幽门螺杆菌(*H. pylori* 159)、二重耐药(耐克拉霉素、阿莫西林)幽门螺杆菌(*H. pylori* 129)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus* ATCC25923)和耐甲氧西林药金黄色葡萄球菌(*S. aureus* NRS271)的活性测试(表1), 结果显示化合物 **2**、**9** 和 **10** 对部分菌株有抑菌活性。化合物 **2** 对 *H. pylori* 159 具有抑制活性, MIC 值为 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 化合物 **9** 对 *H. pylori* 159、*H. pylori* 129、*S. aureus* ATCC25923 和 *S. aureus* NRS271 均具有抑菌活性, MIC 值分别为 16、16、8、16 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 化合物 **10** 对 *H. pylori* 26695、*H. pylori* G27、*H. pylori* 159、*H. pylori* 129、*S. aureus* ATCC25923 和 *S. aureus* NRS271 均具有抑菌活性, MIC 值分别为 4、1、4、1、2、16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。如表1所示。

2.4 细胞毒活性

对化合物 **1** 和 **9** 进行细胞毒活性测试, 以顺铂为阳性对照, 测试结果显示化合物 **1** 对 B16、HepG2 和 MCF7 具细胞毒活性, IC_{50} 值分别为 (47.81 \pm 0.69)、(63.28 \pm 8.46)、(94.63 \pm 2.58) $\mu\text{mol}/\text{mL}$; 化合物 **9** 对 HepG2 有较弱活性, IC_{50} 值为 (90.25 \pm 4.83) $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 。测试结果如表2。

表 2 化合物 1 和 9 细胞毒活性
Table 2 Cytotoxic activity of compounds 1 and 9

Compounds	Cell lines/($\mu\text{mol/mL}$)		
	B16	HepG2	MCF7
1	47.81 \pm 0.69	63.28 \pm 8.46	94.63 \pm 2.58
9	>100	90.25 \pm 4.83	>100
Cisplatin	20.45 \pm 0.66	10.44 \pm 1.55	3.80 \pm 0.20

3 讨论

本研究从菌株 WHUF0343 的发酵产物中分离鉴定得到 7 个吲哚二酮哌嗪类化合物(1–7)和 3 个萹醌类化合物(8–10)。吲哚二酮哌嗪类生物碱(indole DKPs)多分离自青霉属和曲霉属, 具有抗菌、抗癌、抗肿瘤、抗氧化、杀虫和免疫调节等活性^[2]; 萹醌类化合物从真菌、地衣和茜草科植物等代谢产物中均可分离得到^[24], 具有抗氧化、抗菌消炎、抗肿瘤和保护神经等广泛的作用^[25]。据报道 isoechinulin A (1)对盐水虾有较好的致死活性^[26]; neoechinulin A (2)可保护神经元, 且具有抗氧化、抗炎和抗癌等活性^[27]; preechinulin (4)、varicolorin J (6)和 dehydroechinulin (7)具有较好的细胞毒活性^[28–29]; neoechinulin D (5)具有抗病毒活性^[19], 萹醌类化合物 questinol (8)、emodin (9)和 catenarin (10)均具有很好的抗炎作用^[30–31], 此外 catenarin (10)对真菌和线虫具有抑制活性^[32]。而本研究中活性测试结果表明化合物 2 对三重耐药幽门螺杆菌(*H. pylori* 159)具有抑制作用, 化合物 9 和 10 对幽门螺杆菌和金黄色葡萄球菌及其耐药菌株具有较强的抑菌活性, 同时化合物 1 对 3 株肿瘤细胞 B16、HepG2 和 MCF-7 均具有细胞毒活性。本研究首次报道了化合物 2 具有抗多重耐药幽门螺杆菌活性, 并首次报道了化合物 1 对 B16 和 HepG2 细胞均具有细胞毒活性。研究结果进一步丰富了曲霉属真菌活性次级代谢产物的结构类型, 同时为新型抗生素的开发提供了科学依据。

参考文献

- [1] 王聪, 梅显贵, 朱伟明. 海洋链霉菌来源的天然产物. 海洋科学集刊, 2016(1): 86–124.
Wang C, Mei XG, Zhu WM. New natural products from the marine-derived *Streptomyces* actinobacteria. *Studia Marina Sinica*, 2016(1): 86–124. (in Chinese)
- [2] Wei CW, Sun CX, Feng Z, Zhang XX, Xu J. Four new chromones from the endophytic fungus *Phomopsis asparagi* DHS-48 isolated from the Chinese mangrove plant *Rhizophora mangle*. *Marine Drugs*, 2021, 19(6): 348.
- [3] 贾斌, 马养民, 陈镡, 陈璞, 胡岩. 天然产物吲哚二酮哌嗪生物碱的结构及生物活性. 化学进展, 2018, 30(8): 1067–1081.
Jia B, Ma YM, Chen D, Chen P, Hu Y. Studies on structure and biological activity of indole diketopiperazine alkaloids. *Progress in Chemistry*, 2018, 30(8): 1067–1081. (in Chinese)
- [4] Chen SH, Cai RL, Liu ZM, Cui H, She ZG. Secondary metabolites from mangrove-associated fungi: source, chemistry and bioactivities. *Natural Product Reports*, 2021, 37: 175–223.
- [5] 张娜, 傅小雪, 王文婧. 泰国红树内生真菌土曲霉 xy03 菌株中新杂萹类成分. 菌物学报, 2021, 40(1): 222–231.
Zhang N, Fu XX, Wang WJ. A new meroterpenoid from the Thai mangrove endophytic fungus *Aspergillus terreus* xy03. *Mycosystema*, 2021, 40(1): 222–231. (in Chinese)
- [6] 罗寒, 李晓栋, 李晓明, 刘洋, 孟令红, 王斌贵. 红树林来源内生真菌杂色曲霉 *Aspergillus versicolor* MA-229 次级代谢产物研究. 中国抗生素杂志, 2017, 42(4): 334–340.
Luo H, Li XD, Li XM, Liu Y, Meng LH, Wang BG. Secondary metabolites from *Aspergillus versicolor* MA-229, an endophytic fungus isolated from the mangrove plant *Lumnitzera racemosa*. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2017, 42(4): 334–340. (in Chinese)
- [7] Huang XS, Huang HB, Li HX, Sun XF, Huang HR, Lu YJ, Lin YC, Long YH, She ZG. Asperterpenoid A, a new sesterterpenoid as an inhibitor of *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase B from the culture of *Aspergillus* sp. 16-5c. *Organic Letters*, 2013, 15(4): 721–723.
- [8] Liu D, Li XM, Li CS, Wang BG. Nigerasterols A and B, antiproliferative sterols from the mangrove-derived endophytic fungus *Aspergillus niger* MA-132. *Helvetica Chimica Acta*, 2013, 96(6): 1055–1061.

- [9] Möller EM, Bahnweg G, Sandermann H, Geiger HH. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues. *Nucleic Acids Research*, 1992, 20(22): 6115–6116.
- [10] Xie GE, Zhu X, Li Q, Gu MH, He ZJ, Wu JH, Li J, Lin YC, Li MF, She ZG, Yuan J. SZ-685C, a marine anthraquinone, is a potent inducer of apoptosis with anticancer activity by suppression of the Akt/FOXO pathway. *British Journal of Pharmacology*, 2010, 159(3): 689–697.
- [11] Huang YQ, Hang XD, Jiang XQ, Zeng LP, Jia J, Xie Y, Li F, Bi HK. *In vitro* and *in vivo* activities of zinc linolenate, a selective antibacterial agent against *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2019, 63(6): e00004-19.
- [12] Guo LF, Liu GR, Liu L. Caryophyllene-type sesquiterpenoids and α -furanones from the plant endophytic fungus *Pestalotiopsis theae*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2020, 18(4): 261–267.
- [13] Liu L, Chen XY, Li D, Zhang Y, Li L, Guo LD, Cao Y, Che YS. Bisabolane sesquiterpenoids from the plant endophytic fungus *Paraconiothyrium brasiliense*. *Journal of Natural Products*, 2015, 78(4): 746–753.
- [14] 姚粟, 李辉, 程池. 23株曲霉属菌种的形态学复核鉴定研究. *食品与发酵工业*, 2006, 32(12): 37–43.
Yao S, Li H, Cheng C. Studies on identification of 23 *Aspergillus* sp. strains in morphology. *Food and Fermentation Industries*, 2006, 32(12): 37–43. (in Chinese)
- [15] Wang WL, Lu ZY, Tao HW, Zhu TJ, Fang YC, Gu QQ, Zhu WM. Isoechinulin-type alkaloids, varicolorins A–L, from halotolerant *Aspergillus varicolor*. *Journal of Natural Products*, 2007, 70(10): 1558–1564.
- [16] Liu YJ, Wu JC, Li HL, Ma Q, Chen YG. Alkaloid and flavonoids from the seeds of *Whitfordiodendron filipes*. *Chemistry of Natural Compounds*, 2016, 52(1): 188–190.
- [17] 罗明和, 黄洪波, 卢来春, 鞠建华. 海洋真菌 *Eurotium amstelodami* SCSIO 151 二酮哌嗪吲哚生物碱类次生代谢产物的研究. *天然产物研究与开发*, 2015, 27(1): 50–54, 147.
Luo MH, Huang HB, Lu LC, Ju JH. Diketopiperazine indole alkaloids from a marine-derived fungus *Eurotium amstelodami* SCSIO 151. *Natural Product Research and Development*, 2015, 27(1): 50–54, 147. (in Chinese)
- [18] Yang XD, Kang MC, Li Y, Kim EA, Kang SM, Jeon YJ. Asperflavin, an anti-inflammatory compound produced by a marine-derived fungus, *Eurotium amstelodami*. *Molecules*, 2017, 22(11): 1823.
- [19] Bovio E, Garzoli L, Poli AN, Luganini A, Villa P, Musumeci R, McCormack GP, Cocuzza CE, Gribaudo G, Mehiri M, Varese GC. Marine fungi from the sponge *Grantia compressa*: biodiversity, chemodiversity, and biotechnological potential. *Marine Drugs*, 2019, 17(4): 220.
- [20] Li DL, Li XM, Li TG, Dang HY, Wang BG. Dioxopiperazine alkaloids produced by the marine mangrove derived endophytic fungus *Eurotium rubrum*. *Helvetica Chimica Acta*, 2008, 91(10): 1888–1893.
- [21] Zhao D, Cao F, Guo XJ, Zhang YR, Kang ZJ, Zhu HJ. Antibacterial indole alkaloids and anthraquinones from a sewage-derived fungus *Eurotium* sp.. *Chemistry of Natural Compounds*, 2018, 54(2): 399–401.
- [22] Xiang MX, Su HW, Hu JY, Yan YJ. Isolation, identification and determination of methyl caffeate, ethyl caffeate and other phenolic compounds from *Polygonum amplexicaule* var. *sinense*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2011, 5(9): 1685–1691.
- [23] 吴希, 夏厚林, 黄立华, 陈丹丹, 陈金玉, 翁海挺. 香附化学成分研究. *中药材*, 2008, 31(7): 990–992.
Wu X, Xia HL, Huang LH, Chen DD, Chen JY, Weng HT. Study on the chemical constituents of *Rhizoma cyperi*. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2008, 31(7): 990–992. (in Chinese)
- [24] 魏泽英, 虎春艳, 李树全. 蒽醌类似物的合成及其生物活性研究进展. *中国药房*, 2015, 26(25): 3581–3583.
Wei ZY, Hu CY, Li SQ. Progress in the synthesis and bioactivity of anthraquinone analogues. *China Pharmacy*, 2015, 26(25): 3581–3583. (in Chinese)
- [25] 曹亮, 周建军. 蒽醌类化合物的研究进展. *西北药学杂志*, 2009, 24(3): 237–238.
Cao L, Zhou JJ. Research progress on anthraquinone compounds. *Northwest Pharmaceutical Journal*, 2009, 24(3): 237–238. (in Chinese)
- [26] Du FY, Li XM, Li CS, Shang Z, Wang BG. Cristatamins A–D, new indole alkaloids from the marine-derived endophytic fungus *Eurotium cristatum* EN-220. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2012, 22(14): 4650–4653.
- [27] Kajimura Y, Aoki T, Kuramochi K, Kobayashi S, Sugawara F, Watanabe N, Arai T. Nеоechinulin A protects PC12 cells against MPP⁺-induced cytotoxicity. *The Journal of Antibiotics*, 2008, 61(5): 330–333.
- [28] 孙坤来, 王义, 付鹏, 刘培培, 朱伟明. 浒苔共生真

- 菌 HT-2 次生代谢产物的研究. 中国海洋药物, 2013, 32(1): 37–45.
- Sun KL, Wang Y, Fu P, Liu PP, Zhu WM. Studies on the secondary metabolites of *Eurotium herbariorum* HT-2 symbiotic with enteromorpha prolifera. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 2013, 32(1): 37–45. (in Chinese)
- [29] Smetanina OF, Yurchenko AN, Girich EV, Trinh PTH, Antonov AS, Dyshlovoy SA, Amsberg GV, Kim NY, Chingizova EA, Pislyagin EA, Menchinskaya ES, Yurchenko EA, Van TTT, Afifiyatullof SS. Biologically active echinulin-related indole diketopiperazines from the marine sediment-derived fungus *Aspergillus niveoglaucus*. *Molecules*, 2020, 25(1): 61.
- [30] Yang XD, Kang MC, Li Y, Kim EA, Kang SM, Jeon YJ. Anti-inflammatory activity of questinol isolated from marine-derived fungus *Eurotium amstelodami* in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2014, 24(10): 1346–1353.
- [31] Shen MY, Lin YP, Yang BC, Yu-Song J, Chih-Kang C, Clément M, Chen ZW, Joen-Rong S, Chang CL, Yea-Lih L, Wen-Chin Y. Catenarin prevents type 1 diabetes in nonobese diabetic mice via inhibition of leukocyte migration involving the MEK6/p38 and MEK7/JNK pathways. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: ECAM*, 2012, 2012: 982396.
- [32] Wakulinski W, Kachlicki P, Sobiczewski P, Schollenberger M, Zamorski CZ, Łotocka B, Šarova J. Catenarin production by isolates of *Pyrenophoratritici-repentis* (Died.) Drechsler and its antimicrobial activity. *Journal of Phytopathology*, 2003, 151(2): 74–79.

(本文责编 李磊)