

海洋来源青霉菌 *Penicillium polonicum* H92 次级代谢产物的研究

刘碧丽¹, 丘鹰昆², 颜志文¹, 吴小枫¹, 邱彦³, 杨嘉永^{1*}

(1. 厦门大学附属第一医院药剂科, 福建 厦门 361003; 2. 厦门大学药学院, 福建 厦门 361102;
3. 厦门大学医学院, 福建 厦门 361102)

摘要:目的 对源自福建漳江口红树林底部海水沉积物的青霉菌 *Penicillium polonicum* H92 的次级代谢产物进行化学成分和生物活性研究。方法 综合利用有机溶剂萃取、硅胶柱色谱、反相硅胶(ODS)柱色谱、凝胶(Sephadex LH-20)柱色谱、薄层色谱、半制备高效液相色谱等多种手段对青霉菌 *Penicillium polonicum* H92 的次级代谢产物进行分离纯化; 采用质谱(MS)、核磁共振谱(NMR)、紫外光谱(UV)等现代波谱技术鉴定所分离的化学成分结构; 以奥司他韦为阳性对照药物, 对上述化合物进行抗流感病毒神经氨酸酶(NA)活性测试。结果 从青霉菌 *Penicillium polonicum* H92 中分离得到 7 个次级代谢产物, 其中 4 个喹啉酮类化合物: 纯绿青霉素(1), 3-甲氧基纯绿青霉素(2), 纯绿青霉素醇(3), 喹诺酮(4); 2 个二酮哌嗪类化合物: 环(色-苯丙)二肽(5), Fructigenine A(6); 1 个生物碱: 橙黄胡椒酰胺 C(7)。结论 生物活性初步评价结果显示, 化合物 2 和 6 对流感病毒神经氨酸酶具有不同程度的抑制活性。

关键词: 青霉菌 *Penicillium polonicum*; 次级代谢产物; 结构鉴定; 抗流感病毒

中图分类号: R931.77

文献标志码: A

文章编号: 1002-3461(2021)04-027-06

Studies on marine secondary metabolites of fungus *Penicillium polonicum* H92

LIU Bi-li¹, QIU Ying-kun², YAN Zhi-wen¹, WU Xiao-feng¹, QIU Yan³, YANG Jia-yong^{1*}

(1. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361003, China;
2. School of Pharmaceutical Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China;
3. School of Medicine, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Abstract: Objective To study the chemical composition and biological activity of secondary metabolites of *Penicillium polonicum* H92 from seawater sediments at the bottom of mangroves in Zhangjiang Estuary, Fujian. **Methods** Silica gel column chromatography, reversed-phase silica gel (ODS) column chromatography, gel (Sephadex LH-20) column chromatography, thin-layer chromatography, and semi-preparative high-performance liquid chromatography were used to analyze the organic solvent extraction of *Penicillium polonicum* H92, and the secondary metabolites were isolated and purified. Mass spectrometry (MS), nuclear magnetic resonance (NMR), ultraviolet spectroscopy (UV) and other modern spectroscopy techniques were used to identify the structure of the separated chemical constituents. Oseltamivir was used as a positive control drug to conduct neuraminidase (NA) activity test against influenza virus with the above compounds. **Results**

基金项目: 白求恩医学科学研究基金(TY110DS); 厦门大学中央高校基本业务费(20720200015)资助

作者简介: 刘碧丽(1974-), 女, 副主任药师。

* 通讯作者: 杨嘉永, 男, 主任药师, 硕士生导师。Tel: 0592-2137023; E-mail: yjy_158@163.com

收稿日期: 2021-01-04

Seven secondary metabolites were isolated from *Penicillium polonicum* H92, and four of which were identified as quinolinone compounds as Viridicatin (1), 3-O-Methylviridicatin (2), and Viridicatol (3), 3-Hydroxy-4-(3-methoxyphenyl)-2-quinolinone (4). Compound 5 and 6 were diketopiperazines as Cyclic (L-Phe-L-Trp) (5), and Fructigenine A (6). Compound 7 was elucidated as an alkaloid of Aurantiomide C. **Conclusion** The preliminary evaluation of biological activity showed that compounds 2 and 6 had different levels of inhibitory activity against influenza virus neuraminidase.

Key words: *Penicillium polonicum*; secondary metabolites; structure identification; anti-influenza virus

海洋微生物分布广、数量大、种类多,其生存环境迥异于陆生微生物,使得来源于海洋微生物的次生代谢产物往往具有独特的化学结构和药理活性,如抗菌药物青霉素、免疫抑制剂环孢菌素、降血脂药物洛伐他汀等,在人类医药学史上发挥了举足轻重的作用。自20世纪40年代至今,人们已经从微生物中发现了45 000种天然产物,其中多达50%具有明确的生物活性。已有超过100种由微生物生产的天然产物应用于临床的抗菌、抗肿瘤、抗病毒等多个领域^[1-2]。

海洋真菌是海洋活性天然化合物的重要来源,其中蕴含丰富的次生代谢产物结构类型,包括生物碱、聚酮、甾体、萜类、大环内脂、肽类等^[3-5]。仅在2015年至2019年,就有140篇研究论文报道了来自34个属133种海洋真菌的471种新萜类化学结构和生物活性^[6]。青霉菌是海洋真菌的第二大常见属,自1991年Hideyuki等^[7]报道第1个海洋青霉菌来源的天然产物fellutamide A起,青霉菌属代谢产物的研究就备受关注。海洋青霉菌分布于多种海洋环境中,包括海水、海底沉积物以及海绵、红树林植物、海藻等动植物体内。海洋青霉菌是发现结构新颖的活性化合物的天然宝库。

近年来,越来越多的研究显示来源于青霉菌的天然产物作为潜在的抗病毒先导药物应予以足够的重视。2013年Fan等^[8]从红树林酸性土壤中分离出1株嗜酸青霉菌*Penicillium camemberti*,并从中分离得到6个新的具有抗H1N1甲型流感病毒活性的吡啶二萜生物碱。2014年,李德海课题组^[2]从海洋沉积物中纯化的真菌*Penicillium Chrysogenum* PJX-17中分离出2个新的山梨醇类化合物,表现出抗流感病毒A(H₁N₁)活性,IC₅₀值分别为85和113 μmol/L。2019年,Li等^[3]从*Penicillium raistrickii* IMB17-034中发现1种新的

吡啶二萜生物碱Raistrickindole A,表现出抗丙型肝炎病毒(HCV)活性。本课题组长期关注中国东南沿海红树林湿地沉积物微生物的抗病毒药用资源挖掘,本文对其中1株分离自福建漳江口红树林底部海水沉积物的青霉菌*Penicillium polonicum* H92的次生代谢产物及其抗流感病毒神经氨酸酶(Neuraminidase,NA)生物活性开展研究。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Q Exactive 型高分辨质谱仪(美国Thermo公司); Avance 600 FT 型核磁共振仪(德国Bruker公司); Perkin-Elmer 683 型红外光谱仪(美国Perkin公司); ProStar 218 型半制备型高效液相色谱仪(美国Varian公司); Agilent 1100 型分析型高效液相色谱仪(美国Agilent公司); Cosmosil C₁₈-MS 分析柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)和半制备柱(250 mm × 20.0 mm, 5 μm)(日本Nakalai Tesque公司); Mettler-Toledo AL-104 型电子天平(瑞士梅特勒托利多集团公司); Heidolph G3 型旋转蒸发器(德国Heidolph公司); Labconco 4.5 型冷冻干燥仪(英国Labconco公司); PFR-1000 型冷阱(日本EYELA公司); G154T 型灭菌锅(厦门精益兴业公司); SKY-2102C 型摇床(上海苏坤实业公司); SW-CJ-2FD 型洁净台(苏州苏静安泰公司); 柱层析及薄层层析用硅胶H(青岛海洋化工集团公司); ODS 及 Sephadex-LH 20(美国Pharmacia公司); 使用试剂完成常规柱色谱层析,乙醇、甲醇、石油醚、乙酸乙酯、氯仿等(分析纯,西陇化工股份有限公司); 乙腈、甲醇(色谱纯),磷酸奥司他韦(批号PHR1781)、DMSO(批号D2650)(美国Sigma公司)。

1.2 菌株的来源与鉴定

菌株由自然资源部第三海洋研究所提供,该

样品于 2017 年 8 月采自福建省漳州市漳江口红树林国家级自然保护区, 自红树林底部的海水沉积物分离纯化得到。经厦门大学药学院丘鹰昆教授综合比较菌株形态特征及分子生物学序列 (GenBank: KY978579.1), 将该菌株鉴定为 *Penicillium polonicum* H92。菌株现保藏于自然资源部第三海洋研究所。

1.3 菌株的分离与发酵

取采集到的红树林底部海水沉积物 1 g, 加入 10 mL 灭菌海水, 振荡混匀得匀浆。以灭菌海水稀释上述匀浆, 得到 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 倍梯度稀释液。以无菌移液器分别吸取 0.2 mL 不同稀释倍数的稀释液移至平板培养基, 均匀涂布于整个平板。25 °C 培养 3~10 d 直至菌落长出, 经过至少 3 次纯化获得纯菌落。取 1 mL 真菌保种液于 2 mL 冷冻小管中, 加入纯化好的真菌菌丝, 混匀, 并置于 -80 °C 低温冰箱中保种。

将上述纯化菌株 *Penicillium polonicum* H92 涂布于 PDA 平板上, 于无菌超净台中将 PDA 平板小块接种至大米瓶中, 每瓶 3~4 个。接种完后室温发酵 1 个月。

1.4 次生代谢产物的提取与分离

过滤菌株 H92 的发酵液, 使其与菌丝体分离。发酵液以等倍量体积乙酸乙酯重复萃取 3 次, 合并萃取液, 减压浓缩得到乙酸乙酯提取浸膏 44 g。用减压硅胶柱先后以石油醚 - 乙酸乙酯、三氯甲烷 - 甲醇为洗脱溶剂梯度洗脱, 其中三氯甲烷 - 甲醇 (体积比 5:1) 洗脱馏分蒸干后得到浸膏 9 g。这部分浸膏继续用 Sephadex LH-20 柱层析, 以水 - 甲醇为洗脱溶剂梯度洗脱, 得到 Fr.1~18。Fr.10 使用半制备型 HPLC 制备, 洗脱溶剂为乙腈 - 水 (体积比 25:75~35:65), 得到化合物 7 (13 mg)。Fr.14 使用半制备型 HPLC 制备, 洗脱溶剂为乙腈 - 水 (体积比 35:65~55:45), 第一洗脱部分进一步经 HPLC 纯化制备, 洗脱溶剂为乙腈 - 水 (体积比 35:65), 得到化合物 6 (3 mg); 第三洗脱部分进一步经 HPLC 制备, 洗脱溶剂为乙腈 - 水 (体积比 45:55), 得到化合物 5 (8 mg) 和化合物 2 (40 mg)。Fr.16~18 经半制备型 HPLC 制备纯化, 洗脱溶剂为乙腈 - 水 (体积比 35:65~55:45), 分别得到化合物 4 (2 mg)、化合物 3 (42 mg) 以及化合物 1 (12 mg)。化合物 1~7 的化学结构式见图 1。

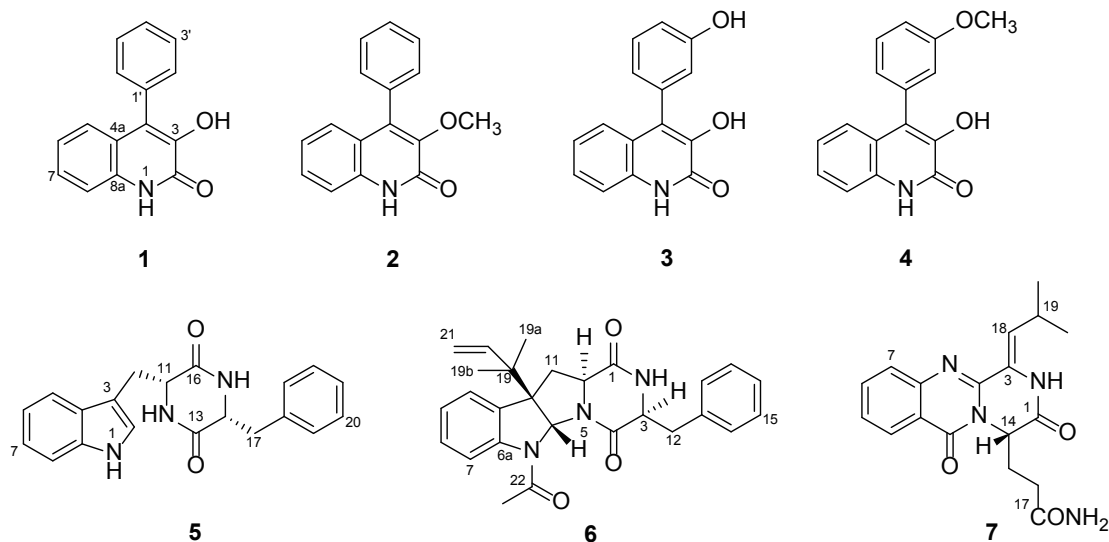


图 1 化合物 1~7 的化学结构
Fig.1 Structures of compounds 1~7

1.5 抗流感病毒活性评价

采用底物荧光检测法检测海洋天然化合物对 NA 的抑制活性。将待测海洋天然产物 1~7 配制为质量浓度 50 $\mu\text{g/mL}$, 取 30 μL NA 酶液, 加入 10 μL 待测药物 (以 1 mmol/L 磷酸奥司他韦及

DMSO 分别作为阳性及阴性对照药物)。混匀后孵育 10 min, 加入 10 μL 酶促反应体系 MES 缓冲液 (330 mmol/L, pH 3.5)、10 μL CaCl_2 (4 mmol/L)、10 μL MUNANA (200 $\mu\text{mol/L}$) 溶液, 加入 30 μL H_2O , 混匀后孵育 15 min, 加入 150 μL 、14 mmol/L

的 NaOH 溶液终止液, 混合均匀终止反应。迅速测定反应液的荧光值 (波长测定: EX = 355 nm, XM = 460 nm)、抑制率 [其公式为: 抑制率 = $(OD_{\text{空白}} - OD_{\text{样品}}) / OD_{\text{空白}} \times 100\%$]。对抑制率大于 50% 的化合物进行复筛, 依次以 3 倍稀释, 分 5 个浓度梯度, 计算化合物对酶的半数抑制浓度 (IC_{50})。

2 结果与分析

2.1 化合物结构鉴定

化合物 1: 无色棱状结晶, ESI-MS: m/z 238 $[M+H]^+$ 显示相对分子质量为 237, 结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱图数据可知, 其分子式为 $C_{15}H_{11}NO_2$ 。 1H NMR 数据显示具有 2 套芳环系统, 包括典型的邻二取代苯环信号以及单取代苯环信号。进一步解析可知, 化合物 1 具有喹啉结构, 其核磁共振数据归属如下: 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 12.25 (1H, s, NH), 9.23 (1H, s, OH), 7.52 (2H, m, H-3', H-5'), 7.44 (1H, m, H-4'), 7.34 (4H, m, H-2', H-6', H-7, H-8), 7.08 (2H, m, H-5, H-6)。 ^{13}C NMR 数据见表 1。以上数据与文献 [9] 报道数据基本一致, 从而将化合物 1 鉴定为纯绿青霉素 (Viridicatin)。

化合物 2: 无色针状结晶, ESI-MS: m/z 252 $[M+H]^+$ 显示相对分子质量为 251, 分子式为 $C_{16}H_{13}NO_2$ 。结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱图数据可知, 化合物 2 比化合物 1 在 δ 3.70 处多 1 个甲基信号, 判断为化合物 1 的 -OH 转变为 -OCH₃ 信号。其核磁共振数据归属如下: 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 12.12 (1H, s, NH), 7.54 (2H, m, H-3', H-5'), 7.48 (1H, m, H-4'), 7.43 (1H, m, H-8), 7.38 (1H, m, H-7), 7.34 (2H, m, H-2', H-6'), 7.09 (1H, m, H-5), 6.99 (1H, m, H-6), 3.70 (3H, s, -OCH₃)。 ^{13}C NMR 数据见表 1。以上数据与文献 [10] 报道数据基本一致, 从而将化合物 2 鉴定为 3-甲氧基纯绿青霉素 (3-O-Methylviridicatin)。

化合物 3: 无色油状固体, ESI-MS: m/z 254 $[M+H]^+$ 显示相对分子质量为 253, 分子式为 $C_{15}H_{11}NO_3$ 。结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱图数据可知, 与化合物 1 对比, 单取代芳环转变为间二取代芳环系统, 且化合物 3 比化合物 1 多了 1 个 -OH 取代。其核磁共振数据归属如下: 1H NMR (600

MHz, DMSO- d_6) δ_H : 12.20 (1H, s, OH-3), 9.54 (1H, s, OH-3'), 9.12 (1H, br s, NH), 7.34 (1H, m, H-8), 7.32 (1H, m, H-6), 7.30 (1H, m, H-5'), 7.12~7.08 (2H, m, H-5, H-7), 6.84 (1H, m, H-4'), 6.74 (1H, m, H-6'), 6.72 (1H, m, H-2')。 ^{13}C NMR 数据见表 1。以上数据与文献 [11] 报道数据基本一致, 从而将化合物 3 鉴定为纯绿青霉素醇 (Viridicatol)。

化合物 4: 白色不定型固体, ESI-MS: m/z 268 $[M+H]^+$ 显示相对分子质量为 267, 分子式为 $C_{16}H_{13}NO_3$ 。结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱图数据可知, 化合物 4 比化合物 3 在 δ 3.69 处多 1 个甲基信号, 判断为化合物 3 的 -OH 转变为 -OCH₃ 信号。其核磁共振数据归属如下: 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 12.08 (1H, s, OH-3), 9.64 (1H, br s, NH), 7.42 (1H, td, $J=6.9, 1.3$ Hz, H-6), 7.36 (1H, m, H-6), 7.32 (1H, t, $J=7.7$ Hz, H-3), 7.09 (1H, td, $J=7.3, 0.7$ Hz, H-5), 7.04 (1H, dd, $J=8.1, 0.9$ Hz, H-7), 6.86 (1H, dd, $J=8.3, 1.8$ Hz, H-7), 6.72 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-4), 6.69 (1H, m, H-2'), 3.69 (3H, s, H-7')。 ^{13}C NMR 数据见表 1。以上数据与文献 [12] 报道数据基本一致, 从而将化合物 4 鉴定为 3-羟基-4-(3-甲氧基苯基)-2-喹啉酮。

化合物 5: 白色不定型固体, ESI-MS: m/z 334 $[M+H]^+$, 显示相对分子质量为 333, 结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱推测化合物的分子式为 $C_{20}H_{19}N_3O_2$ 。核磁共振图谱显示化合物 5 具有典型的吲哚二酮哌嗪母核特征, 其核磁共振数据归属如下: 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 10.84 (1H, s, NH-1), 7.85 (1H, d, $J=2.4$ Hz, NH-12), 7.65 (1H, d, $J=2.4$ Hz, NH-15), 7.41 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-4), 7.25 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-7), 7.12 (1H, m, H-21), 7.09 (2H, m, H-19, H-23), 7.00 (1H, td, $J=8.1, 0.9$ Hz, H-6), 6.92 (1H, m, H-5), 6.89 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-2), 6.64 (2H, dd, $J=7.4, 1.7$ Hz, H-20, H-22), 3.90 (1H, s, H-11), 3.78 (1H, s, H-14), 2.74 (1H, dd, $J=14.9, 4.4$ Hz, H-10), 2.47 (1H, m, H-10), 2.39 (1H, dd, $J=13.4, 4.8$ Hz, H-17), 1.78 (1H, dd, $J=13.6, 4.8$ Hz, H-17); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 167.3 (C-16), 166.7 (C-13), 136.9 (C-18), 136.5 (C-9), 130.2 (C-22),

128.5 (C-23), 127.9 (C-8), 126.8 (C-21), 55.7 (C-11), 40.5 (C-17), 30.1 (C-10)。以上数据与文献 [13] 报道数据基本一致, 从而将化合物 5 鉴定为环(色-苯丙)二肽。

表 1 化合物 1~4 的 ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 数据

序号	δ_{C}			
	化合物 1	化合物 2	化合物 3	化合物 4
2	158.8	158.9	158.8	158.9
3	133.6	136.2	142.7	145.4
4	124.4	126.2	124.5	126.3
4a	121.4	120.3	121.4	120.3
5	124.8	128.5	124.9	129.0
6	122.6	122.4	126.9	129.9
7	126.9	128.9	122.6	122.4
8	115.7	115.6	115.7	115.5
8a	142.9	145.5	133.6	136.2
1'	134.2	137.9	135.4	138.0
2'	133.6	133.9	117.2	116.4
3'	128.8	129.6	157.8	157.8
4'	128.1	129.0	115.1	115.4
5'	128.8	129.6	129.9	135.1
6'	133.6	133.9	120.8	120.1
-OCH ₃	—	59.9	—	59.9

化合物 6: 无色针状结晶, ESI-MS: m/z 444 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 显示相对分子质量为 443, 结合 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱推测化合物分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_3$ 。核磁共振图谱显示化合物 6 具有典型的吡啶二酮哌嗪母核特征, 与化合物 5 对比可知, 化合物 6 多了 1 个乙酰基及 1 个异戊-2-烯基信号。其核磁共振数据归属如下: ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ_{H} : 8.22 (1H, s, NH), 7.84 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-7), 7.30 (3H, m, H-10, H-14, H-18), 7.23 (4H, m, H-8, H-15, H-16, H-17), 7.13 (1H, m, H-9), 5.92 (1H, s, H-5a), 5.63 (1H, dd, $J=10.8, 17.2$ Hz, H-20), 5.05 (2H, m, H-21), 4.45 (3H, t, $J=4.4$ Hz, H-3), 3.57 (1H, m, H-11a), 3.12 (1H, dd, $J=4.2, 14.2$ Hz, H-12), 3.01 (1H, dd, $J=5.1, 13.9$ Hz, H-12), 2.55 (3H, s, H-23), 2.33 (1H, dd, $J=6.9, 17.6$ Hz, H-11), 1.97 (1H, m, H-11), 0.94 (3H, s, H-19b), 0.79 (3H, s, H-19a); ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ_{C} : 169.9 (C-22), 167.1 (C-1), 165.7 (C-4), 143.9 (C-7a), 143.7 (C-20), 137.1 (C-13), 132.9 (C-10a), 130.4 (C-15, C-17), 128.9 (C-14), 128.5 (C-18), 128.5 (C-16),

126.9 (C-8), 125.4 (C-10), 124.6 (C-9), 118.2 (C-7), 114.6 (C-21), 79.1 (C-5a), 61.0 (C-10b), 59.0 (C-11a), 55.9 (C-3), 49.1 (C-19), 36.7 (C-12), 36.4 (C-11), 24.2 (C-23), 23.3 (C-19a), 22.5 (C-19b)。以上数据与文献 [13] 报道数据基本一致, 从而将化合物 6 鉴定为 Fructigenine A。

化合物 7: 白色无定形粉末, ESI-MS: m/z 341 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 显示相对分子质量为 340, 结合 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱推测化合物分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_3$ 。其核磁共振数据归属如下: ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ_{H} : 10.45 (1H, br s, NH-2), 8.13 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-10), 7.84 (1H, t, $J=7.3$ Hz, H-8), 7.70 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-7), 7.53 (1H, t, $J=7.7$ Hz, H-9), 7.26 (1H, s, H-18), 6.72/6.24 (1H, each, s, NH₂-17), 5.16 (1H, t, $J=5.9$ Hz, H-14), 2.97 (1H, m, H-19), 2.09 (2H, m, H-16), 2.01 (2H, m, H-15), 1.08 (3H, d, $J=6.4$ Hz, H-21), 1.05 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-20); ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ_{C} : 172.9 (C-17), 165.9 (C-1), 160.3 (C-12), 147.5 (C-6), 146.0 (C-5), 135.3 (C-8), 127.6 (C-18), 127.2 (C-3),

127.1 (C-9), 126.8 (C-7), 125.8 (C-10), 120.2 (C-11), 55.1 (C-14), 31.1 (C-16), 28.8 (C-15), 25.5 (C-19), 22.8 (C-21), 22.6 (C-20)。以上数据与文献 [14] 报道数据基本一致, 从而将化合物 7 鉴定为 Aurantiomide C。

2.2 NA 活性

按 1.5 所述方法, 以 DMSO 为阴性对照药物, 对化合物 1~7 及阳性对照药物磷酸奥司他韦开展抗 NA 活性测试。研究结果显示, 当海洋天然化合物 1~7 的质量浓度设定为 50 $\mu\text{g/mL}$ 时, 只有化合物 2 和 6 对 NA 的抑制率大于或等于 50%。通过梯度稀释, 计算化合物对 NA 的 IC_{50} 可知, 化合物 2 抑制 NA 活性的 IC_{50} 值为 59.56 $\mu\text{g/mL}$, 化合物 6 的 IC_{50} 值为 1.477 $\mu\text{g/mL}$ 。

3 小结与讨论

本文从源自福建漳江口红树林底部海水沉积物的青霉菌 *Penicillium polonicum* H92 中分离鉴定了 7 个次级代谢产物, 其中包括 4 个喹啉酮类化合物, 2 个二酮哌嗪类化合物以及 1 个生物碱。基于 NA 的筛选评价显示, 化合物 2 和 6 对 NA 具有不同程度的抑制活性。

神经氨酸酶是流感病毒包膜表面上的 1 种重要的糖蛋白刺突, 有利于促进病毒释放。选择性地抑制流感病毒表面神经氨酸酶的活性, 可以有效预防感冒和缓解症状。以阳性对照药物磷酸奥司他韦为代表的核苷类 NA 抑制剂目前仍是临床治疗流感最为敏感的药物, 但不可否认, 近年来在临床上也陆续发现多种耐药病毒株。

病毒是海洋环境中最丰富的生物实体, 海洋生物无时无刻不在与病毒遭遇并通过抑制或清除病毒以维系自身的生命。因此, 海洋天然产物往往具有难以预料的强烈而又特异的抗病毒活性。此外, 海洋生物来源的次级代谢产物具有陆源生物无法比拟的结构多样性, 具有独特的化学骨架及丰富的取代基团。如果能够从这些新颖奇特的化学结构中筛选发现新型 NA 抑制剂, 不仅有利于发现高效低毒的抗病毒药物, 而且可以极大地扩展抗病毒药物母核, 有助于迅速解决耐药病毒株。本研究显示喹啉酮类结构抗 NA 活性不强, 结构较为复杂的二酮哌嗪类化合物具有一定的抑制神经氨酸酶活性。

由于所得到的化合物数量较少, 在本实验中无法开展构效关系研究, 本课题组将在后续研究中继续靶向于二酮哌嗪基础结构, 寻找和开发新型 NA 抑制剂。

参考文献

- [1] KATZ L, BALTZ R H. Natural product discovery: past, present, and future[J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2016, 43(2/3): 155-176.
- [2] PENG J, ZHANG X, DU L, et al. Sorbicatechols A and B, anti-viral sorbicillinoids from the marine-derived fungus *Penicillium chrysogenum* PJX-17[J]. *J Nat Prod*, 2014, 77: 424-428.
- [3] LI J, HU Y, HAO X, et al. Raistrickindole A, an anti-HCV oxazinoindole alkaloid from *Penicillium raistrickii* IMB17-034[J]. *J Nat Prod*, 2019, 82: 1391-1395.
- [4] GUILLEN P O, JARAMILLO K B, GENTA J G, et al. Marine natural products from zoantharians: bioactivity, biosynthesis, systematics, and ecological roles[J]. *Nat Prod Rep*, 2020, 37(4): 515-540.
- [5] MA H G, LIU Q, ZHU G L, et al. Marine natural products sourced from marine-derived *Penicillium* fungi[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2016, 18(1): 92-115.
- [6] JIANG M, WU Z, GUO H, et al. A review of terpenes from marine-derived fungi: 2015–2019[J]. *Mar drugs*, 2020, 18: 321.
- [7] HIDEYUKI S, SHINOBU W, KAZUNAGA Y, et al. Fellutamide A and B, cytotoxic peptides from a marine fish-possessing fungus *Penicillium fellutanum*[J]. *Tetrahedron*, 1991, 47(40): 8529-8534.
- [8] FAN Y, WANG Y, LIU P, et al. Indole-diterpenoids with anti-H1N1 activity from the aciduric fungus *Penicillium camemberti* OUCM-DZ-1492[J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(7): 1328-1336.
- [9] 杨银河, 叶焯, 李成云, 等. 长序虎皮楠内生真菌 *Penicillium* sp.DCS82 的化学成分[J]. *广西植物*, 2013, 33(4): 571-574.
- [10] HODGE R P, HARRIS C M, HARRIS T M. Verrucofortine, a major metabolite of *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium*, the fungus that produces the mycotoxin verrucosidin[J]. *J Nat Prod*, 1988, 51(1): 66-73.
- [11] WEI M Y, YANG R Y, SHAO C L, et al. Isolation, structure elucidation, crystal structure, and biological activity of a marine natural alkaloid, viridicatol[J]. *Chem Nat Compd*, 2011, 47(2): 322-325.
- [12] YUAN Y, YANG R, ZHANG Negrerie D, et al. One-pot synthesis of 3-hydroxyquinolin-2(1H)-ones from N-phenylacetamide via $\text{PhI}(\text{OCOCF}_3)_2$ -mediated α -hydroxylation and H_2SO_4 -promoted intramolecular cyclization[J]. *J Org Chem*, 2013, 78(11): 5385-5392.
- [13] 丁玲, 李富超, 秦梅, 等. 海洋真菌 *Aspergillus* sp. 中的抗肿瘤成分[J]. *中国天然药物*, 2008, 6(6): 35-38.
- [14] XIN Z H, FANG Y, DU L, et al. Aurantiomides A-C, quinazoline alkaloids from the sponge-derived fungus *Penicillium aurantiogriseum* SP0-19[J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(5): 853-855.