

國立臺灣大學生命科學院漁業科學研究所



碩士論文

Graduate Institute of Fisheries Science

College of Life Science

National Taiwan University

Master Thesis

紅藻源真菌株 *Aspergillus unguis* NTU142 之活性成分研究

Bioactive constituents from a red alga-derived fungus

*Aspergillus unguis* NTU142

王家樞

Chia-Shu Wang

指導教授：李宗徽 博士

Advisor: Tzong-Huei Lee, Ph.D.

中華民國 106 年 7 月

July, 2017

## 誌謝



兩年的時間稍縱即逝，但是收穫卻無比的豐碩，其中的經歷在將來回想中將會是一幅幅色彩鮮豔、運筆流暢和內涵深意的曠世巨作。

兩年中最感謝李宗徽老師的指導與照顧，老師待我們如同他的子女般，嚴格中帶著溫柔、嚴謹中帶著盼望，讓我們可以隨時處在充滿動力的研究環境中，也感謝李宗徽老師給予我們生活上的幫助，讓我們可以更盡心盡力地將重心放在實驗中，著時是漁科所中的天堂。在李宗徽老師細心的指導下，不只讓我學到實驗上的技術，更重要的是讓我學到為人處世的態度、還有成為一個負責任的人，若是沒有老師細心的教導以期照顧，我可能還是一個長不大的小孩子。

感謝口試委員李慶國博士、盧重光博士及王永松博士，撥冗參加學生口試，四位老師的悉心指證，使得本論文更加嚴謹與充實。特別感謝台灣大學漁業科學研究所給予的資源、台灣大學貴儀中心黃守齡小姐、台灣大學植物病理與微生物學系陳穎練老師、台北醫學大學藥理學研究所蕭哲志老師和台灣大學植物病理與微生物學系曾顯雄老師在實驗上的協助。

感謝雅植學長、淳維學長、明憲學長、霆宇學長在實驗上的傳承、指導與建議，並在實驗遇到困難時提供各種解決應對的方法，最後順利完成此論文。感謝信樺同學、彩艷學妹和家好學妹在實驗室繁忙之餘適時的給予幫助，讓我能專心於論文的撰寫。雖然與實驗室的成員相處時間只有短短的兩年，但是卻不只讓我學到實驗的技術還讓我學到很多做人處事的道理，讓我除了專業技術以及知識的部分，能成為一個更有責任心、更穩重的人。

最後，謹以本論文獻給我摯愛的家人，感謝父母親給予我生活上的幫助，並在我對人生迷茫時做我最強力的後盾，而且無限制的包容我的壞脾氣，感謝我在碩士生涯中的波波折折，讓我在每一次的困難和阻礙中成長成更好的一個人，也謝謝給予我鼓勵並且支持我的人，讓我有毅力和勇氣完成我的學業。

## 中文摘要



本研究利用抑制革蘭氏陽性金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 之活性為篩選平台，發現長沙枝菜 (*Hypnea Charoides*) 之衍生真菌株 *Aspergillus unguis* NTU142 的 MY (malt extract, yeast extract) 醱酵培養液具顯著的抑菌活性。接著以 MY (malt extract, yeast extract) 液態培養基加以擴大培養，針對其醱酵液所含代謝產物進行分析、分離與純化，共計獲得 13 個化合物，藉由各種光譜分析決定其結構。其中 4 個新化合物，包括：unguistin A (1)、unguistin B (2)、unguisine A (3) 和 unguisine B (4)，另外為 9 個為已知化合物 unguinol (5)、aspergillusidone A (6)、2-chlorounguinol (7)、aspergillusidone C (8)、agonodepside A (9)、7-chlorofolipastatin (10)、nornidulin (11)、pilobolusate (12) 和 2,4-dichlorounguinol (13)。各化合物進行抑菌活性評估，得知 agonodepside A (9) 和 7-chlorofolipastatin (10) 對金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 與其他化合物相比有最佳的抑菌活性，其最小抑菌濃度 (MIC) 皆為 4  $\mu\text{g/ml}$ 。在抑制 BV-2 細胞的生成一氧化氮上，aspergillusidone A (6) 有顯著的效果，其半抑制濃度 ( $\text{IC}_{50}$ ) 為  $5.1 \pm 1.6 \mu\text{M}$ 。

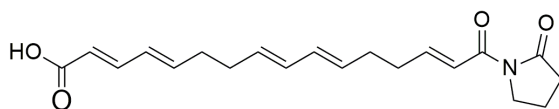
關鍵字：海洋真菌、*Aspergillus unguis*、金黃色葡萄球菌、抗菌、一氧化氮、小鼠膠質細胞株 (BV-2)

## ABSTRACT

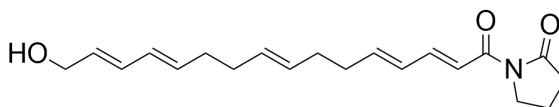


Marine environment is one of the most important sources regarding natural product research. Besides, marine microorganisms have been denominated as talented natural sources for discovery of new leads. The target fungus, *Aspergillus unguis* NTU142, was isolated from a marine red alga *Hypnea charoides*, and was found to exhibit significant inhibitory activity against *Staphylococcus aureus* in our preliminary screening. Thus, a series of separation and purification of the active principles was undertaken. Thirteen compounds were isolated from large-scale fermentation broth of *A. unguis* NTU142, including four new unguistin A (1), unguistin B (2), unguisine A (3) and unguisine B (4), together with nine previously reported unguinol (5), aspergillusidone A (6), 2-chlorounguinol (7), aspergillusidone C (8), agonodepsides A (9), 7-chlorofolipastatin (10), normidulin (11), pilobolusate (12) and 2,4-dichlorounguinol (13). Agonodepsides A (9) and 7-chlorofolipastatin (10) are likely responsible for the anti-microbial activity of the marine-derived *A. unguis* NTU142, which exhibited significant growth inhibition against *S. aureus* and *C. neoformans*. Aspergillusidone A (6) showed the most potent inhibitory effect on LPS-induced NO production in murine brain microglial BV-2 cells without cytotoxic activity.

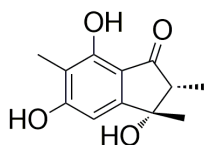
**Key words:** marine fungus; *Aspergillus unguis*; *Staphylococcus aureus*; anti-microbial activity; nitric oxide; murine microglial cell line (BV-2)



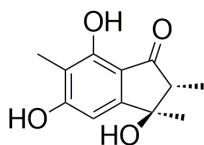
1



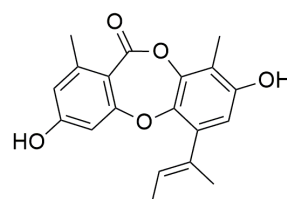
2



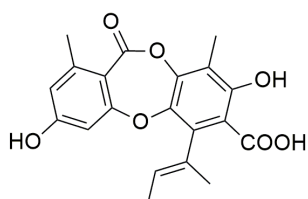
3



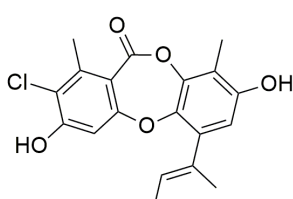
4



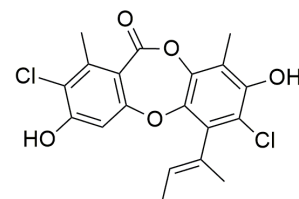
5



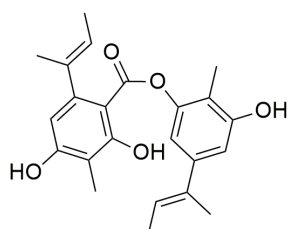
6



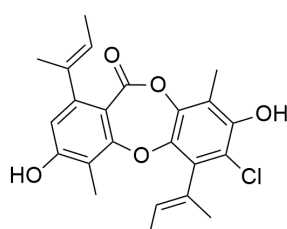
7



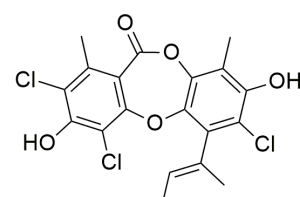
8



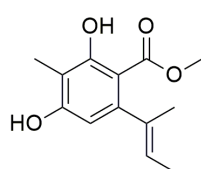
9



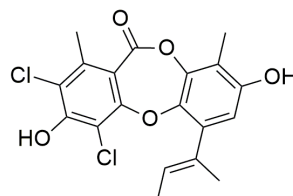
10



11



12

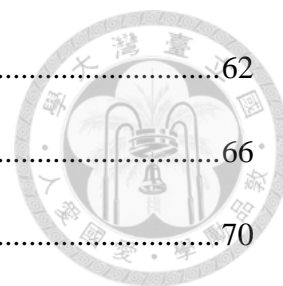


13

# 目錄

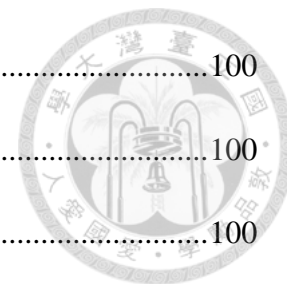


誌謝 .....	i
中文摘要 .....	ii
ABSTRACT .....	iii
目錄 .....	v
圖目錄 .....	viii
表目錄 .....	xii
<b>Chapter 1 前言 .....</b>	<b>1</b>
<b>Chapter 2 文獻回顧.....</b>	<b>7</b>
2.1 分類地位與介紹 .....	7
2.2 <i>Aspergillus</i> 屬真菌成份之文獻回顧 .....	7
<b>Chapter 3 實驗結果.....</b>	<b>26</b>
3.1 <i>Aspergillus unguis</i> NTU142 培養液分離流程 .....	26
3.1.1 化合物 <b>1-13</b> .....	28
3.2 天然物結構分析 .....	29
3.2.1 Unguistin A ( <b>1</b> ) 之結構解析 .....	29
3.2.2 Unguistin B ( <b>2</b> ) 之結構解析.....	35
3.2.3 Unguisine A ( <b>3</b> ) 之結構解析 .....	41
3.2.4 Unguisine B ( <b>4</b> ) 之結構解析 .....	47
3.2.5 Unguinol ( <b>5</b> ) 之結構解析 .....	54
3.2.6 <i>Aspergillusidone</i> A ( <b>6</b> ) 之結構解析 .....	58



3.2.7	2-Chlorounguinol (7) 之結構解析 .....	62
3.2.8	Aspergillusidone C (8) 之結構解析 .....	66
3.2.9	Agonodepsides A (9) 之結構解析 .....	70
3.2.10	7-Chlorofolipastatin (10) 之結構解析 .....	73
3.2.11	Nornidulin (11) 之結構解析 .....	76
3.2.12	Pilobolusate (12) 之結構解析 .....	80
3.2.13	2,4-Dichlorounguinol (13) 之結構解析 .....	83
3.3	各成分之物理數據 .....	90
3.4	抑菌試驗 .....	94
3.5	一氧化氮抑制試驗 .....	96
<b>Chapter 4</b>	<b>實驗方法.....</b>	<b>98</b>
4.1	儀器設備與試劑 .....	98
4.1.1	化合物物理性質測定儀器 .....	98
4.1.2	高效能液態層析系統 .....	98
4.1.3	低壓管住色層層析系統 .....	98
4.1.4	試劑耗材與溶劑 .....	98
4.1.5	真菌培養基 .....	99
4.1.6	細菌培養基 .....	99
4.2	材料 .....	99
4.2.1	真菌材料 .....	99
4.2.2	細菌材料 .....	99
4.2.3	菌種鑑定 .....	99

4.2.4	真菌篩選與萃取.....	100
4.3	抗菌活性初篩.....	100
4.3.1	目的.....	100
4.3.2	檢測原理.....	100
4.3.3	測試菌種.....	101
4.3.4	實驗步驟.....	101
4.4	真菌培養與成分分離.....	102
4.4.1	培養基製備.....	102
4.4.2	真菌發酵液萃取.....	103
4.4.3	粗萃物成分之分離與純化.....	103
4.5	一氧化氮之活性抑制試驗.....	105
4.5.1	細胞培養.....	106
4.5.2	Griess reagent assay.....	106
4.6	抗菌活性評估.....	107
4.6.1	檢測原理.....	107
4.6.2	測試菌種.....	107
4.6.3	Chequerboard titration assay.....	107
<b>Chapter 5</b>	<b>討論.....</b>	<b>108</b>
<b>Chapter 6</b>	<b>參考文獻.....</b>	<b>110</b>



## 圖目錄



Fig. 1.1 數種藻源真菌對於白色念珠菌 ( <i>Candida albicans</i> ) 的抗菌活性初篩。A: NTU142, B: NTU139 .....	2
Fig. 1.2 <i>Aspergillus unguis</i> NTU142 由不同培養基醱酵粗萃物的抗菌活性。(PDY medium, MEA medium, YES medium, MY medium, 1/2 PDA medium, 1/2 PDY medium) .....	3
Fig. 1.3 1985—2012 年海洋天然物之活性與非活性天然物數量統計。 <sup>[107]</sup> .....	4
Fig. 1.4 1985—2012 年海洋天然物之個別活性數量統計。 <sup>[107]</sup> .....	4
Fig. 1.5 (A) 海洋麴黴天然物來源 (B) 海洋麴黴結構分類。 <sup>[107]</sup> .....	5
Fig. 1.6 主要結構類型化合物產生麴黴菌的棲息地。 <sup>[107]</sup> .....	5
Fig. 1.7 (A) 海洋麴黴天然物的活性分類 (B) 海洋麴黴天然物中各結構類型比 例。 <sup>[107]</sup> .....	6
Fig. 1.8 (A) 不同結構類型化合物的活性比率 (B) 不同來源化合物的活性比例。 <sup>[107]</sup> .....	6
Fig. 3.1 化合物 1 之高解析電灑游離質譜。 .....	31
Fig. 3.2 化合物 1 之紅外光譜。 .....	31
Fig. 3.3 化合物 1 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 500MHz)。 .....	32
Fig. 3.4 化合物 1 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 125MHz)。 .....	32
Fig. 3.5 化合物 1 之 HSQC 圖譜。 .....	33
Fig. 3.6 化合物 1 之 COSY 圖譜。 .....	33
Fig. 3.7 化合物 1 之 HMBC 圖譜。 .....	34
Fig. 3.8 化合物 2 之高解析電灑游離質譜。 .....	37

Fig. 3.9 化合物 <b>2</b> 之紅外光譜。	37
Fig. 3.10 化合物 <b>2</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 500MHz)。	38
Fig. 3.11 化合物 <b>2</b> 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 125MHz)。	38
Fig. 3.12 化合物 <b>2</b> 之 HSQC 圖譜。	39
Fig. 3.13 化合物 <b>2</b> 之 COSY 圖譜。	39
Fig. 3.14 化合物 <b>2</b> 之 HMBC 圖譜。	40
Fig. 3.15 化合物 <b>3</b> 之高解析電灑游離質譜。	43
Fig. 3.16 化合物 <b>3</b> 之紅外光譜。	43
Fig. 3.17 化合物 <b>3</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 500MHz)。	44
Fig. 3.18 化合物 <b>3</b> 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 125MHz)。	44
Fig. 3.19 化合物 <b>3</b> 之 HSQC 圖譜。	45
Fig. 3.20 化合物 <b>3</b> 之 HMBC 圖譜。	45
Fig. 3.21 化合物 <b>3</b> 之 1D Selective NOESY 圖譜之一。	46
Fig. 3.22 化合物 <b>3</b> 之 1D Selective NOESY 圖譜之二。	46
Fig. 3.23 化合物 <b>4</b> 之高解析電灑游離質譜。	49
Fig. 3.24 化合物 <b>4</b> 之紅外光譜。	49
Fig. 3.25 化合物 <b>4</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 500MHz)。	50
Fig. 3.26 化合物 <b>4</b> 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 125MHz)。	50
Fig. 3.27 化合物 <b>4</b> 之 HSQC 圖譜。	51
Fig. 3.28 化合物 <b>4</b> 之 COSY 圖譜。	51
Fig. 3.29 化合物 <b>4</b> 之 HMBC 圖譜。	52
Fig. 3.30 化合物 <b>4</b> 之 1D Selective NOESY 圖譜之一。	52



Fig. 3.31 化合物 <b>4</b> 之 1D Selective NOESY 圖譜之二。	53
Fig. 3.32 化合物 <b>5</b> 之高解析電灑游離質譜。	56
Fig. 3.33 化合物 <b>5</b> 之紅外光譜。	56
Fig. 3.34 化合物 <b>5</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 500MHz)。	57
Fig. 3.35 化合物 <b>5</b> 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 125MHz)。	57
Fig. 3.36 化合物 <b>6</b> 之高解析電灑游離質譜。	60
Fig. 3.37 化合物 <b>6</b> 之紅外光譜。	60
Fig. 3.38 化合物 <b>6</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 500MHz)。	61
Fig. 3.39 化合物 <b>6</b> 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 125MHz)。	61
Fig. 3.40 化合物 <b>7</b> 之高解析電灑游離質譜。	64
Fig. 3.41 化合物 <b>7</b> 之紅外光譜。	64
Fig. 3.42 化合物 <b>7</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 500MHz)。	65
Fig. 3.43 化合物 <b>7</b> 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 125MHz)。	65
Fig. 3.44 化合物 <b>8</b> 之高解析電灑游離質譜。	68
Fig. 3.45 化合物 <b>8</b> 之紅外光譜。	68
Fig. 3.46 化合物 <b>8</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 500MHz)。	69
Fig. 3.47 化合物 <b>8</b> 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 125MHz)。	69
Fig. 3.48 化合物 <b>9</b> 之高解析電灑游離質譜。	71
Fig. 3.49 化合物 <b>9</b> 之紅外光譜。	71
Fig. 3.50 化合物 <b>9</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 400MHz)。	72
Fig. 3.51 化合物 <b>10</b> 之高解析電灑游離質譜。	74
Fig. 3.52 化合物 <b>10</b> 之紅外光譜。	74



Fig. 3.53 化合物 <b>10</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 400MHz)。	75
Fig. 3.54 化合物 <b>11</b> 之高解析電灑游離質譜。	78
Fig. 3.55 化合物 <b>11</b> 之紅外光譜。	78
Fig. 3.56 化合物 <b>11</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 500MHz)。	79
Fig. 3.57 化合物 <b>11</b> 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 125MHz)。	79
Fig. 3.58 化合物 <b>12</b> 之高解析電灑游離質譜。	81
Fig. 3.59 化合物 <b>12</b> 之紅外光譜。	81
Fig. 3.60 化合物 <b>12</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 400MHz)。	82
Fig. 3.61 化合物 <b>13</b> 之高解析電灑游離質譜。	84
Fig. 3.62 化合物 <b>13</b> 之紅外光譜。	84
Fig. 3.63 化合物 <b>13</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 400MHz)。	85
Fig. 3.64 化合物在 20 M 下，抑制 BV-2 細胞一氧化氮的產生。R = Resting, V = Vehicle (+LPS)	97
Fig. 3.65 化合物對於 BV-2 細胞之存活率影響。R = Resting	97
Fig. 4.1 紙錠擴散法 (disk-diffusion method) 實驗流程示意圖。	102

## 表目錄



Table 1 海洋麴黴屬具細胞毒性之成分 .....	8
Table 2 海洋麴黴屬具抑菌之成分 .....	12
Table 3 海洋麴黴屬具自由基清除之成分 .....	15
Table 4 海洋麴黴屬具抗寄生蟲之成分 .....	16
Table 5 化合物 1—4 氫譜數據。 .....	86
Table 6 化合物 5—13 氫譜數據。 .....	87
Table 7 化合物 1—4 碳譜數據 .....	88
Table 8 化合物 5—8, 11 碳譜數據.....	89
Table 9 化合物 1—13 之最低抑菌濃度和最低殺菌濃度 .....	95
Table 10 三株實驗病原菌編號以及培養條件 .....	95

# Chapter 1 前言



生物圈大約有一半的物種都是由海洋來的，其獨特的環境與廣闊的面積造成了生物的多樣性以及特別的化學性，而在此其中至少含有 30 萬已知的物種，並且有更多的未知以待研究<sup>[1]</sup>；而海洋中藻類、海鞘、細菌、珊瑚、真菌與海綿等都可以作為天然物研究的材料來源，其應用性可以延伸至農業化學、化妝品、酵素、營養補充品和新藥的研發<sup>[2]</sup>。其中真菌有一些共同的特徵，第一真菌為真核性生物，相對動植物細胞而言，其細胞核相對小。相對的，其核甘酸含量低，只有約人類的百分之一。第二真菌為異營生活，又分為腐生、寄生或共生，其攝食行為為放出消化酵素至環境中，將食物分解成較小的水溶性分子，以利進入細胞內消化。第三真菌細胞的最外層不同於動植物細胞為基丁質組成的細胞壁。第四大部分真菌由菌絲形成菌絲體進而構成其體型，並且可以由菌絲產生孢子來完成有性或無性生殖。由以上四點可以得知真菌可以腐生、寄生或共生進行異營生活，相對可知，真菌的這種生活方式在生物圈中扮演不可或缺的角色<sup>[3]</sup>。

在 1928 年人類首度由微生物發展出抗生素盤尼西林 (penicillin)，之後近五十年陸陸續續由微生物中開發了多種新的抗生素、抗真菌劑、免疫抑制劑、心血管藥物以及許多種的抗癌藥物，由此可知真菌在醫療方面也佔有舉足輕重的地位<sup>[4][5]</sup>。

真菌的二次代謝產物應用的範圍非常廣泛，但由於陸地微生物被充分的開發，所以陸地微生物的活性天然物漸漸減少，進而使得海洋微生物資源更受重視。海洋中的微生物經由長久以來的演化，有些已適應高壓、低溫與厭氧的深海海底或極端 pH 環境，有著與陸地完全不同的物理和化學環境，若選擇與陸源微生物不同的生物代謝路徑，較有機會產生新穎的化合物結構<sup>[6]</sup>。

海洋真菌由於其基因體複雜和化學多樣性高，因此成為海洋微生物新穎天然物的主要來源之一，在 2010 到 2013 年期間海洋微生物新天然產物的統計顯示，研究最多的真菌在分類上多為麴黴屬 (*Aspergillus*)，佔海洋真菌新天然產物的 31%<sup>[7]</sup>，截至 2014 年 8 月，已經有 512 個海洋麴黴屬來源的新天然物被報導，其結構多樣 (包括：聚酮、生物鹼、萜類、固醇類、鹵化物、脂肪酸、肽類、糖等)，且有多種生物活性 (包括：抗癌、抑菌、清除自由基和抗寄生蟲等)。

本實驗室於台灣東北角八斗子海岸採集數種藻類，並藉由清洗藻體表面分離出數種藻源的真菌，培養 14 日後用甲醇萃取取得藻源真菌粗萃液，並藉由紙錠擴散法 (disk-diffusion method)，確認各個藻源真菌粗萃液的抗菌活性，如 Fig. 1.1，其中 A 為本次實驗 *Aspergillus unguis* NTU142，而 B 則是 NTU139，由 Fig. 1.1 可看出 A 的抑菌圈明顯清楚於 B，雖然 B 的抑菌圈比 A 大，推測原因為在將樣品滴在紙錠上時並未等其風乾完全，樣品可能由於水溶的特性而擴散至瓊脂中，導致在活性測試上的抑菌圈相對於 A 較大但是不清楚。在初篩部分會將活性較好的菌株再予以不同培養基培養，確認何種培養基可將抑菌活性最佳化。菌株在本初篩部分，實驗室採樣三次，採到數十種藻類，並分離出餘千株藻源真菌。

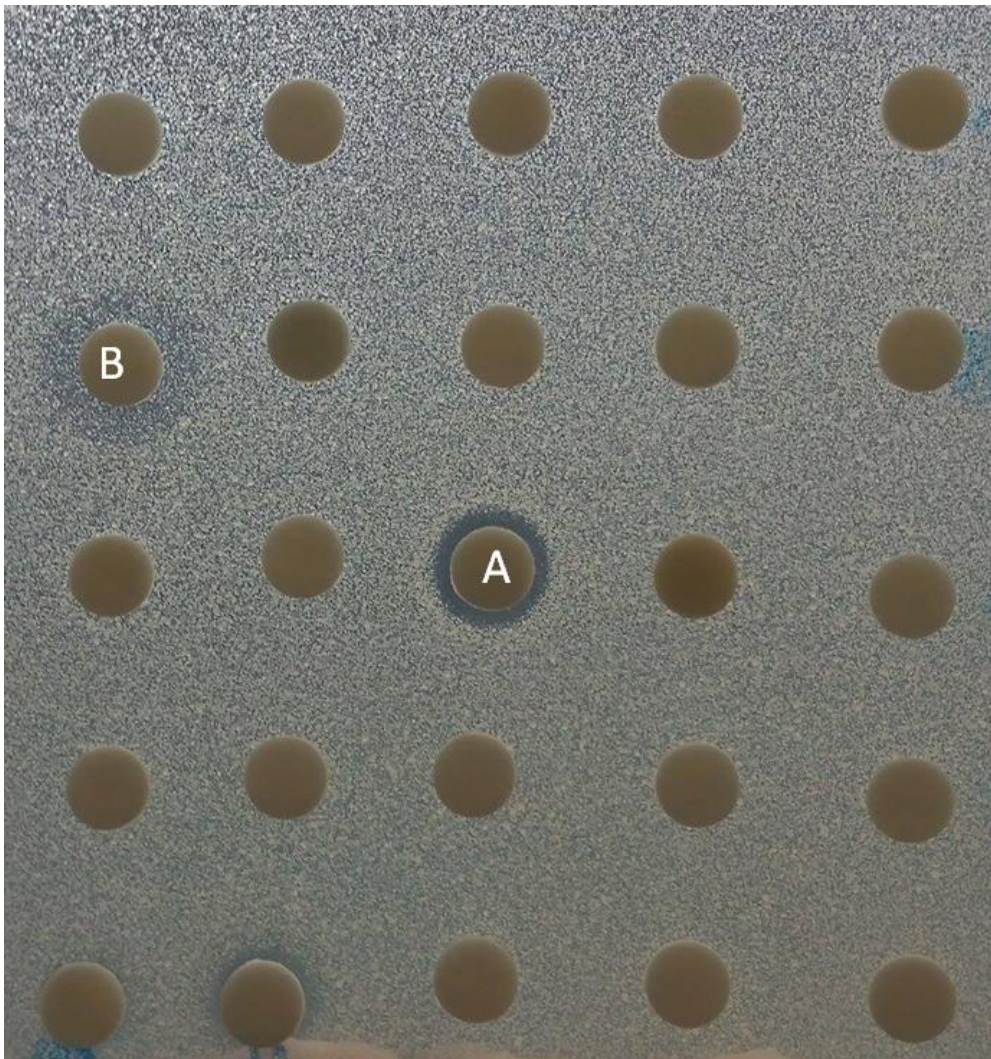


Fig. 1.1 數種藻源真菌對於白色念珠菌 (*Candida albicans*) 的抗菌活性初篩。A: NTU142, B: NTU139

本實驗使用長枝沙菜 (*Hypnea Charoides*) 中所分離出的衍生真菌株 *Aspergillus unguis* NTU142 作為實驗目標，經過不同培養液 (PDY medium, MEA medium, YES medium, MY medium, 1/2 PDA medium, 1/2 PDY medium) 醱酵後，並取的粗萃物，再用紙錠擴散法 (disk-diffusion method) 測試一次抗菌活性，而在這次的抗菌活性中採用抗金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和白色念珠菌 (*Candida albicans*) 活性平台之篩選，如 Fig. 1.2，得知 MY (Malt extract, Yeast extract) 液態醱酵液之乙酸乙酯萃取物在 1 mg/mL 的濃度下，對金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 有相當顯著的抑制效果。而且近年來此屬真菌依然陸續有新穎天然物的發現，因此選定本株菌作為研究主題，從中分離和純化次級代謝產物，並將針對其抑菌之潛力進行評估。

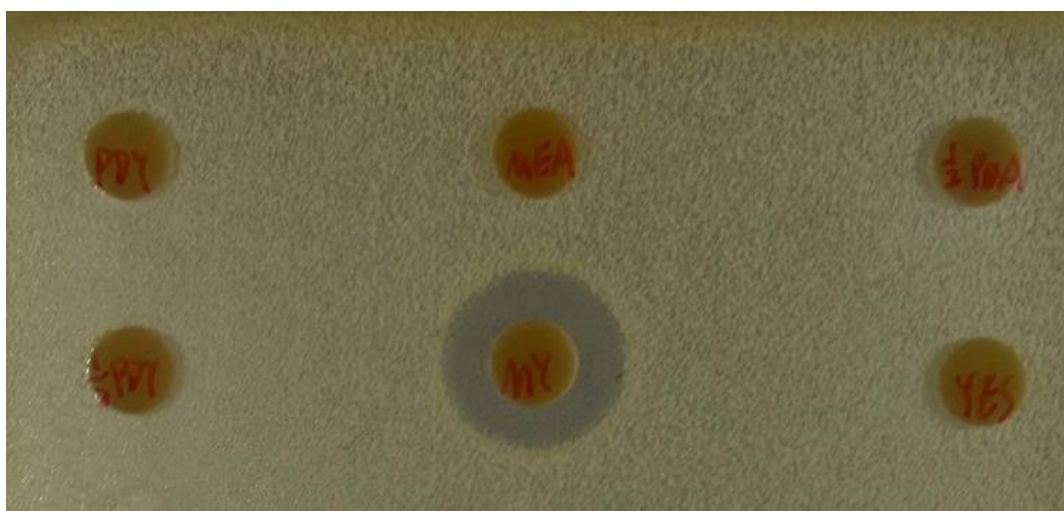
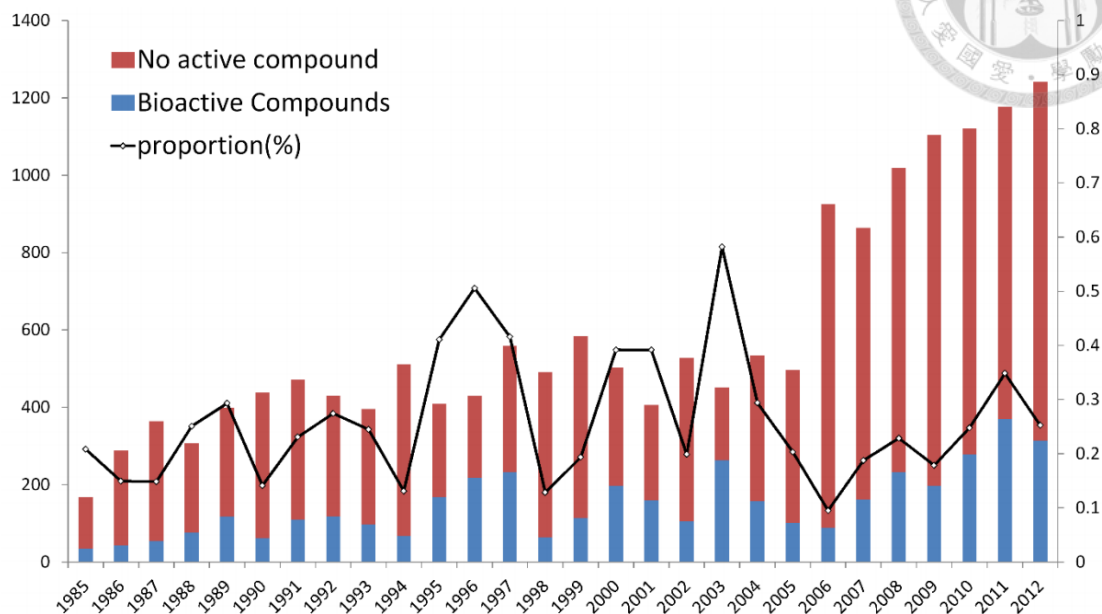
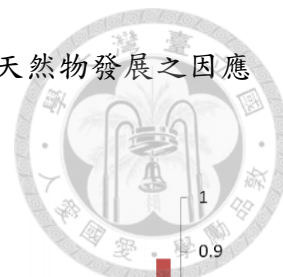


Fig. 1.2 *Aspergillus unguis* NTU142 由不同培養基醱酵粗萃物的抗菌活性。(PDY medium, MEA medium, YES medium, MY medium, 1/2 PDA medium, 1/2 PDY medium)

至今逾約 30 年，海洋天然物在醫藥發展正蓬勃發展，目前統計已發現約 15000 種以上的二次代謝產物，其中有 4196 種 (25.25%) 具有活性<sup>[107]</sup> (Fig. 1.3)，極遽潛力作為藥物研發標的，在數據上 25.25% 具有活性並不代表其餘 74.75% 的天然物不具活性，而是其中活性多半在探討癌症 (anti-cancer)，其餘則相對少數，包括：抗發炎 (anti-inflammation)、抗菌 (anti-bacteria/ fungi)、抗病蟲害 (pest resistance) 及抗病毒 (anti-virus) 等<sup>[107]</sup> (Fig. 1.4)，綜觀海洋天然物發展，若侷限於單一活性勢

必會阻礙其發展，應廣泛性的增加其他活性平台，為開闊海洋天然物發展之因應之道。



**Figure 1.** Variation in number of new marine natural products for 1985–2012.

Fig. 1.3 1985—2012 年海洋天然物之活性與非活性天然物數量統計。<sup>[107]</sup>

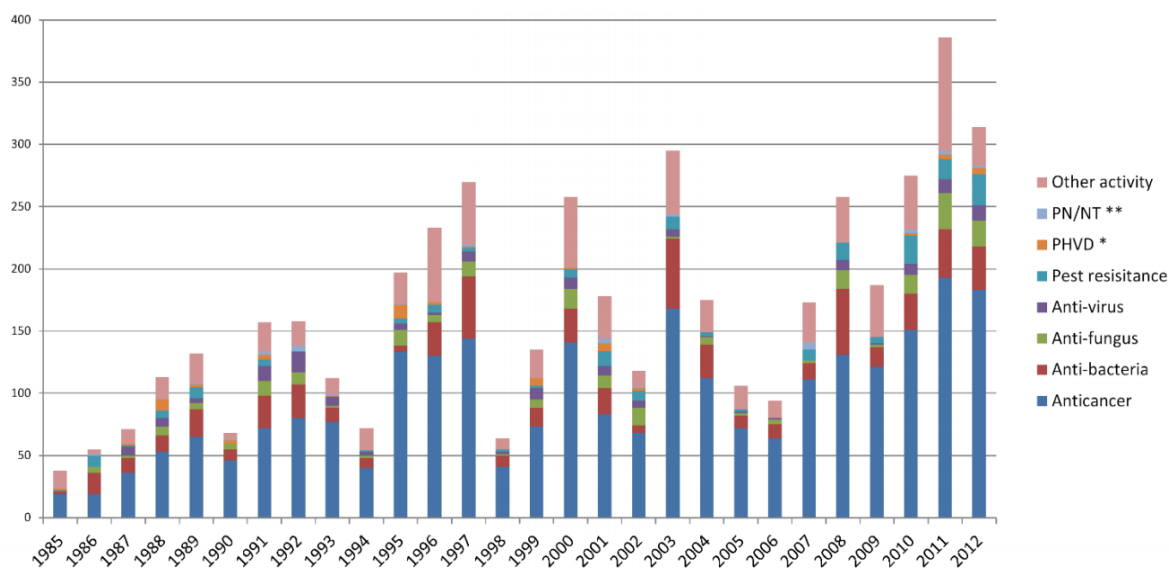


Fig. 1.4 1985—2012 年海洋天然物之個別活性數量統計。<sup>[107]</sup>

從海洋麴黴屬的樣品來源來看，產生新化合物最多的麴黴菌來源或棲息地依次是海底泥 (29%)、海綿 (20%)、其他動物 (15%) 和海藻 (15%)，如 Fig. 1.5。從化合物類型來看化合物最多的類型依次是含氮 (52%)、聚酮 (30%) 和萜類

(19%)<sup>[108]</sup>，如 Fig. 1.5。

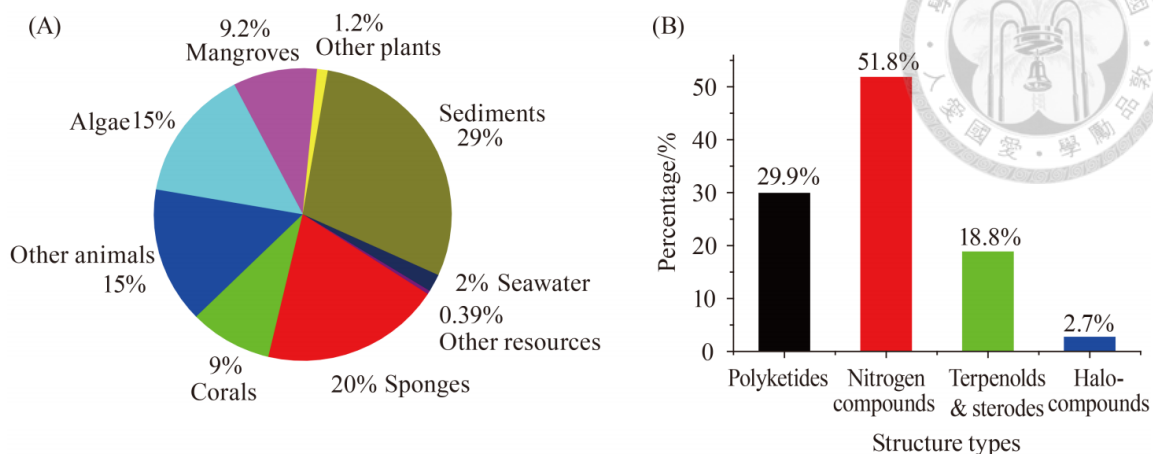


Fig. 1.5 (A) 海洋麴黴天然物來源 (B) 海洋麴黴結構分類。<sup>[107]</sup>

再進一步分析其來源，聚酮類化合物產生菌的主要棲息地是海底泥和海綿，分別為 26% 和 22%，萜類化合物產生菌的主要棲息地是海棉和海藻，分別為 38% 和 25%，含氮化合物產生菌的主要棲息地是海泥，為 35%<sup>[108]</sup>，如 Fig. 1.6。

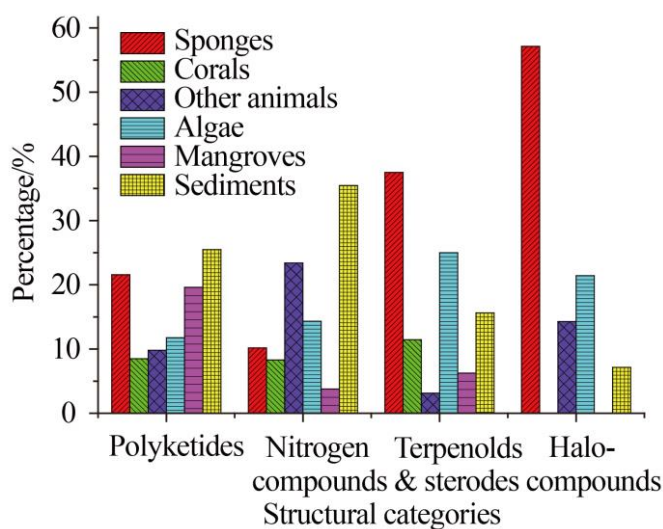


Fig. 1.6 主要結構類型化合物產生麴黴菌的棲息地。<sup>[107]</sup>

約 36% 的海洋麴黴天然物表現出細胞毒、抗菌、自由基清除和抗寄生蟲等多種生物活性，如 Fig. 1.7，而腫瘤細胞毒和抗菌是其主要的活性，分別占活性化合物總數的 51% 和 28%。含氮物、聚酮和萜類是活性化合物的三大類型，分別占活性化合物總數的 57%、29% 和 20%<sup>[108]</sup>，如 Fig. 1.7。

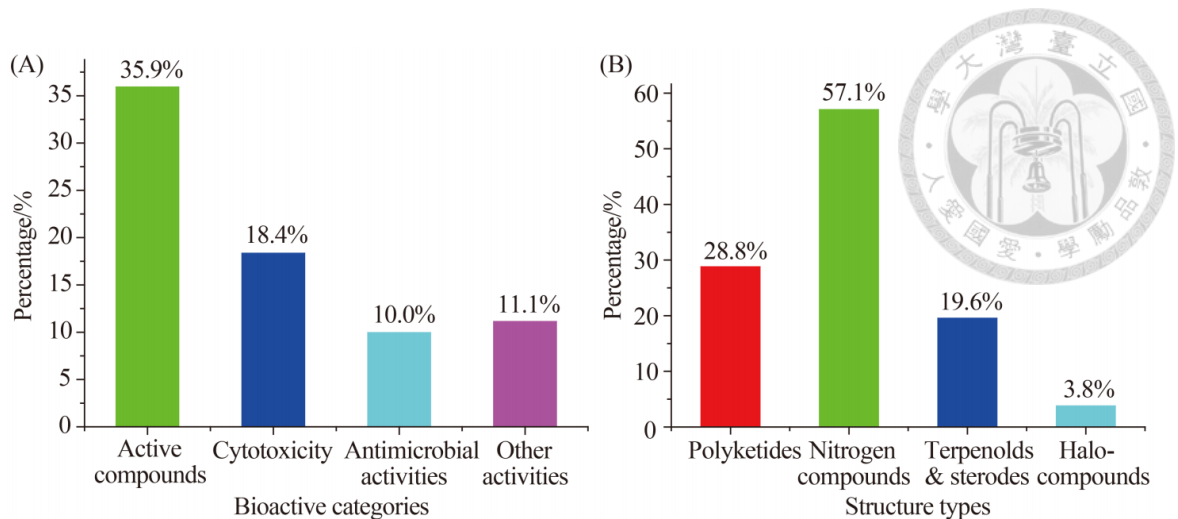


Fig. 1.7 (A) 海洋麴黴天然物的活性分類 (B) 海洋麴黴天然物中各結構類型比例。<sup>[107]</sup>

鹵代物、含氮物、萜類、聚酮和肽類出現活性化合物的比例分別為各類化合物總數的 50%、40%、41%、38% 和 35%，如 Fig. 1.8。而海底泥和海綿來源的麴黴菌最容易產生腫瘤細胞毒活性的化合物，其比例分別為 21% 和 19%<sup>[108]</sup>，如 Fig. 1.8。

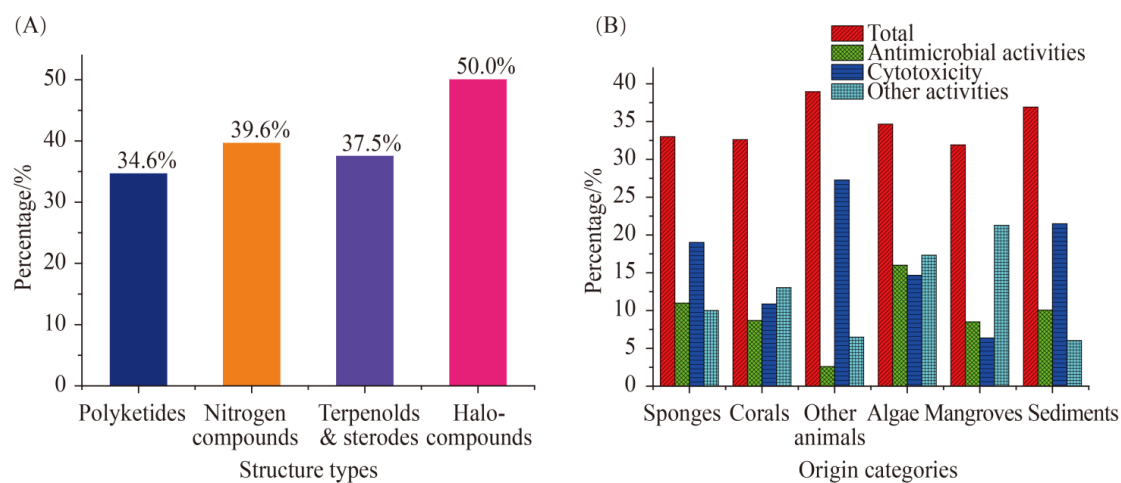


Fig. 1.8 (A) 不同結構類型化合物的活性比率 (B) 不同來源化合物的活性比例。<sup>[107]</sup>

綜合以上所整理，海洋麴黴屬可以產生結構新穎，活性多樣的天然產物，具有極大的開發潛能，但是到目前為止只有一個海洋麴黴的藥物<sup>[108]</sup>，如何能最大限度利用海洋麴黴這珍貴的微生物資源來開發藥物，是值得所有研究者思考和解決的問題，以上也正是本篇研究的動機。

## Chapter 2 文獻回顧



### 2.1 分類地位與介紹

*Aspergillus unguis* NTU142 在分類上屬於真菌界 (Fungi)，子囊菌門 (Ascomycota)、散囊菌綱 (Eurotiomycetes)，散囊菌目 (Eurotiales)，發菌科 (Trichocomaceae)，麴黴屬 (*Aspergillus*)，爪甲麴黴 (*unguis*)

麴黴屬是屬於散囊菌目發菌科的腐生菌，在自然界廣泛分布。最初由義大利植物學家米切里 (Pier Antonio Micheli) 於 1729 年描述。

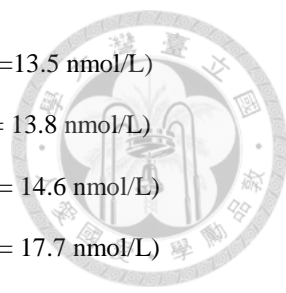
### 2.2 *Aspergillus* 屬真菌成份之文獻回顧

從 1992 年第一個由海洋麴黴屬 (*Aspergillus*) 來源的天然物到 2014 年 8 月已報導共 512 個。而當中具有生物活性，例如：細胞毒性、抑菌、自由基清除和抗寄生蟲，則有 144 個，依其生物活型分成以上 4 個類別，分別整理於 Table 1、Table 2、Table 3 和 Table 4 如下：

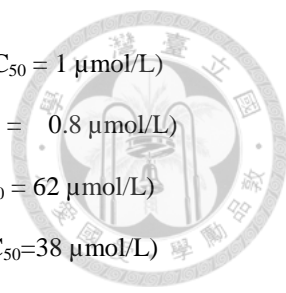


Table 1 海洋麴黴屬具細胞毒性之成分

Samples	Fungal strains	Bioactivity
Asperazine ( <b>14</b> ) <sup>[8]</sup>	<i>A. nigere</i>	weak L1210, C38, H116, CX1
Aspergillide A ( <b>15</b> ) <sup>[9]</sup>	<i>A. ostianus</i> TUF 01F313	L1210 (LD <sub>50</sub> = 2.1µg/mL)
Aspergillide B ( <b>16</b> ) <sup>[9]</sup>	<i>A. ostianus</i> TUF 01F313	L1210 (LD <sub>50</sub> = 71.0µg/mL)
Aspergillide C ( <b>17</b> ) <sup>[9]</sup>	<i>A. ostianus</i> TUF 01F313	L1210 (LD <sub>50</sub> = 2.0µg/mL)
Tropolactones A ( <b>18</b> ) <sup>[10]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp. CNK-371	HCT-116 (IC <sub>50</sub> = 13.2 µg/mL)
Tropolactones C ( <b>19</b> ) <sup>[10]</sup>	<i>A. sp.</i> CNK-371	HCT-116 (IC <sub>50</sub> = 10.9µg/mL)
Tropolactones A ( <b>20</b> ) <sup>[10]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp. CNK-371	HCT-116 (IC <sub>50</sub> 13.9 µg/mL)
Fellutamide C ( <b>21</b> ) <sup>[11]</sup>	<i>A. versicolor</i>	SK-MEL-2 (IC <sub>50</sub> = 5.1 µmol/L) XF498 (IC <sub>50</sub> = 3.9µmol/L) HCT15 (IC <sub>50</sub> = 3.1 µmol/L)
Fellutamide F ( <b>22</b> ) <sup>[12]</sup>	<i>A. versicolor</i> PF10M	HCT15 (IC <sub>50</sub> = 1.8 µmol/L)
3,3-Bicoumarin bicoumanigrin ( <b>23</b> ) <sup>[13]</sup>	<i>A. niger</i>	HCT15( IC <sub>50</sub> = 20 µg/mL)
Aspernigrins A ( <b>24</b> ) <sup>[13]</sup>	<i>A. niger</i>	HCT15 (IC <sub>50</sub> = 50 µg/mL)
Aspernigrins B ( <b>25</b> ) <sup>[13]</sup>	<i>A. niger</i>	HCT15( IC <sub>50</sub> = 50 µg/mL)
Aspergilonones A ( <b>26</b> ) <sup>[14]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp	HL-60 (IC <sub>50</sub> = 3.2 µg/mL) MCF-7 (IC <sub>50</sub> = 25.0 µg/mL) A549 (IC <sub>50</sub> = 27.0 µg/mL)
Ophiobolin O ( <b>27</b> ) <sup>[15]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp.	P388 (IC <sub>50</sub> = 4.7µmol/L)
6-Epi-ophiobolin O ( <b>28</b> ) <sup>[16]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp.	P388 (IC <sub>50</sub> = 9.3 µmol/L)
Asperterrestide A ( <b>29</b> ) <sup>[17]</sup>	<i>A. terreus</i> SCSGAF0162	U937 (IC <sub>50</sub> = 6.4 µmol/L) MOLT-4 (IC <sub>50</sub> = 6.2 µmol/L)
Flacicerebrosides A ( <b>30</b> ) <sup>[18]</sup>	<i>A. flavipes</i>	KB (IC <sub>50</sub> = 20.7 µg/mL)
Flacicerebrosides B ( <b>31</b> ) <sup>[18]</sup>	<i>A. flavipes</i>	KB (IC <sub>50</sub> = 14.3 µg/mL)
Fumiquinazolines A ( <b>32</b> ) <sup>[19] [20]</sup>	<i>A. fumigatus</i> OUPS-T106B-5	P388( ED <sub>50</sub> = 6.1nmol/L)
Fumiquinazolines B ( <b>33</b> ) <sup>[19] [20]</sup>	<i>A. fumigatus</i> OUPS-T106B-5	P388 (ED <sub>50</sub> = 16.0 nmol/L)
Fumiquinazolines C ( <b>34</b> ) <sup>[19] [20]</sup>	<i>A. fumigatus</i> OUPS-T106B-5	Weak P388



Fumiquinazolines D ( <b>35</b> ) <sup>[19] [20]</sup>	<i>A. fumigatus</i> OUPS-T106B-5	P388( ED <sub>50</sub> = 13.5 nmol/L)
Fumiquinazolines E ( <b>36</b> ) <sup>[19] [20]</sup>	<i>A. fumigatus</i> OUPS-T106B-5	P388 (IC <sub>50</sub> = 13.8 nmol/L)
Fumiquinazolines F ( <b>37</b> ) <sup>[19] [20]</sup>	<i>A. fumigatus</i> OUPS-T106B-5	P388 (ED <sub>50</sub> = 14.6 nmol/L)
Fumiquinazolines G ( <b>38</b> ) <sup>[19] [20]</sup>	<i>A. fumigatus</i> OUPS-T106B-5	P388 (ED <sub>50</sub> = 17.7 nmol/L)
Cephalimysin A ( <b>39</b> ) <sup>[19] [20]</sup>	<i>A. fumigatus</i> OUPS-T106B-5	P388 (IC <sub>50</sub> = 15.0 nmol/L) HL-60 (IC <sub>50</sub> = 9.5 nmol/L)
Cephalimysin C ( <b>40</b> ) <sup>[21]</sup>	<i>A. fumigatus</i> OUPS-T106B-5	HL-60 (IC <sub>50</sub> = 58.4 μmol/L)
Cephalimysin D ( <b>41</b> ) <sup>[21]</sup>	<i>A. fumigatus</i> OUPS-T106B-5	HL-60 (IC <sub>50</sub> = 48.7 μmol/L)
Notoamides C ( <b>42</b> ) <sup>[22]</sup>	<i>A. sp.</i> MF297-2	L1210 (IC <sub>50</sub> = 22 μg/mL)
Notoamides I ( <b>43</b> ) <sup>[22]</sup>	<i>Aspergillus sp.</i> MF297-2	Hela (IC <sub>50</sub> = 21 μg/mL)
Anthcolorins B ( <b>44</b> ) <sup>[23]</sup>	<i>A. versicolor</i> OUPS-N136	P388 (IC <sub>50</sub> = 2.2 μmol/L)
Anthcolorins C ( <b>45</b> ) <sup>[23]</sup>	<i>A. versicolor</i> OUPS-N136	P388 (IC <sub>50</sub> = 8.5 μmol/L)
Anthcolorins D ( <b>46</b> ) <sup>[23]</sup>	<i>A. versicolor</i> OUPS-N136	P388 (IC <sub>50</sub> = 2.2 μmol/L)
Clavustides A ( <b>47</b> ) <sup>[24]</sup>	<i>A. clavatus</i> C2WU	weak BEL-7402
Clavustides B ( <b>48</b> ) <sup>[24]</sup>	<i>A. clavatus</i> C2WU	weak BEL-7402
Spirotryprostatins E ( <b>49</b> ) <sup>[25]</sup>	<i>A. fumigatus</i>	MOLT-4 (IC <sub>50</sub> = 3.1 μmol/L) HL-60 (IC <sub>50</sub> = 2.3 μmol/L) A549 (IC <sub>50</sub> = 3.1 μmol/L)
Fumitremorgin B ( <b>50</b> ) <sup>[25]</sup>	<i>A. fumigatus</i>	HL-60 (IC <sub>50</sub> = 3.4 μmol/L) BEL-7402 (IC <sub>50</sub> = 7.0 μmol/L)
13-Oxoverruculogen ( <b>51</b> ) <sup>[25]</sup>	<i>A. fumigatus</i>	HL-60 (IC <sub>50</sub> = 1.9 μmol/L)
Aspermytin A ( <b>52</b> ) <sup>[26]</sup>	<i>Aspergillus sp.</i> MF297	PC-12 I (C <sub>50</sub> = 50 μmol/L)
Iso-α-CPA ( <b>53</b> ) <sup>[27] [28]</sup>	<i>A. flavus</i>	A549 (IC <sub>50</sub> = 42.2 μmol/L)
Sperolides A ( <b>54</b> ) <sup>[29] [30]</sup>	<i>A. wentii</i> EN-48	weak A549
Sperolides B ( <b>55</b> ) <sup>[29] [30]</sup>	<i>A. wentii</i> EN-48	weak A549
Sperolides C ( <b>56</b> ) <sup>[29] [30]</sup>	<i>A. wentii</i> EN-48	weak A549
Wentiquinone C ( <b>57</b> ) <sup>[29] [30]</sup>	<i>A. wentii</i> EN-48	weak A549
Psychrophilin E ( <b>58</b> ) <sup>[31]</sup>	<i>Aspergillus sp.</i>	HCT-116 (IC <sub>50</sub> = 28.5 μmol/L)
Pseudodeflectusin ( <b>59</b> ) <sup>[32]</sup>	<i>A. pseudodeflectus</i>	HL-60 (IC <sub>50</sub> = 39 μmol/L)



Halimide ( <b>60</b> ) <sup>[33]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp. CNC139	HCT-116 (IC <sub>50</sub> = 1 μmol/L) A2780 (IC <sub>50</sub> = 0.8 μmol/L)
Nigerapyrones B ( <b>61</b> ) <sup>[34]</sup>	<i>A. niger</i>	HepG2 (IC <sub>50</sub> = 62 μmol/L)
Nigerapyrones E ( <b>62</b> ) <sup>[34]</sup>	<i>A. niger</i>	SW1990 (IC <sub>50</sub> =38 μmol/L) DMA-MB-231 (IC <sub>50</sub> = 48 μmol/L) A549 (IC <sub>50</sub> = 43 μmol/L)
2,3-Dimethoxyosoate ( <b>63</b> ) <sup>[35]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp.	K562 (IC <sub>50</sub> = 76.5 μmol/L)
Terprenin ( <b>64</b> ) <sup>[36]</sup>	<i>A. candidus</i> RF-5672	IL22 (IC <sub>50</sub> = 4.5ng/mL)
3-Methoxyterprenin ( <b>65</b> ) <sup>[36]</sup>	<i>A. candidus</i> RF-5672	IL22 (IC <sub>50</sub> = 8.0 ng/mL)
4"-Deoxyterpren ( <b>66</b> ) <sup>[36]</sup>	<i>A. candidus</i> RF-5672	IL22 (IC <sub>50</sub> = 15.6 ng/mL)
Carbonarones A ( <b>67</b> ) <sup>[37]</sup>	<i>A. carbonarius</i> WZ-4-11	K562 (IC <sub>50</sub> = 56.0 μg/mL)
Carbonarones B ( <b>68</b> ) <sup>[37]</sup>	<i>A. carbonarius</i> WZ-4-11	K562 (IC <sub>50</sub> = 27.8 μg/mL)
Azapirofurans A ( <b>69</b> ) <sup>[38]</sup>	<i>A. sydowi</i> D2-6	A549 (IC <sub>50</sub> = 10 μmol/L)
Versicotides A ( <b>70</b> ) <sup>[39] [40]</sup>	<i>A. versicolor</i> ZLN-60	weak A549
Versicotides B ( <b>71</b> ) <sup>[39] [40]</sup>	<i>A. versicolor</i> ZLN-60	weak A549
Diorcinols B ( <b>72</b> ) <sup>[39] [40]</sup>	<i>A. versicolor</i> ZLN-60	weak A549
Diorcinols C ( <b>73</b> ) <sup>[39] [40]</sup>	<i>A. versicolor</i> ZLN-60	weak A549
Diorcinols D ( <b>74</b> ) <sup>[39] [40]</sup>	<i>A. versicolor</i> ZLN-60	Hela (IC <sub>50</sub> = 31.5 μmol/L) K562 (IC <sub>50</sub> = 48.9 μmol/L)
Diorcinols E ( <b>75</b> ) <sup>[39] [40]</sup>	<i>A. versicolor</i> ZLN-60	Hela (IC <sub>50</sub> = 36.5 μmol/L)
Prenylterphenyllins A ( <b>76</b> ) <sup>[41]</sup>	<i>A. taichungensis</i> ZHN-7-07	HL-60 (IC <sub>50</sub> = 1.5 μmol/L) A549 (IC <sub>50</sub> = 8.3 μmol/L)
4"-Dehydro-3-hydroxyterphenyllin ( <b>77</b> ) <sup>[41]</sup>	<i>A. taichungensis</i> ZHN-7-07	P388 (IC <sub>50</sub> = 2.7 μmol/L)
Prenylcandidusins B ( <b>78</b> ) <sup>[41]</sup>	<i>A. taichungensis</i> ZHN-7-07	P388( IC <sub>50</sub> = 1.6 μmol/L)
Prenylcyclotryprostatin B ( <b>79</b> ) <sup>[42]</sup>	<i>A. fumigates</i>	U937 (IC <sub>50</sub> = 25.3 μmol/L)
9-Hydroxyfunitremorgin C ( <b>80</b> ) <sup>[42]</sup>	<i>A. fumigates</i>	U937 (IC <sub>50</sub> = 18.2 μmol/L)
Decumbenone C ( <b>81</b> ) <sup>[43]</sup>	<i>A. sulphureus</i> KMM 4640	SK-MEL-5 (IC <sub>50</sub> = 0.9 μmol/L)
Ustusolates C ( <b>82</b> ) <sup>[44]</sup>	<i>A. ustus</i> 094102	A549 (IC <sub>50</sub> = 10.5 μmol/L)
Ustusolates E ( <b>83</b> ) <sup>[44]</sup>	<i>A. ustus</i> 094102	HL-60 (IC <sub>50</sub> = 9.00 μmol/L)

Ustusoranes E (84) <sup>[44]</sup>	<i>A. ustus</i> 094102	HL-60 (IC <sub>50</sub> = 0.13 μmol/L)
5-Chlorosclerotiamide (85) <sup>[45]</sup>	<i>A. westerdijkiae</i> DFFSCS013	K562 (IC <sub>50</sub> = 44 μmol/L)
10-Epi-sclerotiamide (86) <sup>[45]</sup>	<i>A. westerdijkiae</i> DFFSCS013	K562 (IC <sub>50</sub> = 53 μmol/L)
Aculeatusquinones B (87) <sup>[46]</sup>	<i>A. aculeatus</i>	HL-60 (IC <sub>50</sub> = 5.4 μmol/L) K562 (IC <sub>50</sub> = 76.1 μmol/L)
Aculeatusquinones D (88) <sup>[46]</sup>	<i>A. aculeatus</i>	HL-60 (IC <sub>50</sub> = 5.6 μmol/L) K562 (IC <sub>50</sub> = 75.3 μmol/L)
Versicamides H (89) <sup>[47]</sup>	<i>A. versicolor</i> HDN08-60	Hela (IC <sub>50</sub> = 19.4 μmol/L) HCT-116 (IC <sub>50</sub> = 17.7 μmol/L) HL-60 (IC <sub>50</sub> = 8.7 μmol/L) K562 (IC <sub>50</sub> = 22.4 μmol/L)
Speradines B (90) <sup>[48]</sup>	<i>A. oryzae</i>	Hela (IC <sub>50</sub> = 0.20 mmol/L)
Speradines H (91) <sup>[48]</sup>	<i>A. oryzae</i>	Hela (IC <sub>50</sub> = 0.20 mmol/L)
Aspergiolide A (92) <sup>[49]</sup>	<i>A. glaucus</i> HB1-19	Weak A549, HL-60, BEL-7402
Indole-3-ethenamide (93) <sup>[50]</sup>	<i>A. sclerotiorum</i> PT06-1	A549 (IC <sub>50</sub> = 3.0 μmol/L) HL-60 (IC <sub>50</sub> = 27.0 μmol/L)
Tryprostatins A (94) <sup>[51]</sup>	<i>A. fumigates</i> BM939	tsFT-210 (IC <sub>50</sub> = 50 μg/mL)
Tryprostatins B (95) <sup>[51]</sup>	<i>A. fumigates</i> BM939	tsFT-210 (IC <sub>50</sub> = 12.5 μg/mL)

L1210 : 小鼠白血病細胞; C38 : 人類白血病細胞; H116 : 人類結腸癌細胞; CX1 : 人類結腸癌細胞; HCT-116 : 人類直腸腺癌細胞; SK-MEL-2 : 人類皮膚黑色素瘤細胞; XF498 : 中樞神經細胞癌; HCT15 : 人類直腸腺癌細胞; HL-60 : 人類白血病細胞; MCF-7 : 人類乳癌細胞; A549 : 人類肺腺癌細胞; P388 : 小鼠白血病細胞; U937 : 人類組織淋巴瘤細胞; MOLT-4 : 人類急性淋巴母細胞白血病細胞; KB : 人類口腔癌細胞; Hela : 人類子宮頸癌細胞; BEL-7402 : 人類肝癌細胞; PC-12 : 大鼠腎上腺髓質細胞瘤; A2780 : 人類卵巢癌細胞; HepG2 : 人類肝癌細胞; SW1990 : 人類胰腺癌細胞; DMA-MB-231 : 人類乳癌細胞; K562 : 人類白血病細胞; IL22 : 小鼠脾淋巴細胞; SK-MEL-5 : 人類黑色素瘤細胞; tsFT-210 : 小鼠乳腺癌細胞

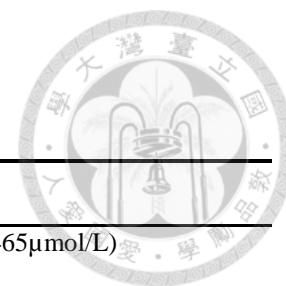
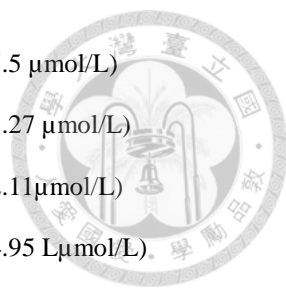
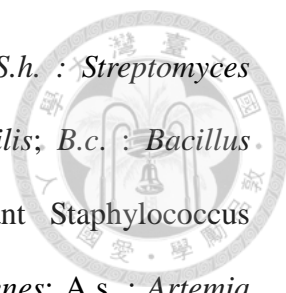


Table 2 海洋麴黴屬具抑菌之成分

Samples	Fungal strains	Bioactivity
Aspergillusol A ( <b>96</b> ) <sup>[52]</sup>	<i>A. aculeatus</i> CRI323-04	<i>C.a.</i> (IC <sub>50</sub> = 465 μmol/L) <i>G.s.</i> (IC <sub>50</sub> = 1060 μmol/L)
Insuetolides A ( <b>97</b> ) <sup>[53]</sup>	<i>A. insuetus</i> OY-207	<i>S.h.</i> (MIC = 140 μmol/L)
Aspergiterpenoid A ( <b>98</b> ) <sup>[54] [55]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>S.a.</i> , <i>B.s.</i> (MIC = 1.25–20.0 μmol/L)
(–)-Sydonol ( <b>99</b> ) <sup>[54] [55]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>S.a.</i> , <i>B.s.</i> , <i>B.c.</i> (MIC = 1.25–20.0 μmol/L)
(–)-Sydonic acid ( <b>100</b> ) <sup>[54] [55]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>S.a.</i> , <i>B.s.</i> , <i>B.c.</i> (MIC = 1.25–20.0 μmol/L)
Australide R ( <b>101</b> ) <sup>[56]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp.	weak <i>V.h.</i> , <i>V.p.</i> , <i>V.c.</i> , <i>S.p.</i> , <i>R.l.</i> , <i>P.e.</i> , <i>P.i.</i> , <i>H.a.</i>
4'-OMe-asperphenamate ( <b>102</b> ) <sup>[57]</sup>	<i>A. elegans</i> ZJ-2008010	<i>S.e.</i> (MIC = 10 μmol/L)
Mactanamide ( <b>103</b> ) <sup>[58]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp.	weak <i>C.a.</i>
Chlorofusarielin B ( <b>104</b> ) <sup>[59]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp. MFB024	<i>S.a.</i> (MIC = 62.5 μg/mL)
Nigerasperones C ( <b>105</b> ) <sup>[60]</sup>	<i>A. niger</i> EN-13	<i>C.a.</i> (inhibition zone : 9 mm)
Asporyzin C ( <b>106</b> ) <sup>[61]</sup>	<i>A. oryzae</i> cf-2	<i>E.c.</i> (inhibition zone : 9 mm)
Flavusides A ( <b>107</b> ) <sup>[62]</sup>	<i>A. flavus</i>	<i>S.a.</i> (MIC = 15.6 μg/mL)
Flavusides B ( <b>108</b> ) <sup>[62]</sup>	<i>A. flavus</i>	MRSA (MIC = 31.2 μg/mL)
Ophiobolin U ( <b>109</b> ) <sup>[63]</sup>	<i>A. ustus</i> cf42	<i>E.c.</i> (inhibition zone : 15 mm) <i>S.a.</i> (inhibition zone : 10 mm)
Albican-11,14-diol ( <b>110</b> ) <sup>[64]</sup>	<i>A. versicolor</i> dl29	<i>E.c.</i> (inhibition zone : 7 mm) <i>S.a.</i> (inhibition zone : 10 mm)
Cristatumin E ( <b>111</b> ) <sup>[65]</sup>	<i>E. herbariorum</i> HT-2	<i>E.a.</i> (MIC = 44.0 μmol/L) <i>E.c.</i> (MIC = 44.0 μmol/L)
Aflatoxin B ( <b>112</b> ) <sup>[66]</sup>	<i>A. flavus</i> 092008	<i>E.a.</i> (MIC = 1.1 μmol/L) <i>E.c.</i> (MIC = 22.5 μmol/L) <i>B.s.</i> (MIC = 1.7 μmol/L)
Aniduquinolones B ( <b>113</b> ) <sup>[67] [68]</sup>	<i>A. nidulans</i> MA-143	<i>A.s.</i> (LD <sub>50</sub> = 7.1 μmol/L)
Aniduquinolones C ( <b>114</b> ) <sup>[67] [68]</sup>	<i>A. nidulans</i> MA-143	<i>A.s.</i> (LD <sub>50</sub> = 4.5 μmol/L)



Aflaquinolone A ( <b>115</b> ) <sup>[67] [68]</sup>	<i>A. nidulans</i> MA-143	<i>A.s.</i> ( LD <sub>50</sub> = 5.5 μmol/L)
Aniquinazolines A ( <b>116</b> ) <sup>[67] [68]</sup>	<i>A. nidulans</i> MA-143	<i>A.s.</i> (LD <sub>50</sub> = 1.27 μmol/L)
Aniquinazolines B ( <b>117</b> ) <sup>[67] [68]</sup>	<i>A. nidulans</i> MA-143	<i>A.s.</i> (LD <sub>50</sub> = 2.11 μmol/L)
Aniquinazolines C ( <b>118</b> ) <sup>[67] [68]</sup>	<i>A. nidulans</i> MA-143	<i>A.s.</i> (LD <sub>50</sub> = 4.95 μmol/L)
Aniquinazolines D ( <b>119</b> ) <sup>[67] [68]</sup>	<i>A. nidulans</i> MA-143	<i>A.s.</i> (LD <sub>50</sub> = 3.42 μmol/L)
Flavipesins A ( <b>120</b> ) <sup>[69]</sup>	<i>A. flavipes</i> AIL8	<i>S.a.</i> (MIC = 8.0 μg/mL)
Flavipesins B ( <b>121</b> ) <sup>[69]</sup>	<i>A. flavipes</i> AIL8	<i>B.s</i> (MIC = 0.25 μg/mL)
Speradine A ( <b>122</b> ) <sup>[70]</sup>	<i>A. tamarii</i> M143	<i>M.l.</i> (MIC = 16.7 μg/mL)
6-Methoxyspirotryprostatin B ( <b>123</b> ) <sup>[71]</sup>	<i>A. sydowi</i> PFW1-13	weak <i>E.c.</i> , <i>B.s</i>
18-Oxotryprostatin A ( <b>124</b> ) <sup>[71]</sup>	<i>A. sydowi</i> PFW1-13	weak <i>E.c.</i> , <i>B.s</i>
14-Hydroxyterezine D ( <b>125</b> ) <sup>[71]</sup>	<i>A. sydowi</i> PFW1-13	<i>E.c.</i> (MIC = 3.74 μmol/L) <i>B.s</i> (MIC = 14.97 μmol/L)
14-Norpseurotin A ( <b>126</b> ) <sup>[71]</sup>	<i>A. sydowi</i> PFW1-13	<i>E.c.</i> (MIC = 10.65 μmol/L) <i>B.s</i> (MIC = 5.33 μmol/L)
11-O-methylpseurotin A ( <b>127</b> ) <sup>[72]</sup>	<i>A. fumigates</i> 030402d	<i>C.a.</i> (inhibition zone : 9 mm)
Brevianamides S ( <b>128</b> ) <sup>[73]</sup>	<i>A. versicolor</i> MF030	<i>M.b.</i> (MIC = 6.25 μg/mL)
Sydowiols A ( <b>129</b> ) <sup>[74]</sup>	<i>A. sydowii</i> MF357	<i>M.b.</i> (MIC = 24.0 μg/mL)
Sydowiols C ( <b>130</b> ) <sup>[74]</sup>	<i>A. sydowii</i> MF357	<i>S.a.</i> (MIC = 12.5 μg/mL)
Sclerotides A ( <b>131</b> ) <sup>[75] [76]</sup>	<i>A. sclerotiorum</i> PT06-1	<i>C.a.</i> (MIC = 7.0 μmol/L)
Sclerotides B ( <b>132</b> ) <sup>[75] [76]</sup>	<i>A. sclerotiorum</i> PT06-1	<i>C.a.</i> (MIC = 3.5 μmol/L)
Sclerotiotides A ( <b>133</b> ) <sup>[75] [76]</sup>	<i>A. sclerotiorum</i> PT06-1	<i>C.a.</i> (MIC = 7.5 μmol/L)
Sclerotiotides B ( <b>134</b> ) <sup>[75] [76]</sup>	<i>A. sclerotiorum</i> PT06-1	<i>C.a.</i> (MIC = 3.8 μmol/L)
Sclerotiotides F ( <b>135</b> ) <sup>[75] [76]</sup>	<i>A. sclerotiorum</i> PT06-1	<i>C.a.</i> (MIC = 30.0 μmol/L)
Sclerotiotides ( <b>136</b> ) <sup>[75] [76]</sup>	<i>A. sclerotiorum</i> PT06-1	<i>C.a.</i> (MIC = 6.7 μmol/L)
Terremides A ( <b>137</b> ) <sup>[77]</sup>	<i>A. terreus</i> PT06-2	<i>S.a.</i> (MIC = 63.9 μmol/mL)
Terremides B ( <b>138</b> ) <sup>[77]</sup>	<i>A. terreus</i> PT06-2	<i>E.a.</i> (MIC = 33.5 μmol/L)
5-Oxo-L-prolinate ( <b>139</b> ) <sup>[78]</sup>	<i>A. versicolor</i> ZBY-3	weak <i>S.a.</i>



*C.a.* : *Candida albicans*; *G.s.* : *Geobacillus stearothermophilus*; *S.h.* : *Streptomyces hygrosopicus*; *S.a.* : *Staphylococcus aureus*; *B.s.* : *Bacillus subtilis*; *B.c.* : *Bacillus cereus*; *S.e.* : *Staphylococcus epidermidis*; Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : MRSA; *E.c.* : *Escherichia coli*; *E.a.* : *Enterobacter aerogenes*; *A.s.* : *Artemia salina*; *M.l.* : *Mycrococcus luteus*; *M.b.* : *Mycobacterium bovis*, *V.h.* : *Vibrio harveyi*; *V.p.* : *Vibrio proteolyticus*; *V.c.* : *Vibrio carchariae*; *S.p.* : *Shewanella putrefaciens*; *R.l.* : *Roseobacter litoralis*; *P.e.* : *Pseudoalteromonas elyakovii*; *P.i.* : *Pseudoalteromonas irgensiin*, *H.a.* : *Halomonas aquamarina*

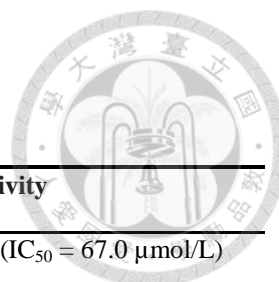


Table 3 海洋麴黴屬具自由基清除之成分

Samples	Fungal strains	Bioactivity
Tetraorcinol A ( <b>140</b> ) <sup>[79]</sup>	<i>A. versicolor</i> LCJ-5-4	DPPH (IC <sub>50</sub> = 67.0 μmol/L)
Rubrolides R ( <b>141</b> ) <sup>[80]</sup>	<i>A. terreus</i> OUCMDZ-1925	DPP (IC <sub>50</sub> = 1.33 mmol/L)
Rubrolides S ( <b>142</b> ) <sup>[80]</sup>	<i>A. terreus</i> OUCMDZ-1925	DPPH (IC <sub>50</sub> = 43.4 μmol/L)
Golmaenone ( <b>143</b> ) <sup>[81]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp. MFA 212	DPPH (IC <sub>50</sub> = 20.0 μmol/L)
Asperamides A ( <b>144</b> ) <sup>[82]</sup>	<i>A. niger</i> EN-13	DPPH (IC <sub>50</sub> = 41.6 μmol/L)
2-Hydroxycircumdatin C ( <b>145</b> ) <sup>[83]</sup>	<i>A. ochraceus</i> EN-3	DPPH (IC <sub>50</sub> = 9.9 μmol/L)
JBIR-81 ( <b>146</b> ) <sup>[84]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp.SpD081030G1f1	DPPH (EC <sub>50</sub> = 0.7 μmol/L)
JBIR-82 ( <b>147</b> ) <sup>[84]</sup>	<i>Aspergillus</i> sp.SpD081030G1f1	DPPH (EC <sub>50</sub> = 1.5 μmol/L)
Eurorubrin ( <b>148</b> ) <sup>[85]</sup>	<i>E. rubrum</i> QEN-0407-G2	DPPH (IC <sub>50</sub> = 44.0 μmol/L)
Aspergentisyls A ( <b>149</b> ) <sup>[86]</sup>	<i>A. glaucus</i> HB1-19	DPPH (IC <sub>50</sub> = 9.3 μmol/L)
Aspergentisyls B ( <b>150</b> ) <sup>[86]</sup>	<i>A. glaucus</i> HB1-19	DPPH (IC <sub>50</sub> = 17.6 μmol/L)
Brevianamide W ( <b>151</b> ) <sup>[87]</sup>	<i>A. versicolor</i> CXCTD-06-6a	DPPH (IC <sub>50</sub> = 13.9 μmol/L)

DPPH : Diphenyl- -picrylhydrazyl

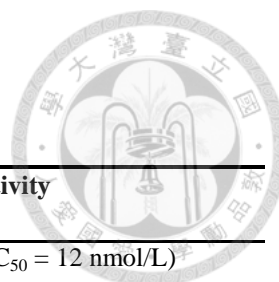
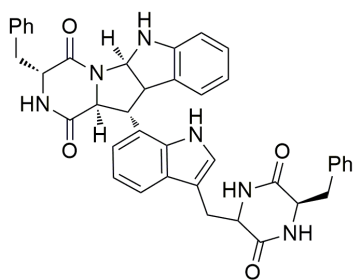


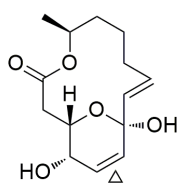
Table 4 海洋麴黴屬具抗寄生蟲之成分

Samples	Fungal strains	Bioactivity
Nafuredin ( <b>152</b> ) <sup>[88]</sup>	<i>A. niger</i> FT-0554	<i>A.s.</i> (IC <sub>50</sub> = 12 nmol/L)
Aspergillicins A ( <b>153</b> ) <sup>[89]</sup>	<i>A. carneus</i> MST-MF156	<i>H.c.</i> (LD <sub>99</sub> = 25–50 µg/mL)
Aspergillicins B ( <b>154</b> ) <sup>[89]</sup>	<i>A. carneus</i> MST-MF156	<i>H.c.</i> (LD <sub>99</sub> = 25–50 µg/mL)
Aspergillicins C ( <b>155</b> ) <sup>[89]</sup>	<i>A. carneus</i> MST-MF156	<i>H.c.</i> (LD <sub>99</sub> = 25–50 µg/mL)
Aspergillicins D ( <b>156</b> ) <sup>[89]</sup>	<i>A. carneus</i> MST-MF156	<i>H.c.</i> (LD <sub>99</sub> = 25–50 µg/mL)
Aspergillicins E ( <b>157</b> ) <sup>[89]</sup>	<i>A. carneus</i> MST-MF156	<i>H.c.</i> (LD <sub>99</sub> = 25–50 µg/mL)

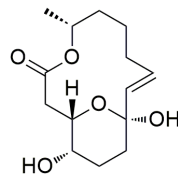
*A.s.* : *Ascaris suum*, *H.c.* : *Haemonchus contortus*



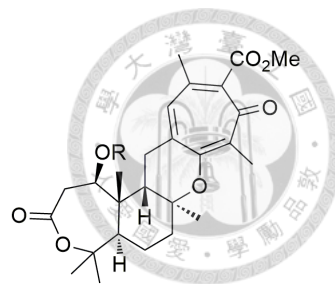
14



15  $\Delta$  saturated

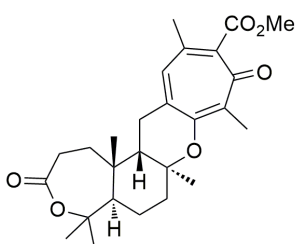


16

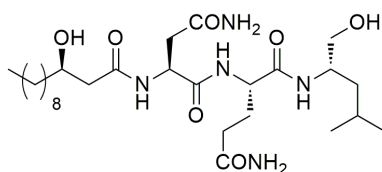


18 R = H

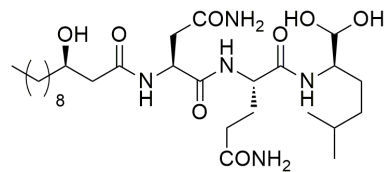
19 R = COCH<sub>3</sub>



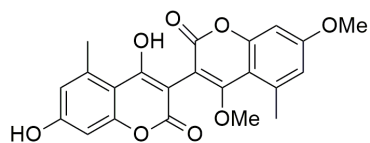
20



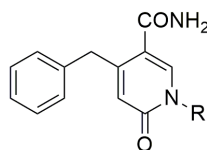
21



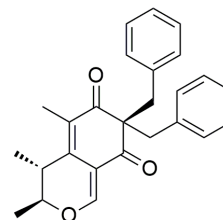
22



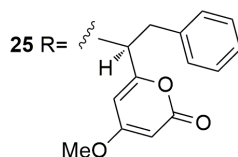
23



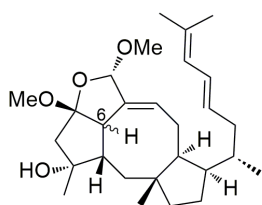
24 R = H



26

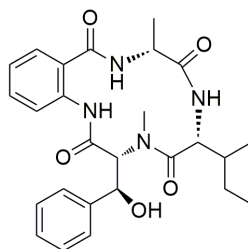


25 R =

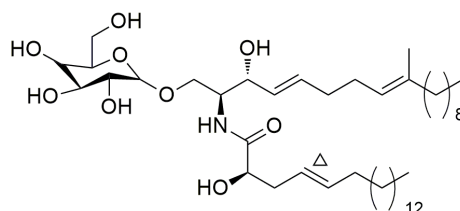


27 6 S-

28 6 R-

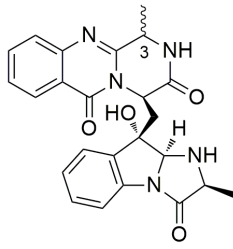


29



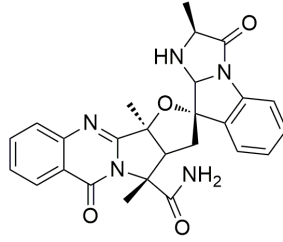
30  $\Delta$  saturated

31

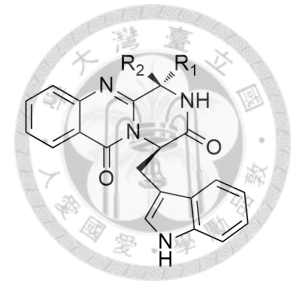


32 3 S-

33 3 R-

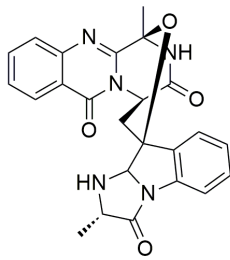


34

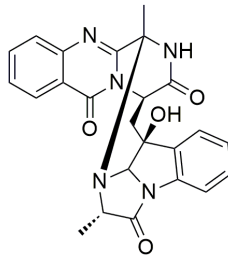


35  $R_1 = \text{Me}, R_2 = \text{H}$

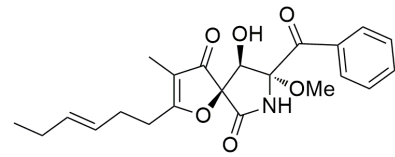
36  $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{Me}$



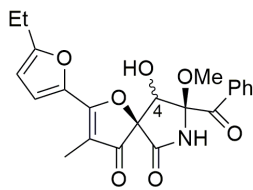
37



38

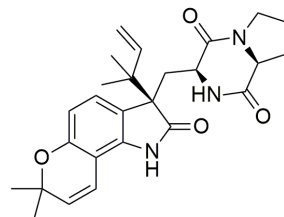


39

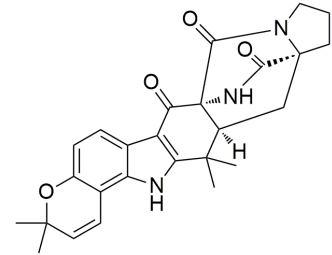


40 4 R-

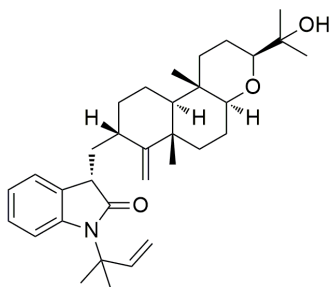
41 4 S-



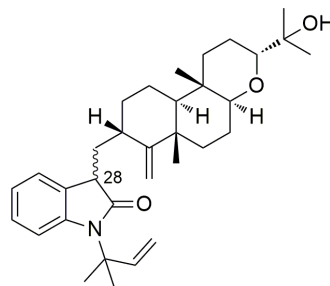
42



43

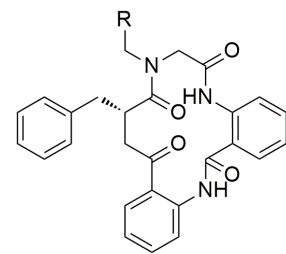


44



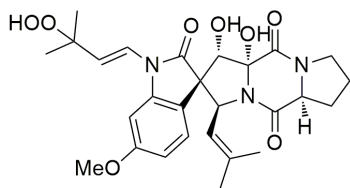
45 28 R-

46 28 S-

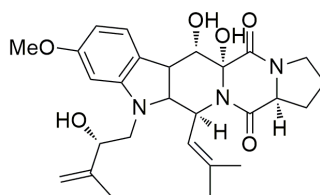


47  $R = \text{Me}$

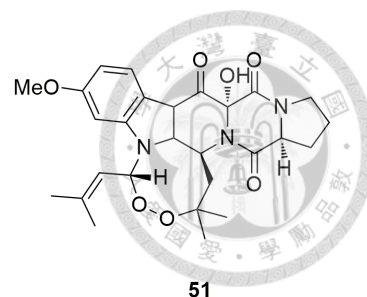
48  $R = \text{H}$



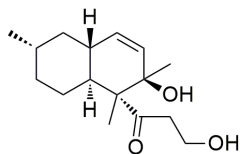
49



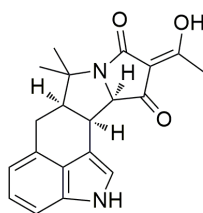
50



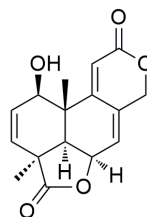
51



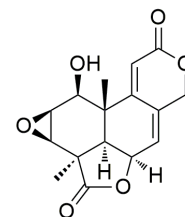
52



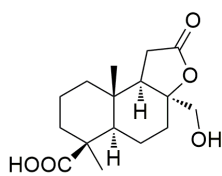
53



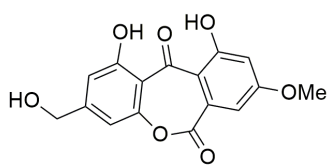
54



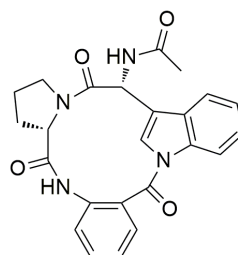
55



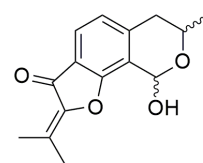
56



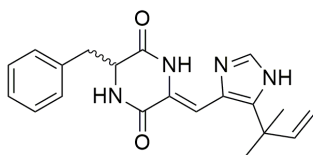
57



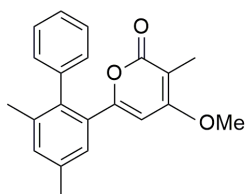
58



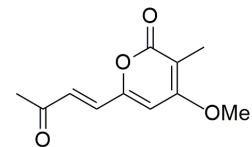
59



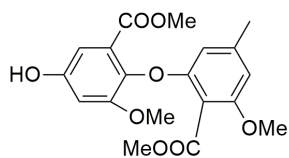
60



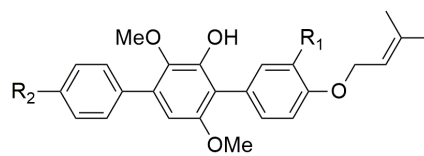
61



62



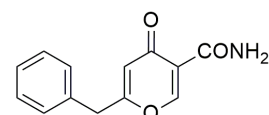
63



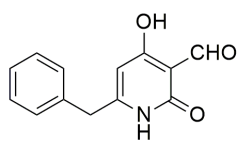
64  $R_1 = OH, R_2 = OH$

65  $R_1 = OMe, R_2 = OH$

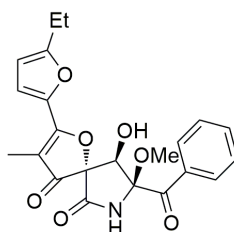
66  $R_1 = OH, R_2 = H$



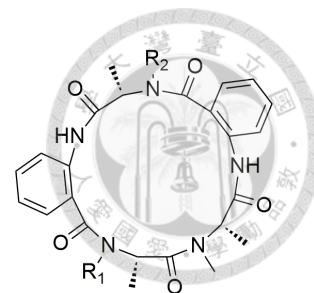
67



68

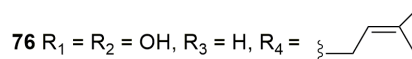
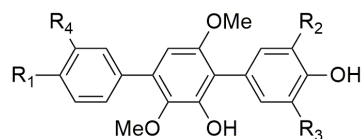
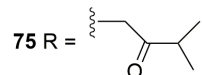
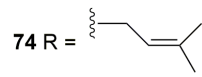
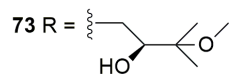
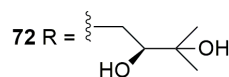
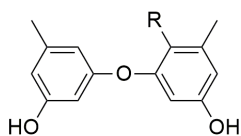


69

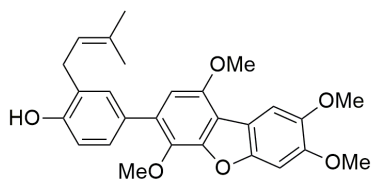


70  $R_1 = H, R_2 = Me$

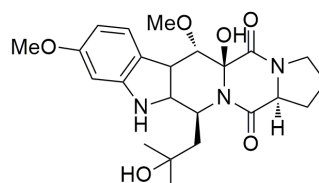
71  $R_1 = Me, R_2 = H$



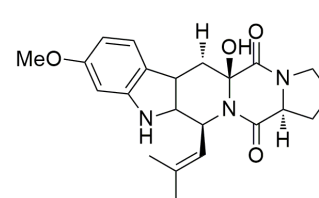
77  $R_1 = R_2 = R_4 = H, R_3 = OH$



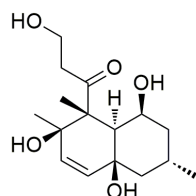
78



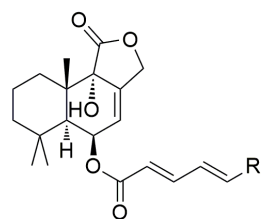
79



80

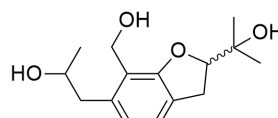


81

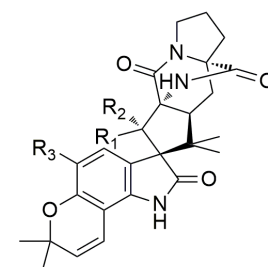


82  $R = CH_2CH(OH)Me$

83  $R = CHO$

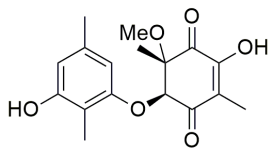


84

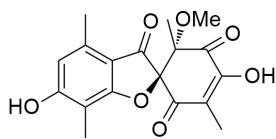


85  $R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = Cl$

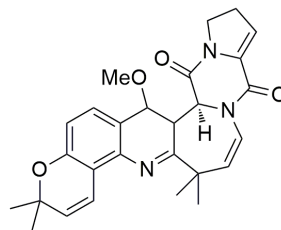
86  $R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = H$



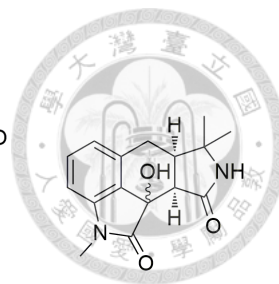
87



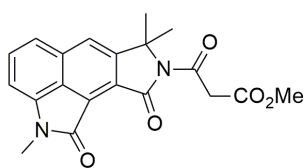
88



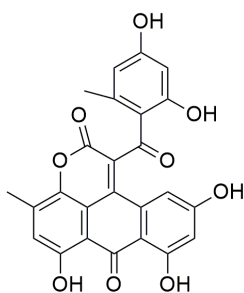
89



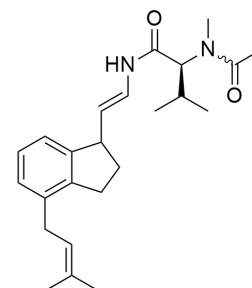
90



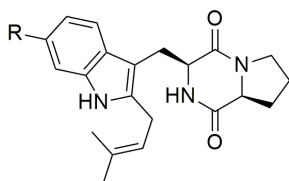
91



92

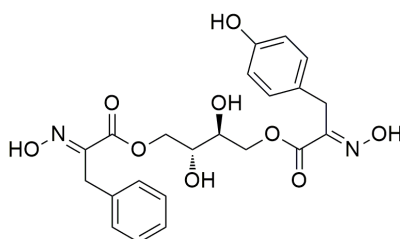


93

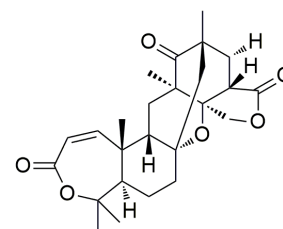


94 R = MOe

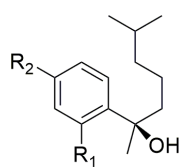
95 R = H



96



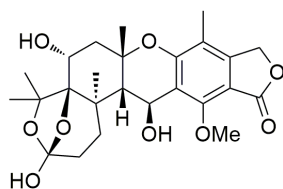
97



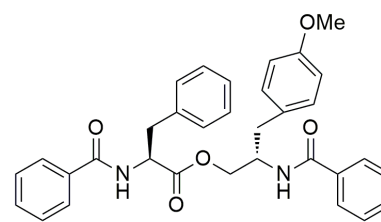
98 R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = CH<sub>2</sub>OH

99 R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = CH<sub>2</sub>OH

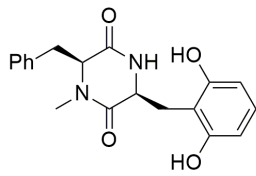
100 R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = COOH



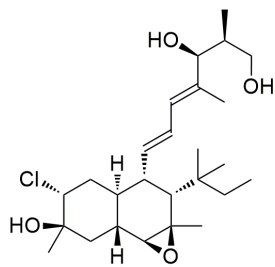
101



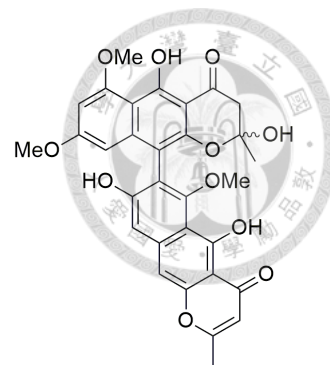
102



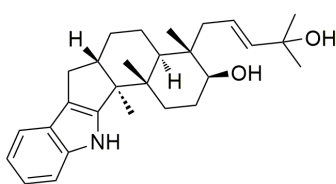
103



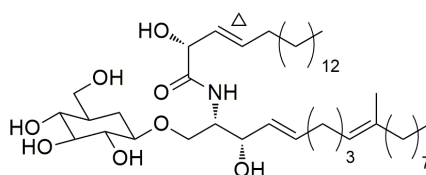
104



105

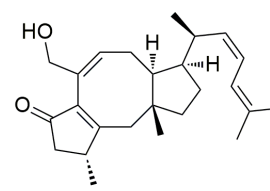


106

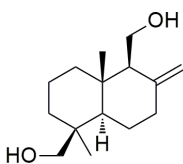


107  $\Delta$  saturated

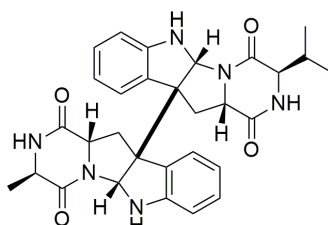
108



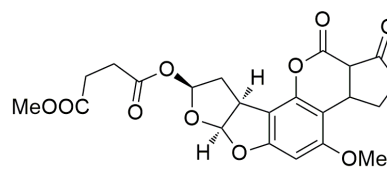
109



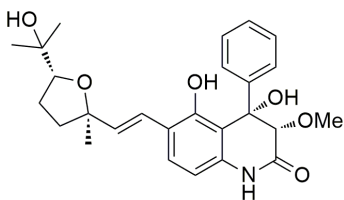
110



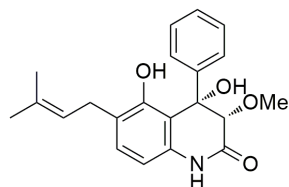
111



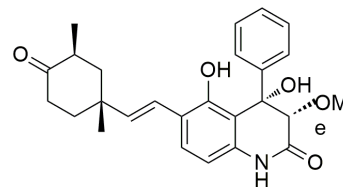
112



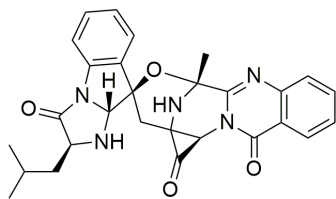
113



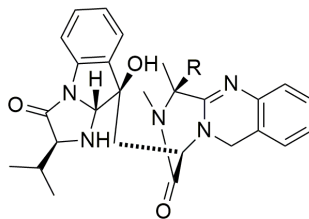
114



115

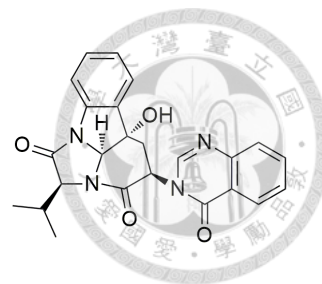


116

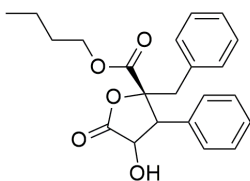


117 R = H

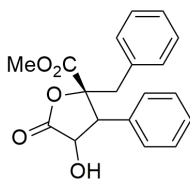
118 R = OH



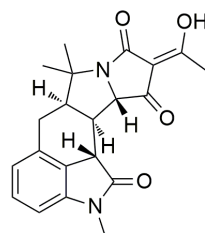
119



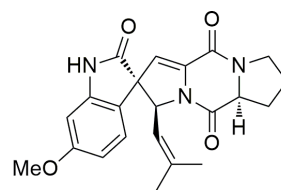
120



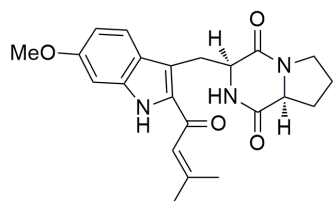
121



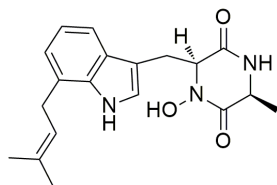
122



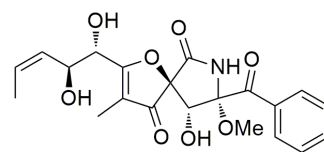
123



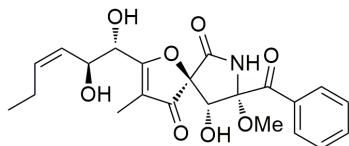
124



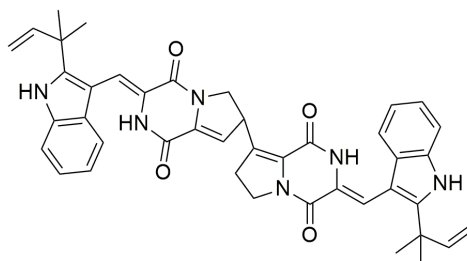
125



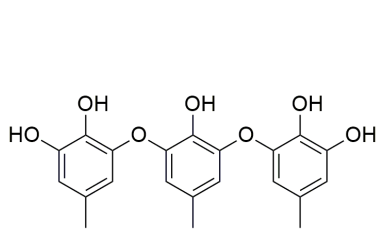
126



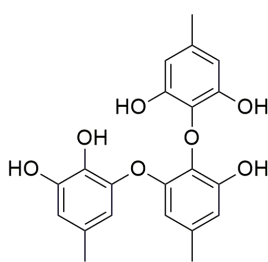
127



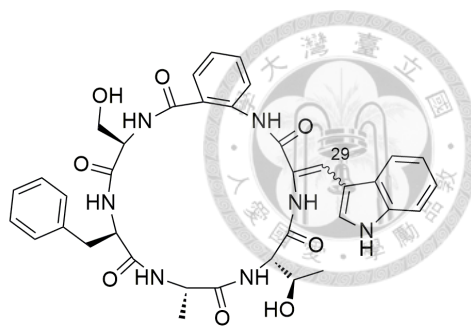
128



129

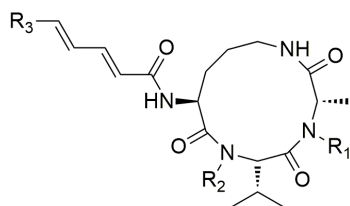


130



131 29 Z-

132 29 E-

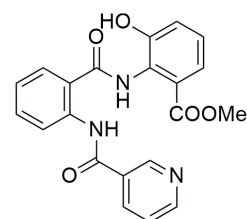


133  $R_1 = \text{Me}$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 =$

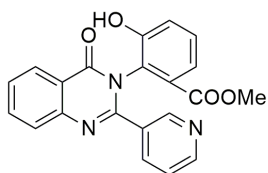
135  $R_1 = R_2 = \text{Me}$ ,  $R_3 = \text{CHO}$

134  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{Me}$

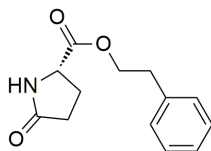
136  $R_1 = R_2 = \text{Me}$ ,  $R_3 =$



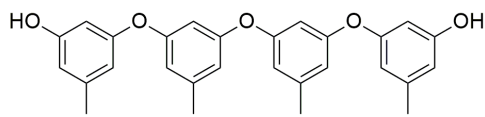
137



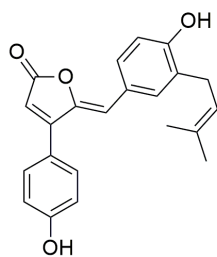
138



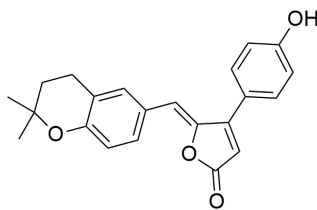
139



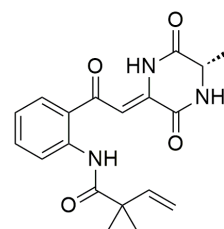
140



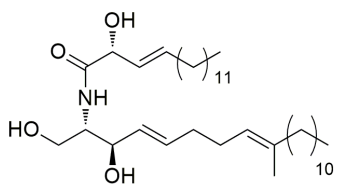
141



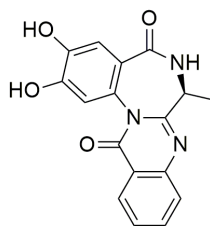
142



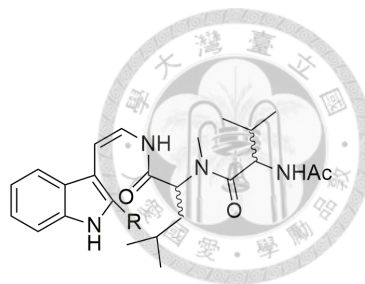
143



144

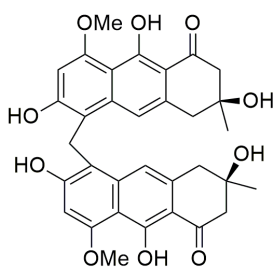


145

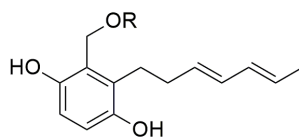


146 R = H

147 R =

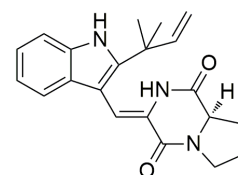


148

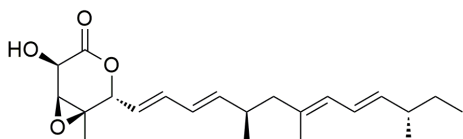


149 R = H

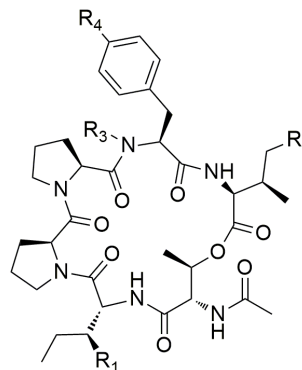
150 R = OMe



151



152



153 R<sub>1</sub> = R<sub>3</sub> = Me, R<sub>2</sub> = H, R<sub>4</sub> = OMe

154 R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H, R<sub>3</sub> = Me, R<sub>4</sub> = OMe

155 R<sub>1</sub> = R<sub>3</sub> = Me, R<sub>2</sub> = R<sub>4</sub> = H

156 R<sub>1</sub> = Me, R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = H

157 R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = Me, R<sub>4</sub> = OMe

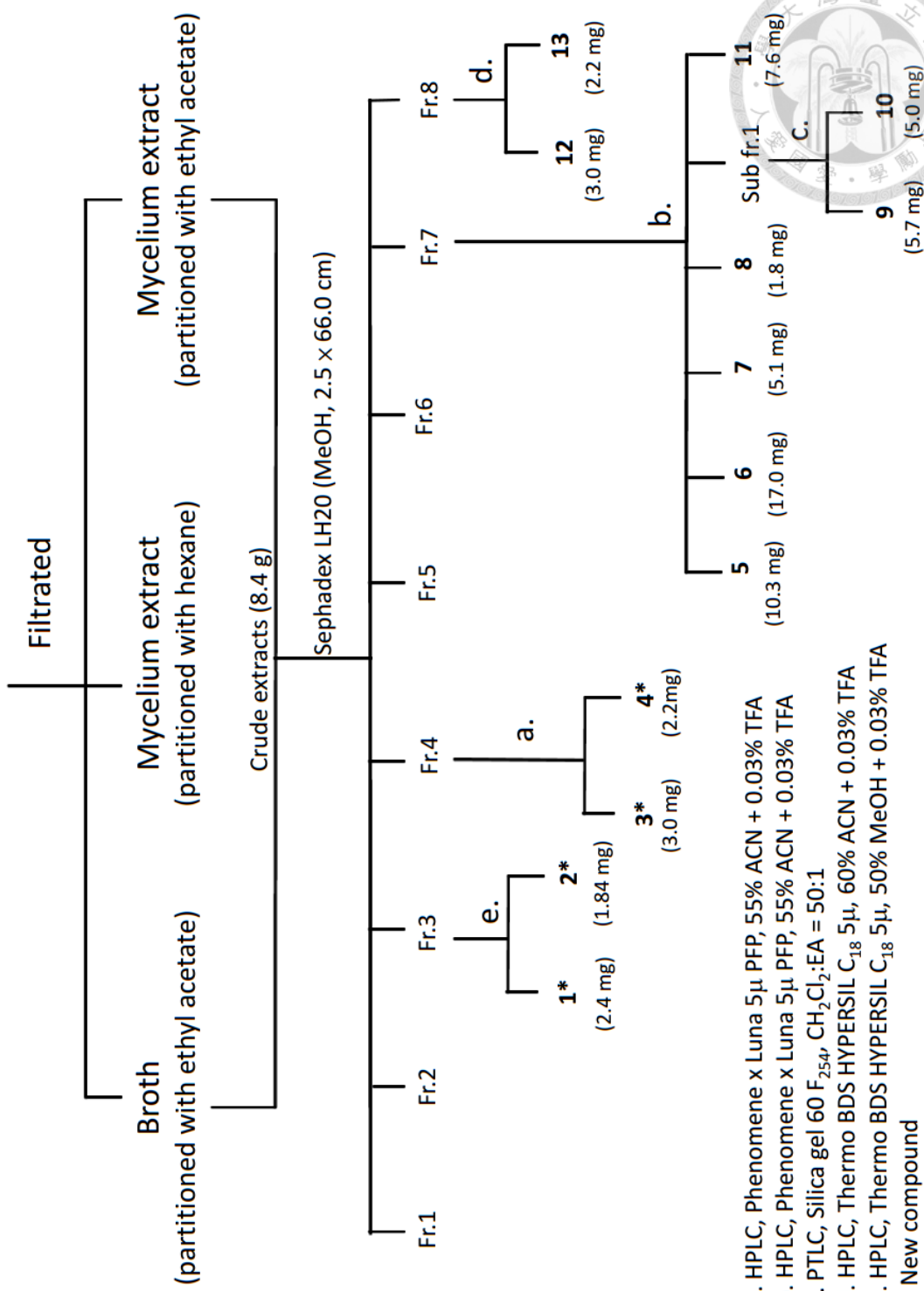
## Chapter 3 實驗結果



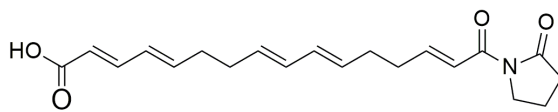
### 3.1 *Aspergillus unguis* NTU142 培養液分離流程

*Aspergillus unguis* NTU142 醱酵液之濾液 (15.0 公升) 與菌絲的甲醇萃取液經由乙酸乙脂萃取及減壓濃縮後，得到粗萃物 8.4 公克，再以 Sephadex LH-20 開放式管柱及 Silica gel 60 F<sub>254</sub> 製備型薄層層析，其分液由 HPLC 高效能液相層析純化，總分離流程如 Fig. 3.1 所示。

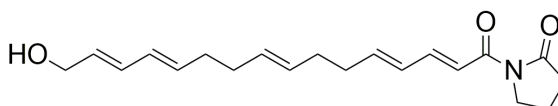
# Fermentation broth (15.0 L) of *Aspergillus unguis* NTU142



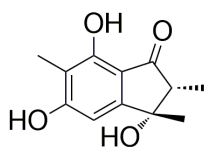
### 3.1.1 化合物 1-13



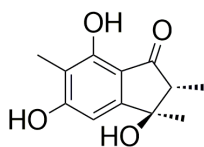
1



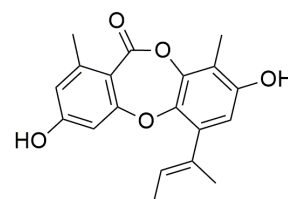
2



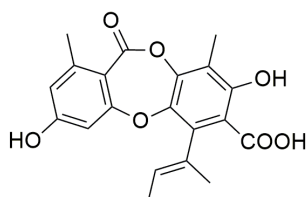
3



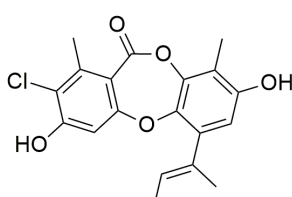
4



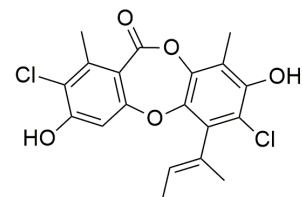
5



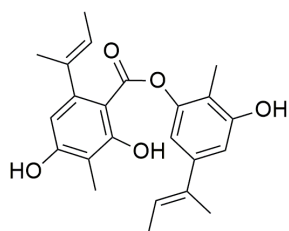
6



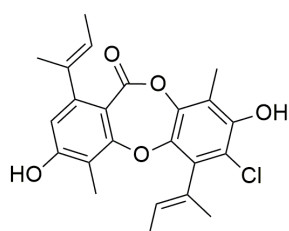
7



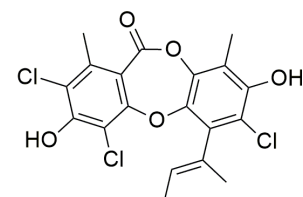
8



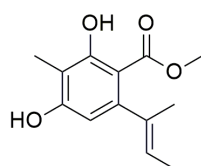
9



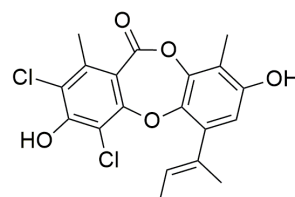
10



11



12

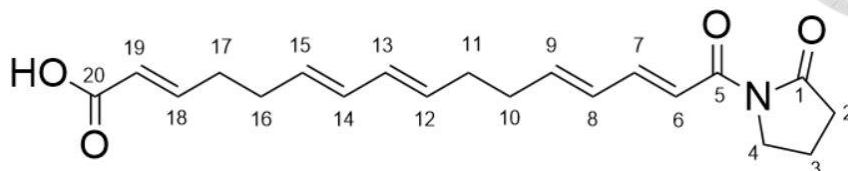


13

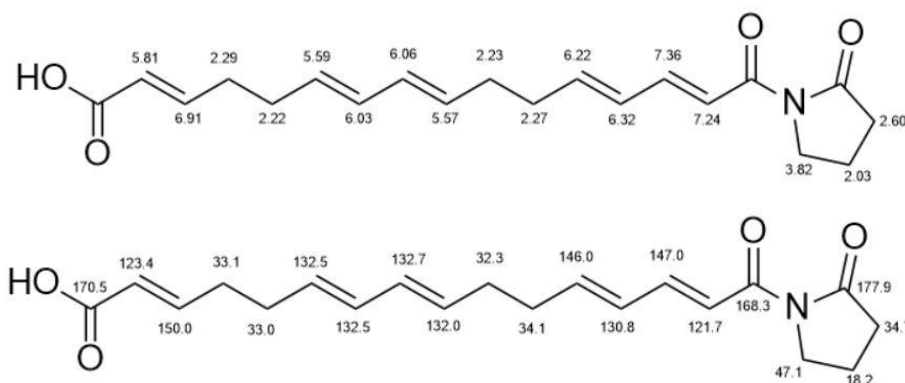


## 3.2 天然物結構分析

### 3.2.1 Unguistin A (1) 之結構解析



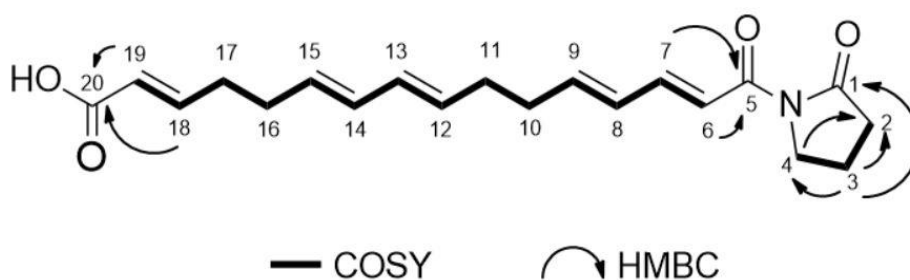
化合物 **1** 為無色油狀。高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其  $[M + H]^+$  離子峰  $m/z$  344.1858 (calcd. for  $C_{20}H_{26}NO_4$  344.1862), 推測分子式為  $C_{20}H_{25}NO_4$  (Fig. 3.1), 紅外光譜 (IR) 顯示有共軛羧酸基 ( $2926\text{ cm}^{-1}$ ) 和  $\gamma$ -lactam carbonyl ( $1726\text{ cm}^{-1}$ ) 等官能基的存在 (Fig. 3.2)。



在氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz) (Fig. 3.3) 中,  $\delta_H$  2.03 (2H, m, H-3)、 $\delta_H$  2.22 (2H, m, H-16)、 $\delta_H$  2.23 (2H, m, H-11)、 $\delta_H$  2.27 (2H, m, H-10)、 $\delta_H$  2.29 (2H, m, H-17)、 $\delta_H$  2.60 (2H, m, H-2)、 $\delta_H$  3.82 (2H, m, H-4) 推測為亞甲基質子訊號;  $\delta_H$  5.57 (1H, m, H-12)、 $\delta_H$  5.59 (1H, m, H-15)、 $\delta_H$  5.81 (1H, d,  $J = 15.6$ , H-19)、 $\delta_H$  6.03 (1H, m, H-14)、 $\delta_H$  6.06 (1H, m, H-13)、 $\delta_H$  6.22 (1H, m, H-9)、 $\delta_H$  6.32 (1H, m, H-8)、 $\delta_H$  6.91 (1H, m, H-18)、 $\delta_H$  7.24 (1H, d,  $J = 15.1$ , H-6)、 $\delta_H$  7.36 (1H, dd,  $J = 10.4, 15.0$ , H-7) 推測為雙鍵之次甲基質子訊號。

在碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz) (Fig. 3.4) 配合 HSQC (Fig. 3.5) 顯示化合物 **1** 有 20 個碳, 含有七個亞甲基訊號位於  $\delta_C$  18.2 (C-3)、 $\delta_C$  32.3 (C-11)、 $\delta_C$  33.0 (C-16)、 $\delta_C$  33.1 (C-17)、 $\delta_C$  34.1 (C-10)、 $\delta_C$  34.7 (C-2)、 $\delta_C$  47.1 (C-4); 十個次甲基訊號位於  $\delta_C$

121.8 (C-6)、 $\delta_C$  123.4 (C-19)、 $\delta_C$  130.8 (C-8)、 $\delta_C$  132.0 (C-12)、 $\delta_C$  132.5 (C-15)、 $\delta_C$  132.5 (C-14)、 $\delta_C$  132.7 (C-13)、 $\delta_C$  146.0 (C-9)、 $\delta_C$  147.0 (C-7)、 $\delta_C$  150.0 (C-18)；三個四級碳訊號位於  $\delta_C$  168.3 (C-5)、 $\delta_C$  170.5 (C-20) 和  $\delta_C$  177.9 (C-1)。其中  $\delta_C$  121.8 (C-6)、 $\delta_C$  123.4 (C-19)、 $\delta_C$  130.8 (C-8)、 $\delta_C$  132.0 (C-12)、 $\delta_C$  132.5 (C-15)、 $\delta_C$  132.5 (C-14)、 $\delta_C$  132.7 (C-13)、 $\delta_C$  146.0 (C-9)、 $\delta_C$  147.0 (C-7)、 $\delta_C$  150.0 (C-18) 推測為五組雙鍵訊號。其中  $\delta_C$  170.5 (C-20) 配合紅外光譜 ( $1677\text{ cm}^{-1}$ ) 推測羧酸基上的碳； $\delta_C$  168.3 (C-5) 和  $\delta_C$  177.9 (C-1) 配合紅外光譜 ( $1726\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為為接羧基的碳。



根據上述氫碳譜的初步判讀，配合 COSY (Fig. 3.6) 的相關訊號分析後可分成兩個部分包括： $H_2-2/H_2-3$  和  $H_2-3/H_2-4$  及  $H-6/H-7$ 、 $H-7/H-8$ 、 $H-8/H-9$ 、 $H-9/H_2-10$ 、 $H_2-10/H_2-11$ 、 $H_2-11/H-12$ 、 $H-12/H-13$ 、 $H-13/H-14$ 、 $H-14/H-15$ 、 $H-15/H_2-16$ 、 $H_2-16/H_2-17$ 、 $H_2-17/H-18$ 、 $H-18/H-19$ 。另外，HMBC (Fig. 3.7) 相關訊號  $H_2-2/C-1$ 、 $-2$ 、 $-4$  及  $H_2-4/C-2$  及  $H-6/C-5$  及  $H-7/C-5$  及  $H-18/C-20$  和  $H-19/C-20$ ，由此可推測化合物 **1** 的結構為一個羧酸基位於 C-19 上，兩個酮基 C-1 和 C-5 可推測接於一個氮原子， $H_2-2/C-1$ 、 $-2$ 、 $-4$  及  $H_2-4/C-2$  配合紅外光譜的訊號  $\gamma$ -lactam carbonyl ( $1726\text{ cm}^{-1}$ )，可推測和氮原子有五環的構型。

綜合以上數據，化合物 **1** 之結構得以確認，並命名為 Unguistin A，為過去未曾報導過的新化合物。

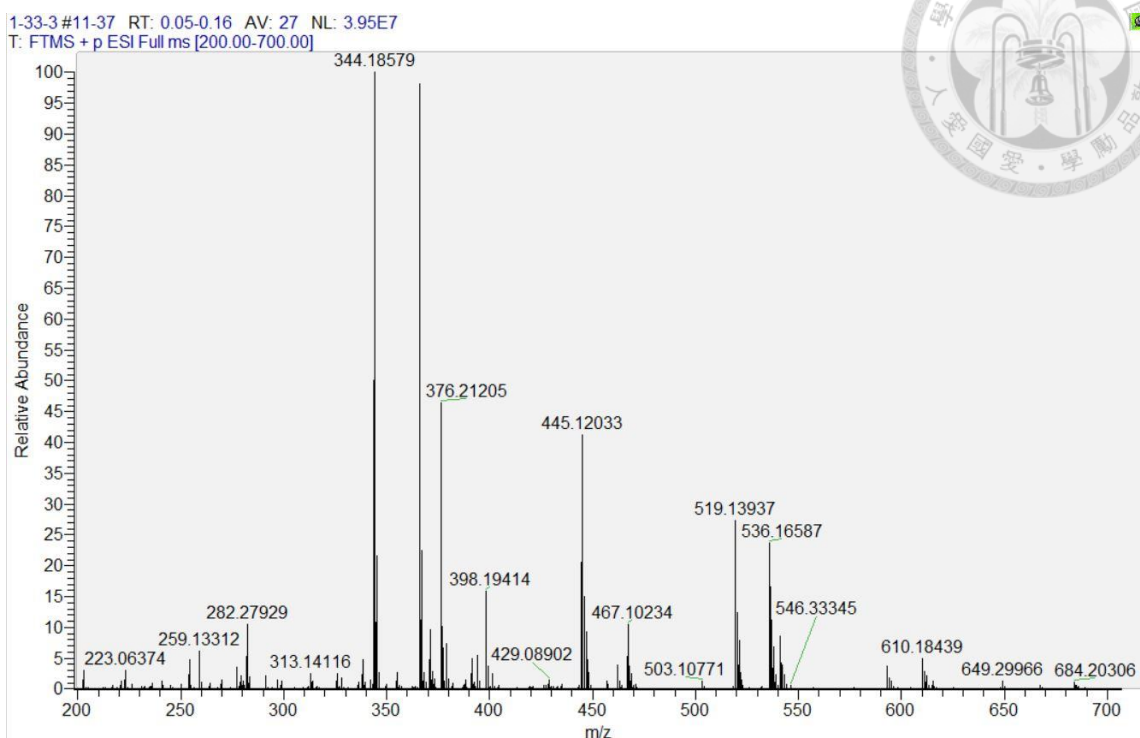


Fig. 3.1 化合物 1 之高解析電灑游離質譜。

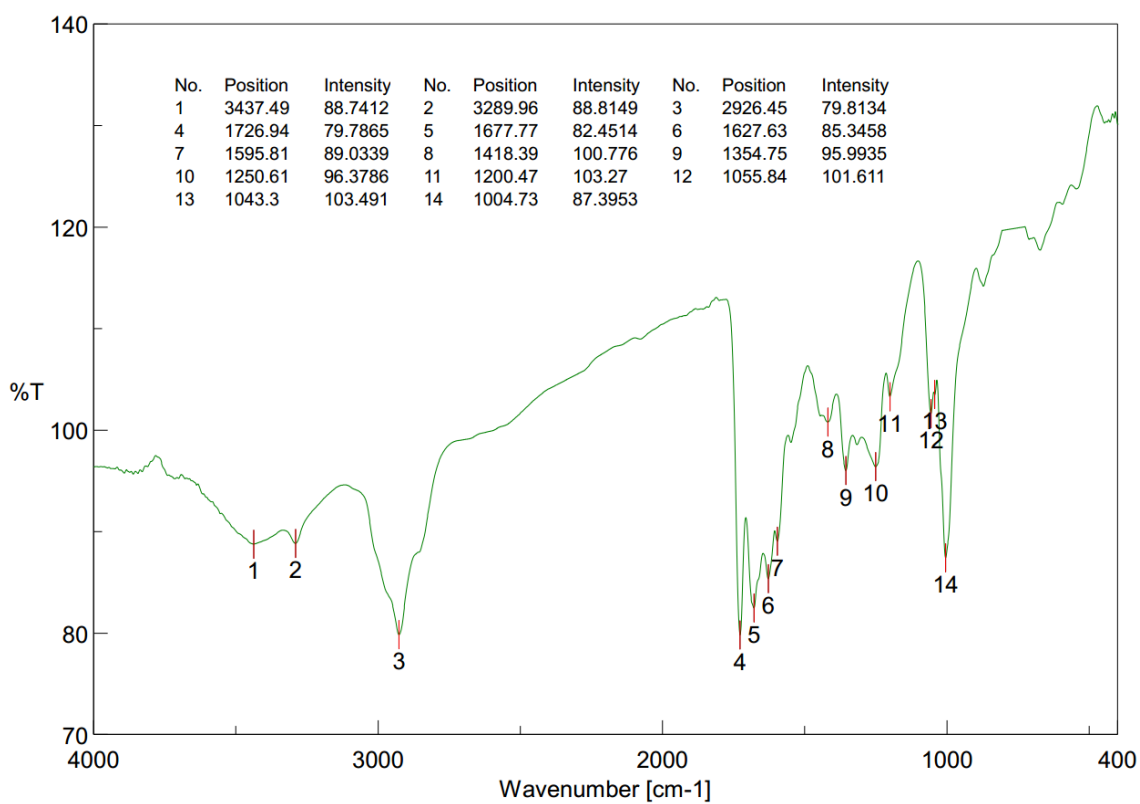


Fig. 3.2 化合物 1 之紅外光譜。

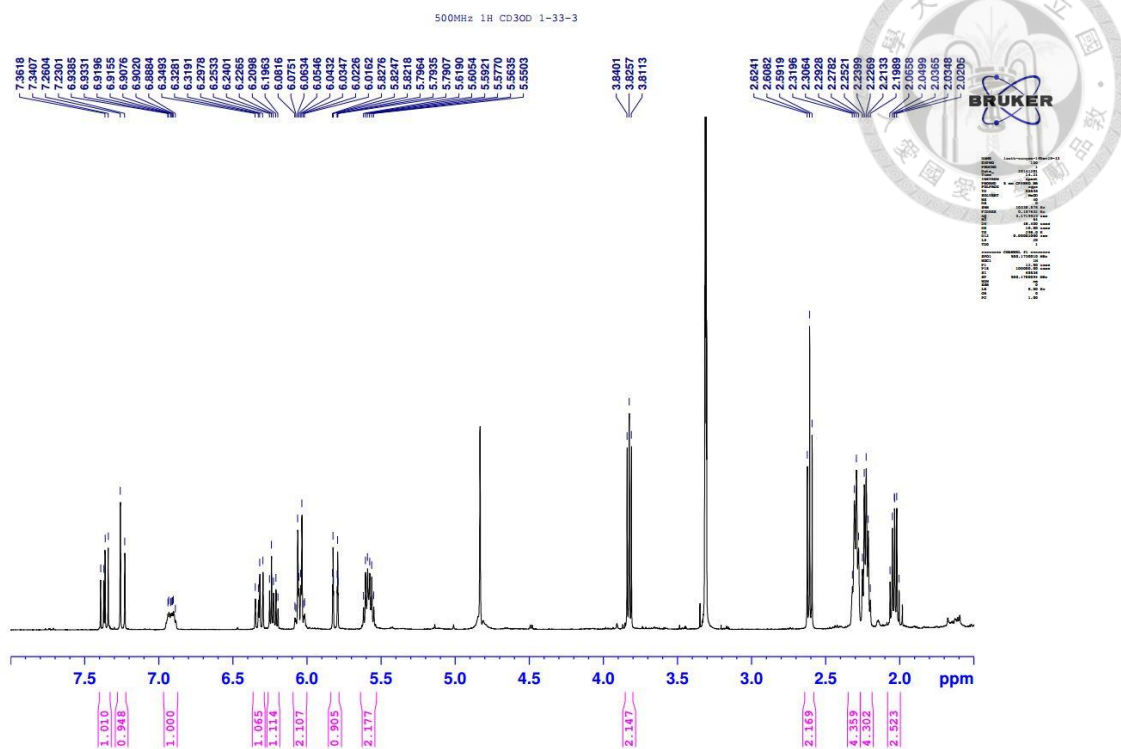


Fig. 3.3 化合物 1 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz)。

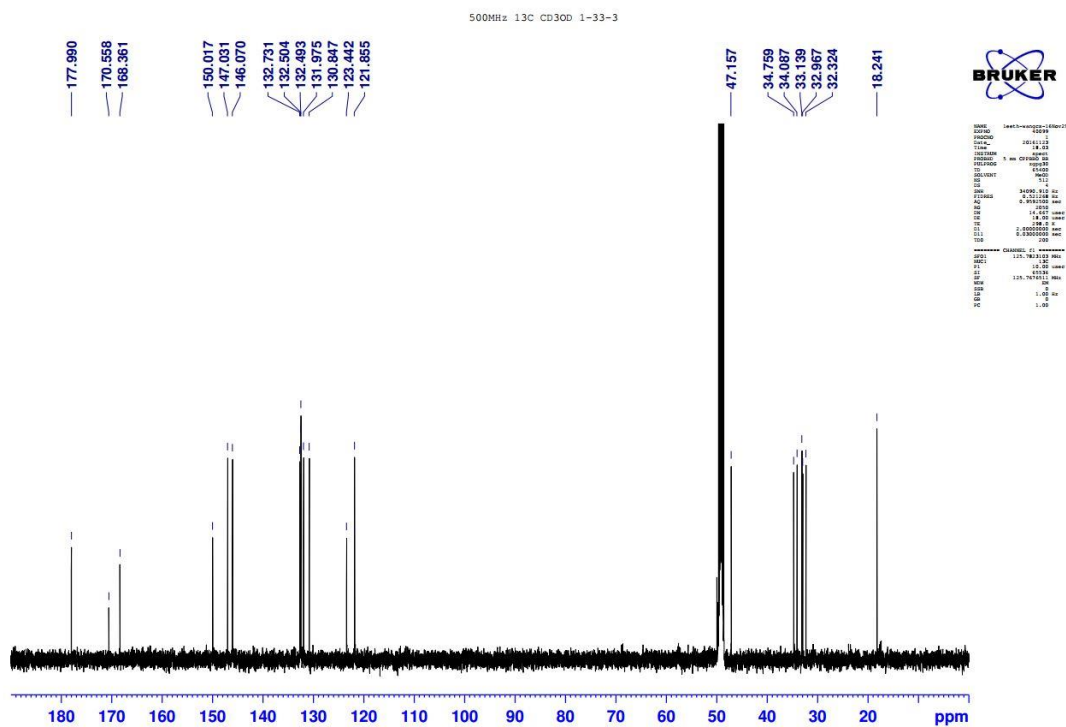


Fig. 3.4 化合物 1 之碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz)。

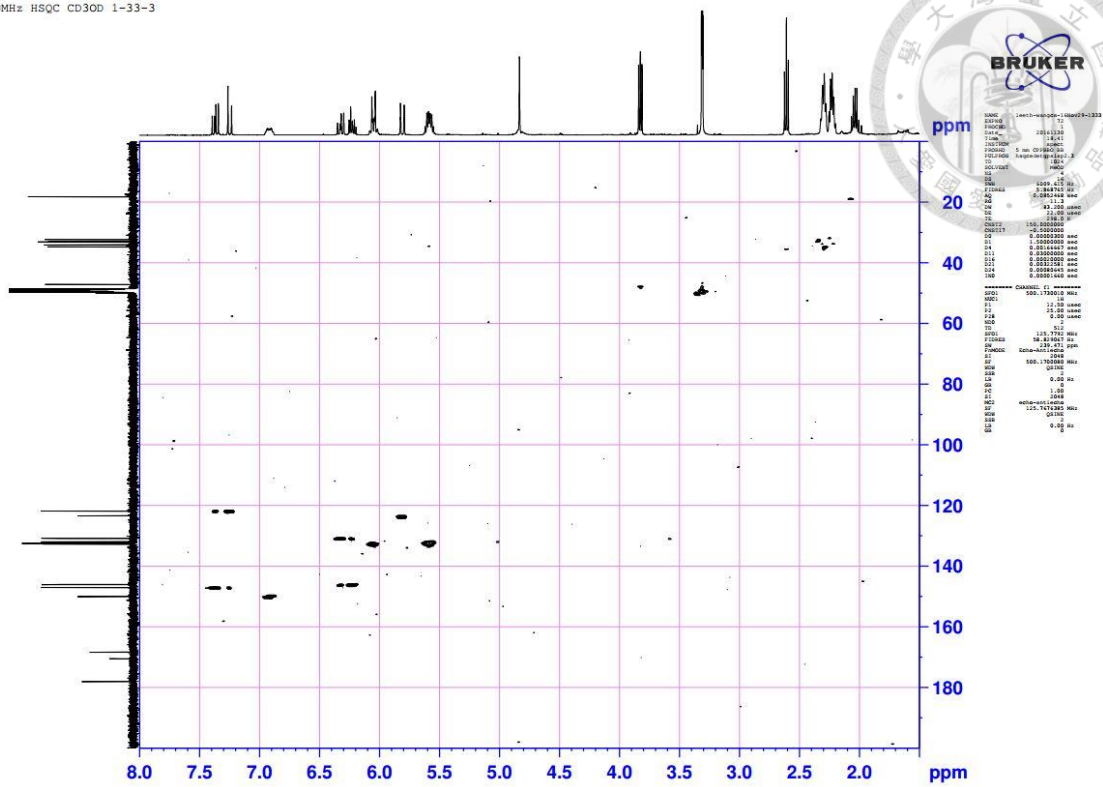


Fig. 3.5 化合物 1 之 HSQC 圖譜。

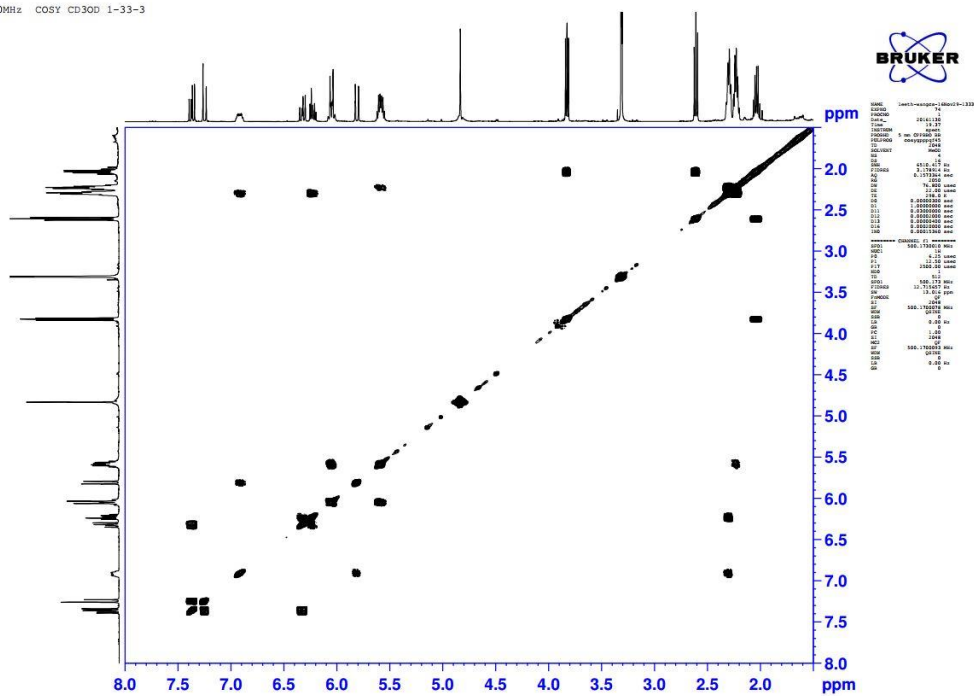


Fig. 3.6 化合物 1 之 COSY 圖譜。

500MHz HMBC CD3OD 1-33-3

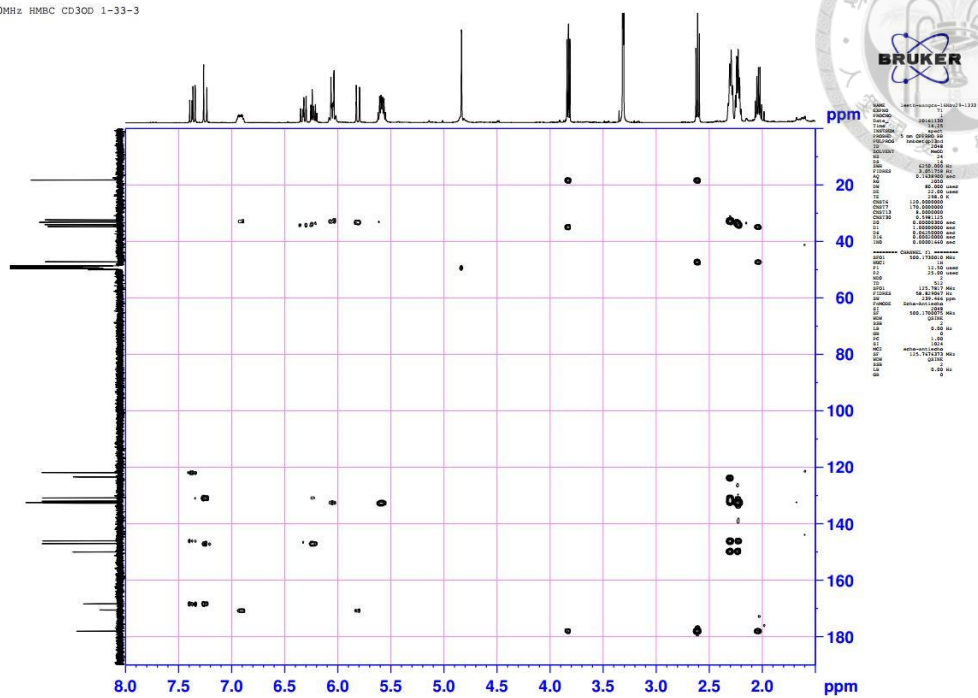
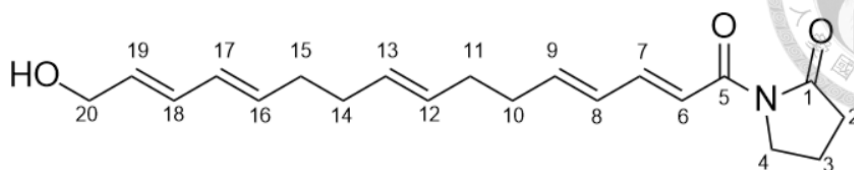


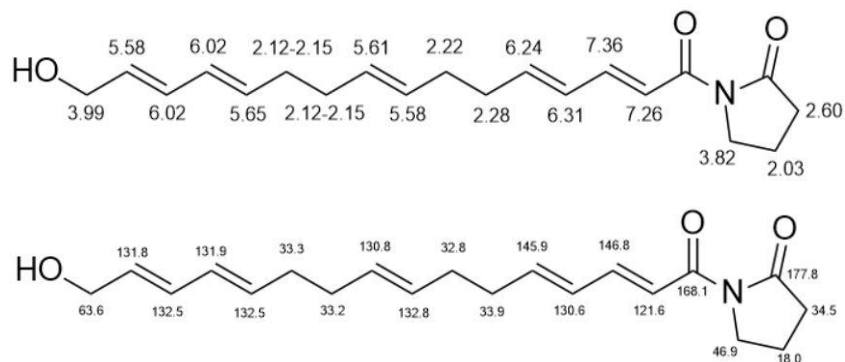
Fig. 3.7 化合物 1 之 HMBC 圖譜。



### 3.2.2 Unguistin B (2) 之結構解析



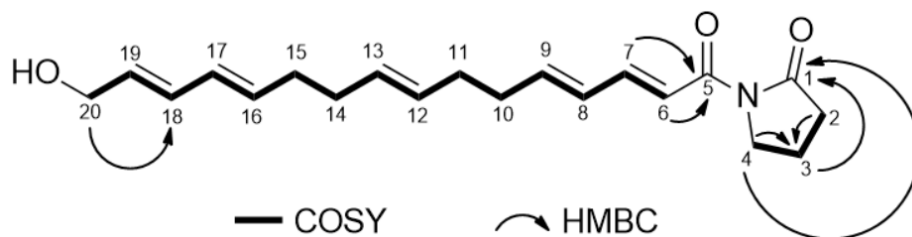
化合物 **2** 為無色油狀。高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其  $[M + Na]^+$  離子峰  $m/z$  352.1885 (calcd. for  $C_{20}H_{27}NNaO_3$  352.1889), 推測分子式為  $C_{20}H_{27}NO_3$  (Fig. 3.8), 紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 ( $3448\text{ cm}^{-1}$ ) 和  $\gamma$ -lactam carbonyl ( $1721\text{ cm}^{-1}$ ) 等官能基的存在 (Fig. 3.9)。



在氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz) (Fig. 3.10) 中,  $\delta_H$  2.03 (2H, m, H-3)、 $\delta_H$  2.22 (2H, m, H-11)、 $\delta_H$  2.12-2.15 (2H, m, H-14)、 $\delta_H$  2.12-2.15 (2H, m, H-15)、 $\delta_H$  2.28 (2H, m, H-10)、 $\delta_H$  2.60 (2H, m, H-2)、 $\delta_H$  3.82 (2H, m, H-4)、 $\delta_H$  3.99 (2H, d,  $J = 5.3$ , H-20) 推測為亞甲基質子訊號;  $\delta_H$  5.58 (1H, m, H-19)、 $\delta_H$  5.58 (1H, m, H-12)、 $\delta_H$  5.61 (1H, m, H-13)、 $\delta_H$  5.65 (1H, m, H-16)、 $\delta_H$  6.02 (1H, m, H-17)、 $\delta_H$  6.02 (1H, m, H-18)、 $\delta_H$  6.24 (1H, m, H-9)、 $\delta_H$  6.31 (1H, m, H-8)、 $\delta_H$  7.26 (1H, d,  $J = 14.3$ , H-6)、 $\delta_H$  7.36 (1H, dd,  $J = 10.5, 15.0$ , H-7) 推測為雙鍵之次甲基質子訊號。

在碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz) (Fig. 3.11) 配合 HSQC (Fig. 3.12) 顯示化合物 **2** 有 20 個碳, 含有七個亞甲基訊號位於  $\delta_C$  18.0 (C-3)、 $\delta_C$  32.8 (C-11)、 $\delta_C$  33.2 (C-14)、 $\delta_C$  33.3 (C-15)、 $\delta_C$  33.9 (C-10)、 $\delta_C$  34.5 (C-2)、 $\delta_C$  46.9 (C-4)、 $\delta_C$  63.6 (C-20); 十個次甲基訊號位於  $\delta_C$  121.6 (C-6)、 $\delta_C$  130.6 (C-8)、 $\delta_C$  130.8 (C-13)、 $\delta_C$  131.8 (C-19)、 $\delta_C$  131.9 (C-17)、 $\delta_C$  132.5 (C-18)、 $\delta_C$  132.5 (C-16)、 $\delta_C$  132.8 (C-12)、 $\delta_C$  145.9

(C-9)、 $\delta_C$  146.8 (C-7)；兩個四級碳訊號位於  $\delta_C$  168.1 (C-5) 和  $\delta_C$  177.8 (C-1)。其中  $\delta_C$  121.6 (C-6)、 $\delta_C$  130.6 (C-8)、 $\delta_C$  130.8 (C-13)、 $\delta_C$  131.8 (C-19)、 $\delta_C$  131.9 (C-17)、 $\delta_C$  132.5 (C-18)、 $\delta_C$  132.5 (C-16)、 $\delta_C$  132.8 (C-12)、 $\delta_C$  145.9 (C-9)、 $\delta_C$  146.8 (C-7) 推測為五組雙鍵訊號。其中  $\delta_C$  168.1 (C-5) 和  $\delta_C$  177.8 (C-1) 配合紅外光譜 ( $1636\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為為接酮基的碳； $\delta_C$  63.6 (C-20) 配合紅外光譜 ( $3619\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為為接羥基的碳。



根據上述氫碳譜的初步判讀，配合 COSY (Fig. 3.13) 的相關訊號分析後可分成兩個部分包括： $H_2-2/H_2-3$  和  $H_2-3/H_2-4$  及  $H-6/H-7$ 、 $H-7/H-8$ 、 $H-8/H-9$ 、 $H-9/H_2-10$ 、 $H_2-10/H_2-11$ 、 $H_2-11/H-12$ 、 $H-12/H-13$ 、 $H-13/H_2-14$ 、 $H_2-14/H_2-15$ 、 $H_2-15/H-16$ 、 $H-16/H-17$ 、 $H-17/H-18$ 、 $H-18/H-19$ 、 $H-19/H_2-20$ 。另外，HMBC (Fig. 3.14) 相關訊號  $H_2-2/C-2$  及  $H_2-3/C-1$  及  $H_2-4/C-1$ 、 $-3$  及  $H-6/C-5$  及  $H-7/C-5$  和  $H-20/C-18$ ，由此可推測化合物 **2** 的結構為一個羥基位於 C-20 上，兩個酮基 C-1 和 C-5 可推測接於一個氮原子， $H_2-2/C-2$  及  $H_2-3/C-1$  及  $H_2-4/C-1$ 、 $-3$  配合紅外光譜的訊號  $\gamma$ -lactam carbonyl ( $1721\text{ cm}^{-1}$ ) 可推測和氮原子有五環的構型。

綜合以上數據，化合物 **2** 之結構得以確認，並命名為 Unguistin B，為過去未曾報導過的新化合物。

WCS1334 #33-140 RT: 0.04-0.17 AV: 108 NL: 4.31E7  
 T: FTMS + p ESI Full ms [150.00-700.00]

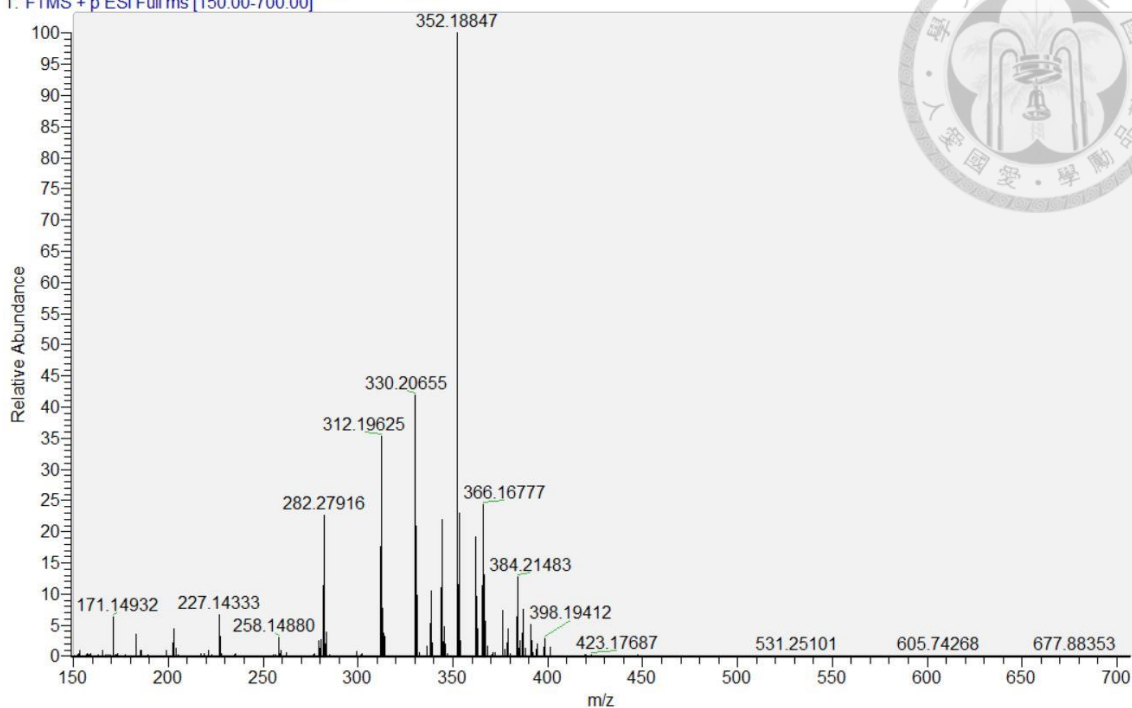


Fig. 3.8 化合物 2 之高解析電灑游離質譜。

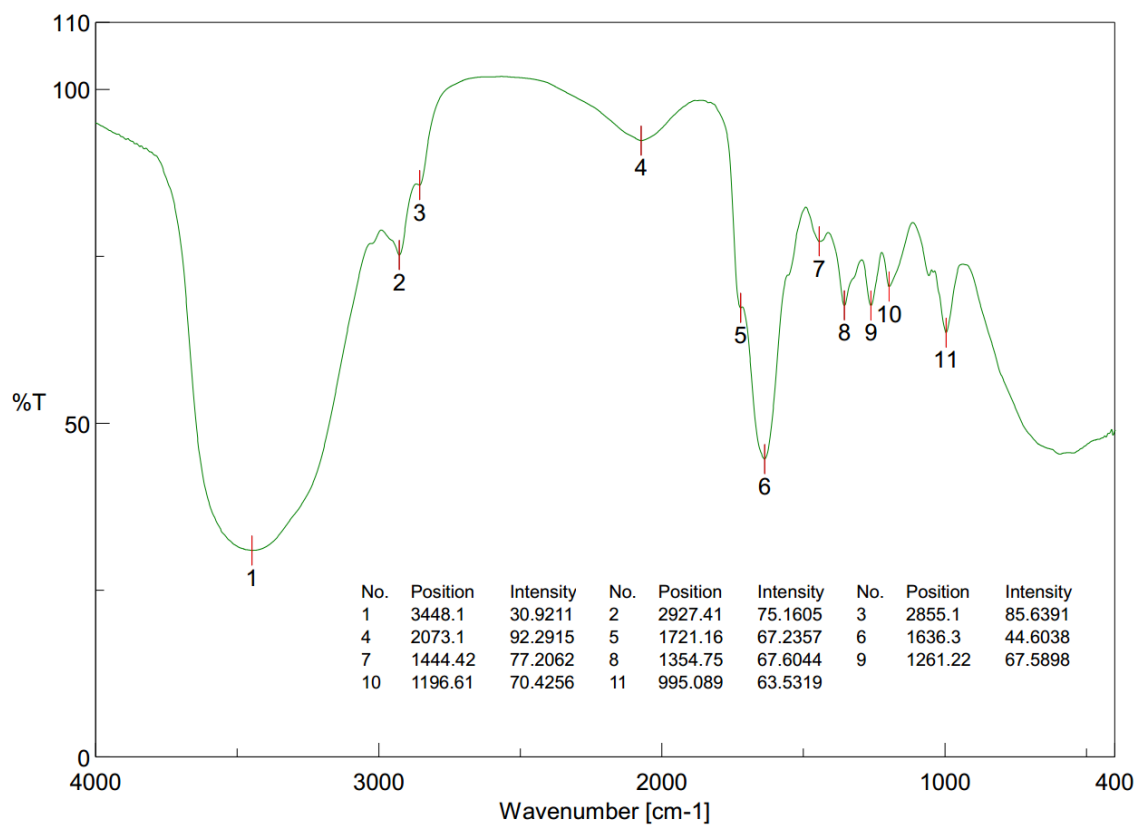


Fig. 3.9 化合物 2 之紅外光譜。

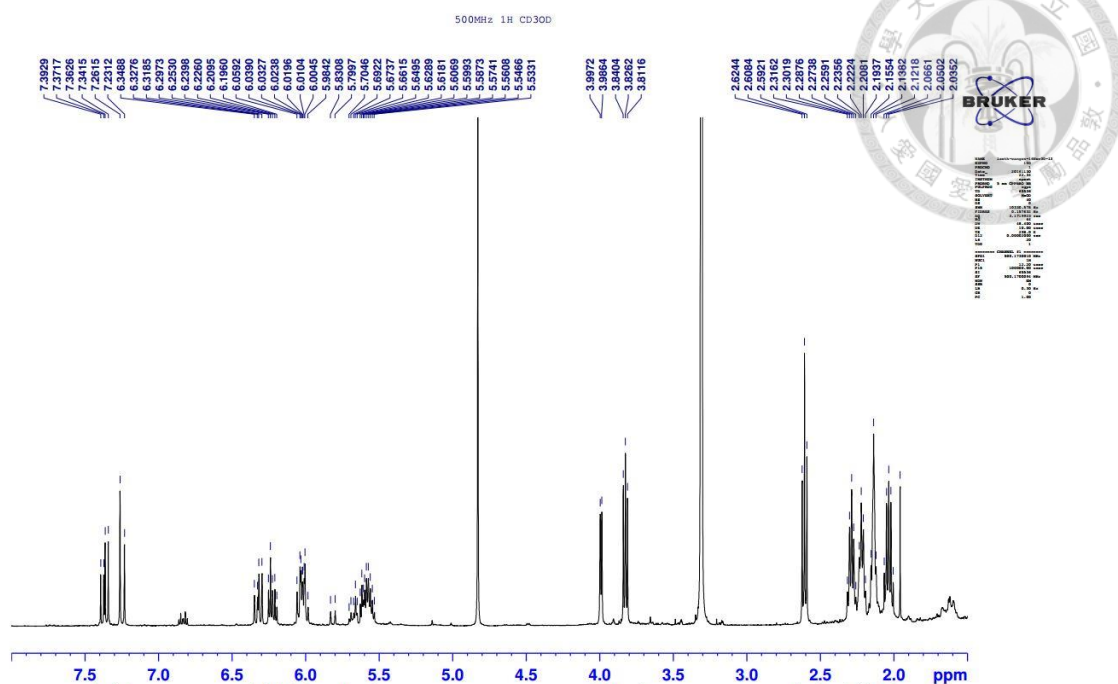


Fig. 3.10 化合物 2 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz)。

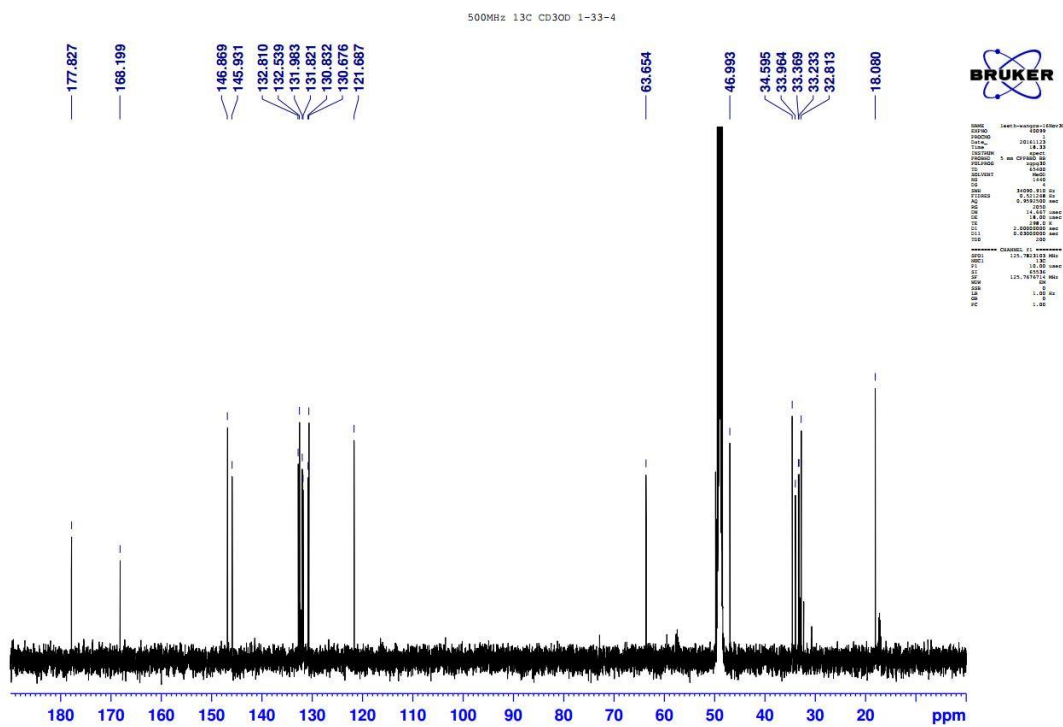


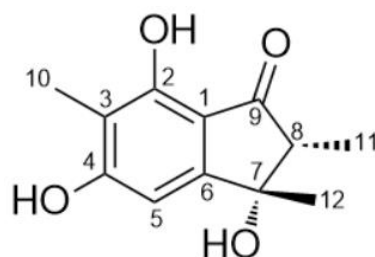
Fig. 3.11 化合物 2 之碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz)。



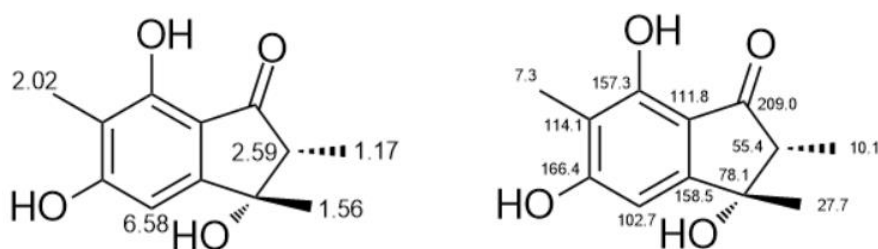




### 3.2.3 Unguisine A (3) 之結構解析

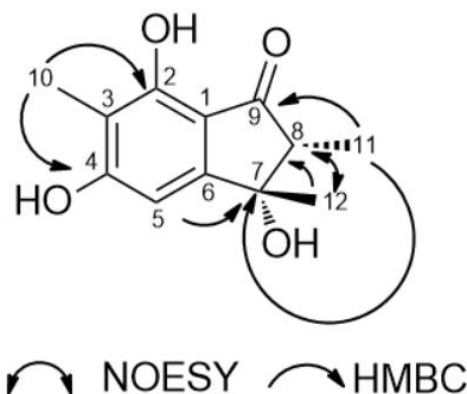


化合物 **3** 為無色油狀。高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其  $[M + H]^+$  離子峰  $m/z$  223.0970 (calcd. for  $C_{12}H_{15}O_4$  223.0970)，推測分子式為  $C_{12}H_{14}O_4$  (Fig. 3.15)，紅外光譜 (IR) 顯示有苯環 ( $1458\text{ cm}^{-1}$ ) 和羥基 ( $3395\text{ cm}^{-1}$ ) 等官能基的存在 (Fig. 3.16)。

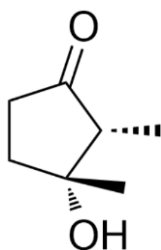


在氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz) (Fig. 3.17) 中，位於較高場的三个訊號  $\delta_H$  1.17 (3H, d,  $J = 7.4$ , H-11)、 $\delta_H$  1.56 (3H, s, H-12)、 $\delta_H$  2.02 (3H, s, H-10) 推測為甲基質子訊號； $\delta_H$  2.59 (1H, m, H-8) 推測為次甲基質子訊號； $\delta_H$  6.58 (1H, s, H-5) 推測為單取代之苯環上的質子訊號。

在碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz) (Fig. 3.18) 中顯示化合物 **3** 有 12 個碳，含有三個甲基訊號位於  $\delta_C$  7.3 (C-10)、 $\delta_C$  10.1 (C-11)、 $\delta_C$  27.7 (C-12)；一個次甲基訊號位於  $\delta_C$  55.4 (C-8)；七個四級碳訊號位於  $\delta_C$  78.1 (C-7)、 $\delta_C$  111.8 (C-1)、 $\delta_C$  114.1 (C-3)、 $\delta_C$  157.3 (C-2)、 $\delta_C$  158.5 (C-6)、 $\delta_C$  166.4 (C-4)、 $\delta_C$  209.0 (C-9)。其中  $\delta_C$  102.7 (C-5)、 $\delta_C$  111.8 (C-1)、 $\delta_C$  114.1 (C-3)、 $\delta_C$  157.3 (C-2)、 $\delta_C$  158.5 (C-6)、 $\delta_C$  166.4 (C-4) 推測為苯環訊號。其中  $\delta_C$  157.3 (C-2) 和  $\delta_C$  166.4 (C-4) 配合紅外光譜 ( $1644\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為為苯環上接有羥基的碳。



根據上述氫碳譜的初步判讀，配合 HSQC (Fig. 3.19) 和 HMBC (Fig. 3.20) 相關訊號，H<sub>3</sub>-10/C-2、-4 及 H-5/C-7 及 H<sub>2</sub>-2/C-2 及 H<sub>3</sub>-12/C-8 和 H<sub>3</sub>-11/C-9、-7，由此可推測化合物 **3** 的結構為兩個羥基分別位於苯環的 C-2 和 C-4 上，C-10 甲基位於苯環的 C-3 上，一個酮基位於 C-9 上。



(-)(2R,3R)-2,3-dimethyl-3-hydroxy cyclopentanone

化合物 **3** 的相對立體位向，藉由 1D Selective NOESY (Fig. 3.21, Fig. 3.22) 圖譜解析的結果顯示，H<sub>3</sub>-11/H<sub>3</sub>-12、H<sub>3</sub>-11/H-8 和 H<sub>3</sub>-12/H<sub>3</sub>-11 沒有 1D Selective NOESY 的相關訊號，但 H<sub>3</sub>-12/H-8 有相關的訊號，可推測 H<sub>3</sub>-12 和 H<sub>3</sub>-11 為 *trans* 結構。在絕對立體的部分藉由旋光度比對文獻<sup>[90]</sup>而得知 (-)(2R,3R)-2,3-dimethyl-3-hydroxy cyclopentanone 的旋光度為  $[\alpha] = -179^\circ$  (c 0.12, CCl<sub>4</sub>)，而化合物 **3** 的旋光度為  $[\alpha]^{26}_D = -1.3^\circ$  (c 0.1, MeOH)，文獻與化合物 **3** 的旋光度接為負值，由此可以確定化合物 **3** 的 H<sub>3</sub>-11 為  $\alpha$ -form 甲基，H<sub>3</sub>-12 為  $\beta$ -form 甲基。

綜合以上數據，化合物 **3** 之結構得以確認，並命名為 Unguisine A，為過去未曾被報導過的新化合物。

WCS1-43-1 #35-171 RT: 0.15-0.40 AV: 137 NL: 3.43E5  
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-700.00]

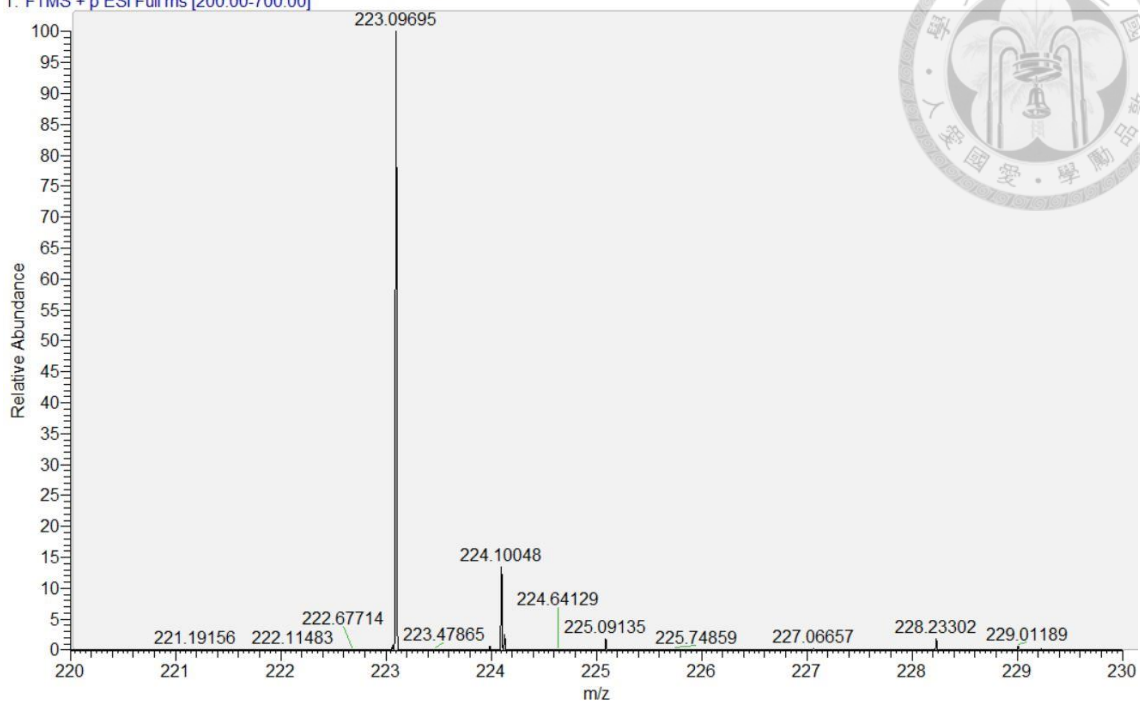


Fig. 3.15 化合物 **3** 之高解析電灑游離質譜。

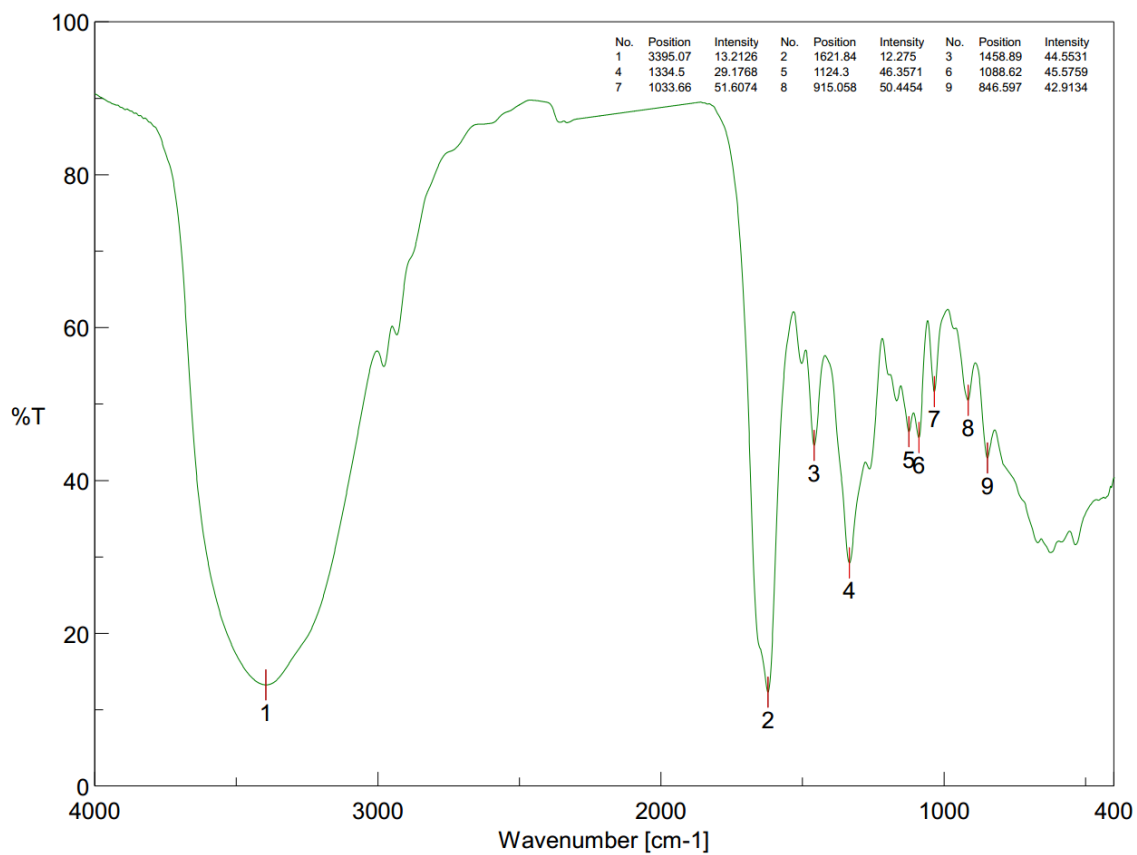


Fig. 3.16 化合物 **3** 之紅外光譜。

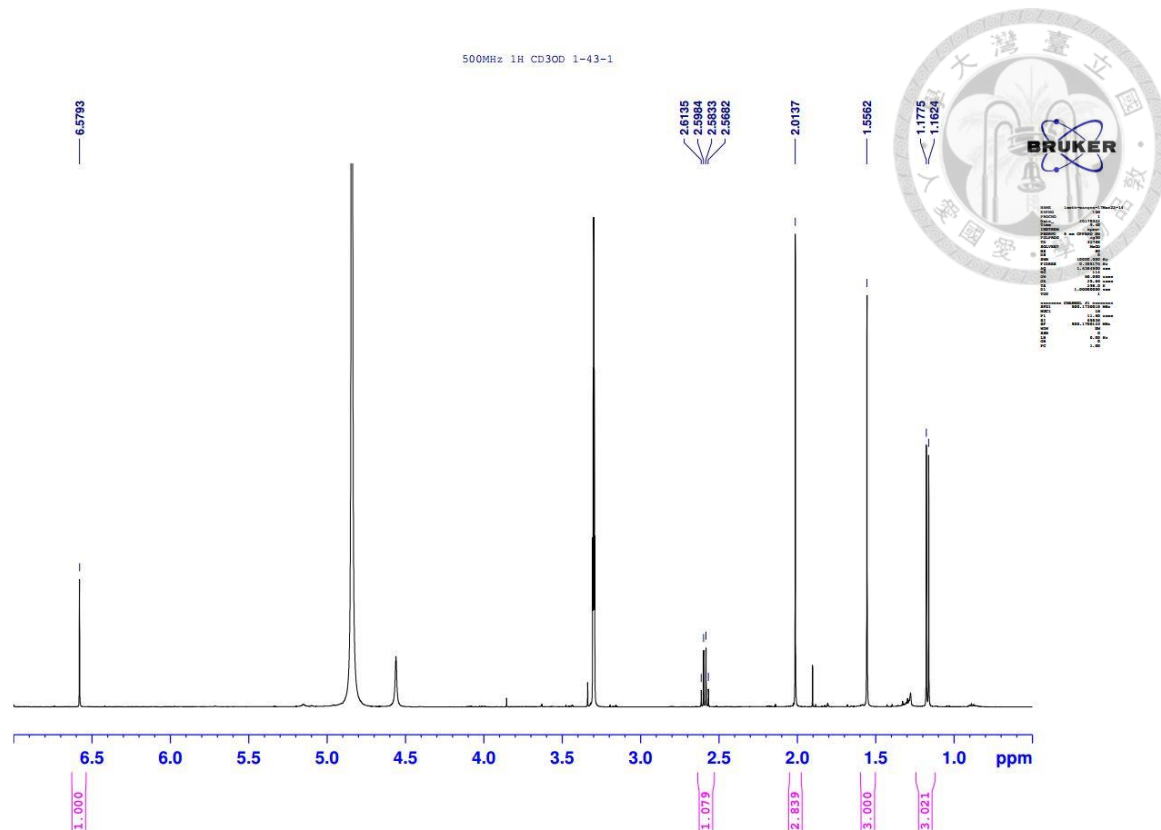


Fig. 3.17 化合物 3 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz)。

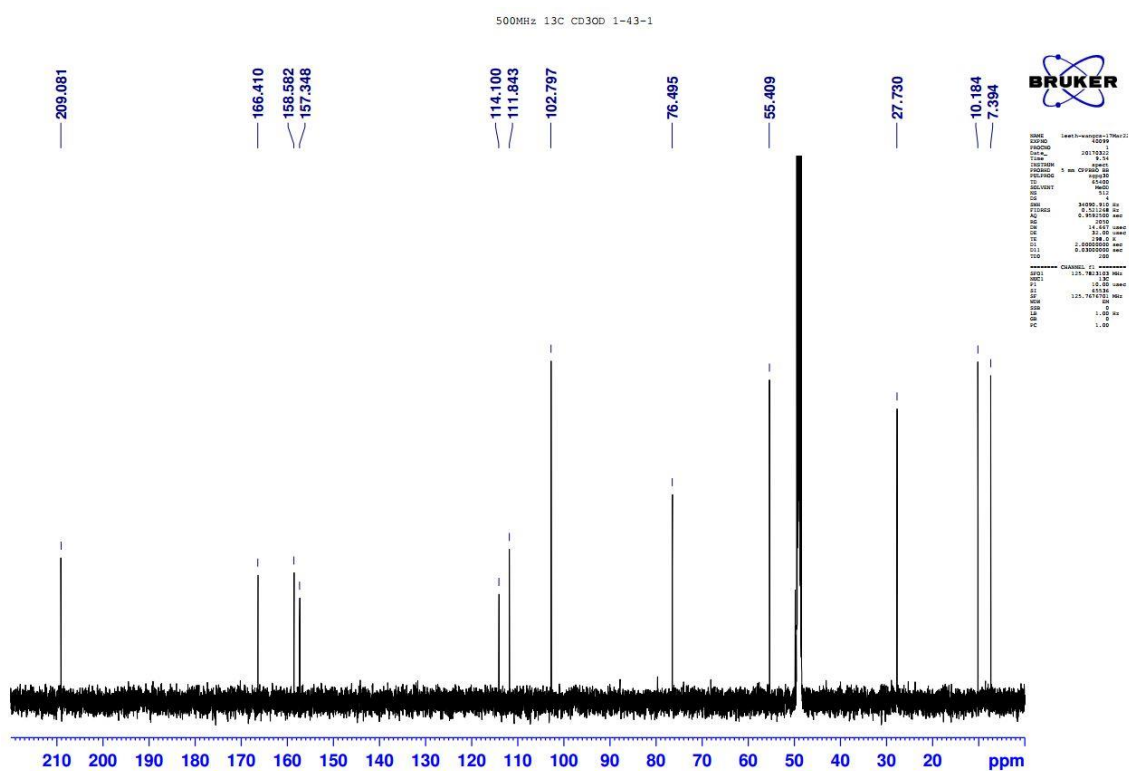


Fig. 3.18 化合物 3 之碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz)。



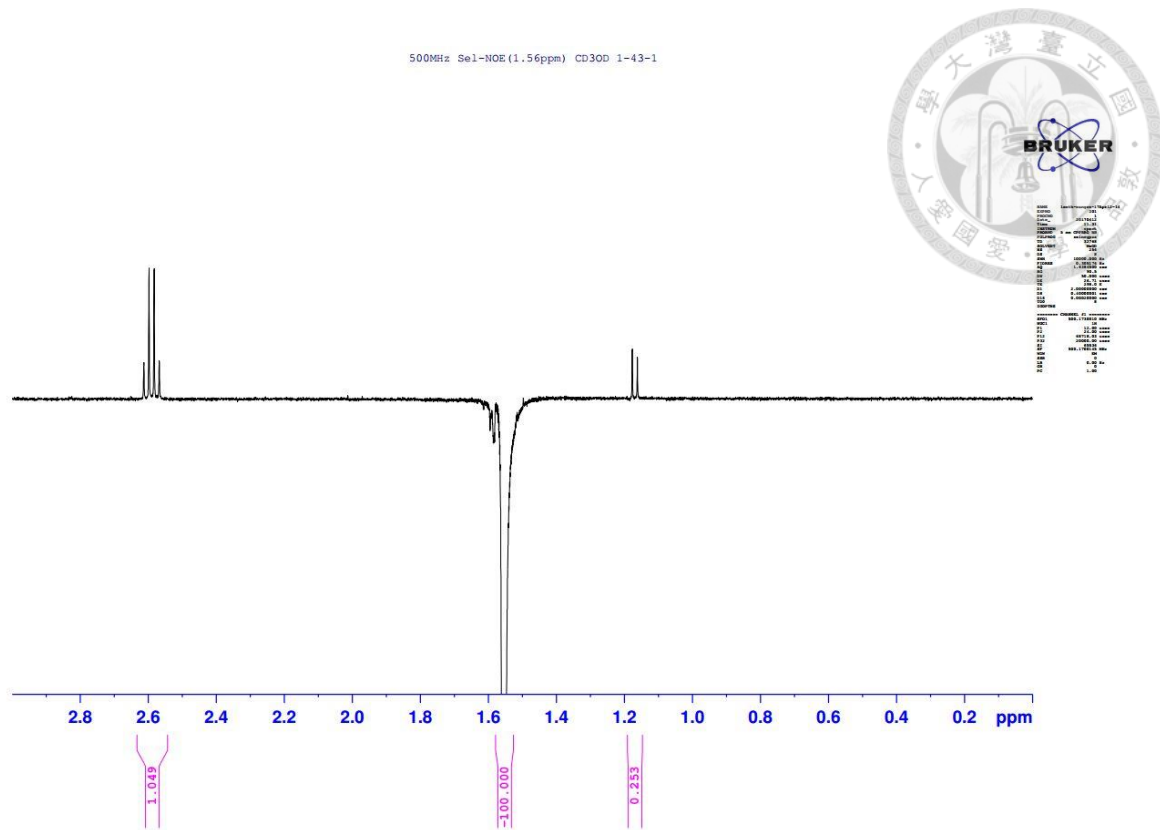


Fig. 3.21 化合物 3 之 1D Selective NOESY 圖譜之一。

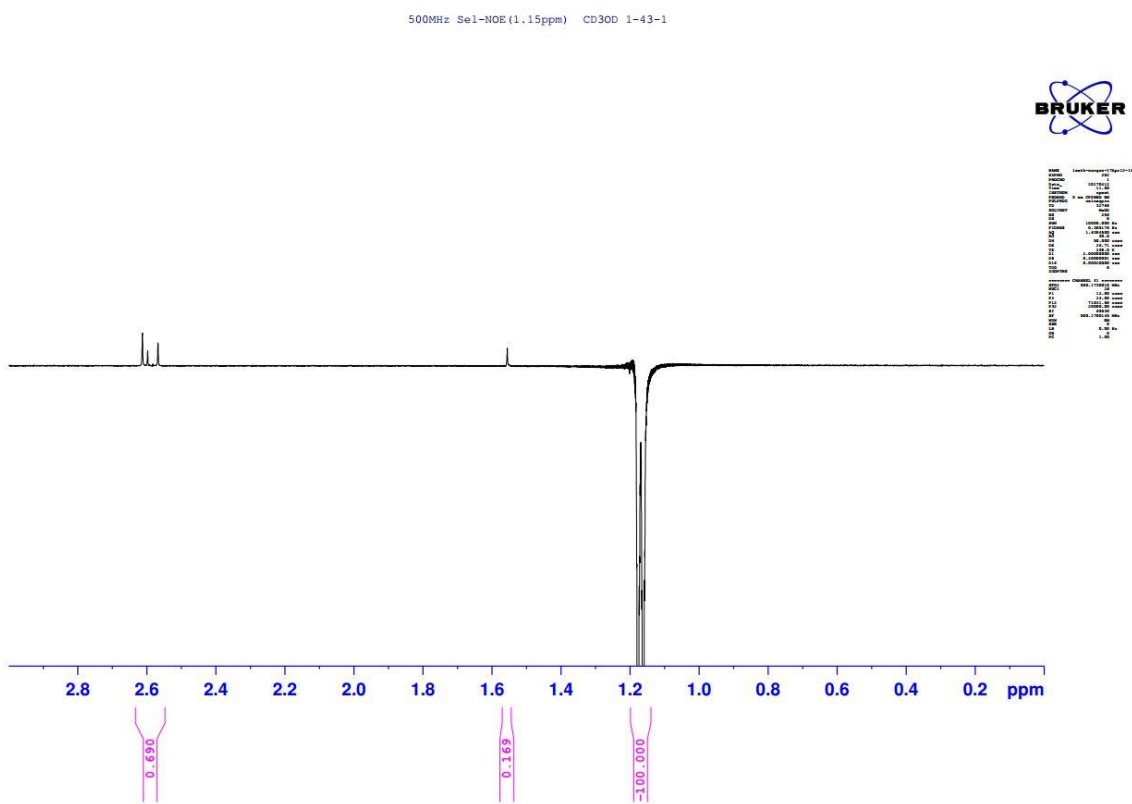
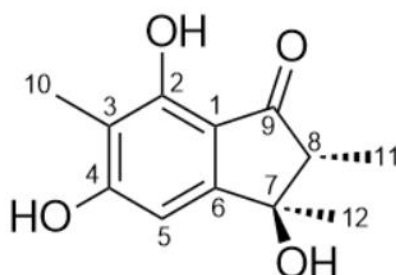


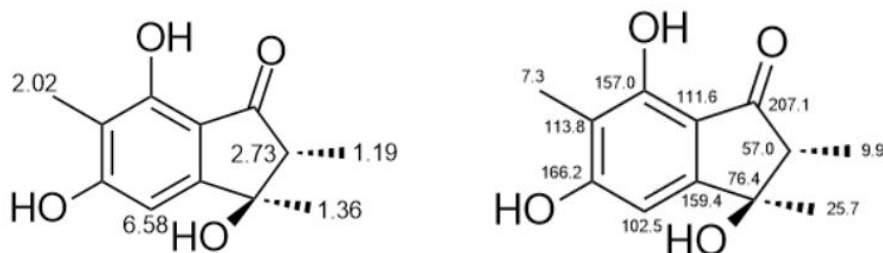
Fig. 3.22 化合物 3 之 1D Selective NOESY 圖譜之二。



### 3.2.4 Unguisine B (4) 之結構解析

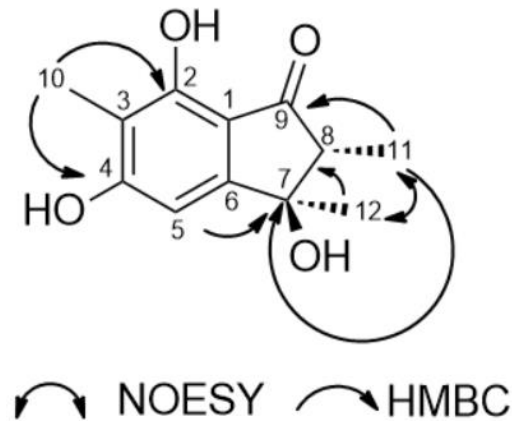


化合物 4 為無色油狀。高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其  $[M + H]^+$  離子峰  $m/z$  223.0970 (calcd. for  $C_{12}H_{15}O_4$  223.0970)，推測分子式為  $C_{12}H_{14}O_4$  (Fig. 3.23)，紅外光譜 (IR) 顯示有苯環 ( $1495\text{ cm}^{-1}$ ) 和羥基 ( $3370\text{ cm}^{-1}$ ) 等官能基的存在 (Fig. 3.24)。

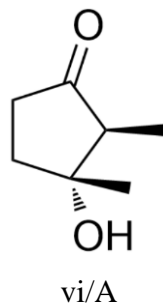


在氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz) (Fig. 3.25) 中，位於較高場的三个訊號  $\delta_H$  1.19 (3H, d,  $J = 7.5$ , H-11)、 $\delta_H$  1.36 (3H, s, H-12)、 $\delta_H$  2.02 (3H, s, H-10) 推測為甲基質子訊號； $\delta_H$  2.73 (1H, m, H-8) 推測為次甲基質子訊號； $\delta_H$  6.58 (1H, s, H-5) 推測為單取代之苯環上的質子訊號。

在碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz) (Fig. 3.26) 中顯示化合物 4 有 12 個碳，含有三個甲基訊號位於  $\delta_C$  7.3 (C-10)、 $\delta_C$  9.9 (C-11)、 $\delta_C$  25.7 (C-12)；一個次甲基訊號位於  $\delta_C$  57.0 (C-8)；七個四級碳訊號位於  $\delta_C$  76.4 (C-7)、 $\delta_C$  111.6 (C-1)、 $\delta_C$  113.8 (C-3)、 $\delta_C$  157.0 (C-2)、 $\delta_C$  159.4 (C-6)、 $\delta_C$  166.2 (C-4)、 $\delta_C$  207.1 (C-9)。其中  $\delta_C$  102.5 (C-5)、 $\delta_C$  111.6 (C-1)、 $\delta_C$  113.8 (C-3)、 $\delta_C$  157.0 (C-2)、 $\delta_C$  159.4 (C-6)、 $\delta_C$  166.2 (C-4) 推測為苯環訊號。其中  $\delta_C$  157.0 (C-2) 和  $\delta_C$  166.2 (C-4) 配合紅外光譜 ( $1644\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為為苯環上接有羥基的碳。



根據上述氫碳譜的初步判讀，配合 HSQC (Fig. 3.27) 和 HMBC (Fig. 3.29) 相關訊號，H<sub>3</sub>-10/C-2、-4 及 H-5/C-7 及 H<sub>2</sub>-2/C-2 及 H<sub>3</sub>-12/C-8 和 H<sub>3</sub>-11/C-9、-7，由此可推測化合物 **13** 的結構為兩個羥基分別位於苯環的 C-2 和 C-4 上，C-10 甲基位於苯環的 C-3 上，一個酮基位於 C-9 上。



化合物 **4** 的相對立體位向，藉由 1D Selective NOESY (Fig. 3.30, Fig. 3.31) 圖譜解析的結果顯示，H<sub>3</sub>-12/H-8 沒有 1D Selective NOESY 的相關訊號，但 H<sub>3</sub>-11/H<sub>3</sub>-12 和 H<sub>3</sub>-12/H<sub>3</sub>-11 有相關的訊號，可推測 H<sub>3</sub>-12 甲基和 H<sub>3</sub>-11 甲基為 *cis* 結構。在絕對立體的部分藉由旋光度比對文獻<sup>[91]</sup>而得知 vi/A 的旋光度為  $[\alpha] = +29^\circ$  (c 5.4, CCl<sub>4</sub>)，而化合物 **4** 的旋光度為  $[\alpha]^{26}_D = -1.5^\circ$  (c 0.1, MeOH)，文獻與化合物 **4** 的旋光度接為負值，而 vi/A 的旋光度為正值，由此可以確定化合物 **4** 的 H<sub>3</sub>-11 為  $\alpha$ -form 甲基，H<sub>3</sub>-12 為  $\alpha$ -form 甲基。

綜合以上數據，化合物 **4** 之結構得以確認，並命名為 Unguisine B，為過去未曾報導過的新化合物。

WCS1-43-2 #220 RT: 0.49 AV: 1 NL: 7.06E4  
 T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-700.00]

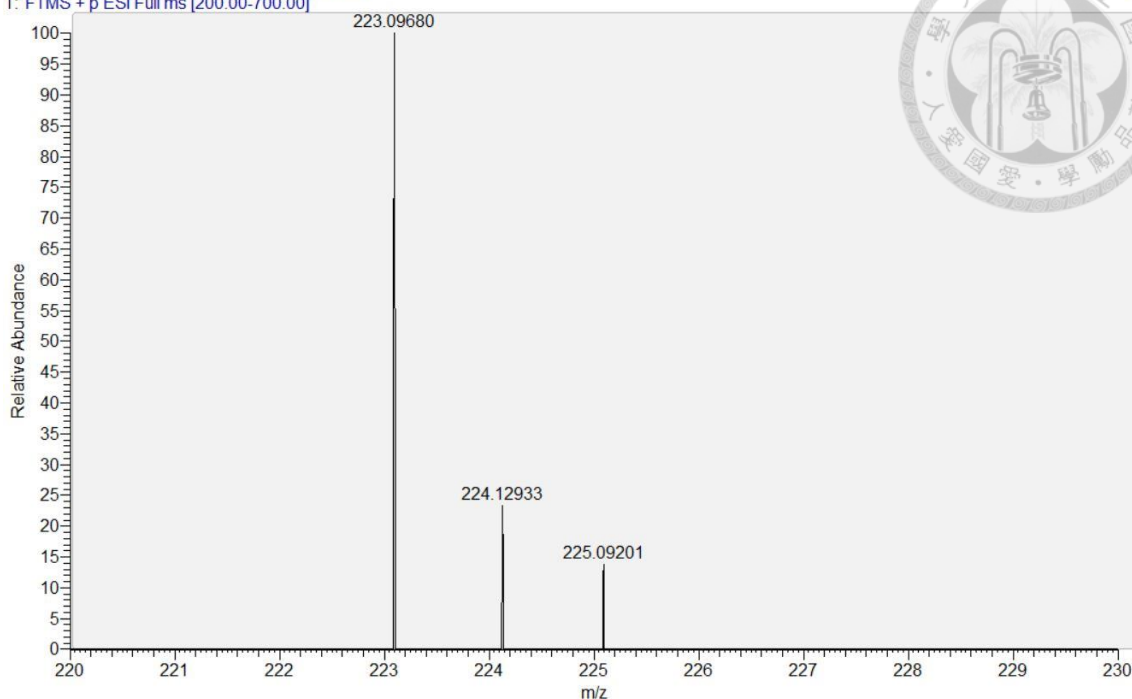


Fig. 3.23 化合物 4 之高解析電灑游離質譜。

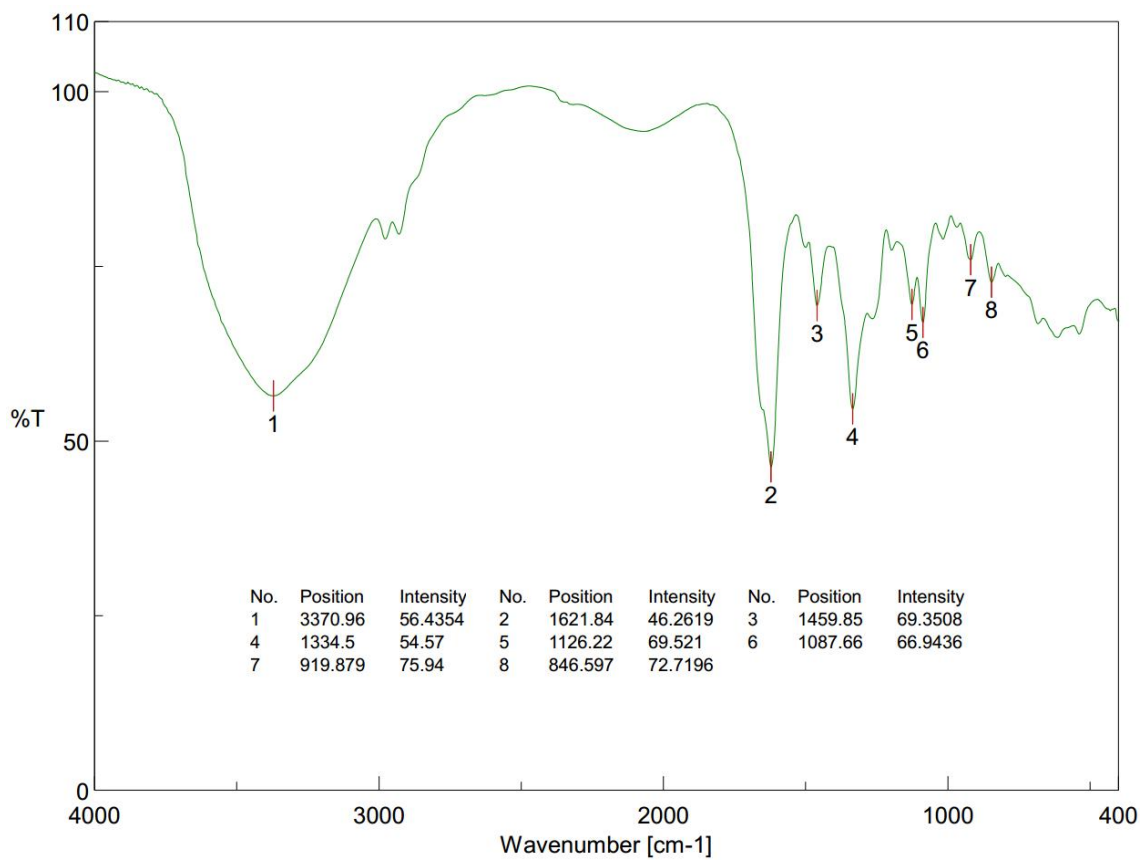


Fig. 3.24 化合物 4 之紅外光譜。



500MHz HSQC CD3OD 1-43-2

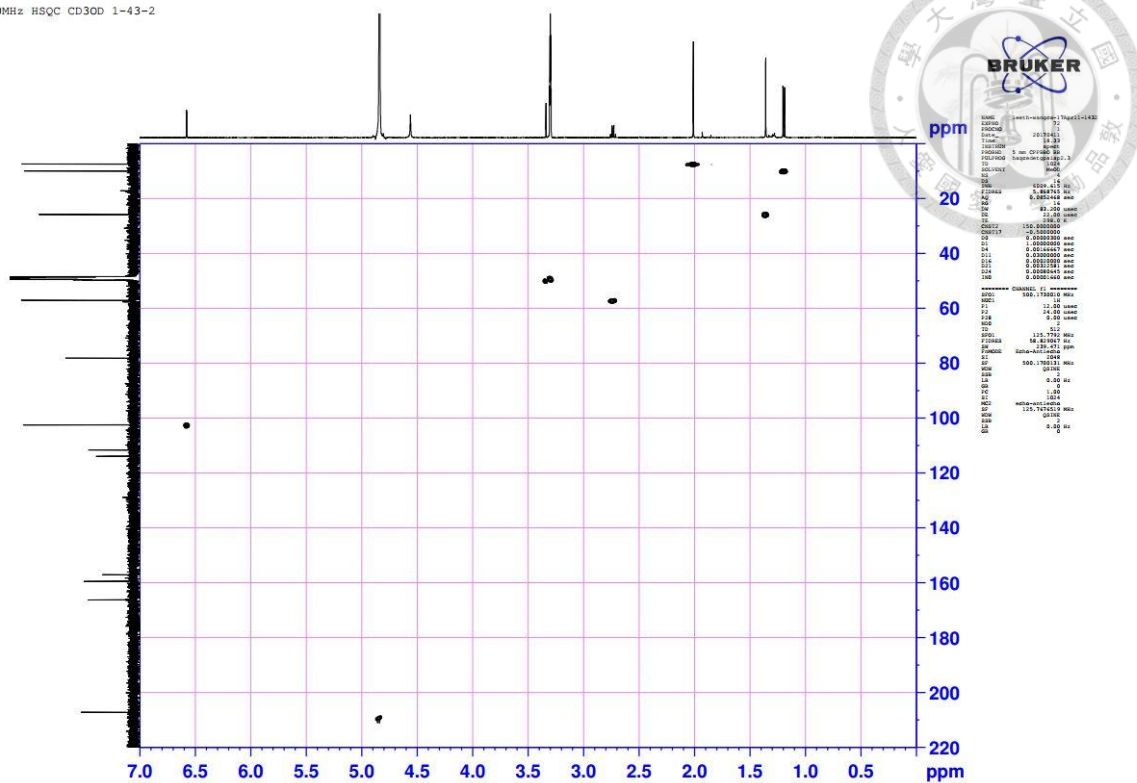


Fig. 3.27 化合物 4 之 HSQC 圖譜。

500MHz COSY CD3OD 1-43-2

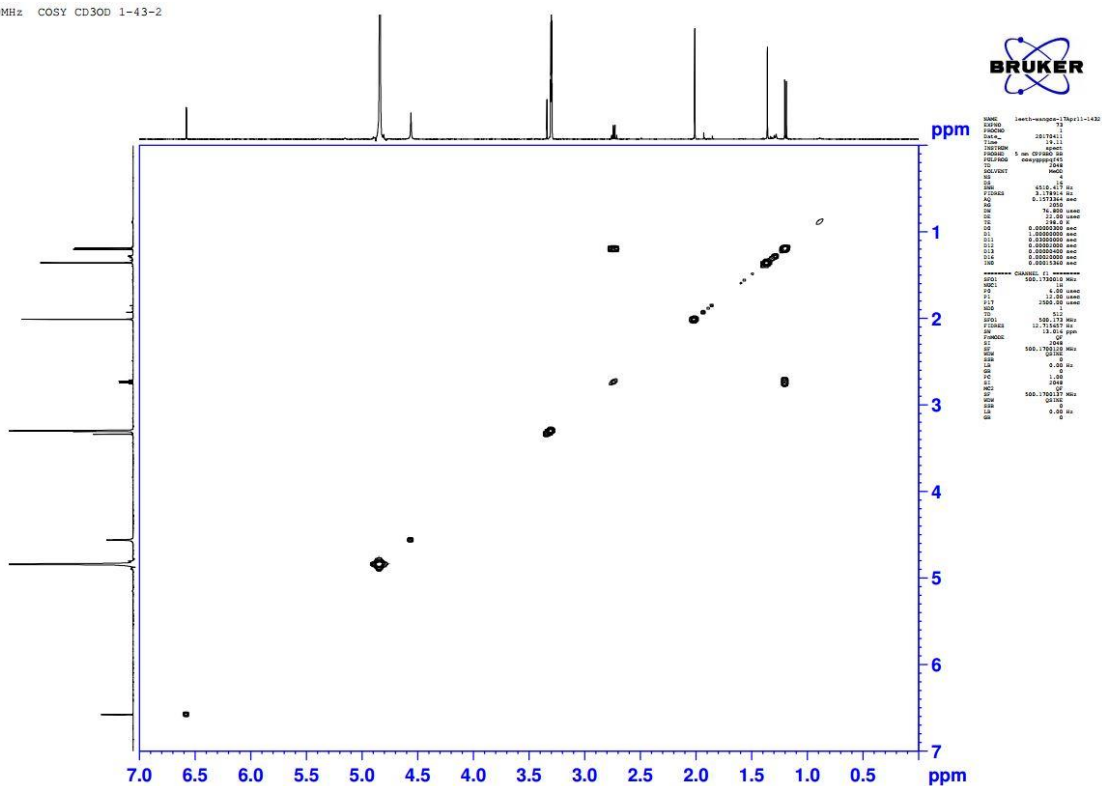


Fig. 3.28 化合物 4 之 COSY 圖譜。

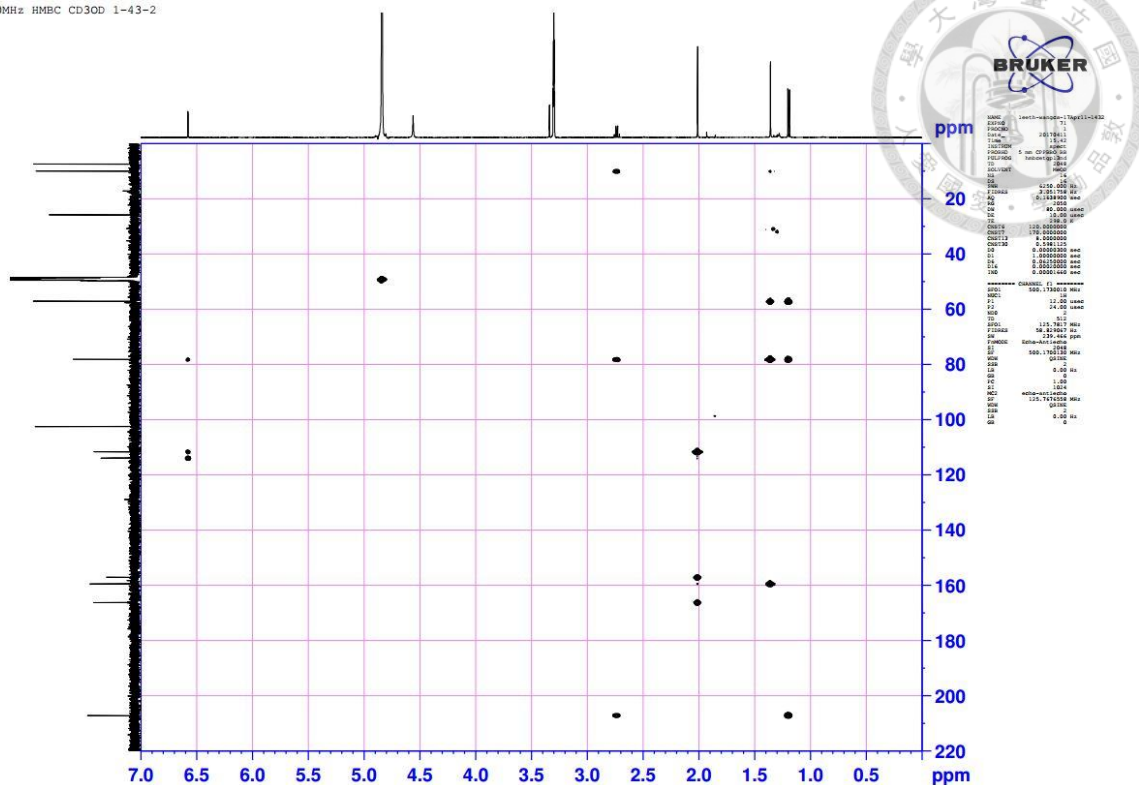


Fig. 3.29 化合物 4 之 HMBC 圖譜。

500MHz Sel-NOE (1.36ppm) CD3OD 1-43-2

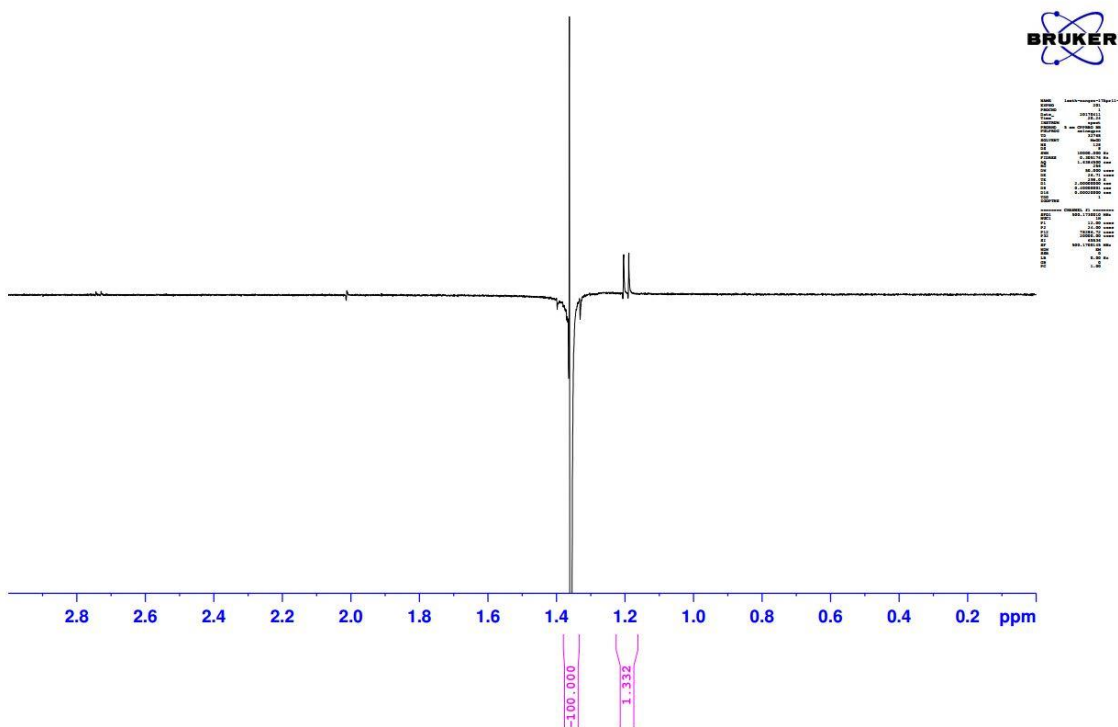
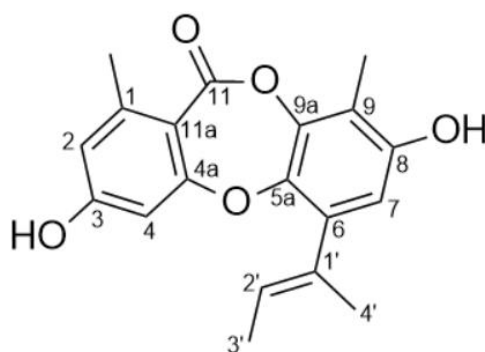


Fig. 3.30 化合物 4 之 1D Selective NOESY 圖譜之一。

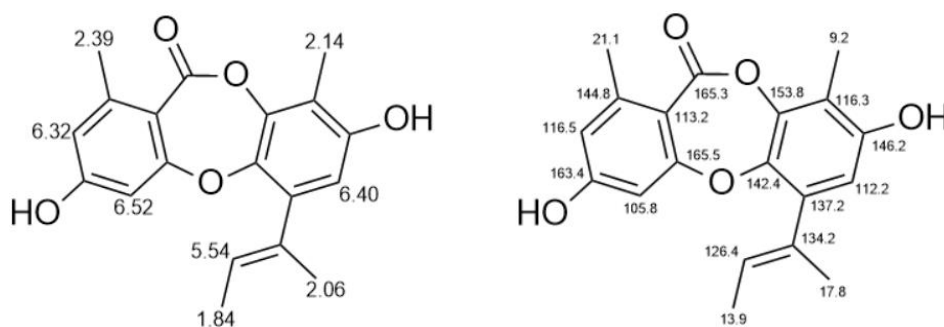




### 3.2.5 Unguinol (5) 之結構解析



化合物 **5** 為白色粉狀。高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其  $[M + H]^+$  離子峰  $m/z$  327.1228 (calcd. for  $C_{19}H_{19}O_5$  327.1232)，推測分子式為  $C_{19}H_{18}O_5$  (Fig. 3.32)，紅外光譜 (IR) 顯示有羧酸基 ( $1699\text{ cm}^{-1}$ ) 和羥基 ( $3381\text{ cm}^{-1}$ ) 等官能基的存在 (Fig. 3.33)。



在氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz) (Fig. 3.34) 中，位於較高場的四個訊號  $\delta_H$  1.84 (3H, d,  $J = 5.8$ , H-3')、 $\delta_H$  2.05 (3H, s, H-4')、 $\delta_H$  2.14 (3H, s, H-9-Me)、 $\delta_H$  2.39 (3H, s, H-1-Me) 推測為甲基質子訊號； $\delta_H$  5.54 (1H, br q,  $J = 6.8$ , H-2') 推測為雙鍵之次甲基質子訊號； $\delta_H$  6.32 (1H, d,  $J = 2.3$ , H-2)、 $\delta_H$  6.52 (1H, d,  $J = 2.3$ , H-4) 推測為 1,3-雙取代之苯環上的質子訊號； $\delta_H$  6.40 (1H, s, H-7) 推測為單取代之苯環上的質子訊號。

在碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz) (Fig. 3.35) 中顯示化合物 **5** 有 19 個碳，含有四個甲基訊號位於  $\delta_C$  9.2 (C-9-Me)、 $\delta_C$  13.9 (C-3')、 $\delta_C$  17.8 (C-4')、 $\delta_C$  21.1 (C-1-Me)；四個次甲基訊號位於  $\delta_C$  105.8 (C-4)、 $\delta_C$  112.2 (C-7)、 $\delta_C$  116.5 (C-2)、 $\delta_C$  126.4 (C-2')；十一個四級碳訊號位於  $\delta_C$  113.2 (C-11a)、 $\delta_C$  116.3 (C-9)、 $\delta_C$  134.2

(C-1')、 $\delta_C$  137.2 (C-6)、 $\delta_C$  142.4 (C-5a)、 $\delta_C$  144.8 (C-1)、 $\delta_C$  146.2 (C-8)、 $\delta_C$  153.8 (C-9a)、 $\delta_C$  163.4 (C-3)、 $\delta_C$  165.3 (C-11)、 $\delta_C$  165.5 (C-4a)。其中  $\delta_C$  105.8 (C-4)、 $\delta_C$  112.2 (C-7)、 $\delta_C$  113.2 (C-11a)、 $\delta_C$  116.3 (C-9)、 $\delta_C$  116.5 (C-2)、 $\delta_C$  126.4 (C-2')、 $\delta_C$  134.2 (C-1')、 $\delta_C$  137.2 (C-6)、 $\delta_C$  142.4 (C-5a)、 $\delta_C$  144.8 (C-1)、 $\delta_C$  146.2 (C-8)、 $\delta_C$  153.8 (C-9a)、 $\delta_C$  163.4 (C-3)、 $\delta_C$  165.5 (C-4a) 推測為七組雙鍵訊號。其中  $\delta_C$  163.4 (C-3) 和  $\delta_C$  146.2 (C-8) 配合紅外光譜 ( $3381\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為苯環上接有羥基的碳； $\delta_C$  165.3 (C-11) 配合紅外光譜 ( $1699\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為為苯環上接有羧酸基的碳。

經與文獻比對後，確認化合物 **5** 的結構為 Unguinol<sup>[92]</sup> 是屬已知化合物，綜合以上解析所得之數據詳列於 Table 6、Table 8。



1-29-2#10-34 RT: 0.04-0.15 AV: 25 NL: 3.31E7  
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-700.00]

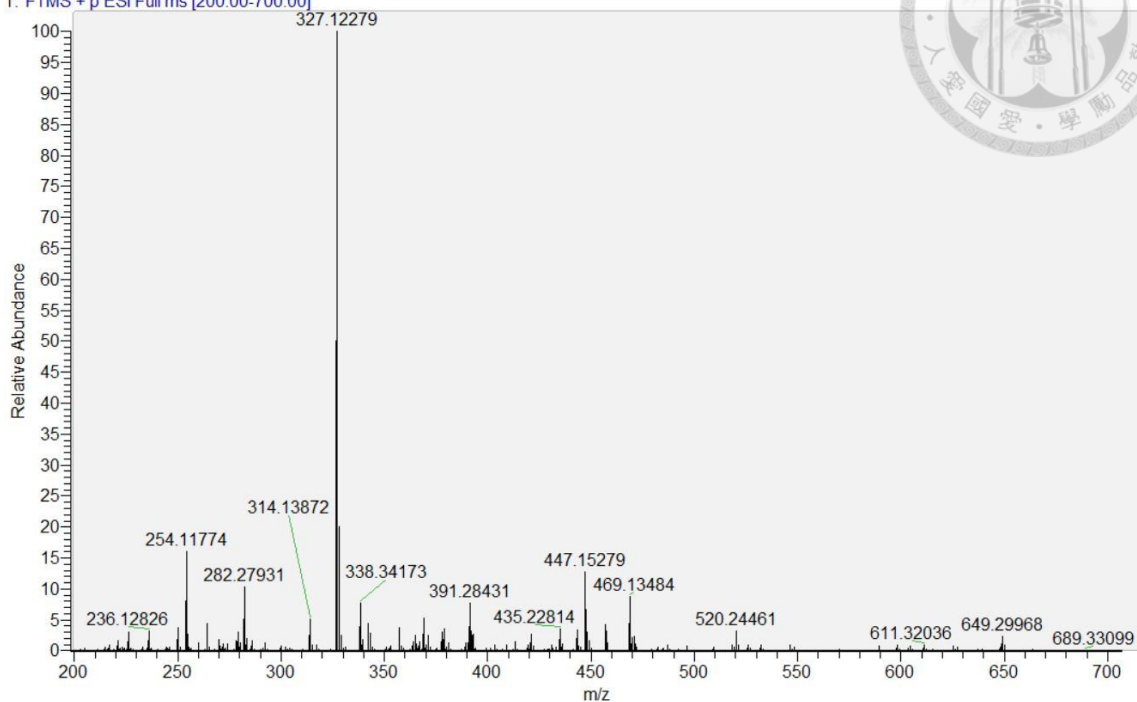


Fig. 3.32 化合物 5 之高解析電灑游離質譜。

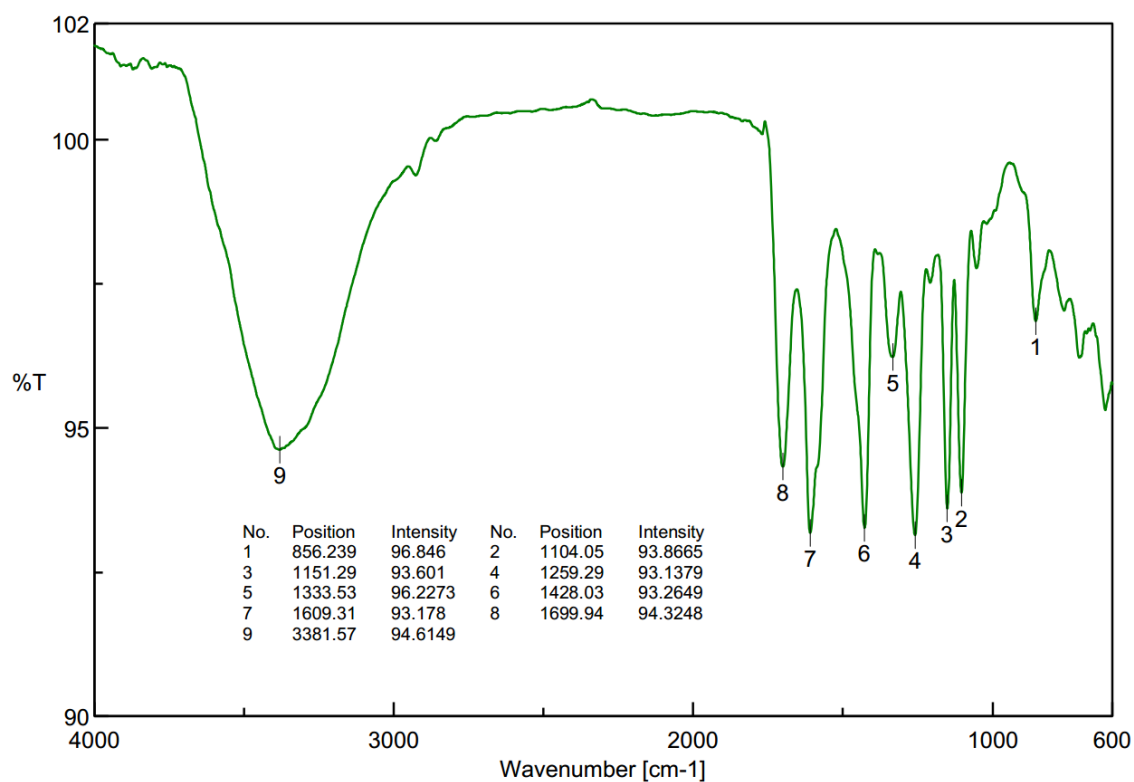


Fig. 3.33 化合物 5 之紅外光譜。

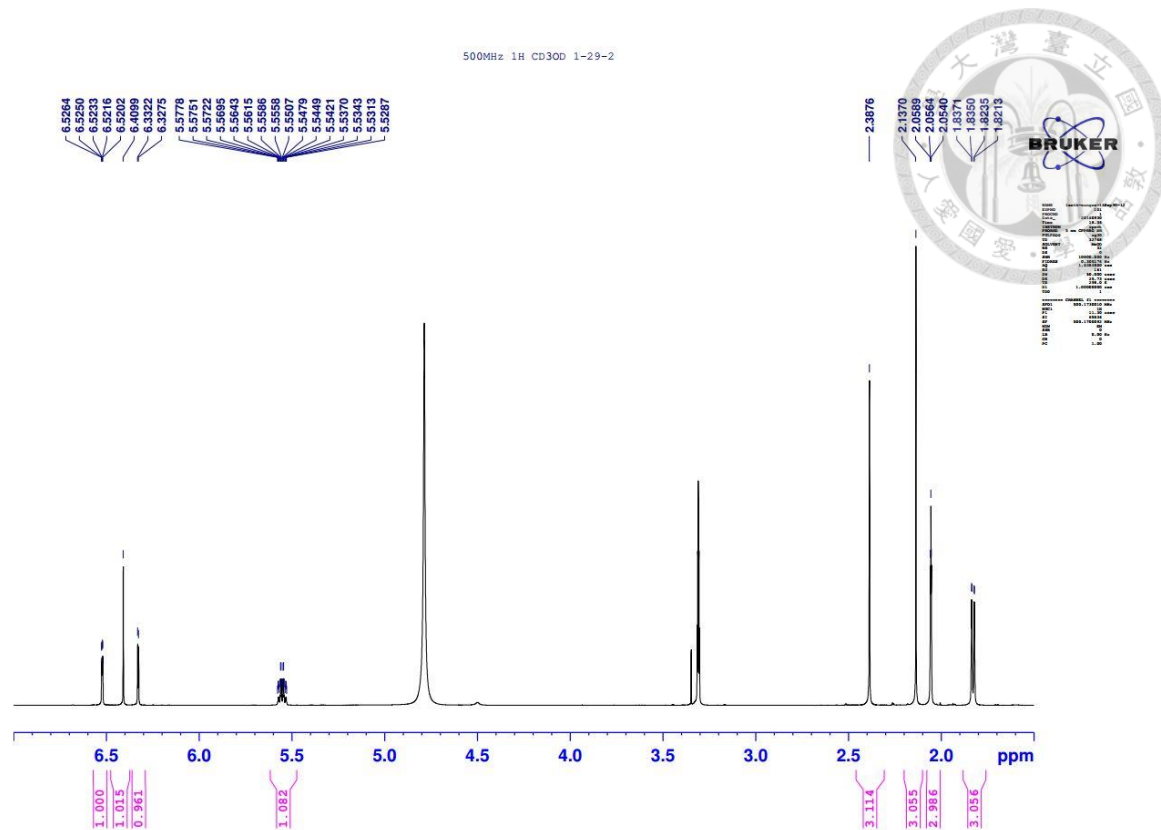


Fig. 3.34 化合物 5 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz)。

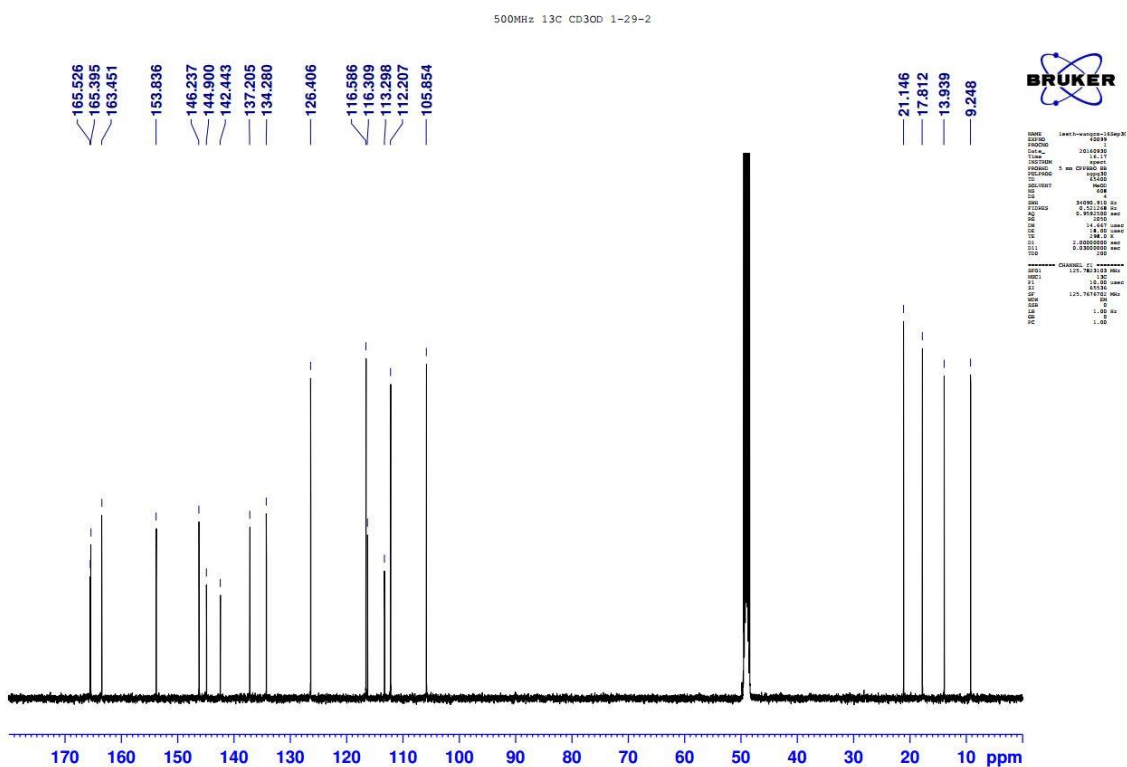
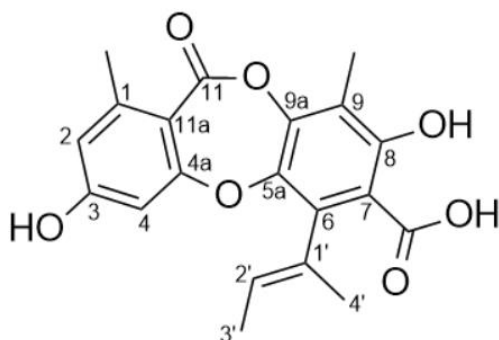


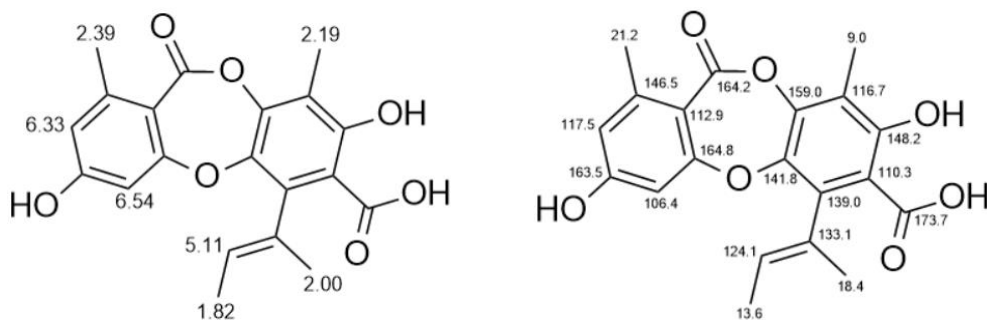
Fig. 3.35 化合物 5 之碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz)。



### 3.2.6 Aspergillusidone A (6) 之結構解析



化合物 **6** 為無色油狀。高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其  $[M + H]^+$  離子峰  $m/z$  371.1128 (calcd. for  $C_{20}H_{19}O_7$  371.1131), 推測分子式為  $C_{20}H_{18}O_7$  (Fig. 3.36), 紅外光譜 (IR) 顯示有羧酸基 ( $2974\text{ cm}^{-1}$ ) 和羥基 ( $3619\text{ cm}^{-1}$ ) 等官能基的存在 (Fig. 3.37)。



在氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz) (Fig. 3.38) 中, 位於較高場的四個訊號  $\delta_H$  1.84 (3H, d,  $J = 5.6$ , H-3')、 $\delta_H$  2.05 (3H, s, H-4')、 $\delta_H$  2.14 (3H, s, H-9-Me)、 $\delta_H$  2.39 (3H, s, H-1-Me) 推測為甲基質子訊號;  $\delta_H$  5.54 (1H, br q,  $J = 6.5$ , H-2') 推測為雙鍵之次甲基質子訊號;  $\delta_H$  6.33 (1H, d,  $J = 2.4$ , H-2)、 $\delta_H$  6.52 (1H, d,  $J = 2.3$ , H-4) 推測為 1,3-雙取代之苯環上的質子訊號。

在碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz) (Fig. 3.39) 中顯示化合物 **6** 有 20 個碳, 含有四個甲基訊號位於  $\delta_C$  9.0 (C-9-Me)、 $\delta_C$  13.6 (C-3')、 $\delta_C$  18.4 (C-4')、 $\delta_C$  21.1 (C-1-Me); 三個次甲基訊號位於  $\delta_C$  106.4 (C-4)、 $\delta_C$  117.5 (C-2)、 $\delta_C$  124.1 (C-2'); 十三個四級碳訊號位於  $\delta_C$  112.9 (C-11a)、 $\delta_C$  116.7 (C-9)、 $\delta_C$  133.1 (C-1')、 $\delta_C$  110.3 (C-7)、 $\delta_C$  139.0 (C-6)、 $\delta_C$  140.5 (C-5a)、 $\delta_C$  146.5 (C-1)、 $\delta_C$  148.2 (C-8)、 $\delta_C$  159.0 (C-9a)、 $\delta_C$  163.5 (C-3)、 $\delta_C$  164.2 (C-11)、 $\delta_C$  164.8 (C-4a)、 $\delta_C$  173.7 (C-7-COOH)。

其中 $\delta_C$  106.4 (C-4)、 $\delta_C$  110.3 (C-7)、 $\delta_C$  112.9 (C-11a)、 $\delta_C$  116.7 (C-9)、 $\delta_C$  117.5 (C-2)、 $\delta_C$  124.1 (C-2')、 $\delta_C$  133.1 (C-1')、 $\delta_C$  139.0 (C-6)、 $\delta_C$  141.8 (C-5a)、 $\delta_C$  146.5 (C-1)、 $\delta_C$  148.2 (C-8)、 $\delta_C$  159.0 (C-9a)、 $\delta_C$  163.5 (C-3)、 $\delta_C$  164.8 (C-4a) 推測為七組雙鍵訊號。其中  $\delta_C$  163.5 (C-3) 和  $\delta_C$  148.2 (C-8) 配合紅外光譜 ( $3608\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為苯環上接有羥基的碳； $\delta_C$  164.2 (C-11) 和  $\delta_C$  173.7 (C-7-COOH) 配合紅外光譜 ( $1707\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為為苯環上接有羧酸基的碳。

經與文獻比對後，確認化合物 **6** 的結構為 Aspergillusidone A<sup>[93]</sup> 是屬已知化合物，綜合以上解析所得之數據詳列於 Table 6、Table 8。



1-29-3 #9-33 RT: 0.04-0.14 AV: 25 NL: 2.62E7  
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-700.00]

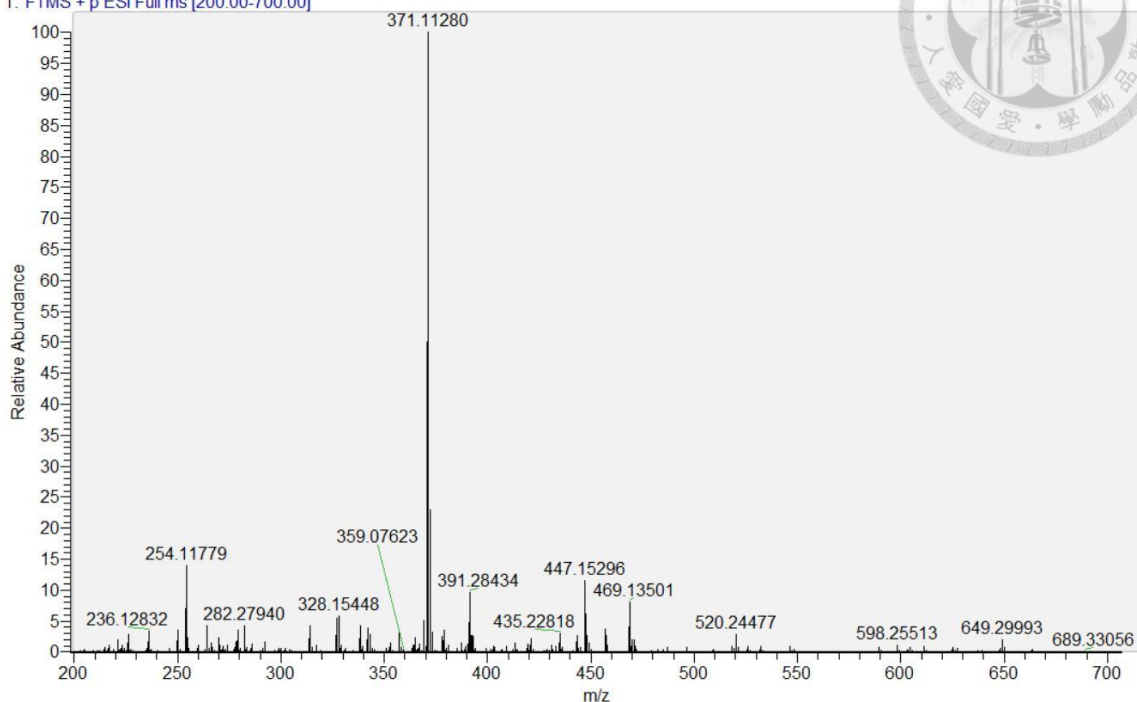


Fig. 3.36 化合物 **6** 之高解析電灑游離質譜。

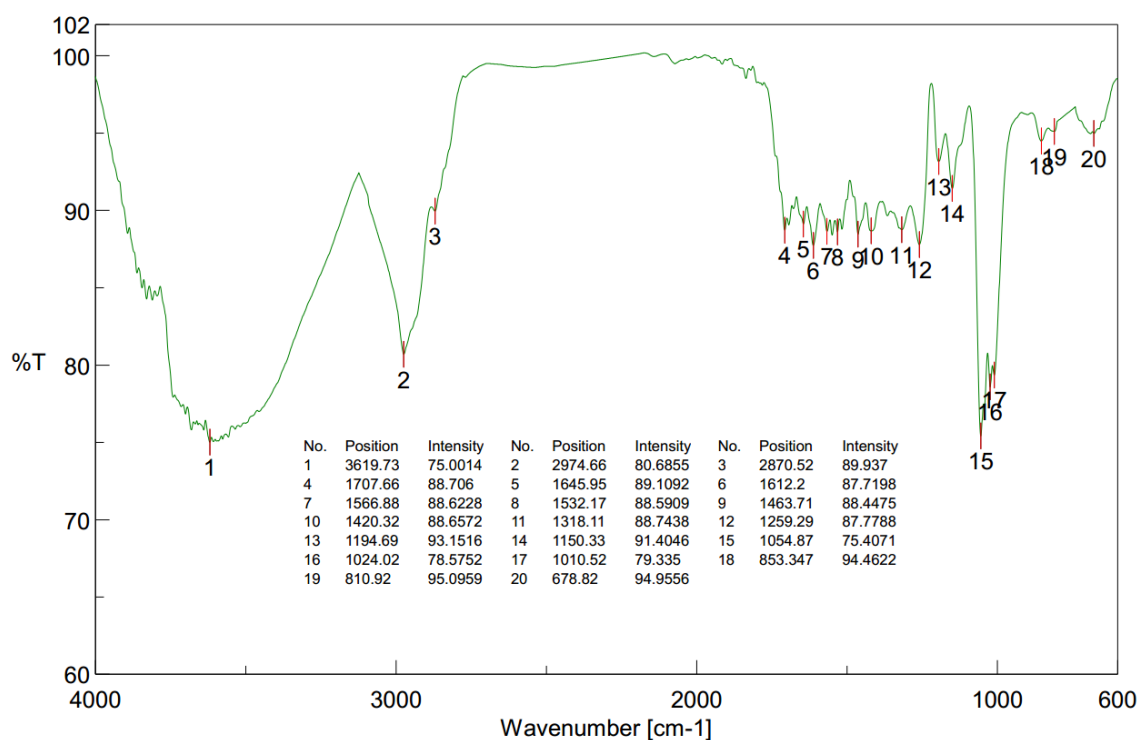
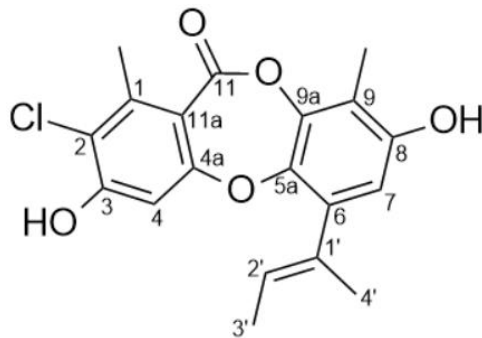


Fig. 3.37 化合物 **6** 之紅外光譜。

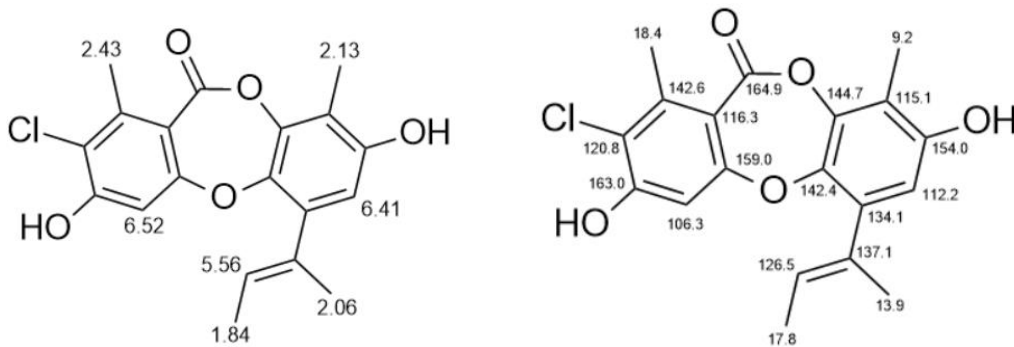




### 3.2.7 2-Chlorounguinol (7) 之結構解析



化合物 **7** 為無色油狀。高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其  $[M + H]^+$  離子峰  $m/z$  361.0837 (calcd. for  $C_{19}H_{18}ClO_5$  361.0843), 推測分子式為  $C_{19}H_{17}ClO_5$  (Fig. 3.40), 紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 ( $3443\text{ cm}^{-1}$ ) 等官能基的存在 (Fig. 3.41)。



在氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz) (Fig. 3.42) 中, 位於較高場的四個訊號  $\delta_H$  1.84 (3H, d,  $J = 5.8$ , H-3')、 $\delta_H$  2.06 (3H, s, H-4')、 $\delta_H$  2.13 (3H, s, H-9-Me)、 $\delta_H$  2.45 (3H, s, H-1-Me) 推測為甲基質子訊號;  $\delta_H$  5.56 (1H, br q,  $J = 6.8$ , H-2') 推測為雙鍵之次甲基質子訊號;  $\delta_H$  6.41 (1H, s, H-7) 和  $\delta_H$  6.52 (1H, s, H-4) 推測為單取代之苯環上的質子訊號。

在碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz) (Fig. 3.43) 中顯示化合物 **7** 有 19 個碳, 含有四個甲基訊號位於  $\delta_C$  9.2 (C-9-Me)、 $\delta_C$  13.9 (C-3')、 $\delta_C$  17.8 (C-4')、 $\delta_C$  18.4 (C-1-Me); 三個次甲基訊號位於  $\delta_C$  106.3 (C-4)、 $\delta_C$  112.2 (C-7)、 $\delta_C$  126.5 (C-2'); 十二個四級碳訊號位於  $\delta_C$  116.3 (C-11a)、 $\delta_C$  115.1 (C-9)、 $\delta_C$  120.8 (C-2)、 $\delta_C$  134.1 (C-6)、 $\delta_C$  137.1 (C-1')、 $\delta_C$  141.4 (C-5a)、 $\delta_C$  142.6 (C-1)、 $\delta_C$  154.0 (C-8)、 $\delta_C$  144.7

(C-9a)、 $\delta_C$  163.0 (C-3)、 $\delta_C$  164.9 (C-11)、 $\delta_C$  159.0 (C-4a)。其中  $\delta_C$  106.3 (C-4)、 $\delta_C$  112.2 (C-7)、 $\delta_C$  115.1 (C-9)、 $\delta_C$  116.3 (C-11a)、 $\delta_C$  120.8 (C-2)、 $\delta_C$  126.5 (C-2')、 $\delta_C$  137.1 (C-1')、 $\delta_C$  134.1 (C-6)、 $\delta_C$  142.4 (C-5a)、 $\delta_C$  142.6 (C-1)、 $\delta_C$  144.7 (C-9a)、 $\delta_C$  154.0 (C-8)、 $\delta_C$  159.0 (C-4a)、 $\delta_C$  163.0 (C-3)、 $\delta_C$  164.9 (C-11) 推測為七組雙鍵訊號； $\delta_C$  120.8 (C-2) 推測為苯環上接有氯原子的碳。其中  $\delta_C$  161.4 (C-3) 和  $\delta_C$  154.0 (C-8) 配合紅外光譜 ( $3617\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為苯環上接有羥基的碳； $\delta_C$  164.9 (C-11) 配合紅外光譜 ( $1706\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為為苯環上接有羧酸基的碳。

經與文獻比對後，確認化合物 **7** 的結構為 2-Chlorounguinol<sup>[92]</sup> 是屬已知化合物，綜合以上解析所得之數據詳列於 Table 6、Table 8。

1-29-4 #10-33 RT: 0.04-0.14 AV: 24 NL: 3.33E7  
 T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-700.00]

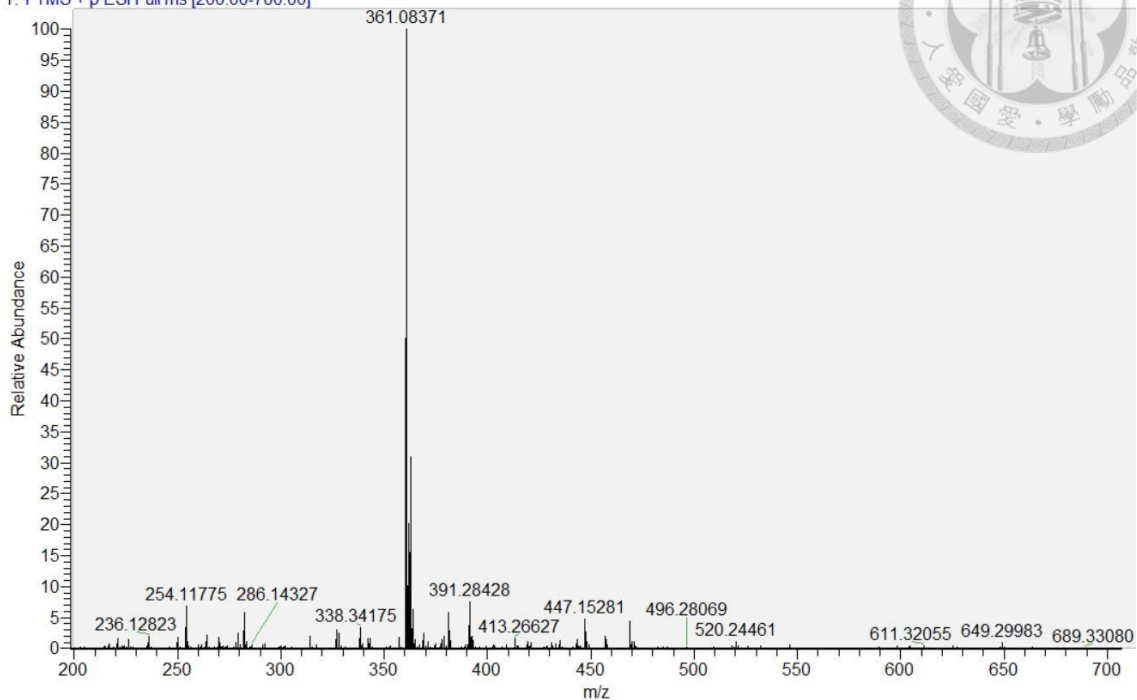


Fig. 3.40 化合物 7 之高解析電灑游離質譜。

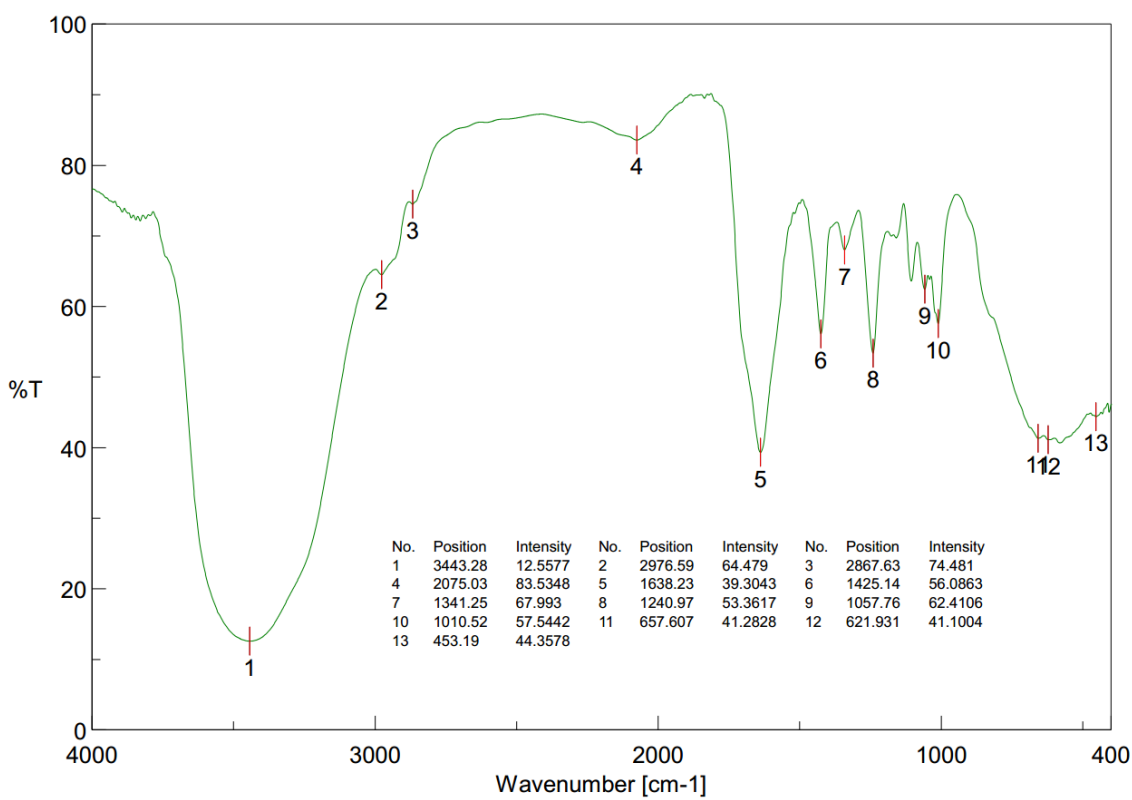


Fig. 3.41 化合物 7 之紅外光譜。

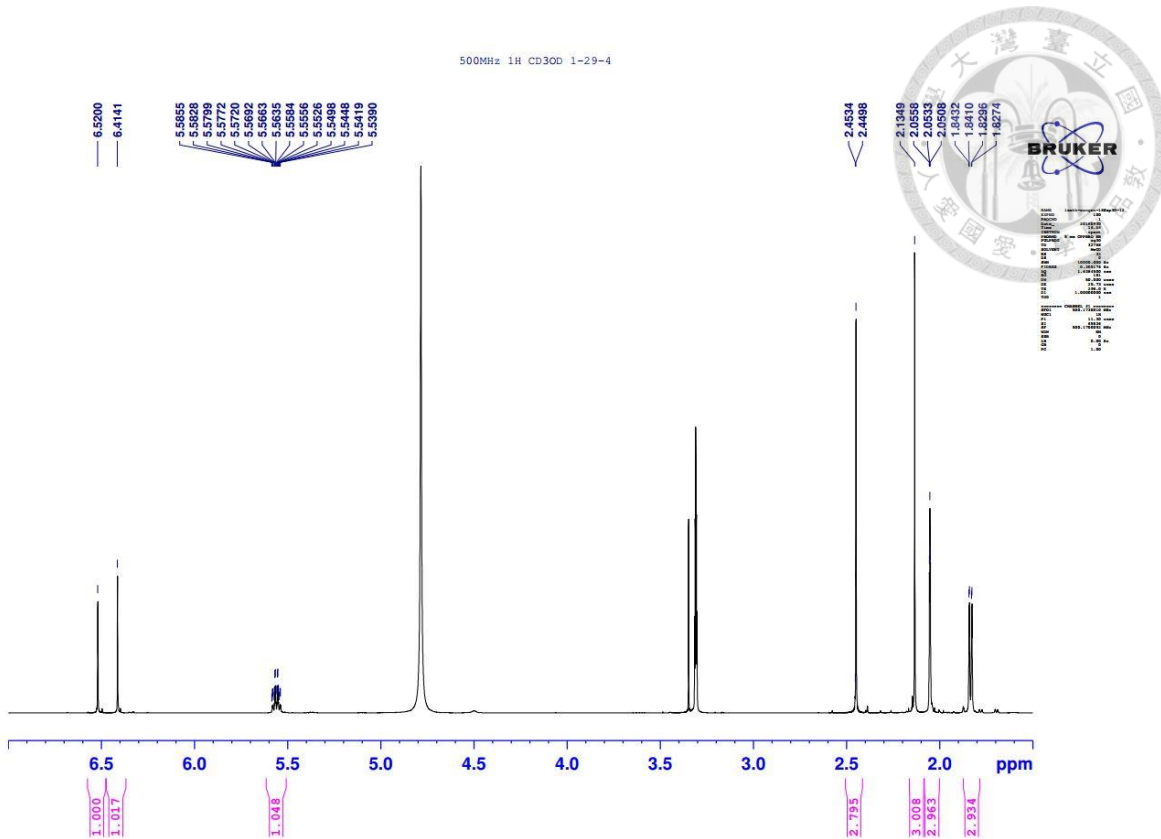


Fig. 3.42 化合物 7 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz)。

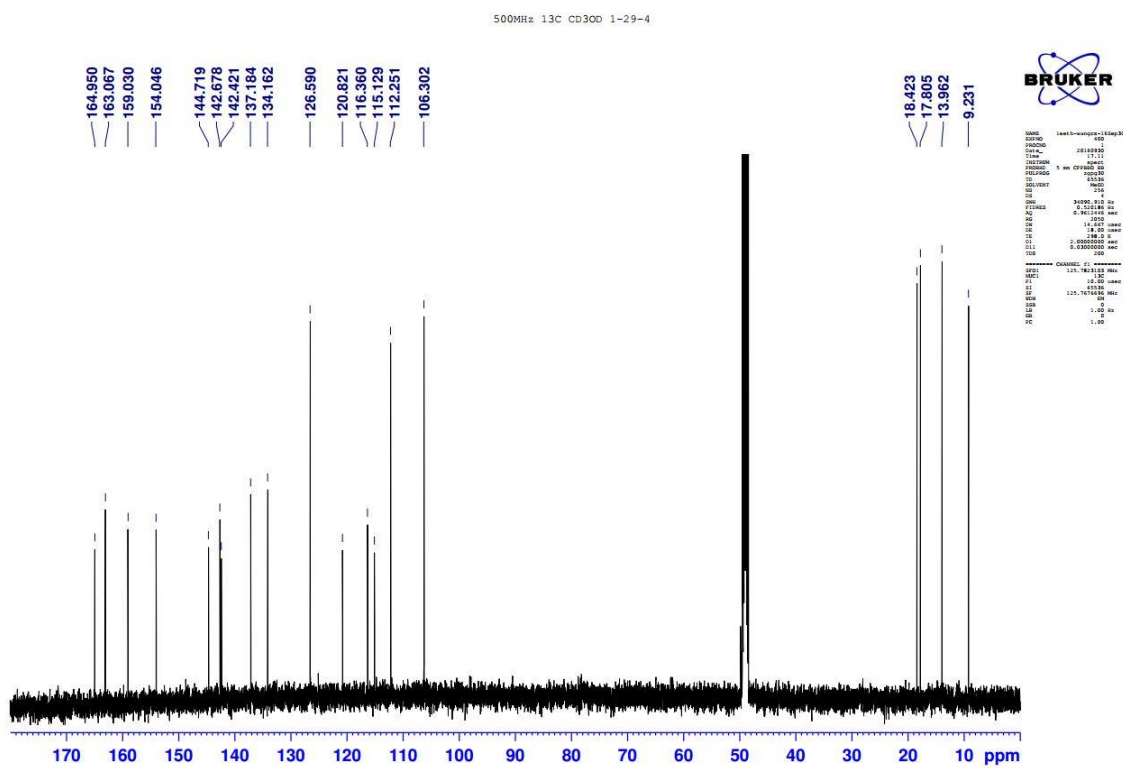
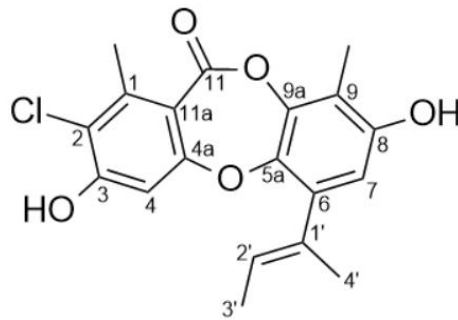


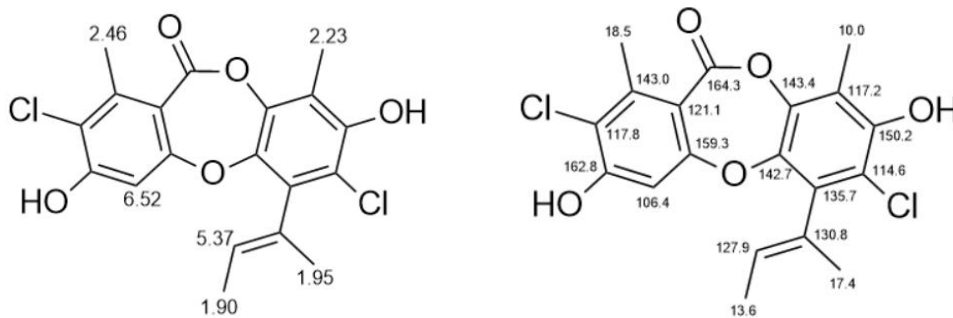
Fig. 3.43 化合物 7 之碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz)。



### 3.2.8 Aspergillusidone C (**8**) 之結構解析



化合物 **8** 為無色油狀。高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其  $[M + H]^+$  離子峰  $m/z$  395.0449 (calcd. for  $C_{19}H_{17}Cl_2O_5$  395.0453), 推測分子式為  $C_{19}H_{16}Cl_2O_5$  (Fig. 3.44), 紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 ( $3438\text{ cm}^{-1}$ ) 等官能基的存在 (Fig. 3.45)。



在氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz) (Fig. 3.46) 中, 位於較高場的四個訊號  $\delta_H$  1.90 (3H, d,  $J = 6.9$ , H-3')、 $\delta_H$  1.95 (3H, s, H-4')、 $\delta_H$  2.23 (3H, s, H-9-Me)、 $\delta_H$  2.46 (3H, s, H-1-Me) 推測為甲基質子訊號;  $\delta_H$  5.37 (1H, br q,  $J = 6.6$ , H-2') 推測為雙鍵之次甲基質子訊號;  $\delta_H$  6.52 (1H, s, H-4) 推測為單取代之苯環上的質子訊號。

在碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz) (Fig. 3.47) 中顯示化合 **8** 有 19 個碳, 含有四個甲基訊號位於  $\delta_C$  10.0 (C-9-Me)、 $\delta_C$  13.6 (C-3')、 $\delta_C$  17.4 (C-4')、 $\delta_C$  18.5 (C-1-Me); 兩個次甲基訊號位於  $\delta_C$  106.4 (C-4)、 $\delta_C$  127.9 (C-2'); 十三個四級碳訊號位於  $\delta_C$  115.8 (C-2)、 $\delta_C$  114.6 (C-7)、 $\delta_C$  117.2 (C-9)、 $\delta_C$  121.1 (C-11a)、 $\delta_C$  130.8 (C-1')、 $\delta_C$  135.7 (C-6)、 $\delta_C$  142.7 (C-5a)、 $\delta_C$  143.0 (C-1)、 $\delta_C$  143.4 (C-9a)、 $\delta_C$  150.2 (C-8)、 $\delta_C$  162.8 (C-3)、 $\delta_C$  164.3 (C-11)、 $\delta_C$  159.3 (C-4a)。其中  $\delta_C$  106.4 (C-4)、 $\delta_C$  114.6 (C-7)、 $\delta_C$  115.8 (C-2)、 $\delta_C$  117.2 (C-9)、 $\delta_C$  121.1 (C-11a)、 $\delta_C$  127.9 (C-2')、 $\delta_C$  130.8 (C-1')、 $\delta_C$  135.7

(C-6)、 $\delta_C$  142.7 (C-5a)、 $\delta_C$  143.0 (C-1)、 $\delta_C$  143.4 (C-9a)、 $\delta_C$  150.2 (C-8)、 $\delta_C$  159.3 (C-4a)、 $\delta_C$  162.8 (C-3)、 $\delta_C$  164.3 (C-11) 推測為七組雙鍵訊號； $\delta_C$  120.8 (C-2) 和  $\delta_C$  114.6 (C-7) 推測為苯環上接有氯原子的碳。其中  $\delta_C$  150.2 (C-8) 和  $\delta_C$  162.8 (C-3) 配合紅外光譜 ( $3516\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為苯環上接有羥基的碳； $\delta_C$  164.3 (C-11) 配合紅外光譜 ( $1707\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為為苯環上接有羧酸基的碳。

經與文獻比對後，確認化合物 **8** 的結構為 Aspergillusidone C<sup>[93]</sup> 是屬已知化合物，綜合以上解析所得之數據詳列於 Table 6、Table 8。

1-29-5 #11-34 RT: 0.05-0.15 AV: 24 NL: 2.15E7  
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-700.00]

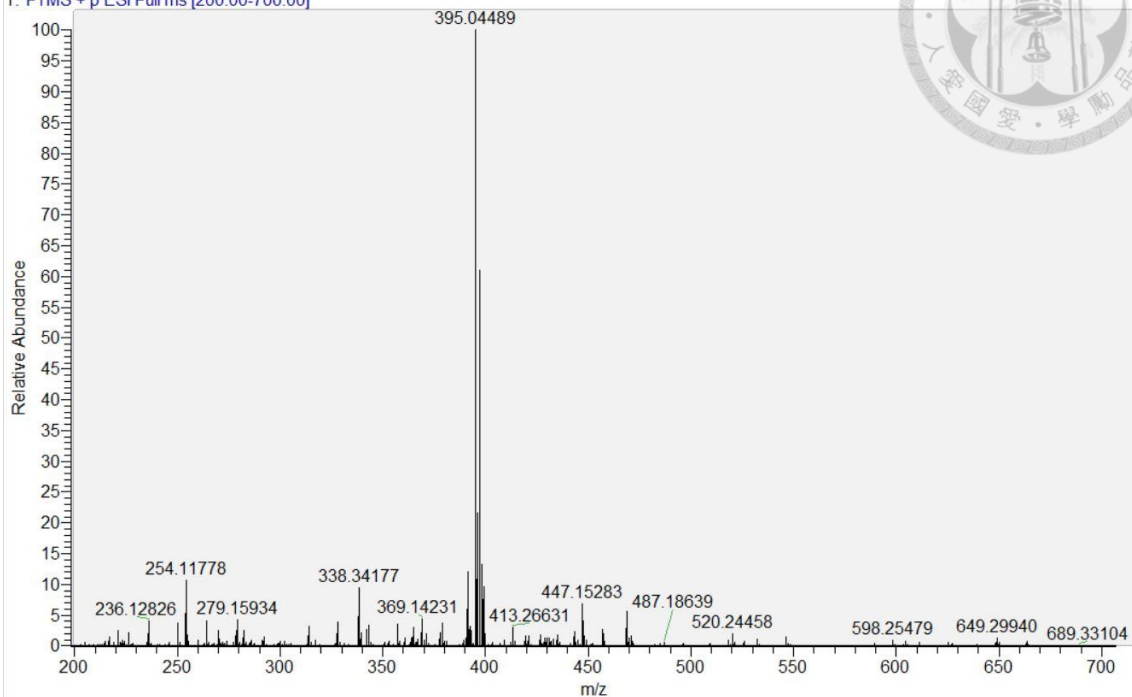


Fig. 3.44 化合物 **8** 之高解析電灑游離質譜。

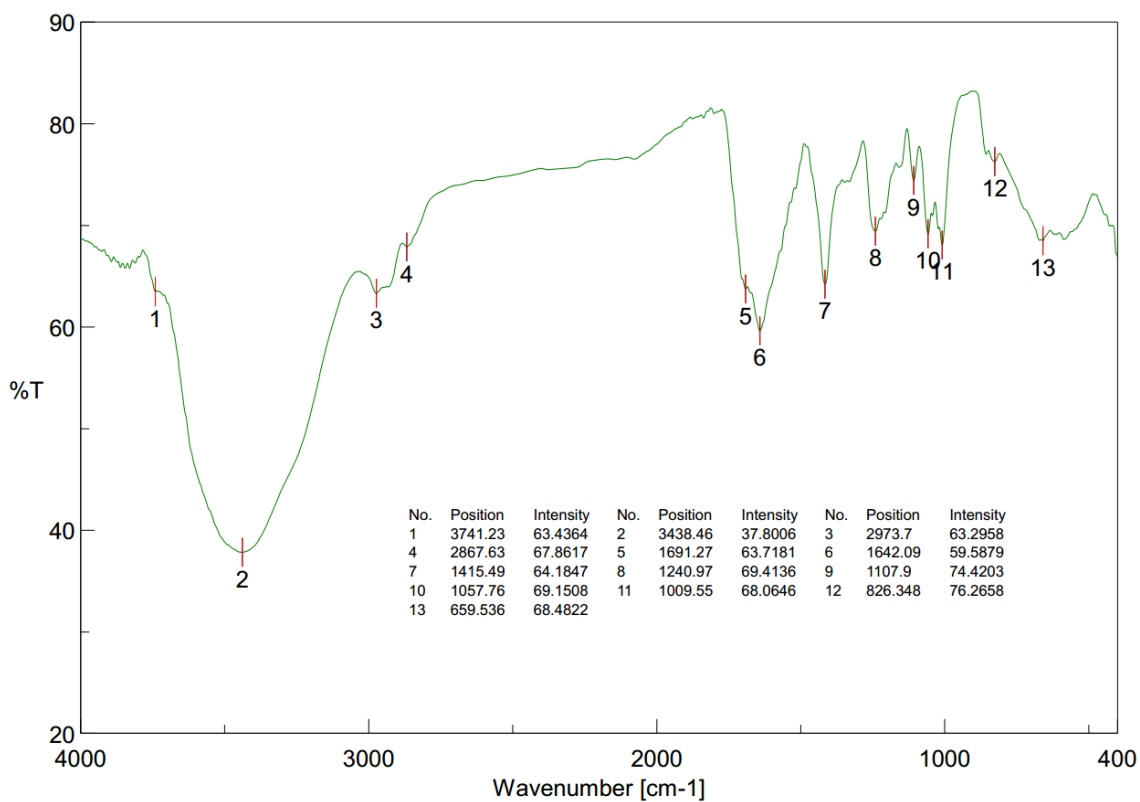


Fig. 3.45 化合物 **8** 之紅外光譜。

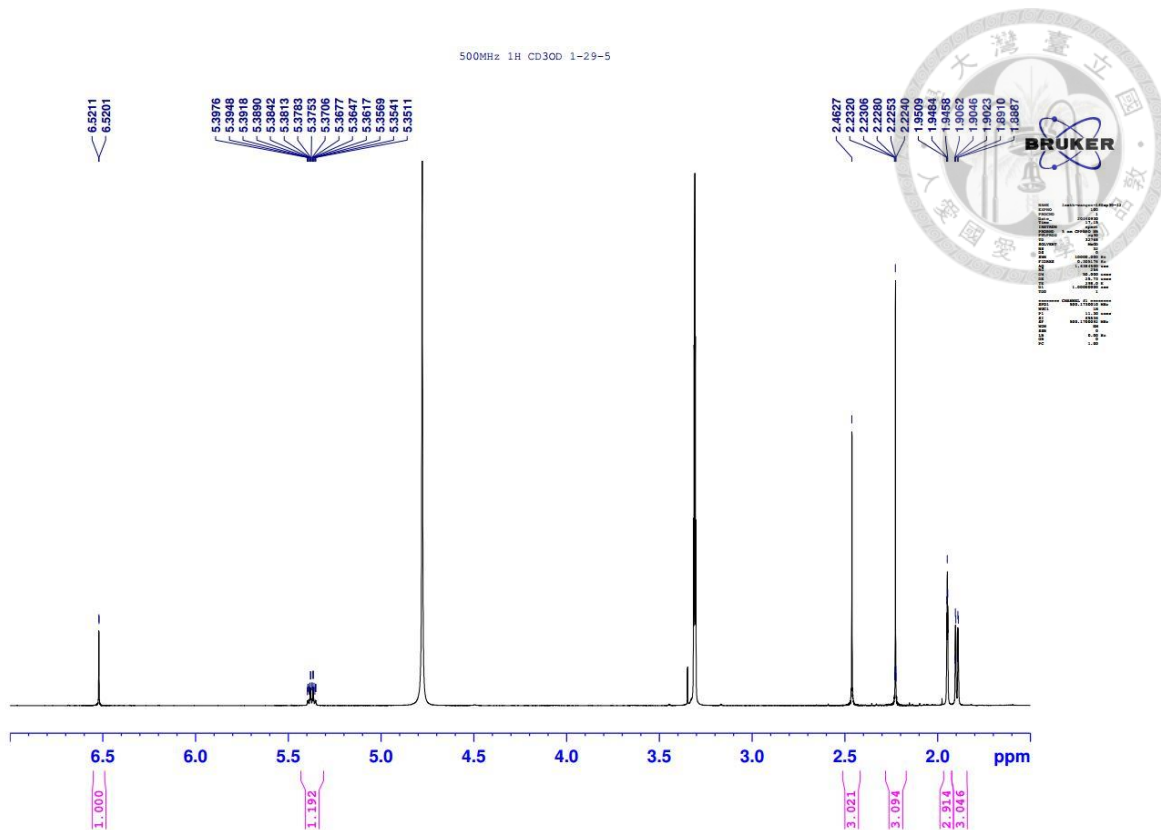


Fig. 3.46 化合物 **8** 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz)。

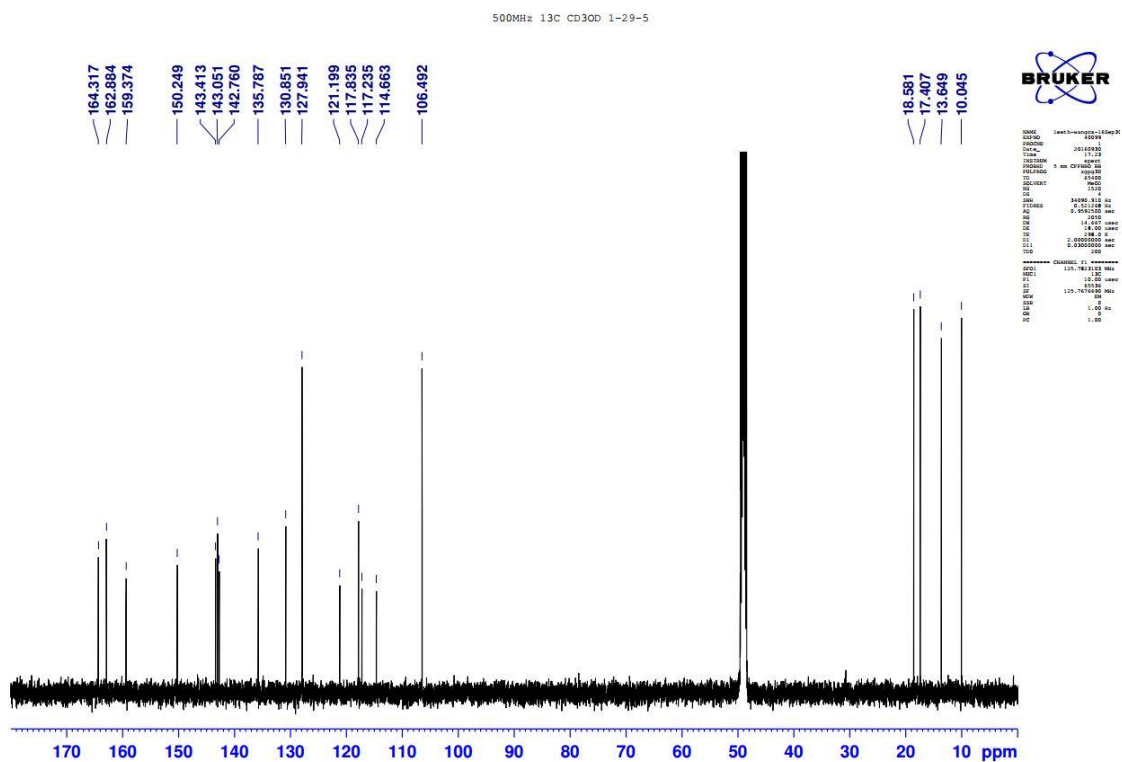
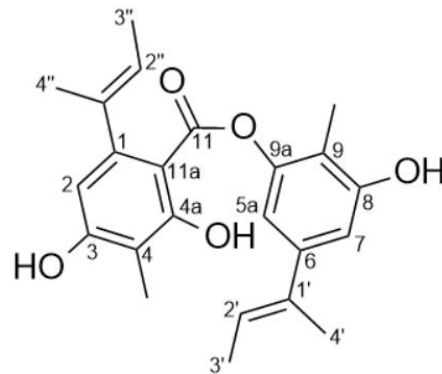


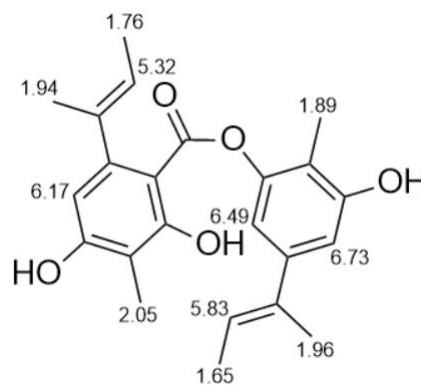
Fig. 3.47 化合物 **8** 之碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz)。



### 3.2.9 Agonodepsides A (9) 之結構解析



化合物 **9** 為褐色油狀。高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其  $[M + H]^+$  離子峰  $m/z$  383.1854 (calcd. for  $C_{23}H_{27}O_5$  383.1858), 推測分子式為  $C_{23}H_{26}O_5$ , (Fig. 3.48), 紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 ( $3441\text{ cm}^{-1}$ ) 等官能基的存在 (Fig. 3.49)。



在氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz) (Fig. 3.50) 中, 位於較高場的六個訊號  $\delta_H$  1.65 (3H, d,  $J = 6.7$ , H-3')、 $\delta_H$  1.76 (3H, d,  $J = 6.7$ , H-3'')、 $\delta_H$  1.94 (3H, s, H-4'')、 $\delta_H$  1.96 (3H, s, H-4')、 $\delta_H$  1.89 (3H, s, H-9-Me)、 $\delta_H$  2.05 (3H, s, H-4-Me) 推測為甲基質子訊號;  $\delta_H$  5.32 (1H, br q,  $J = 6.7$ , H-2'') 和  $\delta_H$  5.83 (1H, br q,  $J = 7.2$ , H-2') 推測為雙鍵之次甲基質子訊號。

經與文獻比對後, 確認化合物 **9** 的結構為 Agonodepside A<sup>[94]</sup> 是屬已知化合物, 綜合以上解析所得之數據詳列於 Table 6。



1-38-1 #10-35 RT: 0.04-0.15 AV: 26 NL: 1.09E7  
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-700.00]

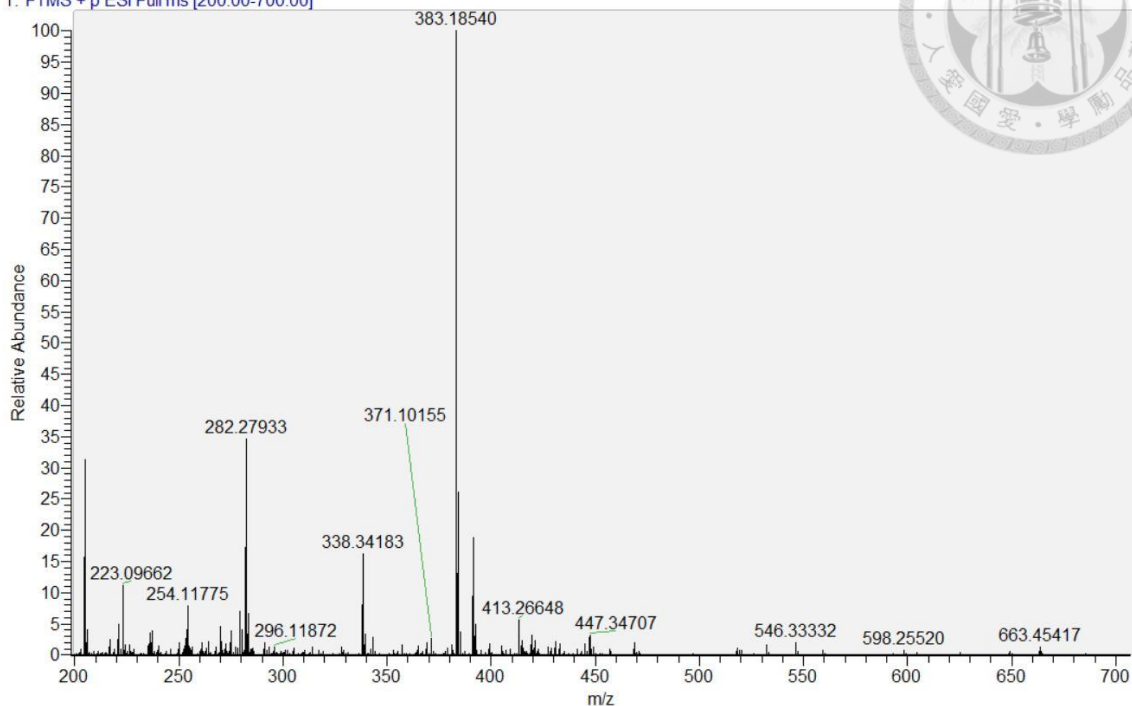


Fig. 3.48 化合物 9 之高解析電灑游離質譜。

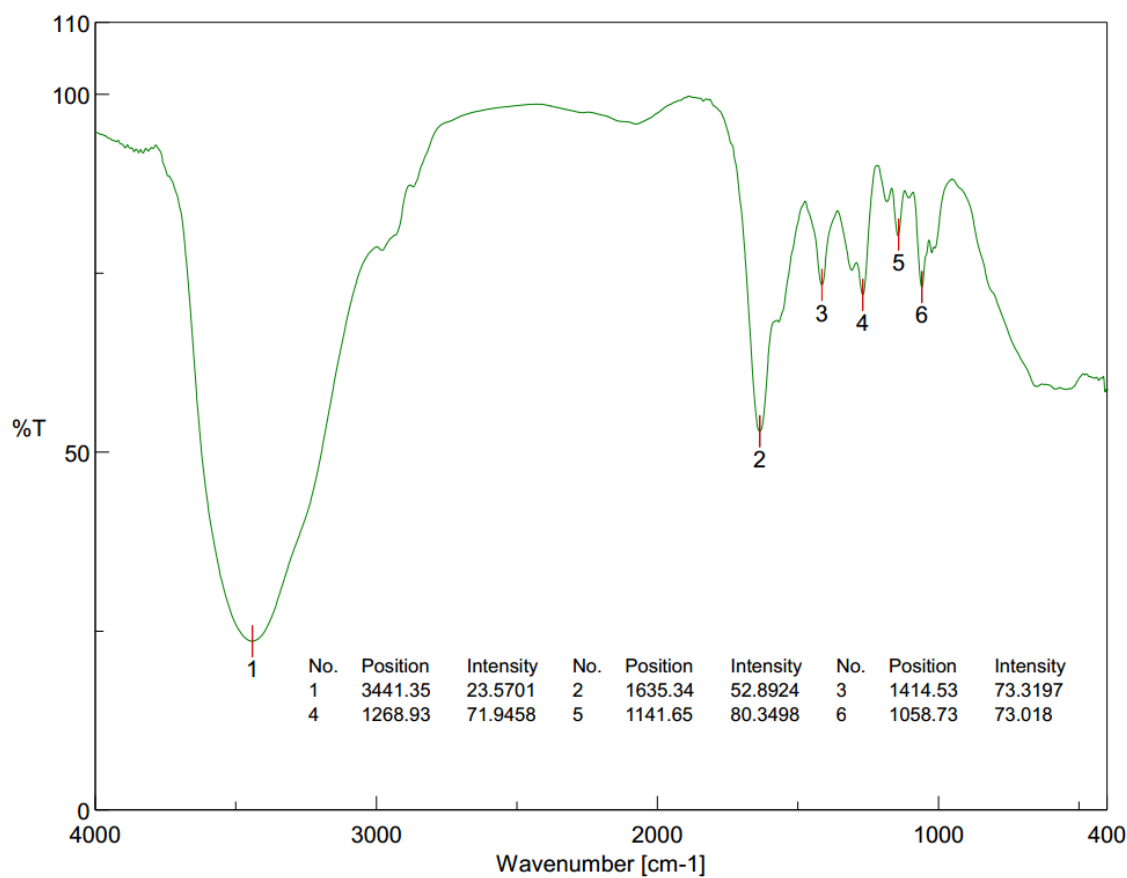


Fig. 3.49 化合物 9 之紅外光譜。

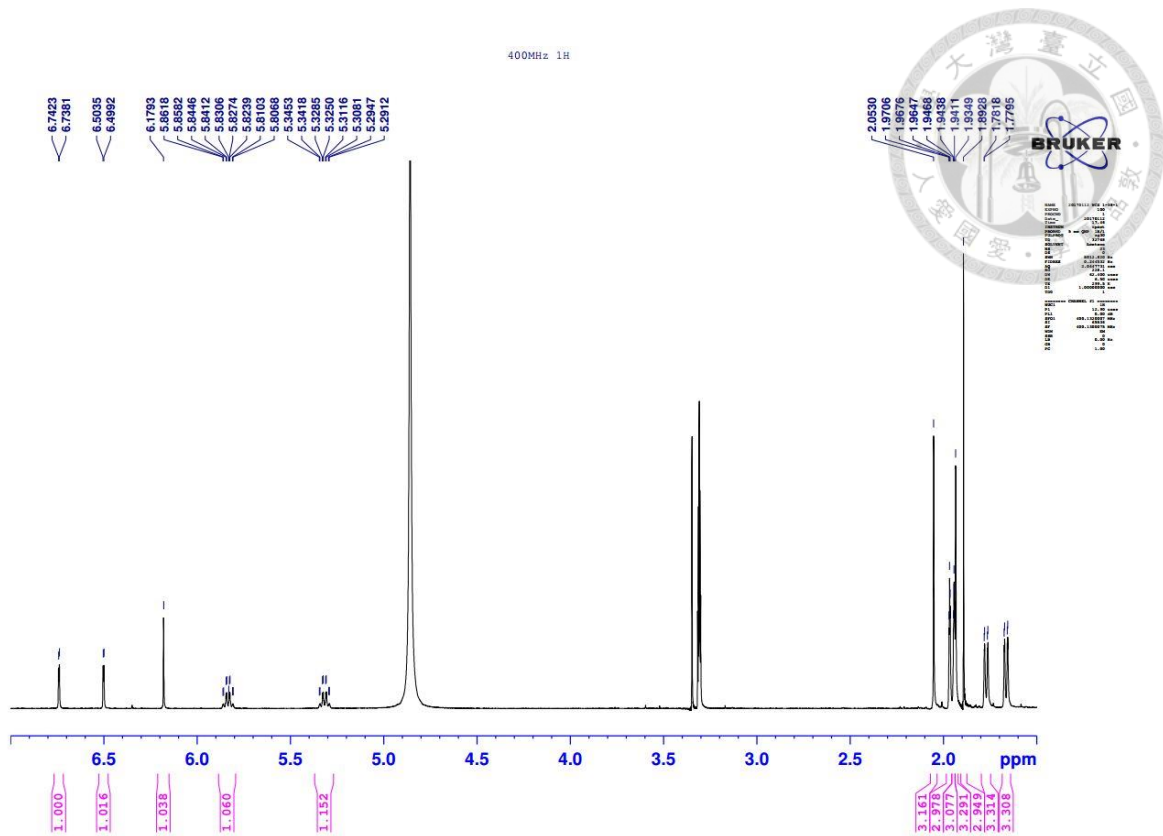
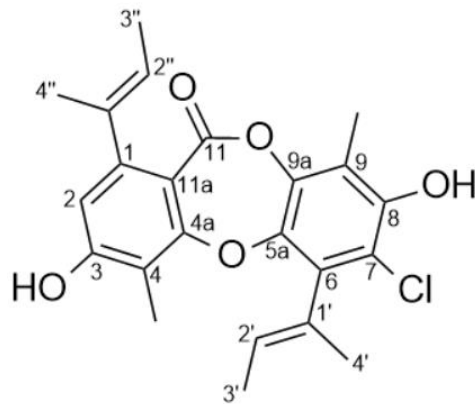


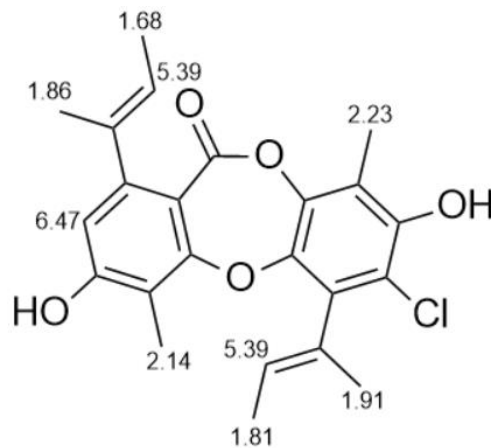
Fig. 3.50 化合物 **9** 之氫譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 400MHz)。



### 3.2.10 7-Chlorofolipastatin (**10**) 之結構解析



化合物 **10** 為白色油狀。高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其  $[M + H]^+$  離子峰  $m/z$  415.1308 (calcd. for  $C_{23}H_{24}ClO_5$  415.1312)，推測分子式為  $C_{23}H_{23}ClO_5$  (Fig. 3.51)，紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 ( $3423\text{ cm}^{-1}$ ) 等官能基的存在 (Fig. 3.52)。



在氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz) (Fig. 3.53) 中，位於較高場的六個訊號  $\delta_H$  1.68 (3H, d,  $J = 6.6$ , H-3'')、 $\delta_H$  1.81 (3H, d,  $J = 6.6$ , H-3')、 $\delta_H$  1.86 (3H, s, H-4')、 $\delta_H$  1.91 (3H, s, H-4'')、 $\delta_H$  2.14 (3H, s, H-4-Me)、 $\delta_H$  2.23 (3H, s, H-9-Me) 推測為甲基質子訊號； $\delta_H$  5.39 (1H, br q,  $J = 7.2$ , H-2') 和  $\delta_H$  5.39 (1H, br q,  $J = 7.2$ , H-2'') 推測為雙鍵之次甲基質子訊號。

經與文獻比對後，確認化合物 **10** 的結構為 7-Chlorofolipastatin<sup>[95]</sup> 是屬已知化合物，綜合以上解析所得之數據詳列於 Table 6。

1-38-2 #9-33 RT: 0.04-0.14 AV: 25 NL: 4.08E7  
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-700.00]

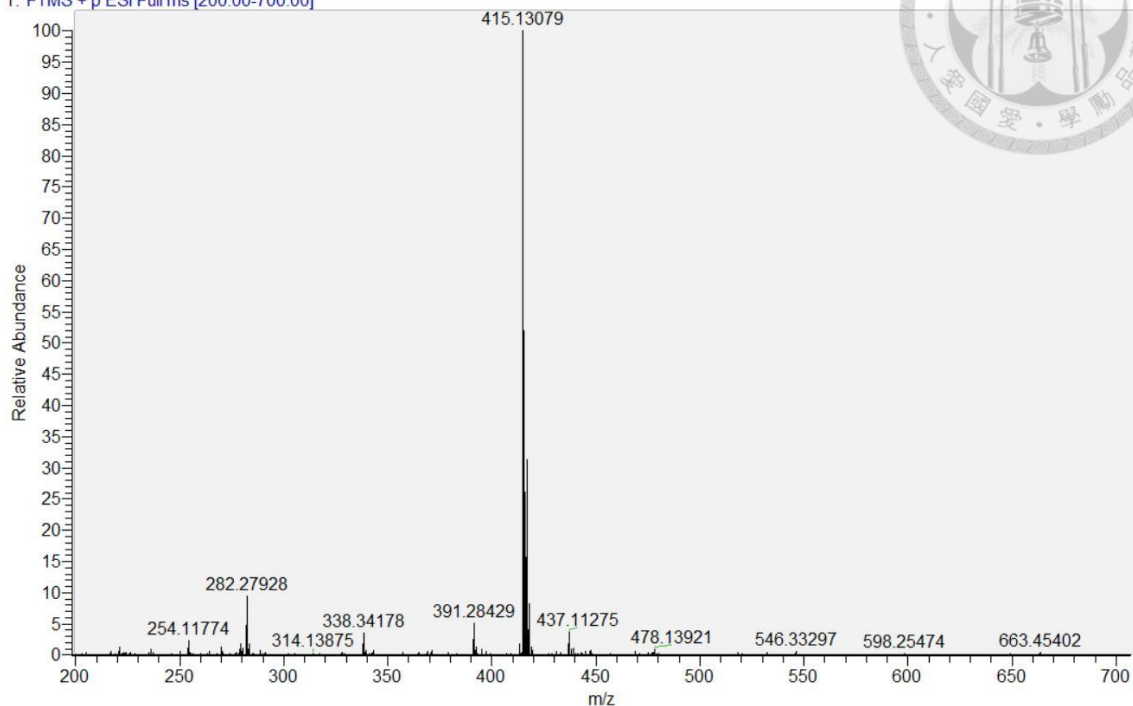


Fig. 3.51 化合物 **10** 之高解析電灑游離質譜。

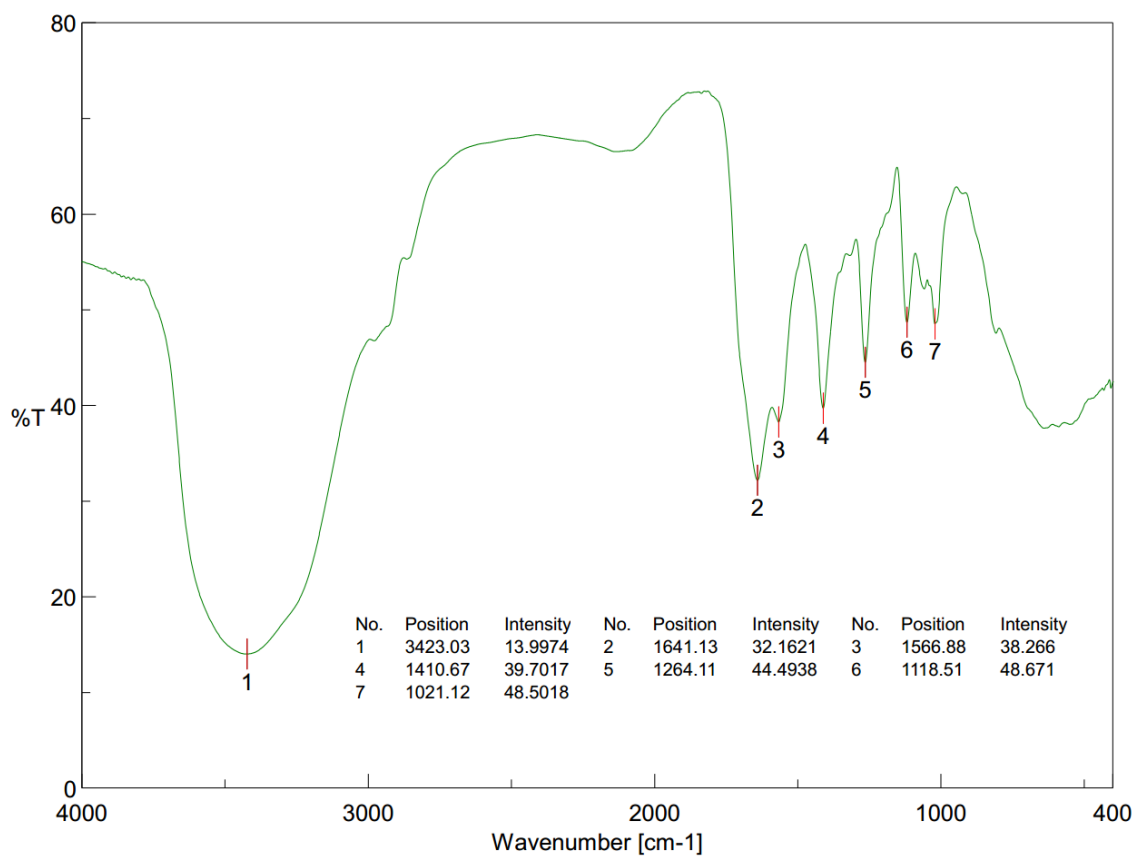


Fig. 3.52 化合物 **10** 之紅外光譜。

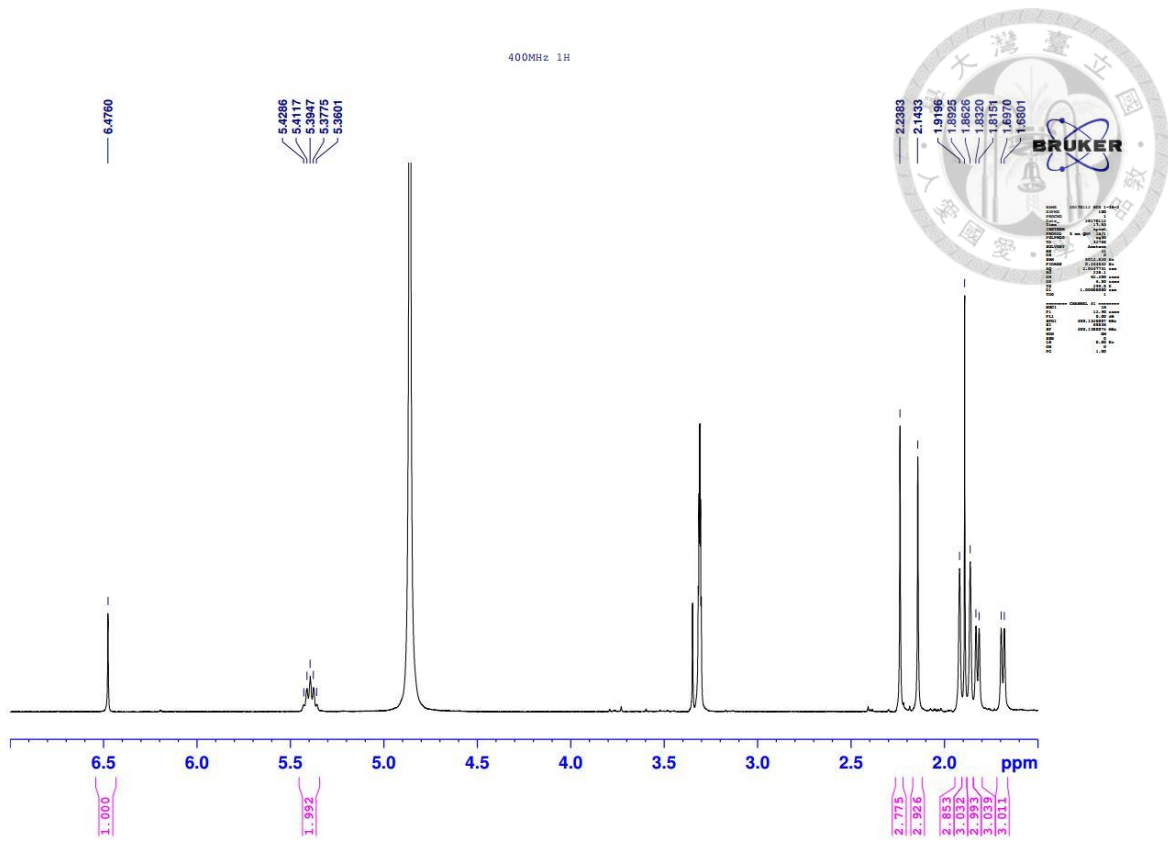
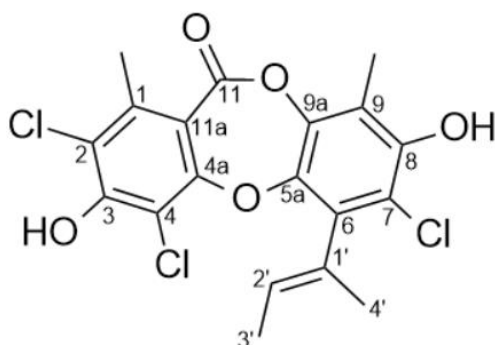


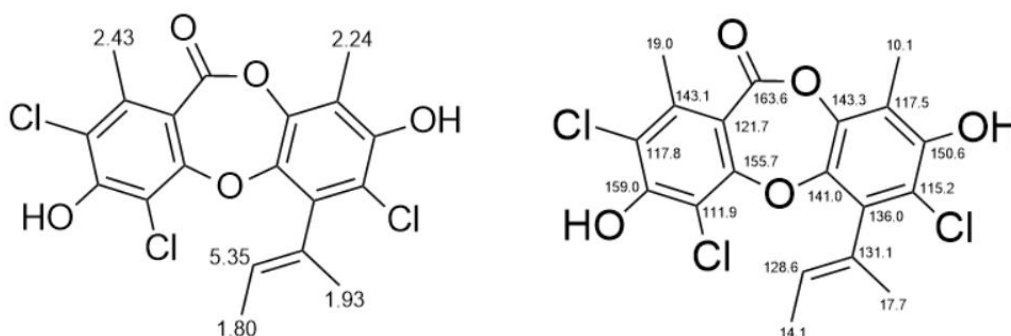
Fig. 3.53 化合物 **10** 之氫譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 400MHz)。



### 3.2.11 Nornidulin (**11**) 之結構解析



化合物 **11** 為無色油狀。高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其  $[M + H]^+$  離子峰  $m/z$  429.0061 (calcd. for  $C_{19}H_{16}Cl_3O_5$  429.0063)，推測分子式為  $C_{19}H_{15}Cl_3O_5$  (Fig. 3.54)，紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 ( $3469\text{ cm}^{-1}$ ) 等官能基的存在 (Fig. 3.55)。



在氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz) (Fig. 3.56) 中，位於較高場的四個訊號  $\delta_H$  1.80 (3H, d,  $J = 6.9$ , H-3')、 $\delta_H$  1.93 (3H, s, H-4')、 $\delta_H$  2.24 (3H, s, H-9-Me)、 $\delta_H$  2.43 (3H, s, H-1-Me) 推測為甲基質子訊號； $\delta_H$  5.35 (1H, br q,  $J = 6.6$ , H-2') 推測為雙鍵之次甲基質子訊號。

在碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz) (Fig. 3.57) 中顯示化合物 **11** 有 19 個碳，含有四個甲基訊號位於  $\delta_C$  10.1 (C-9-Me)、 $\delta_C$  14.1 (C-3')、 $\delta_C$  17.7 (C-4')、 $\delta_C$  19.0 (C-1-Me)；一個次甲基訊號位於  $\delta_C$  128.6 (C-2')；十四個四級碳訊號位於  $\delta_C$  111.9 (C-4)、 $\delta_C$  115.2 (C-7)、 $\delta_C$  117.8 (C-2)、 $\delta_C$  117.5 (C-9)、 $\delta_C$  121.7 (C-11a)、 $\delta_C$  131.1 (C-1')、 $\delta_C$  136.0 (C-6)、 $\delta_C$  141.0 (C-5a)、 $\delta_C$  143.1 (C-1)、 $\delta_C$  143.3 (C-9a)、 $\delta_C$  150.6 (C-8)、 $\delta_C$  155.7 (C-4a)、 $\delta_C$  159.0 (C-3)、 $\delta_C$  163.6 (C-11)。其中  $\delta_C$  111.9 (C-4)、 $\delta_C$  114.6 (C-7)、 $\delta_C$  115.8 (C-2)、 $\delta_C$  117.2 (C-9)、 $\delta_C$  121.1 (C-11a)、 $\delta_C$  127.9 (C-2')、 $\delta_C$  131.1

(C-1')、 $\delta_C$  136.0 (C-6)、 $\delta_C$  141.0 (C-5a)、 $\delta_C$  143.1 (C-1)、 $\delta_C$  143.3 (C-9a)、 $\delta_C$  150.6 (C-8)、 $\delta_C$  155.7 (C-4a)、 $\delta_C$  159.0 (C-3)、 $\delta_C$  163.6 (C-11) 推測為七組雙鍵訊號； $\delta_C$  111.9 (C-4)、 $\delta_C$  115.2 (C-7) 和  $\delta_C$  117.8 (C-2) 推測為苯環上接有氯原子的碳。其中  $\delta_C$  150.6 (C-8) 和  $\delta_C$  159.0 (C-3) 配合紅外光譜 ( $3512\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為苯環上接有羥基的碳； $\delta_C$  163.6 (C-11) 配合紅外光譜 ( $1708\text{ cm}^{-1}$ ) 推測為為苯環上接有羧酸基的碳。

經與文獻比對後，確認化合物 **11** 的結構為 Normidulin<sup>[95]</sup> 是屬已知化合物，綜合以上解析所得之數據詳列於 Table 6、Table 8。



1-32-6 #9-32 RT: 0.04-0.14 AV: 24 NL: 1.22E7  
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-700.00]

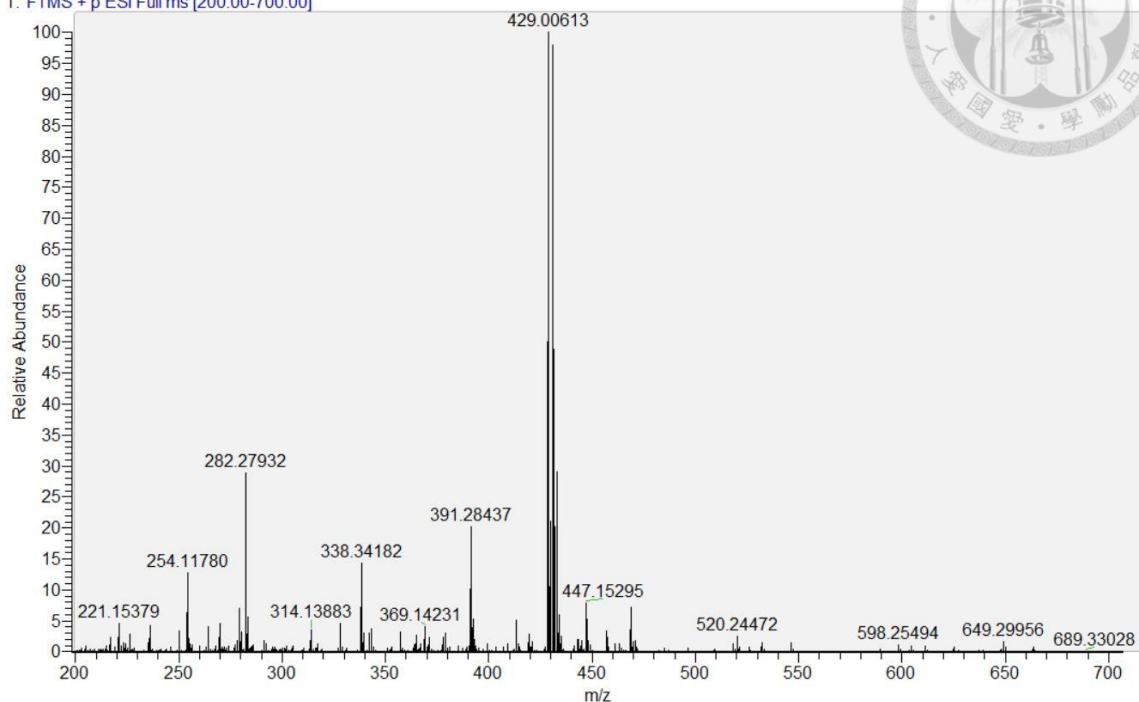


Fig. 3.54 化合物 **11** 之高解析電灑游離質譜。

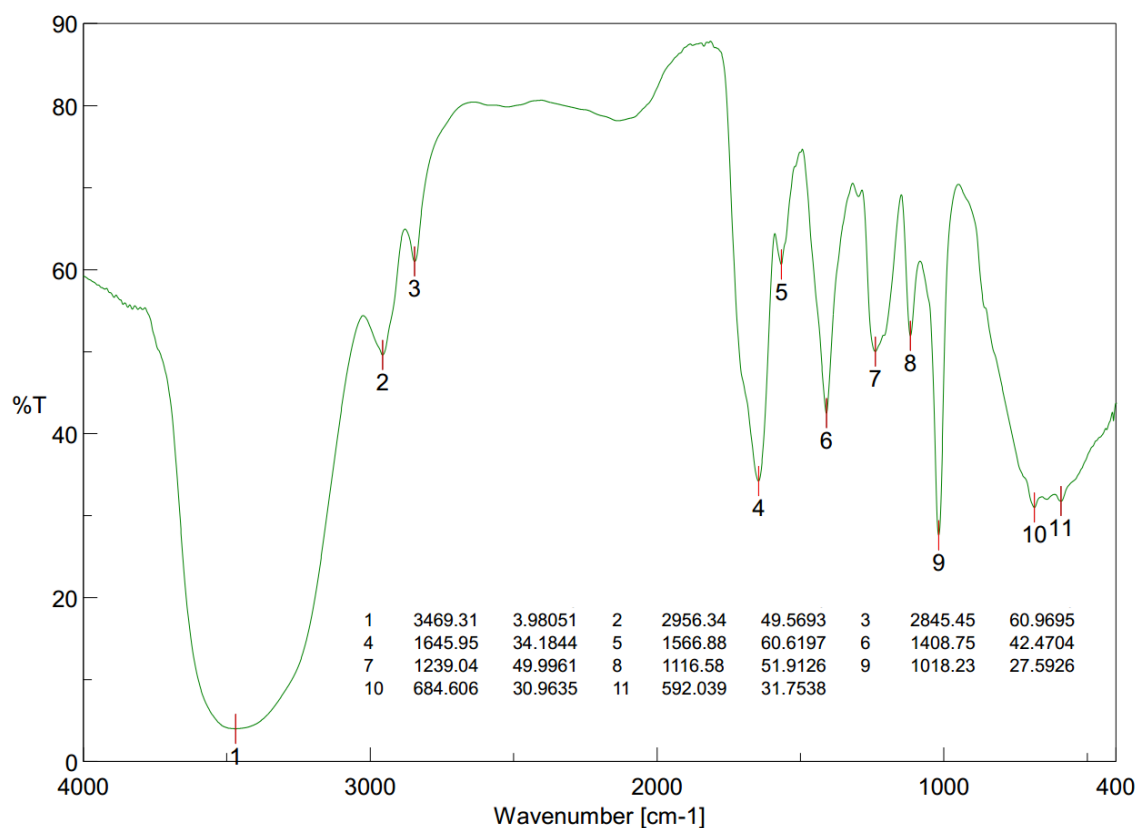


Fig. 3.55 化合物 **11** 之紅外光譜。

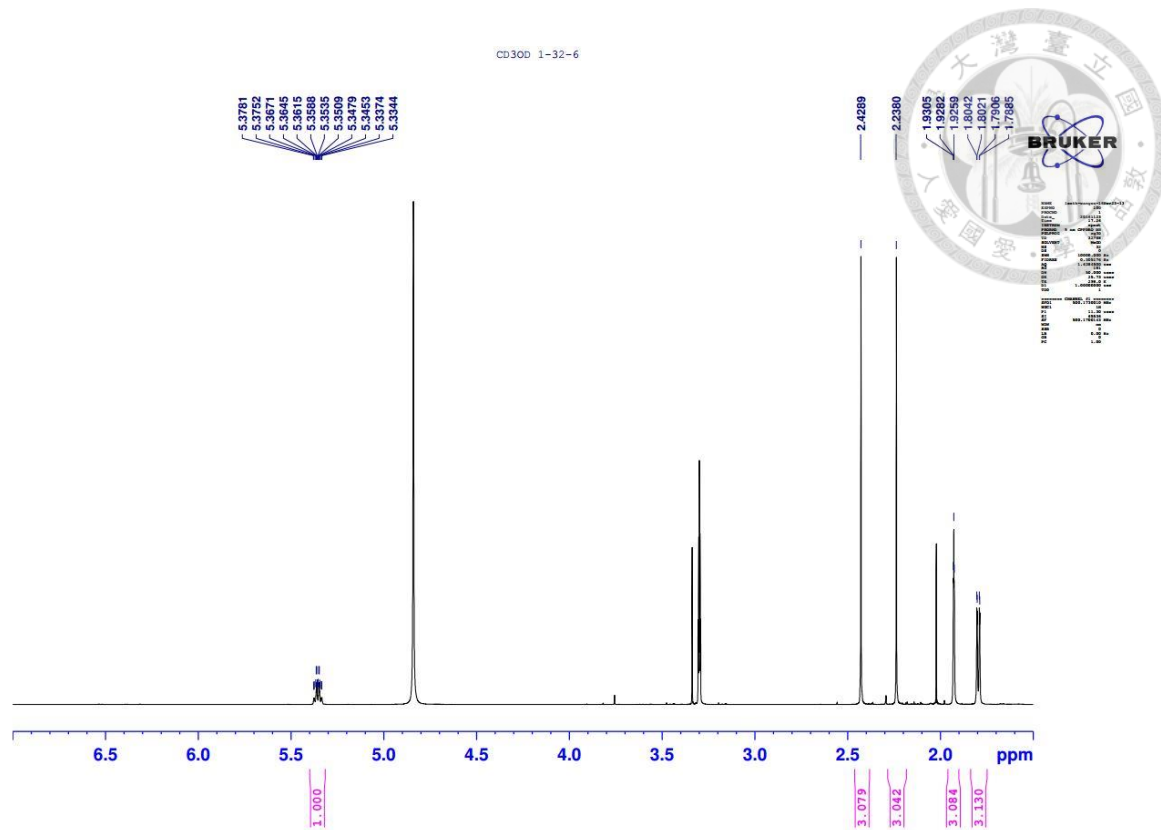


Fig. 3.56 化合物 **11** 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz)。

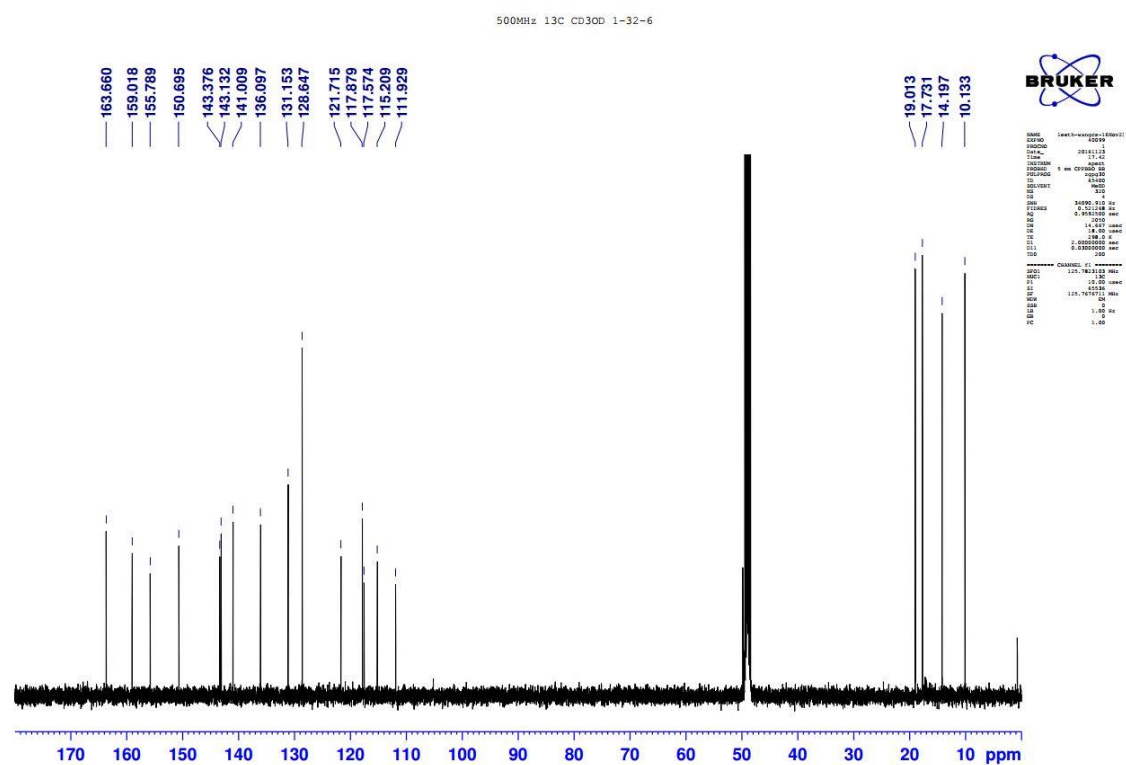
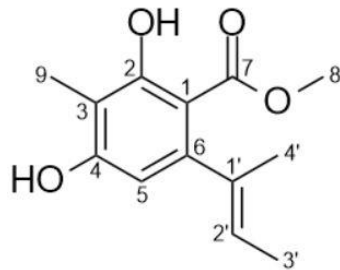


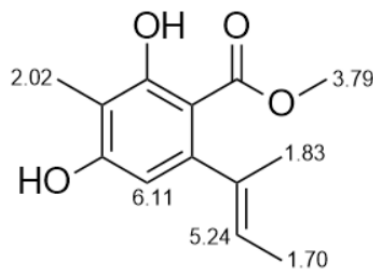
Fig. 3.57 化合物 **11** 之碳譜 (methanol- $d_4$ , 125MHz)。



### 3.2.12 Pilobolusate (**12**) 之結構解析



化合物 **12** 為褐色油狀。高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其  $[M + H]^+$  離子峰  $m/z$  237.1122 (calcd. for  $C_{13}H_{17}O_4$  237.1127), 推測分子式為  $C_{13}H_{16}O_4$  (Fig. 3.58), 紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 ( $3491\text{ cm}^{-1}$ ) 等官能基的存在 (Fig. 3.59)。



在氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz) (Fig. 3.60) 中, 位於較高場的四個訊號  $\delta_H$  1.70 (3H, d,  $J = 6.9$ , H-3')、 $\delta_H$  1.83 (3H, s, H-4')、 $\delta_H$  2.02 (3H, s, H-9)、 $\delta_H$  3.80 (3H, s, H-8) 推測為甲基質子訊號;  $\delta_H$  5.24 (1H, br q,  $J = 6.7$ , H-2') 推測為雙鍵之次甲基質子訊號; 其中  $\delta_H$  3.80 (3H, s, H-8) 推測為甲氧基質子訊號。

經與文獻比對後, 確認化合物 **12** 的結構為 Pilobolusate<sup>[96]</sup> 是屬已知化合物, 綜合以上解析所得之數據詳列於 Table 6。

1-34-6 #11-32 RT: 0.05-0.14 AV: 22 NL: 1.25E7  
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-700.00]

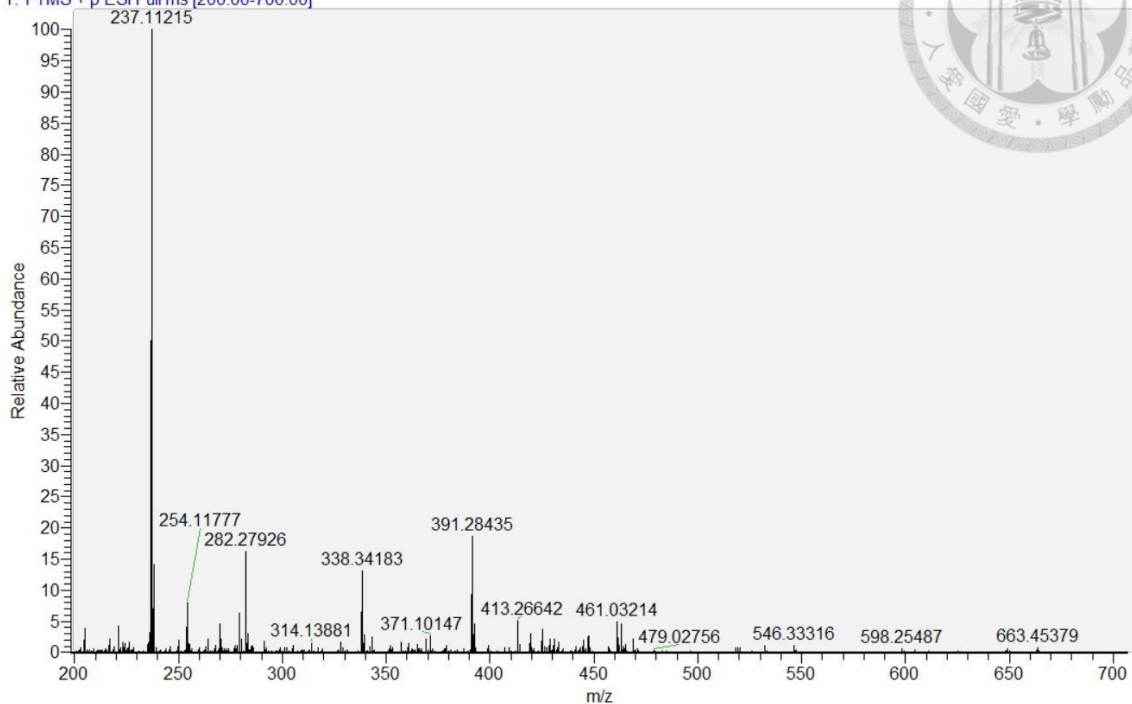


Fig. 3.58 化合物 **12** 之高解析電灑游離質譜。

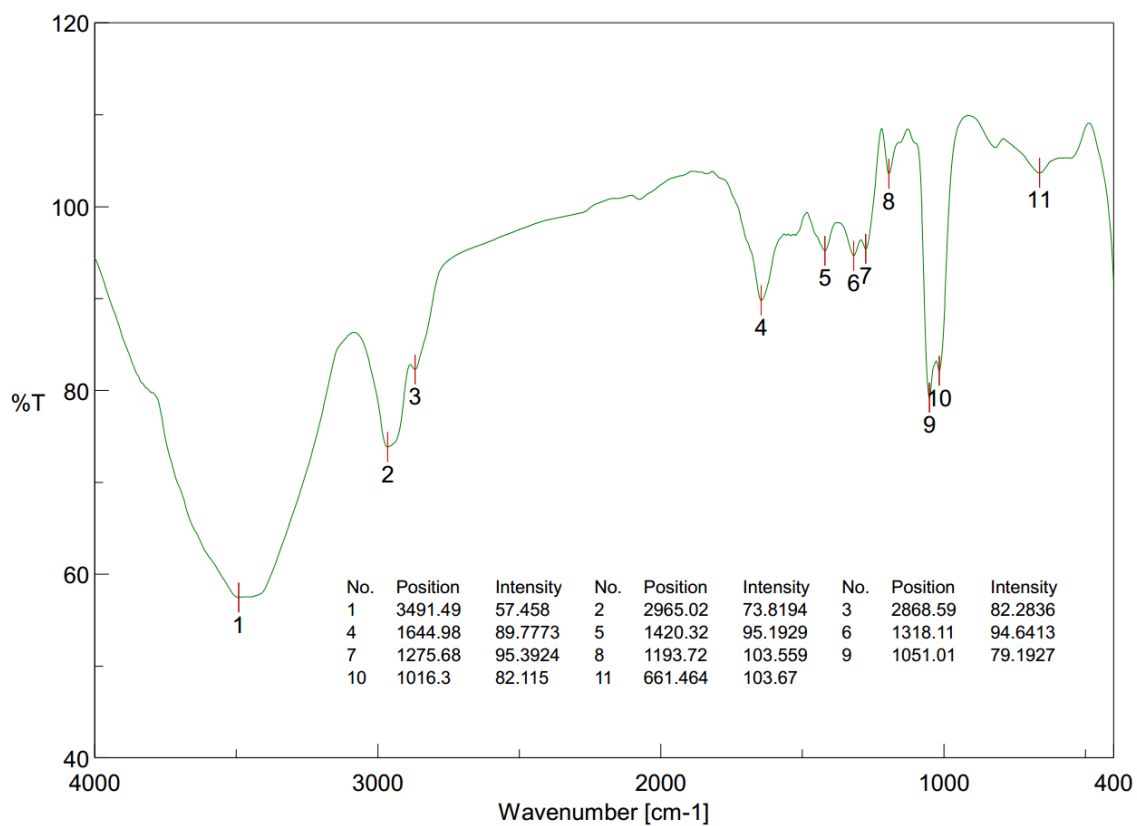


Fig. 3.59 化合物 **12** 之紅外光譜。

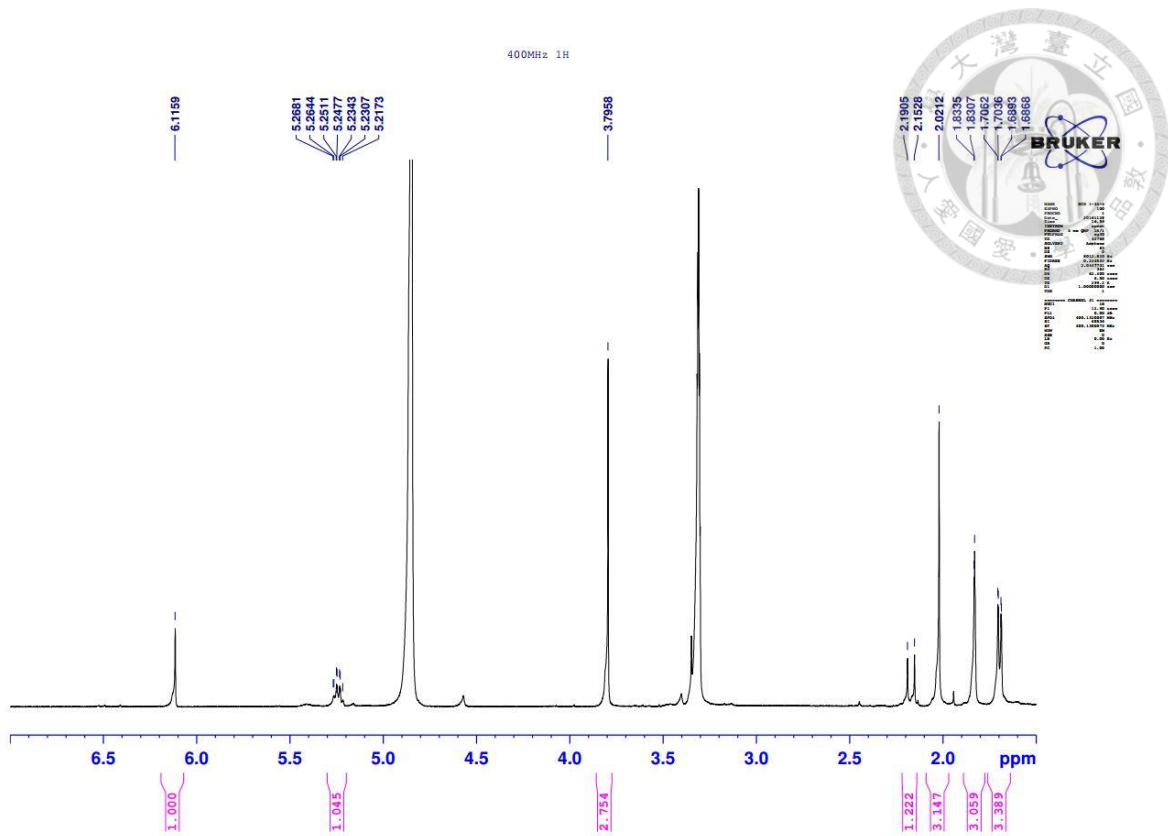
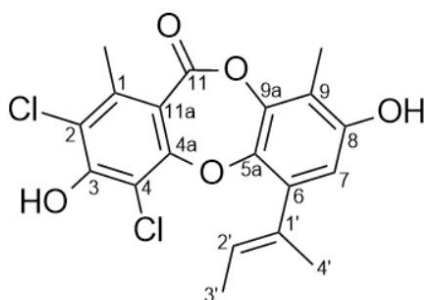


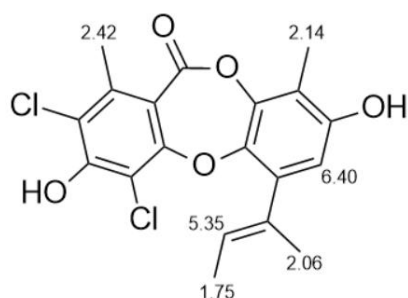
Fig. 3.60 化合物 **12** 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 400MHz)。



### 3.2.13 2,4-Dichlorounguinol (**13**) 之結構解析



化合物 **13** 為無色油狀。高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其  $[M + H]^+$  離子峰  $m/z$  395.0450 (calcd. for  $C_{19}H_{17}Cl_2O_5$  395.0453)，推測分子式為  $C_{19}H_{16}Cl_2O_5$  (Fig. 3.61)，紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 ( $3410\text{ cm}^{-1}$ ) 等官能基的存在 (Fig. 3.62)。



在氫譜 (methanol- $d_4$ , 500MHz) (Fig. 3.63) 中，位於較高場的四個訊號  $\delta_H$  1.75 (3H, s, H-4')、 $\delta_H$  2.06 (3H, d,  $J = 6.9$ , H-3')、 $\delta_H$  2.14 (3H, s, H-9-Me)、 $\delta_H$  2.42 (3H, s, H-1-Me) 推測為甲基質子訊號； $\delta_H$  5.35 (1H, br q,  $J = 6.7$ , H-2') 推測為雙鍵之次甲基質子訊號。

經與文獻比對後，確認化合物 **13** 的結構為 2,4-Dichlorounguinol<sup>[97]</sup> 是屬已知化合物，綜合以上解析所得之數據詳列於 Table 6。

1-34.7 #9-36 RT: 0.04-0.16 AV: 28 NL: 1.89E7  
 T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-700.00]

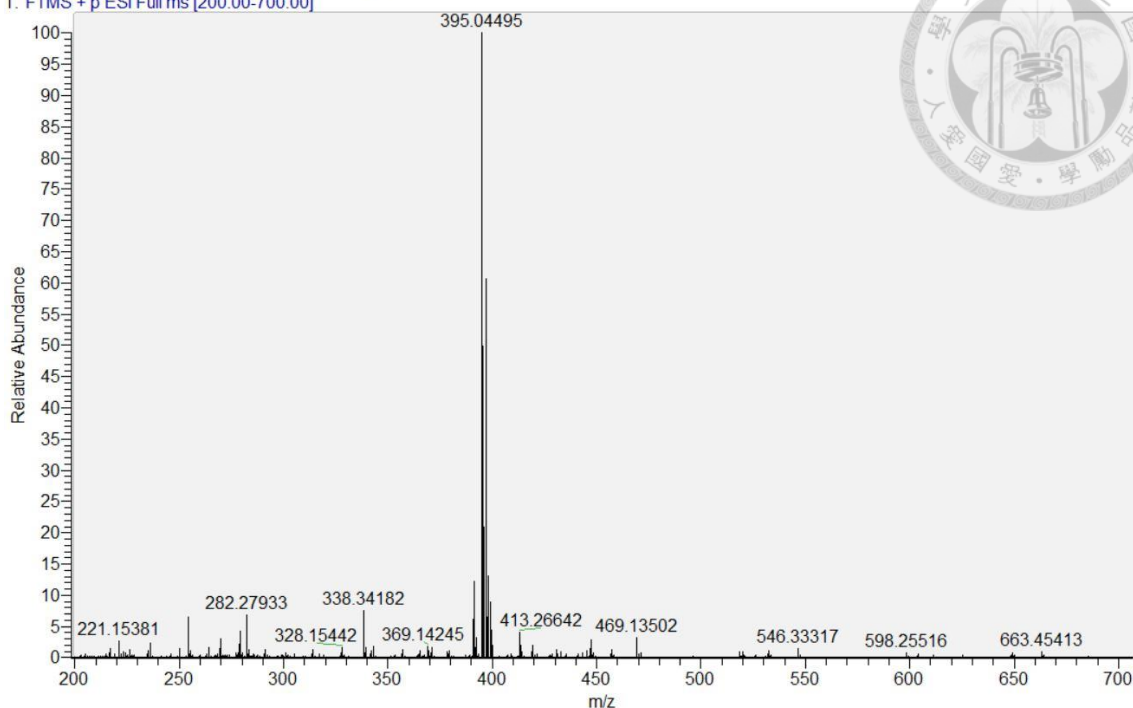


Fig. 3.61 化合物 **13** 之高解析電灑游離質譜。

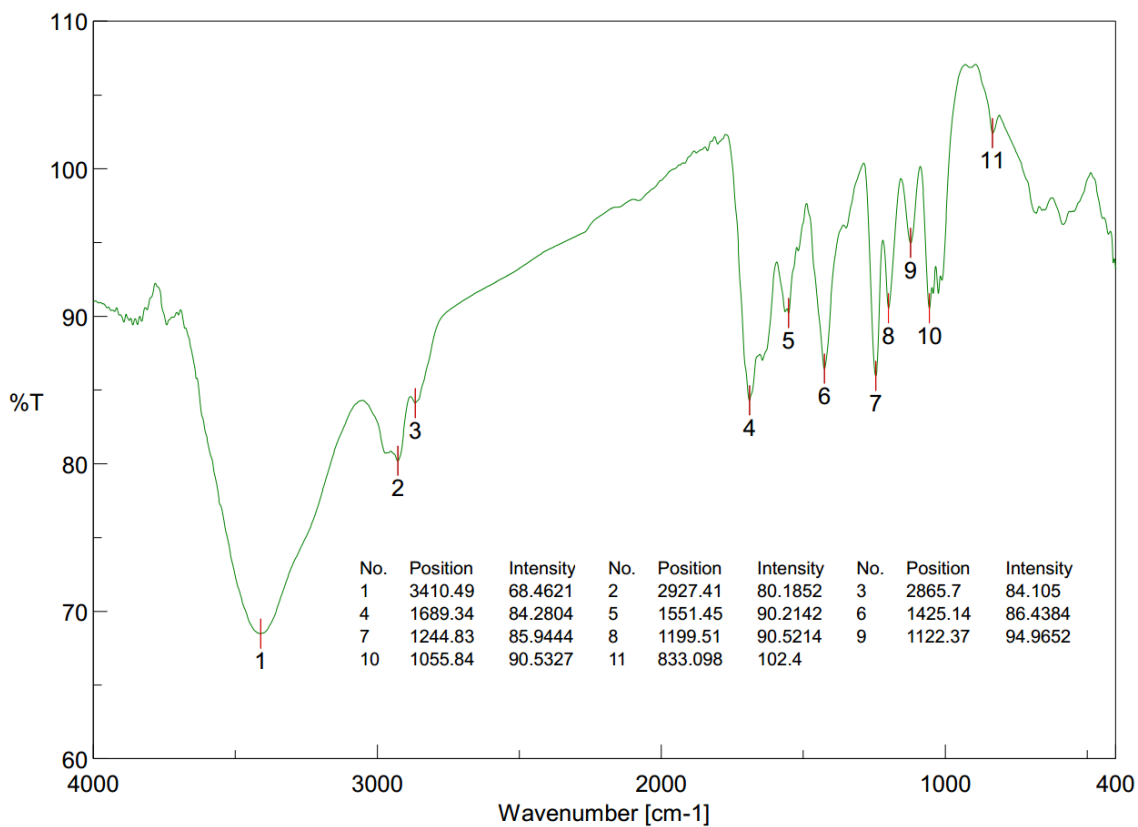


Fig. 3.62 化合物 **13** 之紅外光譜。

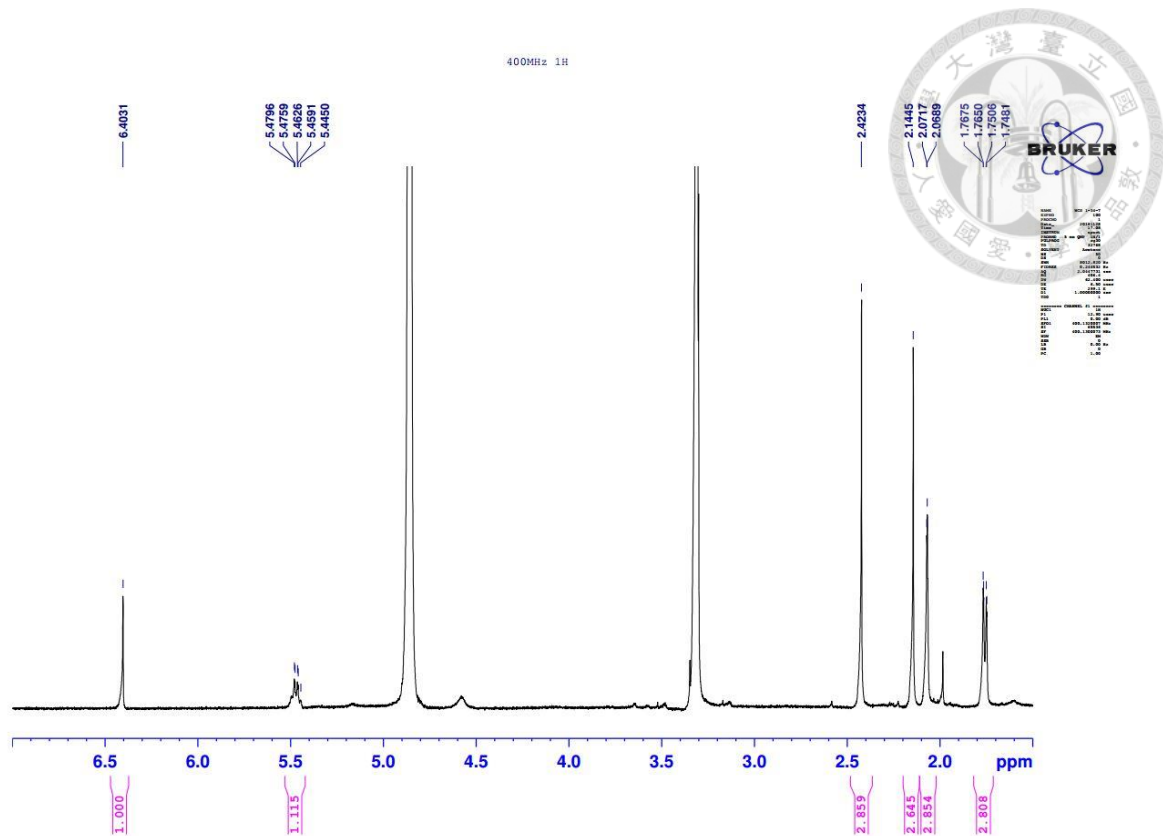


Fig. 3.63 化合物 **13** 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 400MHz)。

Table 5 化合物 1—4 氫譜數據。



NO.	1	2	3	4
2	2.60 m	2.60 m		
3	2.30 m	2.03 m		
4	3.82 m	3.82 m		
5			6.58 s	6.58 s
6	5.81 d (15.6)	7.26 d (14.3)		
7	6.83 m	7.36 m		
8	2.22 m	6.31 m	2.59 m	2.73 m
9	2.29 m	6.24 m		
10	6.02 m	2.28 m	2.02 s	2.02 s
11	5.58 m	2.22 m	1.17 d (7.4)	1.19 d (7.5)
12	6.02 m	5.58	1.56 s	1.36 s
13	5.58 m	5.61 m		
14	2.29 m	2.12-2.15 m		
15	2.22 m	2.12-2.15 m		
16	6.22 m	5.65 m		
17	6.32 m	6.02 m		
18	7.36 dd (10.4, 15.0)	6.02 dd (10.5, 15.0)		
19	7.24 d (15.1)	5.58 m		
20		3.99 d (5.3)		

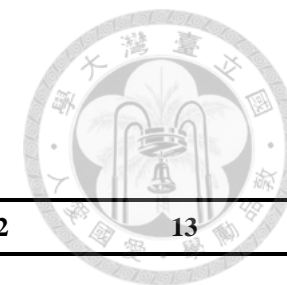


Table 6 化合物 5—13 氫譜數據。


NO	5	6	7	8	9	10	11	12	13
2	6.32 d (2.3)	6.33 d (2.4)			6.17 s	6.47 s			
4	6.52 d (2.3)	6.52 d (2.3)	6.52 s	6.52 s					
5								6.11 s	
5a					6.49 d (1.7)				
7	6.40 s		6.41 s		6.73 d (1.7)				6.40 (s)
8								3.79 s	
9								2.02 s	
2'	5.54 brq (6.8)	5.54 br q (6.5)	5.56 br q (6.8)	5.37 br q (6.6)	5.83 br q (6.7)	5.39 br q (7.2)	5.35 br q (6.6)	5.24 br q (6.7)	5.35 br q (6.7)
3'	1.84 d (5.8)	1.84 d (5.6)	1.84 d (5.8)	1.90 d (6.9)	1.65 d (6.8)	1.81 d (6.6)	1.80 d (6.9)	1.70 d (6.4)	2.06 d (6.9)
4'	2.05 s	2.05 s	2.06 s	1.95 s	1.96 s	1.91 s	1.93 s	1.83 s	1.75 s
2''					5.32 brq (6.7)	5.39 brq (7.2)			
3''					1.76 d (6.8)	1.68 d (6.6)			
4''					1.94 s	1.86 s			
1-Me	2.39 s	2.39 s	2.45 s	2.46 s			2.43 s		2.42 s
4-Me					2.05 s	2.14 s			
9-Me	2.14 s	2.14 s	2.13 s	2.23 s	1.89 s	2.23 s	2.24 s		2.14 s

Table 7 化合物 1—4 碳譜數據



NO.	1	2	3	4
1	177.9, C	177.8, C	111.8, C	111.6, C
2	34.7, CH <sub>2</sub>	34.5, CH <sub>2</sub>	157.3, C	157.0, C
3	18.2, CH <sub>2</sub>	18.0, CH <sub>2</sub>	114.1, C	113.8, C
4	47.1, CH <sub>2</sub>	46.9, CH <sub>2</sub>	166.4, C	166.2, C
5	170.5, C	168.1, C	102.7, CH	102.5, CH
6	123.4, CH	121.6, CH	158.5, C	159.4, C
7	150.0, CH	146.8, CH	78.1, C	76.4, C
8	32.3, CH <sub>2</sub>	130.6, CH	55.4, CH	57.0, CH
9	34.0, CH <sub>2</sub>	145.9, CH	209.0, C	207.1, C
10	132.5, CH	33.9, CH <sub>2</sub>	7.3, CH <sub>3</sub>	7.3, CH <sub>3</sub>
11	132.7, CH	32.8, CH <sub>2</sub>	10.1, CH <sub>3</sub>	9.9, CH <sub>3</sub>
12	131.9, CH	132.8, CH	27.7, CH <sub>3</sub>	25.7, CH <sub>3</sub>
13	132.4, CH	130.8, CH		
14	33.1, CH <sub>2</sub>	33.2, CH <sub>2</sub>		
15	32.9, CH <sub>2</sub>	33.3, CH <sub>2</sub>		
16	146.0, CH	132.5, CH		
17	130.8, CH	131.9, CH		
18	147.0, CH	132.5, CH		
19	121.8, CH	131.8, CH		
20	168.3, C	63.6, CH <sub>2</sub>		

Table 8 化合物 5—8, 11 碳譜數據



No.	5	6	7	8	11
1	144.8	146.5	142.6	143.0	143.1
2	116.5	117.5	120.8	115.8	117.8
3	163.4	163.5	163.0	162.8	159.0
4	105.8	106.4	106.3	106.4	111.92
4a	165.5	164.8	159.0	159.3	155.7
5a	142.4	141.8	142.4	142.7	141.0
6	137.2	139.0	134.1	135.7	136.0
7	112.2	110.3	112.2	114.6	115.2
8	146.2	148.2	154.0	150.2	150.6
9	116.3	116.7	115.1	117.2	117.5
9a	153.8	159.0	144.7	143.4	143.3
11	165.3	164.2	164.9	164.3	163.6
11a	113.2	112.9	116.3	121.1	121.7
1'	134.2	133.1	137.1	130.8	131.1
2'	126.4	124.1	126.5	127.9	128.6
3'	13.9	13.6	13.9	13.6	14.1
4'	17.8	18.4	17.8	17.4	17.7
1-Me	21.1	21.2	18.4	18.5	19.0
9-Me	9.2	9.0	9.2	10.0	10.1
7-COOH		173.7			



### 3.3 各成分之物理數據

Unguistin A (1) 之物理數據如下：

amorphous colorless oil

$[\alpha]_D^{26} = -3.1^\circ$  (*c* 0.1, MeOH)

IR  $\nu_{\max}$ : 3437, 3289, 2926, 1726, 1677, 1627, 1595, 1418, 1354, 1250, 1200, 1055, 1043, 1004  $\text{cm}^{-1}$

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ): 228 nm (2.70), 283 nm (2.54)

$^1\text{H-NMR}$  及  $^{13}\text{C-NMR}$  (Table 5, Table 7)

HRESIMS  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  344.1858 (calc.  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_4$  344.1862)

Unguistin B (2) 之物理數據如下：

amorphous colorless oil

$[\alpha]_D^{26} = -1.2^\circ$  (*c* 0.1, MeOH)

IR  $\nu_{\max}$ : 3448, 2927, 2855, 2073, 1721, 1636, 1444, 1354, 1261, 1196, 995  $\text{cm}^{-1}$

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ): 228 nm (2.52), 281 nm (2.33)

$^1\text{H-NMR}$  及  $^{13}\text{C-NMR}$  (Table 5, Table 7)

HRESIMS  $[\text{M}+\text{Na}]^+$   $m/z$  352.1885 (calc.  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{O}_4\text{Na}$  352.1889)

Unguisine A (3) 之物理數據如下：

amorphous colorless oil

$[\alpha]_D^{26} = -1.3^\circ$  (*c* 0.1, MeOH)

IR  $\nu_{\max}$ : 3395, 1621, 1458, 1334, 1124, 1088, 1033, 915, 846  $\text{cm}^{-1}$

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ): 279 nm (2.33)

$^1\text{H-NMR}$  及  $^{13}\text{C-NMR}$  (Table 5, Table 7)

HRESIMS  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  223.0970 (calc.  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_4$  223.0970)



Unguisine B (4) 之物理數據如下：

amorphous colorless oil

$[\alpha]_D^{26} = -1.5^\circ$  (*c* 0.1, MeOH)

IR  $\nu_{\max}$ : 3370, 1621, 1459, 1334, 1126, 1087, 919, 846  $\text{cm}^{-1}$

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ): 279 nm (1.88)

$^1\text{H-NMR}$  及  $^{13}\text{C-NMR}$  (Table 5, Table 7)

HRESIMS  $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$  223.0970 (calc.  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_4$  223.0970)

Unguinol (5) 之物理數據如下：

amorphous white powder

IR  $\nu_{\max}$ : 3381, 1699, 1609, 1428, 1333, 1259, 1151, 1104, 856  $\text{cm}^{-1}$

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ): 207 nm (2.60), 267 nm (2.07)

$^1\text{H-NMR}$  及  $^{13}\text{C-NMR}$  (Table 6, Table 8)

HRESIMS  $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$  327.1228 (calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{O}_5$  327.1232)

Aspergillusidone A (6) 之物理數據如下：

amorphous colorless oil

IR  $\nu_{\max}$ : 3619, 2974, 2870, 1707, 1645, 1612, 1566, 1532, 1463, 1420, 1318, 1259,

1194, 1150, 1054, 1024, 1010, 853, 810, 678  $\text{cm}^{-1}$

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ): 215 nm (2.67), 260 nm (2.23)

$^1\text{H-NMR}$  及  $^{13}\text{C-NMR}$  (Table 6, Table 8)

HRESIMS  $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$  371.1128 (calcd. for  $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{O}_7$  371.1131)

2-Chlorounguinol (7) 之物理數據如下：

amorphous colorless oil



IR  $\nu_{\max}$ : 3443, 2976, 2867, 2075, 1638, 1425, 1341, 1240, 1057, 1010, 657, 621, 453  $\text{cm}^{-1}$

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ): 209 nm (2.77), 266 nm (2.12)

$^1\text{H-NMR}$  及  $^{13}\text{C-NMR}$  (Table 6, Table 8)

HRESIMS  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  361.0837 (calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{ClO}_5$  361.0843)

Aspergillusidone C (**8**) 之物理數據如下：

amorphous colorless oil

IR  $\nu_{\max}$ : 3741, 3438, 2973, 2867, 1691, 1642, 1415, 1240, 1107, 1057, 1009, 826, 659  $\text{cm}^{-1}$

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ): 204 nm (2.85), 264 nm (2.15)

$^1\text{H-NMR}$  及  $^{13}\text{C-NMR}$  (Table 6, Table 8)

HRESIMS  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  395.0449 (calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{O}_5$  395.0453)

Agonodepside A (**9**) 之物理數據如下：

amorphous dark yellow oil

IR  $\nu_{\max}$ : 3441, 1635, 1414, 1268, 1141, 1058  $\text{cm}^{-1}$

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ): 219 nm (2.82), 272 nm (2.46)

$^1\text{H-NMR}$  (Table 6)

HRESIMS  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  383.1854 (calcd. for  $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{O}_5$  383.1858)

7-Chlorofolipastatin (**10**) 之物理數據如下：

amorphous white oil

IR  $\nu_{\max}$ : 3423, 1641, 1566, 1410, 1264, 1118, 1021  $\text{cm}^{-1}$

UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ): 207 nm (2.92), 280 nm (2.27)



$^1\text{H-NMR}$  (Table 8)

HRESIMS  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  415.1308 (calcd. for  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{ClO}_5$  415.1312)

Nornidulin (**11**) 之物理數據如下：

amorphous colorless oil

IR  $\nu_{\text{max}}$ : 3469, 2956, 2845, 1645, 1566, 1408, 1239, 1116, 1018, 684, 592  $\text{cm}^{-1}$

UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\log \epsilon$ ): 207 nm (2.78), 268 nm (2.07)

$^1\text{H-NMR}$  及  $^{13}\text{C-NMR}$  (Table 6, Table 8)

HRESIMS  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  429.0061 (calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{Cl}_3\text{O}_5$  429.0063)

Pilobolusate (**12**) 之物理數據如下：

amorphous dark yellow oil

IR  $\nu_{\text{max}}$ : 3491, 2965, 2868, 1644, 1420, 1318, 1275, 1193, 1051, 1016, 661  $\text{cm}^{-1}$

UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\log \epsilon$ ): 221 nm (1.94), 270 nm (1.57)

$^1\text{H-NMR}$  (Table 6)

HRESIMS  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  237.1122 (calcd. for  $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_4$  237.1127)

2,4-dichlorounguinol (**13**) 之物理數據如下：

amorphous colorless oil

IR  $\nu_{\text{max}}$ : 3410, 2927, 2865, 1689, 1551, 1425, 1244, 1199, 1122, 1055, 833  $\text{cm}^{-1}$

UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\log \epsilon$ ): 213 nm (2.93), 266 nm (172.26)

$^1\text{H-NMR}$  (Table 6)

HRESIMS  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  395.0450 (calcd. for  $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{O}_5$  395.0453)



### 3.4 抑菌試驗

利用 checkerboard titration assay 評估 *Aspergillus unguis* NTU142 所分離之化合物是否對於細菌與真菌具有抑制其生長能力，本實驗和台灣大學植物病理與微生物學系陳穎練老師合作進行。

Table 9 和 Table 10 顯示，*Candida albicans* 與 *Staphylococcus aureus* 在 35°C 經過 24 小時，*Cryptococcus neoformans* 在 35°C 經過 72 小時後，化合物 **1—13** 對於 *Candida albicans* 最低抑菌濃度 (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 和最低殺真菌濃度 (Minimum Fungicidal Concentration, MFC) 至少皆大於 64  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；agonodepside A (**9**) 對於 *Cryptococcus neoformans* 的最低抑菌濃度 (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 和最低殺菌濃度 (Minimum Fungicidal Concentration, MFC) 都為 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，為所有化合物中抑菌能力最佳的；agonodepside A (**9**) 和 7-chlorofolipastatin (**10**) 對於 *Staphylococcus aureus* 的最低抑菌濃度 (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 和最低殺細菌濃度 (Minimum Bactericidal Concentration, MIC) 都為 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，為所有化合物中抑菌能力最佳的。本次試驗的 *Cryptococcus neoformans* 正對照組 caspofungin 的 MIC 為 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，而化合物 agonodepside A (**9**) 的 MIC 為 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，比正對照組更低，由此得知 agonodepside A (**9**) 抑制 *Cryptococcus neoformans* 的效果更為顯著，*Staphylococcus aureus* 正對照組 tetracycline 的 MIC 為 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，而化合物 agonodepside A (**9**) 和 7-chlorofolipastatin (**10**) 的 MIC 為 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，比正對照組更低，由此得知 agonodepside A (**9**) 抑制 *Staphylococcus aureus* 的效果更為顯著。

Table 9 化合物 1—13 之最低抑菌濃度和最低殺菌濃度

compound	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )			MFC/ MBC ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	<i>C.a</i>	<i>C.n</i>	<i>S.a</i>	<i>C.a</i>	<i>C.n</i>	<i>S.a</i>
1	>64	>64	>64	>64	>64	>64
2	>64	>64	>64	>64	>64	>64
3	>64	>64	>64	>64	>64	>64
4	>64	>64	>64	>64	>64	>64
5	>64	>64	8	>64	>64	>64
6	>64	>64	>64	>64	>64	>64
7	>64	64	8	>64	64	16
8	>64	16	8	>64	32	64
9	64	4	4	64	4	4
10	>64	8	4	>64	8	4
11	>64	64	8	>64	64	>64
12	>64	64	64	>64	>64	>64
13	>64	32	8	>64	32	64

Table 10 三株實驗病原菌編號以及培養條件

	strains	number	medium	
<i>C.a</i>	<i>Candida albicans</i>	SC5314	RPMI (0.2% glucose)	35°C for 24 h
<i>C.n</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>	H99	RPMI (0.2% glucose)	35°C for 72 h
<i>S.a</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	YC981	MHB	35°C for 24 h



### 3.5 一氧化氮抑制試驗

利用 Griess reagent assay 分析一氧化氮的濃度，來評估真菌中所產生的次級代謝產物是否對 BV-2 細胞產生 NO 具有抑制作用，本實驗和台北醫學大學藥理研究所蕭哲志教授合作進行。

由 Fig. 3.64 顯示，在 20  $\mu\text{M}$  濃度下，化合物 **1, 2, 5—13** 有明顯一氧化氮產生的抑制，而化合物 **3, 4** 不具有一氧化氮產生的抑制，其中 R 為一般狀態下細胞還有的 NO 量，V 為經由 LPS (150 ng/ml) 刺激細胞所產生的 NO 量。本實驗所使用的正對照組為 curcumin，其  $\text{IC}_{50}$  為  $6.00 \pm 0.29 \mu\text{M}$ ，期望測試化合物的濃度可以低於正對照組，達到抑制一氧化氮的效果。

由 Fig. 3.65 顯示，化合物 **1, 2, 5, 7—13**，皆具有強的細胞毒性，可推測其對於 BV-2 細胞之一氧化氮生成抑制，可能是化合物本身的細胞毒殺作用。而化合物 **3, 4, 6** 並沒有 BV-2 細胞造成毒殺，由上述可推測，化合物 **3, 4, 6** 對於 BV-2 細胞之一氧化氮生成抑制效果非來自細胞毒殺作用，可能為對一氧化氮合成酶之抑制，詳細機制仍須進一步證實。

由 Fig. 3.64 和 Fig. 3.65 顯示可推測，化合物 **6** 對於 BV-2 細胞產生一氧化氮具有抑制作用並非來自細胞毒性，而是來自化合物 **6** 的抑制能力，其  $\text{IC}_{50}$  為  $5.1 \pm 1.6 \mu\text{M}$ ，低於正對照組 curcumin ( $\text{IC}_{50}$ :  $6.00 \pm 0.29 \mu\text{M}$ )，相對於正對照組有較佳的抑制 BV-2 細胞產生一氧化氮的能力。

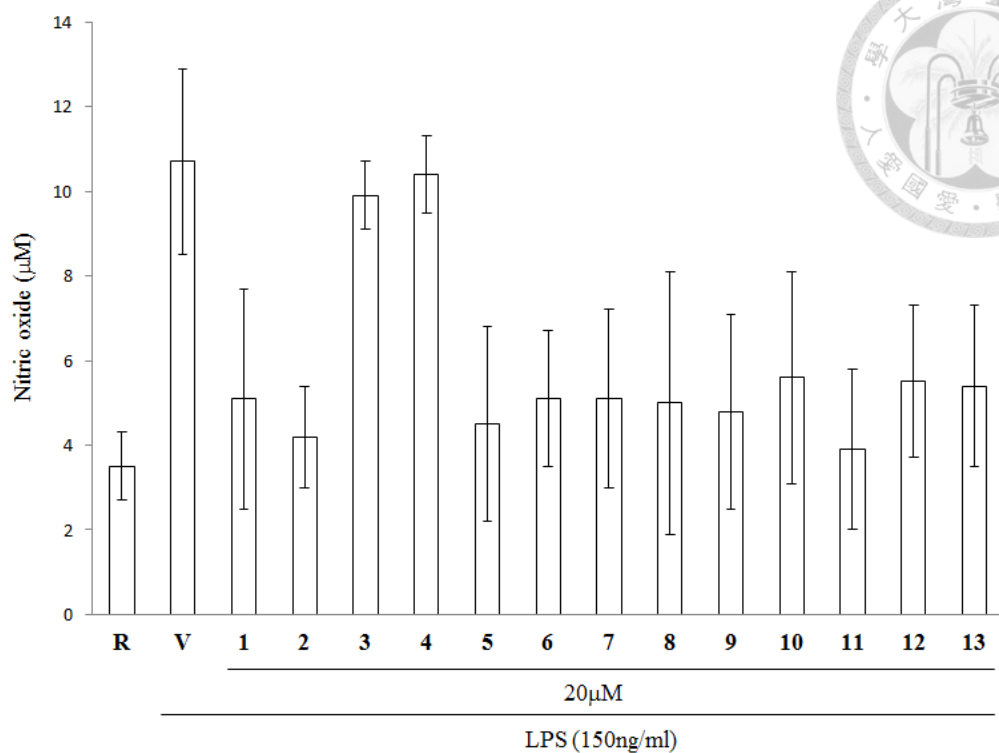


Fig. 3.64 化合物在 20  $\mu\text{M}$  下，抑制 BV-2 細胞一氧化氮的產生。R = Resting, V = Vehicle (+LPS)

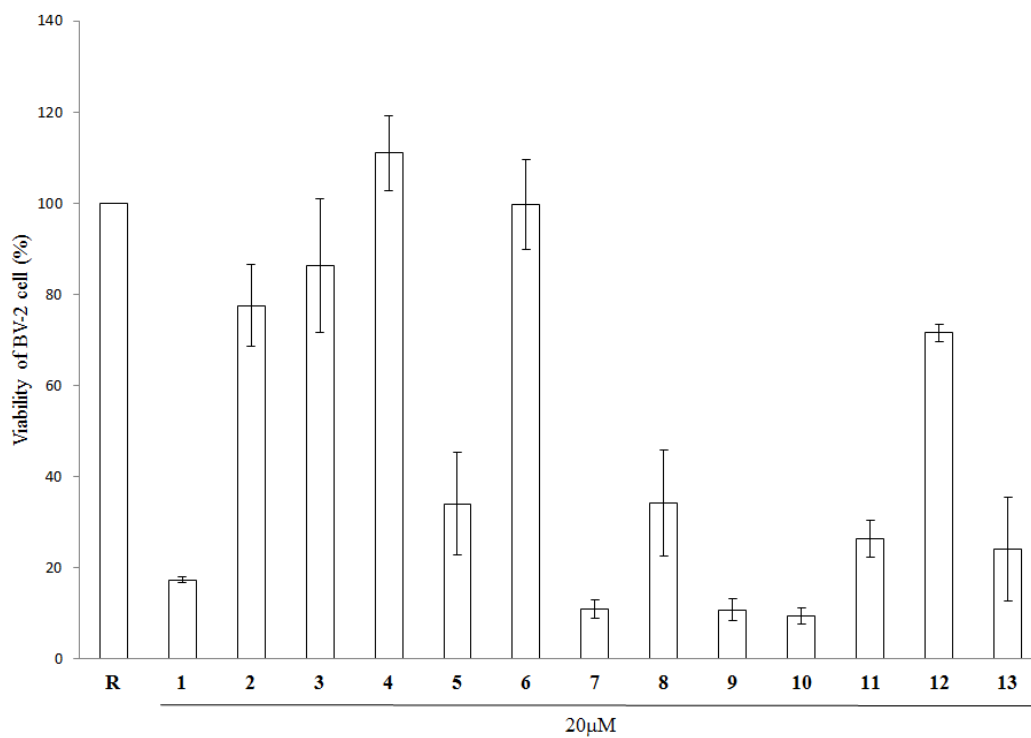


Fig. 3.65 化合物對於 BV-2 細胞之存活率影響。R = Resting

## Chapter 4 實驗方法



### 4.1 儀器設備與試劑

#### 4.1.1 化合物物理性質測定儀器

HRMS: Thermo Q Exactive Plus, Orbitrap Elite™ Hybrid Ion Trap-Orbitrap Mass Spectrometer

IR: JASCO FT/IR 4100 spectrometer (Tokyo, Japan)

NMR: Bruker Fourier 300MHz, Bruker AVIII-500MHz FT-NMR (Bruker, Ettlingen, Germany)

Optical rotation: JASCO P-2000 Digital Polarimeter (JASCO, Tokyo, Japan)

UV: Thermo UV-Visible Heios Spectrophotometer (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)

#### 4.1.2 高效能液態層析系統

RI Detector: Bischoff RI-8120 (Bischoff, Leonberg, Germany)

UV Detector: Hitachi L-7400 (Tokyo, Japan)

Pump: Hitachi L-7100 (Hitachi, Tokyo, Japan)

Column: Phenomenex Luna PFP, 5  $\mu$ , 10  $\times$  250 mm (Torrance, CA, USA), Thermo Hypersil-Keyston BDS Hypersil C<sub>18</sub>, 5  $\mu$ , 10  $\times$  250 mm (Bellefonte, PA, USA)

#### 4.1.3 低壓管柱色層層析系統

Sephadex LH-20 (Amersham Bioscience, Uppsala, Sweden)

#### 4.1.4 試劑耗材與溶劑

Methanol, ethyl acetate, *n*-hexane (G.R., Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, New Jersey, USA)

Methanol (L.C., Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, New Jersey, USA)

Acetonitrile (L.C., Merck, Darmstadt, Germany)

Methanol-*d*<sub>4</sub> (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)



#### 4.1.5 真菌培養基

Bacto™ Peptone (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Bacto™ Yeast Extract (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Bacto™ Malt Extract (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Difco™ Dextrose (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Difco™ Agar (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

#### 4.1.6 細菌培養基

Difco™ LB Broth (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Difco™ Agar (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

## 4.2 材料

### 4.2.1 真菌材料

*Aspergillus unguis* NTU142 由基隆八斗子潮境公園附近 (25°08'52.3"N, 121°47'44.3"E) 採集而來的長沙枝菜 (*Hypnea Charoides*) 單離出此菌，使用顯微型態鑑定加上 ITS 序列分子鑑定為 *Aspergillus unguis* NTU142。

### 4.2.2 細菌材料

革蘭氏陽性菌金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和革蘭氏陰性大腸桿菌 (*Escherichia coli*) 皆由台灣大學植物病理與微生物學系陳穎練老師實驗室所提供。

### 4.2.3 菌種鑑定

菌種鑑定是與台灣帶學植物病理與微生物學系曾顯雄老師實驗室合作鑑定。將已培養於 PDA 培養基上之 *Aspergillus unguis* NTU142 刮取少量孢子與菌絲於 1.5 mL 之離心管並加入 50 $\mu$ L 之氫氧化鈉 (0.5 N) 並用滅菌過之均質棒將孢子與菌絲碾碎摩擦，得以均質化，而後將離心管放入離心機，轉速為 16000 g，持續一分鐘。再取另外一個新的 1.5 mL 之離心管加入 255 $\mu$ L 的 Tris buffer，並將剛離心完的上清液取 5 $\mu$ L 加入已含有 255 $\mu$ L 的 Tris buffer 的 1.5 mL 之離心管中，此部分為本實

驗之 template，以下將以 template 稱呼之。使用於 PCR machine 的樣品內容物為 10mM 的 Forward Internal Transcribed Spacer 為 ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCAAGG-3') 1 $\mu$ L、10mM 的 Reverse Internal Transcribed Spacer 為 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 1 $\mu$ L、template 1 $\mu$ L、2X Taq 25 $\mu$ L 和 ddH<sub>2</sub>O 23  $\mu$ L，共 50  $\mu$ L，並放入條件為 1. 變性：94 $^{\circ}$ C、20 秒 2. 接合：55 $^{\circ}$ C、20 秒 3. 延伸：72 $^{\circ}$ C、60 秒，循環 25 次。PCR 結束後將樣品取 3 $\mu$ L 載入 Agarose 並放置於環境為 2 % TAE 的電泳槽中跑膠，確認 PCR 步驟是否成功，若成功就將 PCR 產物送至原資國際生物科技股份有限公司菌種鑑定。

#### 4.2.4 真菌篩選與萃取

*Aspergillus unguis* NTU142 於 2016 年 4 月採集自台灣基隆八斗子潮境公園附近之紅藻-長沙枝菜 (*Hypnea charoides*) 中分離取得，以 PDA 培養基篩選分離得到的菌株，並藉由甲醇萃取得到粗萃物，再由紙錠擴散法 (disk-diffusion method) 確認其初步活性。

### 4.3 抗菌活性初篩

#### 4.3.1 目的

利用紙錠擴散法 (disk-diffusion method) 可簡單且快速的評估本真菌之粗萃物是否對於細菌具有抑制其生長能力。

#### 4.3.2 檢測原理

此檢測方法又稱「Kirby-Bauer 測試法」<sup>[100]</sup>。原理為將待測粗萃物以溶劑溶解，適量點於濾紙上，另外準備含有可供測試細菌生長的固態培養基以及測試菌液，將兩者混合倒入培養皿中，待其凝固。而後將含有待測化合物的濾紙置於此固態培養基上，以 37 $^{\circ}$ C 培養 24 hr，因待測粗萃物會由濾紙擴散到瓊脂中，若化合物待測試細菌具有抑制生長功效，濾紙四周會形成一環抑菌圈 (Zone of inhibition)，此抑菌圈之直徑大小可作為待測粗萃物對於測試細菌之抑制效果的指標。



### 4.3.3 測試菌種

本次測驗之菌種選用的標準為最常使用的革蘭氏陽性菌及革蘭氏陰性菌各一株，革蘭氏陽性菌中以金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 最為普遍，革蘭氏陰性菌則以大腸桿菌 (*Escherichia coli*) 為代表，其特性如下：

#### 金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)<sup>[100][101]</sup>

1. 可產生多種毒素，增強其侵入人體與傷害組織的能力，因此具有病原性，手術時傷口被此菌感染為醫院最常見的問題。
2. 能對青黴素等抗生素快速產生抗藥性
3. 其產生之毒素與毒性休克症候群 (Toxic shock syndrome) 有關
4. 會產生腸毒素，引起噁心或嘔吐等症狀，為常見食物中毒之一

#### 大腸桿菌 (*Escherichia coli*)<sup>[101]</sup>

1. 為人腸道中最常見的菌種之一
2. 是水或食物中糞便污染之指標
3. 引起尿道感染的主要原因
4. 亦會引起腸毒素，因而使人有腹痛或嘔吐等症狀

### 4.3.4 實驗步驟

檢測前一天要先配置約 50 mL nutrient medium，置入待測菌株的單一菌落，以 25-30°C 培養約 24 hr，同時準備待測粗萃物，本次試驗所選用的控制組-四環黴素 (Tetracycline, Sigma Aldrich Chemical Co., USA) 1 mg 以及溶劑控制組甲醇 1 mL，待測粗萃物與控制組先以 MeOH 均勻溶開，將濃度調配為 100 ppm。另外，本次所指用紙錠 (Ø 8 mm, Advantec, Tokyo, Japan) 與鑷子必須經過滅菌再吹乾備用。

檢測當天要先配置 600 mL nutrient medium，滅菌 20 分鐘，帶其溫度降至 55-60 °C，加入前一天培養以生長到足量的測試菌液，均勻混和，置入培養皿 (Ø 90 x 15 mm, approximately 10 ml each) 內，靜置約 3-5 分鐘，將粗萃物、控制組與溶劑控制組吸取 50 µl 到紙錠上，吹乾後按照順序用鑷子黏到含有菌液之培養基上，靜置 24 hr，在比較抑菌圈直徑。流程示意圖請參照 Fig. 4.1。

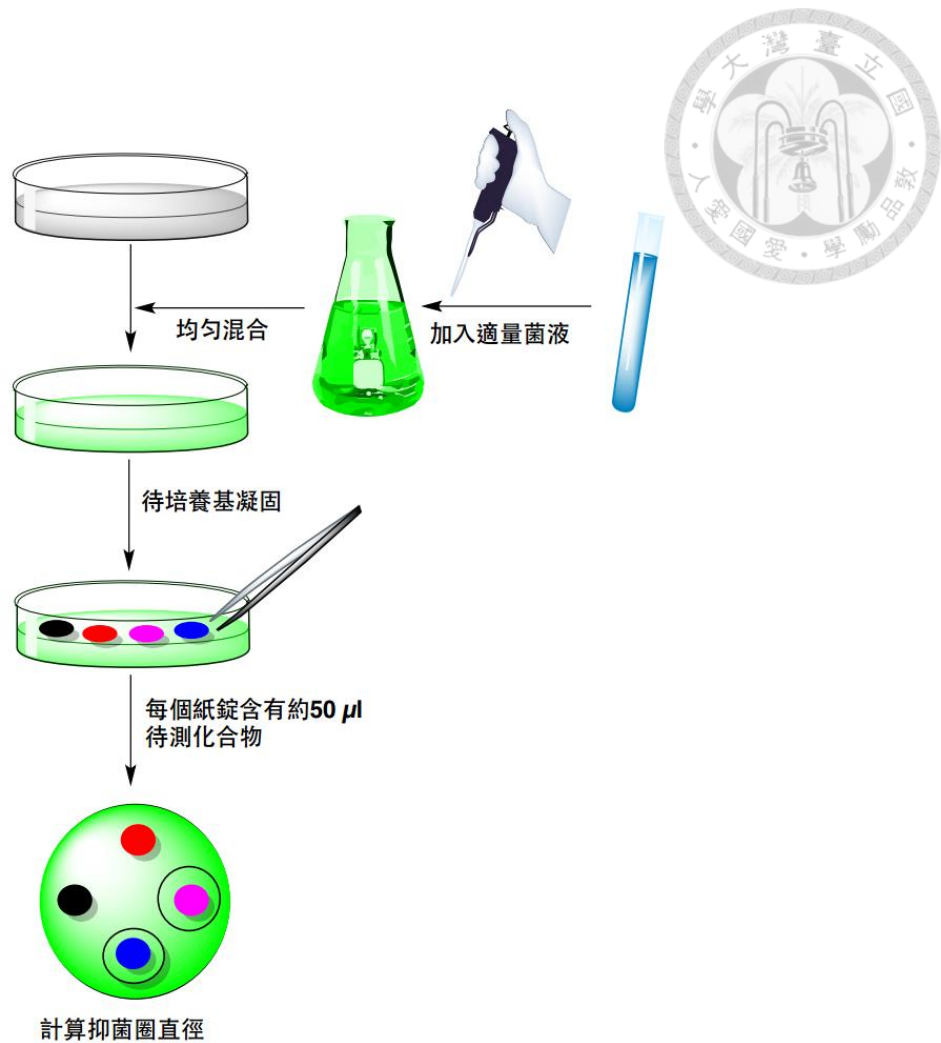


Fig. 4.1 紙錠擴散法 (disk-diffusion method) 實驗流程示意圖。

## 4.4 真菌培養與成分分離

### 4.4.1 培養基製備

MY medium: 以此比例配置 1L 培養液，120 °C 滅菌 20 分鐘，冷卻備用。

Malt Extract (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA).....20g

Yeast Extract (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA).....5g

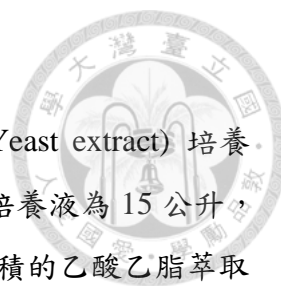
PDY agar plate: 以此比例配置 1L 培養液，120 °C 滅菌 20 分鐘，冷卻備用。

Peptone (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)..... 2g

Dextrose (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)..... 10g

Yeast Extract (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)..... 1g

Agar (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)..... 20g



#### 4.4.2 真菌發酵液萃取

菌株 *Aspergillus unguis* NTU142，使用 MY (Malt extract, Yeast extract) 培養基，以搖瓶培養轉速為 200 rpm/min 的方式進行液態發酵，總培養液為 15 公升，之後利用抽氣過濾的方式分離菌絲和菌液，並將菌液以 2 倍體積的乙酸乙脂萃取兩次；然而菌絲先用甲醇萃取後用 2 倍體積正己烷萃取兩次將極性較低之化合物先行分離，再用 2 倍體積的乙酸乙脂萃取兩次，將菌液和菌絲的乙酸乙脂粗萃物合併，減壓濃縮後得到粗萃物 8.4 公克，而後再進一步做純化分離。

#### 4.4.3 粗萃物成分之分離與純化

將菌株 *Aspergillus unguis* NTU142 真菌發酵液乙酸乙脂粗萃物溶於 25 mL MeOH，以 sephadex LH20 膠體管柱 (2.5 cm i.d. x 66.0 cm) 進行分離，使用甲醇為流動相進行沖提，流速 2.4 mL/min，每 27 mL 收集一管，共收集 43 管。而後使用正向 TLC 做初步分析，展開液為 dichloromethane : isopropanol (20:1, v/v)，依組成的相似性合併為 8 個分液 Fr.1-Fr.8，並藉由逆向 HPLC 進行純化分離。

其中 Fr.7 利用經由逆向高效液相層析儀 (Reversed-phase high-performance liquid chromatography; RP-HPLC) 分離純化得到化合物 **5**、**6**、**7**、**8**、**11** 和 Sub Fr.1，Sub Fr.1 使用 Si-60 裝置型薄層層析片分離出化合物 **9**、**10**；Fr.8 經 RP-HPLC 純化得到化合物 **12**、**13**；Fr.4 經 RP-HPLC 純化得到新化合物 **1**、**2**；Fr.3 經 RP-HPLC 純化得到新化合物 **3**、**4**。

##### Unguistin A (**1**)

取 Fr.4 以 RP-HPLC 進行純化，使用半製備管柱 Phenomenex Luna 5 $\mu$  PFP (10x250 nm) 配合 RI 偵測器進行檢測，流動相為 55% ACN + 0.03% TFA，流速為 2 mL/min，於滯留時間為 19.94 min，得到新化合物 **1** (3.00 mg)。

##### Unguistin B (**2**)

取 Fr.7 以 RP-HPLC 進行純化，使用半製備管柱 Phenomenex Luna 5 $\mu$  PFP (10x250 nm) 配合 RI 偵測器進行檢測，流動相為 55% ACN + 0.03% TFA，流速為 2 mL/min，於滯留時間為 23.21 min，得到化合物 **2** (2.21 mg)。



### Unguisine A (3)

取 Fr.3 以 RP-HPLC 進行純化，使用半製備管柱 Thermo BDS HYPERSIL C<sub>18</sub> 5 $\mu$  (10x250 nm) 配合 RI 偵測器進行檢測，流動相為 50% MeOH + 0.03% TFA，流速為 2mL/min，於滯留時間為 19.87 min，得到化合物 **3** (2.48 mg)。

### Unguisine B (4)

取 Fr.3 以 RP-HPLC 進行純化，使用半製備管柱 Thermo BDS HYPERSIL C<sub>18</sub> 5 $\mu$  (10x250 nm) 配合 RI 偵測器進行檢測，流動相為 50% MeOH + 0.03% TFA，流速為 2mL/min，於滯留時間為 24.21 min，得到化合物 **4** (1.84 mg)。

### Unguinol (5)

取 Fr.7 以 RP-HPLC 進行純化，使用半製備管柱 Phenomenex Luna 5 $\mu$  PFP (10x250 nm) 配合 RI 偵測器進行檢測，流動相為 55% ACN + 0.03% TFA，流速為 2mL/min，於滯留時間為 22.32 min，得到化合物 **5** (10.32 mg)。

### Aspergillusidone A (6)

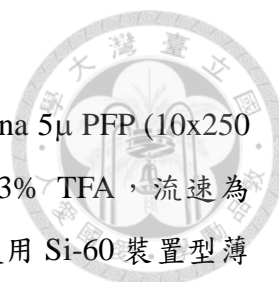
取 Fr.7 以 RP-HPLC 進行純化，使用半製備管柱 Phenomenex Luna 5 $\mu$  PFP (10x250 nm) 配合 RI 偵測器進行檢測，流動相為 55% ACN + 0.03% TFA，流速為 2mL/min，於滯留時間為 23.66 min，得到化合物 **6** (17.01 mg)。

### 2-Chlorounguinol (7)

取 Fr.7 以 RP-HPLC 進行純化，使用半製備管柱 Phenomenex Luna 5 $\mu$  PFP (10x250 nm) 配合 RI 偵測器進行檢測，流動相為 55% ACN + 0.03% TFA，流速為 2mL/min，於滯留時間為 33.72 min，得到化合物 **7** (5.19 mg)。

### Aspergillusidone C (8)

取 Fr.7 以 RP-HPLC 進行純化，使用半製備管柱 Phenomenex Luna 5 $\mu$  PFP (10x250 nm) 配合 RI 偵測器進行檢測，流動相為 55% ACN + 0.03% TFA，流速為 2mL/min，於滯留時間為 47.52 min，得到化合物 **8** (1.88 mg)。



#### Agonodepside A (9)

取 Fr.7 以 RP-HPLC 進行純化，使用半製備管柱 Phenomenex Luna 5 $\mu$  PFP (10x250 nm) 配合 RI 偵測器進行檢測，流動相為 55% ACN + 0.03% TFA，流速為 2mL/min，於滯留時間為 49.33 min，得到 Sub Fr.1，Sub Fr.1 使用 Si-60 裝置型薄層層析片，流動相為 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:EA = 50:1，R<sub>f</sub> 值為 0.5，分離出化合物 **9** (5.65g)。

#### 7-Chlorofolipastatin (10)

取 Fr.7 以 RP-HPLC 進行純化，使用半製備管柱 Phenomenex Luna 5 $\mu$  PFP (10x250 nm) 配合 RI 偵測器進行檢測，流動相為 55% ACN + 0.03% TFA，流速為 2mL/min，於滯留時間為 49.33 min，得到 Sub Fr.1，Sub Fr.1 使用 Si-60 裝置型薄層層析片，流動相為 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:EA = 50:1，R<sub>f</sub> 值為 0.65，分離出化合物 **10** (4.98g)。

#### Nornidulin (11)

取 Fr.7 以 RP-HPLC 進行純化，使用半製備管柱 Phenomenex Luna 5 $\mu$  PFP (10x250 nm) 配合 RI 偵測器進行檢測，流動相為 55% ACN + 0.03% TFA，流速為 2mL/min，於滯留時間為 57.02 min，得到化合物 **11** (7.55 mg)。

#### Pilobolusate (12)

取 Fr.8 以 RP-HPLC 進行純化，使用半製備管柱 Thermo BDS HYPERSIL C<sub>18</sub> 5 $\mu$  (10x250 nm) 配合 RI 偵測器進行檢測，流動相為 60% ACN + 0.03% TFA，流速為 2mL/min，於滯留時間為 23.92 min，得到化合物 **12** (5.41 mg)。

#### 2,4-Dichlorounguinol (13)

取 Fr.8 以 RP-HPLC 進行純化，使用半製備管柱 Thermo BDS HYPERSIL C<sub>18</sub> 5 $\mu$  (10x250 nm) 配合 RI 偵測器進行檢測，流動相為 60% ACN + 0.03% TFA，流速為 2mL/min，於滯留時間為 31.22 min，得到化合物 **13** (1.11 mg)。

## 4.5 一氧化氮之活性抑制試驗

利用 Griess reagent assay 分析一氧化氮的濃度，來評估真菌中所生產的次級代謝物是否對離體 BV-2 的細胞產生的 NO 具有抑制作用。



#### 4.5.1 細胞培養

BV-2 細胞培養在含有 10% FBS (fetal bovine serum) 和 L-glutamine、pencillin、streptomycin、HEPES 與  $\text{NaHCO}_3$  的 DMEM (Dullbecco's modified Eagle medium) 培養液中，培養條件維持在  $37^\circ\text{C}$  與 5% 二氧化碳 95% 空氣中<sup>[98]</sup>。

#### 4.5.2 Griess reagent assay

將定量好的 BV-2 細胞 ( $5 \times 10^5$  cells/well) 分置於 24 well 培養盤中，於恆溫箱內培養 16 小時，移除培養液後，加入不含酚紅的 DMEM 新培養液，並加入溶於 DMSO 中的化合物包含：空白對照組 (dimethyl sulfoxide; 0.1%)、compounds (1-13)，30 分鐘後給予 LPS 150 ng/ml，反應 24 小時。取出細胞培養液之上清液，再加入同體積的 Griess reagent (1% sulfanilamide 接著 0.1% naphyl-ethylenediamine dihydrochloride)，在室溫下反應 10 分鐘，利用 ELISA reader 於螢光波長 550 nm 下，測其吸光強度 (Optical density: O.D.)，並計算化合物對於離體 BV-2 細胞產生一氧化氮之抑制強度<sup>[99]</sup>。



## 4.6 抗菌活性評估

利用 checkerboard titration assay 可精準且快速的評估本真菌所分離之化合物是否對於細菌與真菌具有抑制其生長能力。

### 4.6.1 檢測原理

將同濃度的測試菌種加入 96-well 孔盤中，接著將不同濃度之待測化合物加入已有測試菌種的 96-well 孔盤孔洞中，並觀察測試菌種是否被不同濃度之待測物抑制生長。

### 4.6.2 測試菌種

本次測驗之菌種選用一株細菌以及兩株真菌，細菌為革蘭氏陽性金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 和革蘭氏陰性大腸桿菌 (*Escherichia coli*)，真菌為白色念珠菌 (*Candida albicans* SC5314) 和新生隱球菌 (*Cryptococcus neoformans* H99)。

### 4.6.3 Chequerboard titration assay

用 RPMI 培養液將測試菌種稀釋至 104 conidia/mL 然後在 96-well 孔盤中每個孔洞中加入 100  $\mu$ l，接著將待測化合物依二分之一序列稀釋 (0.5  $\mu$ g/ mL 至 256  $\mu$ g/ mL) 並吸取 50  $\mu$ l 與 50  $\mu$ l RPMI 培養液混和稀釋後加入已有測試菌種的 96-well 孔盤孔洞中，此時孔洞中總體積為 200  $\mu$ l，各待測化合物於 96-well 孔盤之高濃度至低濃度排序為由左至右，將 96-well 孔盤在 35°C 下培養 48 小時，之後由肉眼檢測不同濃度之待測化合物是否抑制測試菌種之生長<sup>[102]</sup>。

## Chapter 5 討論



本研究針對 *Aspergillus unguis* NTU142 之醱酵液所含二次代謝產物進行一系列的分離、純化與結構解析，計分離出 13 個化合物，屬於 polyketide，在本研究中證實具有部分抗菌及抗發炎之活性。

新化合物 **1—4** 為之前尚未發現過之化合物，而已知化合物 **5—13**，經資料庫搜尋其類似物，發現其為 depsidone 的骨架，而當中化合物 **7, 8, 10, 11, 13**，又被細分歸類為 chlorinated depsidones，因其結構中含有氯原子。最初分離出 depsidone 骨架的麴黴屬 (*Aspergillus*) 為在 1972 年 Julian Sierankiewicz 和 Sten Gatenbeck 對於 *Aspergillus nidulans* 研究中<sup>[103]</sup>所分離到的 unguinol 和 aspergillusidone C。而在 2007 年 Cherie A. Motti 等人則發現 unguinol 對於 *Staphylococcus aureus* 有顯著的抑制活性 ( $GI_{50}$ :  $8.7 \pm 0.2 \mu\text{M}$ )<sup>[104]</sup>，而在本研究中 unguinol (**5**) 對於 *Staphylococcus aureus* 的抑制活性 (MIC) 為  $8 \mu\text{g/mL}$ ，另外 agonodepside A (**9**) 和 7-chlorofolipastatin (**10**) 對於 *Staphylococcus aureus* 的最低抑菌濃度 (MIC) 和最低殺菌濃度 (MBC) 都為  $4 \text{ mg}/\mu\text{L}$ ，藉此可以呼應活性初篩階段 *Aspergillus unguis* NTU142 對於 *Staphylococcus aureus* 的活性結果。

Sanya Sureram 等人在 2012 年由海綿上的 *Aspergillus unguis* 分離出 unguinol, aspergillusidone B, aspergillusidone C, nidulin, nornidulin 和 2-chlorounguinol 對於清除自由基都有顯著的效果，但是對於人類膽管癌細胞(HuCCA-1)、人類肝癌細胞(HepG2)、人類肺腺癌細胞 (A549)和人類白血病細胞 (Molt-3) 的細胞毒性皆不具有顯著的效果<sup>[106]</sup>。

在 2013 年 Acharavadee Pansanit 等人的研究中，發現 nornidulin 和 2-chlorounguinol 皆有對於抑制由 LPS 誘導 RAW 264.7 細胞的 NO 活性 ( $IC_{50}$ : nornidulin:  $25.69 \pm 2.33 \mu\text{M}$ , 2-chlorounguinol:  $36.06 \pm 1.10$ )<sup>[105]</sup>。而在本研究中在  $20 \mu\text{M}$  濃度下，BV-2 經由 LPS (150 ng/ml) 刺激細胞所產生的 NO 量，化合物 **1, 2, 5—13** 有明顯一氧化氮產生的抑制，但化合物 **1, 2, 5, 7—13**，相對於化合物 **3, 4**

具有較強的細胞毒性，可推測其對於 BV-2 細胞之一氧化氮生成抑制，可能是化合物本身的細胞毒殺作用。化合物 **6** 其 IC<sub>50</sub> 為 5.1 ± 1.6 μM，對於 BV-2 細胞之一氧化氮生成抑制效果非來自細胞毒殺作用 (cell viability: 99.8 ± 9.9%)，可能為對一氧化氮合成酶之抑制。

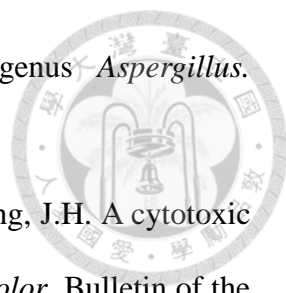
藉由評估化合物對於微生物的抑制活性和一氧化氮抑制活性測試的強弱結果，可嘗試歸納其構效相關性 (structure-activity relationship)，在本研究中，目前對於 *Staphylococcus aureus* 有抑制活性的化合物為 unguinol (**5**)、agonodepside A (**9**) 和 7-chlorofolipastatin (**10**)，雖然 unguinol (**5**) 的抑菌活性 (MIC) 為 8 μg/mL 高於 agonodepside A (**9**) 和 7-chlorofolipastatin (**10**) 的抑菌濃度 (MIC) 4 μg/mL，但是 unguinol (**5**) 為 *Aspergillus unguis* NTU142 的主要代謝物，所以推測初篩活性的結果是由 unguinol (**5**) 的益菌活性顯現，而 agonodepside A (**9**) 和 7-chlorofolipastatin (**10**) 在 1 號炭的位置上都接有 2-methyl-2-butene，推測為相對於 unguinol (**5**) 有更佳抑制 *Staphylococcus aureus* 活性的原因。Aspergillusidone A (**6**) 對於由 LPS 誘導的 BV-2 細胞一氧化氮生成具有顯著的抑制作用 (IC<sub>50</sub>: 5.1 ± 1.6 μM)，其效果並非來自細胞毒殺作用 (cell viability: 99.8 ± 9.9%)，在一系列的 depsidone 化合物中，只有 Aspergillusidone A (**6**) 在 7 號碳的位置上接有羧酸基，推測由 LPS 誘導的 BV-2 細胞一氧化氮生成具有抑制作用可能原因為因為 7 號碳的位置上接有羧酸基。

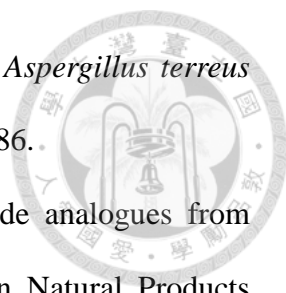
## Chapter 6 參考文獻



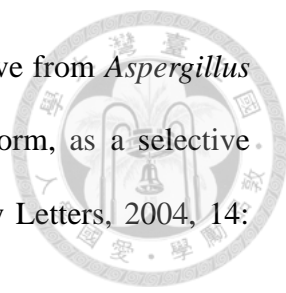
- [1] Bhadury, P.; Mohammad, B. T.; Wright, P. C. The current status of natural products from marine fungi and their potential as anti-infective agents. *Journal of Industrial Microbiol and Biotechnol*, 2006, 33: 325-337.
- [2] Faulkner, D. J. Marine natural products. *Natural Product Reports*, 2001, 18: 1-49.
- [3] Hawksworth, D. L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, 1990, 95: 641-655.
- [4] Roemer, T.; Davies, J.; Giaever, G.; Nislow, C. Bugs, grugs and chemical genomics. *Nature Chemical Biology*, 2012, 8: 46-56.
- [5] Chung, E. J.; Lim, H. K.; Kim, J. C.; Choi, G. J.; Park, E. J.; Lee, M. H.; Chung, Y. R.; Lee, S. W. Forest soil metagenome gene cluster involved in antifungal activity expression in *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74: 723-730.
- [6] 郭懷民，海洋微生物天然物，科學發展，2012：479。
- [7] Zhao, C. Y.; Zhu, T. H.; Zhu, W. M. New marine natural products of microbial origin from 2010 to 2013. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2013, 33: 1195-1234.
- [8] Varoglu, M.; Corbett, T.H.; Valeriote, F. A.; Crews, P. Asperazine, a selective cytotoxic alkaloid from a sponge-derived culture of *Aspergillus niger*. *Journal of Organic Chemistry*, 1997, 62: 7078-7079.
- [9] Namikoshi, M.; Negishi, R.; Nagai, H.; Dmitrenok, A.; Kobayashi, H. Three new chlorine containing antibiotics from a marinederived fungus *Aspergillus ostianus* collected in Pohnpei. *The Journal of Antibiotics*, 2003, 56: 755-761.
- [10] Cueto, M.; MacMillan, J. B.; Jensen, P. R.; Fenical, W. Tropolactones A- D, four


meroterpenoids from a marine derived fungus of the genus *Aspergillus*.  
*Phytochemistry*, 2006, 67: 1826-1831.

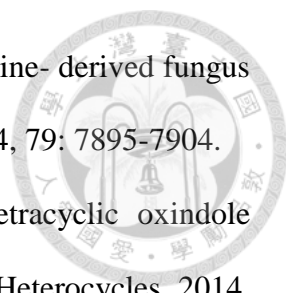
- 
- [11] Lee, Y.; Dang, H.T.; Hong, J.; Lee, C.O.; Bae, K.; Kim, D.; Jung, J.H. A cytotoxic lipopeptide from the sponge-derived fungus *Aspergillus versicolor*. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 2010, 31: 205-208.
- [12] Lee, Y.; Dang, H.T.; Li, J.; Zhang, P.; Hong, J.; Lee, C.O.; Jung, J.H. A cytotoxic fellutamide from the sponge-derived fungus *Aspergillus versicolor*. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 2011, 32: 3817-3820.
- [13] Hiort, J.; Maksimenka, K.; Reichert, M.; Perovic, O. S.; Lin, W.H.; Wray, V.; Steube, K.; Schaumann, K.; Weber, H.; Proksch, P. New natural products from the sponge-derived fungus *Aspergillus niger*. *Journal of Natural Products*, 2004, 67: 1532-1543.
- [14] Shao, C. L.; Wang, C. Y.; Wei, M. Y.; Gu, Y. C.; She, Z. G.; Qian, P. Y.; Lin, Y. C. Aspergilones A and B, two benzylazaphilones with an unprecedented carbon skeleton from the gorgonian-derived fungus *Aspergillus* sp.. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2011, 21: 690-693.
- [15] Zhang, D.; Fukuzawa, S.; Satake, M.; Li, X.; Kuranaga, T.; Niitsu, A.; Yoshizawa, K.; Tachibana, K. Ophiobolin O and 6-epiophiobolin O, two new cytotoxic sesterterpenes from the marine derived fungus *Aspergillus* sp. *Natural Product Communications*, 2012, 7: 1411-1414.
- [16] Yang, T.; Lu, Z.; Meng, L.; Wei, S.; Hong, K.; Zhu, W.; Huang, C. The novel agent ophiobolin O induces apoptosis and cell cycle arrest of MCF-7 cells through activation of MAPK signaling pathways. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2012, 22: 579-585.
- [17] He, F.; Bao, J.; Zhang, X. Y.; Tu, Z. C.; Shi, Y. M.; Qi, S. H. Asperterrestide A, a

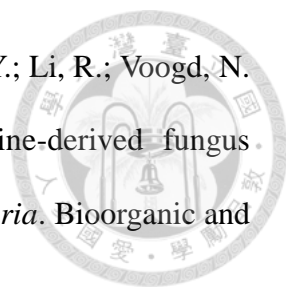
- 
- cytotoxic cyclic tetrapeptide from the marine-derived fungus *Aspergillus terreus* SCSGAF0162. *Journal of Natural Products*, 2013, 76: 1182-1186.
- [18] Jiang, T.; Li, T.; Li, J.; Fu, H.; Pei, Y.; Lin, W. Cerebroside analogues from marine-derived fungus *Aspergillus flavipes*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2004, 6: 249-257.
- [19] Takahashi, C.; Matsushita, T.; Doi, M.; Minoura, K.; Shingu, T.; Kumeda, Y.; Numata, A. Fumiquinolines A- G, novel metabolites of a fungus separated from a *Pseudolabrus* marine fish. *Journal of the Chemical Society*, 1995, 18: 2345-2353.
- [20] Yamada, T.; Imai, E.; Nakatsuji, K.; Numata, A.; Tanaka, R. Cephalimysin A, a potent cytotoxic metabolite from an *Aspergillus* species separated from a marine fish. *Tetrahedron Letters*, 2007, 48: 6294-6296.
- [21] Yamada, T.; Kitada, H.; Kajimoto, T.; Numata, A.; Tanaka, R. The relationship between the CD cotton effect and the absolute configuration of FD-838 and its seven stereoisomers. *Journal of Organic Chemistry*, 2010, 75: 4146-4153.
- [22] Kato, H.; Yoshida, T.; Tokue, T.; Nojiri, Y.; Hirota, H.; Ohta, T.; Williams, R.M.; Tsukamoto, S. Notoamides A- D: prenylated indole alkaloids isolated from a marine-derived fungus, *Aspergillus* sp. *Angewandte Chemie International Edition*, 2007, 46: 2254-2256.
- [23] Nakanishi, K.; Doi, M.; Usami, Y.; Amagata, T.; Minoura, K.; Tanaka, R.; Numata, A.; Yamada, T. Anthcolorins A-F, novel cytotoxic metabolites from a sea urchin-derived *Aspergillus versicolor*. *Tetrahedron*, 2013, 69: 4617-4623.
- [24] Jiang, W.; Ye, P.; Chen, C. A.; Wang, K.; Liu, P.; He, S.; Wu, X.; Gan, L.; Ye, Y.; Wu, B. Two novel hepatocellular carcinoma cycle inhibitory cyclodepsipeptides from a hydrothermal vent crab-associated fungus *Aspergillus clavatus* C2WU.

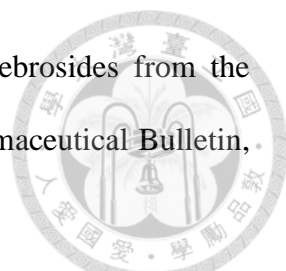
- Marine Drugs, 2013, 11: 4761-4772.
- [25] Fang, Y.; Zhu, T.; Zhang, M.; Lin, A.; Gu, Q.; Zhu, W. Seven new prenylated indole diketopiperazine alkaloids from holothurian-derived fungus *Aspergillus fumigatus*. *Tetrahedron*, 2008, 64: 7986-7991.
- [26] Tsukamoto, S.; Miura, S.; Yamashita, Y.; Ohta, T. Aspermytin A: a new neurotrophic polyketide isolated from a marine-derived fungus of the genus *Aspergillus*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2004, 14: 417-420.
- [27] Lin, A.; Lu, X.; Fang, Y.; Zhu, T.; Gu, Q.; Zhu, W. Two new 5-hydroxy-2-pyrone derivatives isolated from a marine-derived fungus *Aspergillus flavus*. *The Journal of Antibiotics*, 2008, 61: 245-249.
- [28] Lin, A.; Du, L.; Fang, Y.; Wang, F.; Zhu, T.; Gu, Q.; Zhu, W. Iso- $\alpha$ -cyclopiazonic acid, a new natural product isolated from the marine-derived fungus *Aspergillus flavus* C-F-3. *Chemistry of Natural Compounds*, 2009, 5: 677-680.
- [29] Sun, H. F.; Li, X. M.; Meng, L.; Cui, C. M.; Gao, S. S.; Li, C. S.; Huang, C. G.; Wang, B. G. Asperolides A-C, tetranorlabdane diterpenoids from the marine alga-derived endophytic fungus *Aspergillus wentii* EN-48. *Journal of Natural Products*, 2012, 75: 148-152.
- [30] Li, X.; Li, X.; Xu, G.; Li, C.; Wang, B. Antioxidant metabolites from marine alga-derived fungus *Aspergillus wentii* EN-48. *Phytochemistry Letters*, 2014, 7: 120-123.
- [31] Ebada, S.S.; Fischer, T.; Hamacher, A.; Du, F.; Roth, Y.O.; Kassack, M.U.; Wang, B.; Roth, E.H. Psychrophilin E, a new cyclotriptide, from co-fermentation of two marine algaderived fungi of the genus *Aspergillus*. *Natural Product Research*, 2014, 28: 776-781.
- [32] Ogawa, A.; Murakami, C.; Kamisuki, S.; Kuriyama, I.; Yoshida, H.; Sugawara, F.;

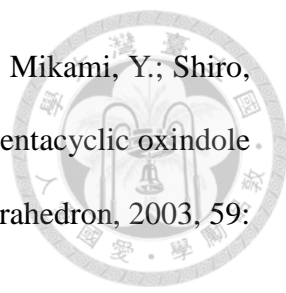
- 
- Mizushina, Y. Pseudodeflectusin, a novel isochroman derivative from *Aspergillus pseudodeflectus* a parasite of the sea weed, *Sargassum fusiform*, as a selective human cancer cytotoxin. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2004, 14: 3539-3543.
- [33] Fenical, W.; Jensen, P. R.; Cheng, X. C. Halimide, a cytotoxic marine natural product, derivatives thereof and therapeutic use in inhibition of proliferation. PCT Int. Appl. WO 9948889. 19990930.
- [34] Liu, D.; Li, X.M.; Meng, L.; Li, C.S.; Gao, S.S.; Shang, Z.; Proksch, P.; Huang, C.G.; Wang, B.G. Nigerapyrones A-H, alpha-pyrone derivatives from the marine mangrove-derived endophytic fungus *Aspergillus niger* MA-132. *Journal of Natural Products*, 2011, 74: 1787-1791.
- [35] Liu, R.; Zhu, W.; Zhang, Y.; Zhu, T.; Liu, H.; Fang, Y.; Gu, Q. A new diphenyl ether from marine-derived fungus *Aspergillus* sp. BF-2. *The Journal of Antibiotics*, 2006, 59: 362- 365.
- [36] Kamigauchi, T.; Sakazaki, R.; Nagashima, K.; Kawamura, Y.; Yasuda, Y.; Matsushima, K.; Tani, H.; Takahashi, Y.; Ishii, K.; Suzuki, R.; Koizumi, K.; Nakai, H.; Ikenishi, Y.; Terui, Y. Terprenins, novel immunosuppressants produced by *Aspergillus candidus*. *The Journal of Antibiotics*, 1998, 51: 445-450.
- [37] Zhang, Y.; Zhu, T.; Fang, Y.; Liu, H.; Gu, Q.; Zhu, W. Carbonarones A and B, new bioactive  $\gamma$ -pyrone and  $\alpha$ -pyridone derivatives from the marine-derived fungus *Aspergillus carbonarius*. *The Journal of Antibiotics*, 2007, 60: 153-157.
- [38] Ren, H.; Liu, C. L.; Zhu, T.; Zhu, W.; Gu, Q. Two new heterospirocyclic gamma-lactam derivatives from marine sedimentderived fungus *Aspergillus sydowi* D2-6. *Archives of Pharmacal Research*, 2010, 33: 499-502.
- [39] Zhou, L. N.; Gao, H. Q.; Cai, S. X.; Zhu, T. T.; Gu, Q.Q.; Li, D. H. Two new


- 
- cyclic pentapeptides from the marine-derived fungus *Aspergillus versicolor*. *Helvetica Chimica Acta*, 2011, 94: 1065-1070.
- [40] Gao, H.; Zhou, L.; Cai, S.; Zhang, G.; Zhu, T.; Gu, Q.; Li, D. Diorecinols BE, new prenylated diphenyl ethers from the marine-derived fungus *Aspergillus versicolor* ZLN-60. *The Journal of Antibiotics*, 2013, 66: 539-542.
- [41] Cai, S.; Sun, S.; Zhou, H.; Kong, X.; Zhu, T.; Li, D.; Gu, Q. Prenylated polyhydroxy-p-terphenyls from *Aspergillus taichungensis* ZHN-7-07. *Journal of Natural Products*, 2011, 74: 1106- 1110.
- [42] Wang, Y. L.; Bai, L.M.; Wu, L.Z.; Pei, Y. H. 2,5- diketopiperazines from the marine-derived fungus *Aspergillus fumigatus* YK-7. *Chemistry and Biodiversity*, 2012, 9: 385- 393.
- [43] Zhuravleva, O. I.; Afiyatullo, S. S.; Vishchuk, O. S.; Denisenko, V. A.; Slinkina, N. N.; Smetanina, O.F. Decumbenone C, a new cytotoxic decaline derivative from the marine fungus *Aspergillus sulphureus* KMM 4640. *Archives of Pharmacal Research*, 2012, 35: 1757-1762.
- [44] Lu, Z.; Wang, Y.; Miao, C.; Liu, P.; Hong, K.; Zhu, W. Sesquiterpenoids and benzofuranoids from the marine-derived fungus *Aspergillus ustus* 094102. *Journal of Natural Products*, 2009, 72: 1761-1767.
- [45] Peng, J.; Zhang, X.; Tu, Z.; Xu, X.; Qi, S. Alkaloids from the deepsea-derived fungus *Aspergillus westerdijkiae* DFFSCS013. *Journal of Natural Products*, 2013, 76: 983-987.
- [46] Chen, L.; Zhang, W.; Zheng, Q. Aculeatusquinones A-D, novel metabolites from the marine-derived fungus *Aspergillus aculeatus*. *Heterocycles*, 2013, 87: 861-868.
- [47] Peng, J. X.; Gao, H. Q.; Li, J.; Ai, J.; Geng, M. Y.; Zhang, G.J.; Zhu, T. T.; Gu, Q.

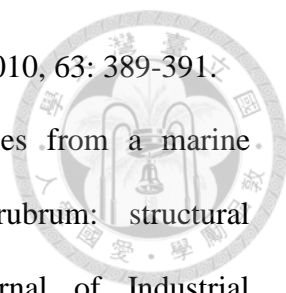
- 
- Q.; Li, D. H. Prenylated indole diketopiperazines from the marine-derived fungus *Aspergillus versicolor*. *The Journal of Organic Chemistry*, 2014, 79: 7895-7904.
- [48] Hu, X.; Xia, Q.; Zhao, Y. Speradines B-E, four novel tetracyclic oxindole alkaloids from the marine-derived fungus *Aspergillus oryzae*. *Heterocycles*, 2014, 89: 1662-1669.
- [49] Du, L.; Zhu, T. T.; Fang, Y.C.; Liu, H.B.; Gu, Q. Q.; Zhu, W.M. Aspergiolide A, a novel anthraquinone derivative with naphtho[1, 2, 3-de]chromene-2, 7-dione skeleton isolated from a marine-derived fungus *Aspergillus glaucus*. *Tetrahedron*, 2007, 63: 1085-1088.
- [50] Wang, H.; Zheng, J.; Qu, H.; Liu, P.; Wang, Y.; Zhu, W. A new cytotoxic indole-3-ethenamide from the halotolerant fungus *Aspergillus sclerotiorum* PT06-1. *The Journal of Antibiotics*, 2011, 64: 679-681.
- [51] Cui, C. Tryprostatins A and B, novel mammalian cell cycle inhibitors produced by *Aspergillus fumigatus*. *The Journal of Antibiotics*, 1995, 48: 1382-1384.
- [52] Ingavat, N.; Mahidol, C.; Ruchirawat, S.; Kittakoop, P. Asperaculin A, a sesquiterpenoid from a marine-derived fungus *Aspergillus aculeatus*. *Journal of Natural Products*, 2011, 74: 1650-1652.
- [53] Cohen, E.; Koch, L.; Thu, K. M.; Rahamim, Y.; Aluma, Y.; Ilan, M.; Yarden, O.; Carmeli, S. Novel terpenoids of the fungus *Aspergillus insuetus* isolated from the Mediterranean sponge *Psammocinia* sp. collected along the coast of Israel. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2011, 19: 6587- 6593.
- [54] Li, D.; Xu, Y.; Shao, C. L.; Yang, R. Y.; Zheng, C.J.; Chen, Y. Y.; Fu, X. M.; Qian, P. Y.; She, Z. G.; Voogd, N. J.; Wang, C. Y.; Antibacterial bisabolane-type sesquiterpenoids from the sponge-derived fungus *Aspergillus* sp. *Marine Drugs*, 2012, 10: 234-241

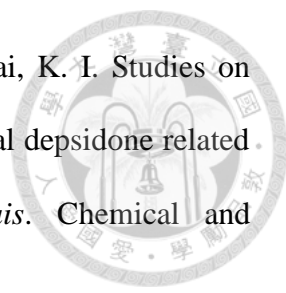
- 
- [55] Sun, L.; Shao, C.; Chen, J.; Guo, Z.; Fu, X.; Chen, M.; Chen, Y.; Li, R.; Voogd, N. J.; She, Z. New bisabolane sesquiterpenoids from a marine-derived fungus *Aspergillus* sp. isolated from the sponge *Xestospongia testudinaria*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2012, 22: 1326-1329.
- [56] Zhou, Y.; Debbab, A.; Wray, V.; Lin, W.; Schulz, B.; Trepos, R.; Pile, C.; Hellio, C.; Proksch, P.; Aly, A. H. Marine bacterial inhibitors from the sponge-derived fungus *Aspergillus* sp.. *Tetrahedron Letters*, 2014, 55: 2789-2792.
- [57] Zheng, C. J.; Shao, C. L.; Wu, L. Y.; Chen, M.; Wang, K. L.; Zhao, D. L.; Sun, X. P.; Chen, G. Y.; Wang, C. Y. Bioactive phenylalanine derivatives and cytochalasins from the soft coral-derived fungus, *Aspergillus elegans*. *Marine Drugs*, 2013, 11: 2054-2068.
- [58] Lorenz, P.; Jensen, P. R.; Fenical, W. Mactanamide, a new fungistatic diketopiperazine produced by a marine *Aspergillus* sp. *Natural Products Letters*, 1998, 12: 55-60.
- [59] Nguyen, H. P.; Zhang, D.; Lee, U.; Kang, J. S.; Choi, H. D.; Son, B. W. Dehydrochlorofusarielin B, an antibacterial polyoxygenated decalin derivative from the marine-derived fungus *Aspergillus* sp. *Journal of Natural Products*, 2007, 70: 1188-1190.
- [60] Zhang, Y.; Li, X.; Wang, B. Nigerasperones A- C, new monomeric and dimeric naphtho- $\gamma$ -pyrones from a marine alga-derived endophytic fungus *Aspergillus niger* EN-13. *The Journal of Antibiotics*, 2007, 60: 204-210.
- [61] Qiao, M. F.; Ji, N. Y.; Liu, X. H.; Li, F.; Xue, Q. Z. Asporyergosterol, a new steroid from an algicolous isolate of *Aspergillus oryzae*. *Natural Product Communications*, 2010, 5: 1575-1578.
- [62] Yang, G.; Sandjo, L.; Yun, K.; Leutou, A. S.; Kim, G. D.; Choi, H. D.; Kang, J. S.;

- 
- Hong, J.; Son, B. W. Flavusides A and B, antibacterial cerebroside from the marine-derived fungus *Aspergillus flavus*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2011, 9: 1174-1177.
- [63] Liu, X. H.; Miao, F. P.; Qiao, M. F.; Cichewicz, R. H.; Ji, N. Y. Terretonin, ophiobolin, and drimane terpenes with absolute configurations from an algicolous *Aspergillus ustus*. *RSC Advances*, 2013, 3: 588-595.
- [64] Ji, N.; Liu, X.; Miao, F.; Qiao, M. Aspeverin, a new alkaloid from an algicolous strain of *Aspergillus versicolor*. *Organic Letters*, 2013, 15: 2327-2329.
- [65] Li, Y.; Sun, K.; Wang, Y.; Fu, P.; Liu, P.; Wang, C.; Zhu, W. A cytotoxic pyrrolidinoindoline diketopiperazine dimer from the algal fungus *Eurotium herbariorum* HT-2. *Chinese Chemical Letters*, 2013, 24: 1049-1052.
- [66] Wang, H.; Lu, Z.; Qu, H.; Liu, P.; Miao, C.; Zhu, T.; Li, J.; Hong, K.; Zhu, W. Antimicrobial aflatoxins from the marine-derived fungus *Aspergillus flavus* 092008. *Archives of Pharmacal Research*, 2012, 35: 1387-1392.
- [67] An, C.; Li, X.; Luo, H.; Li, C.; Wang, M.; Xu, G.; Wang, B. 4-phenyl- 3, 4-dihydroquinolone derivatives from *Aspergillus nidulans* MA-143, an endophytic fungus isolated from the mangrove plant *Rhizophora stylosa*. *Journal of Natural Products*, 2013, 76: 1896-1901.
- [68] An, C.; Li, X.; Li, C.; Wang, M.; Xu, G.; Wang, B. Aniquinazolines A- D, four new quinazolinone alkaloids from marine-derived endophytic fungus *Aspergillus nidulans*. *Marine Drugs*, 2013, 11: 2682-2694.
- [69] Bai, Z.; Lin, X.; Wang, Y.; Wang, J.; Zhou, X.; Yang, B.; Liu, J.; Yang, X.; Wang, Y.; Liu, Y. New phenyl derivatives from endophytic fungus *Aspergillus flavipes* AIL8 derived of mangrove plant *Acanthus ilicifolius*. *Fitoterapia*, 2014, 95: 194-202.


- 
- [70] Tsuda, M.; Mugishima, T.; Komatsu, K.; Sone, T.; Tanaka, M.; Mikami, Y.; Shiro, M.; Hirai, M.; Ohizumi, Y.; Kobayashi J. Speradine A, a new pentacyclic oxindole alkaloid from a marine-derived fungus *Aspergillus tamarii*. *Tetrahedron*, 2003, 59: 3227-3230.
- [71] Zhang, M.; Wang, W.; Fang, Y.; Zhu, T.; Gu, Q.; Zhu, W. Cytotoxic alkaloids and antibiotic nordammarane triterpenoids from the marine-derived fungus *Aspergillus sydowi*. *Journal of Natural Products*, 2008, 71: 985-989.
- [72] Boot, C. M.; Gassner, N. C.; Compton, J. E.; Tenney, K.; Tamble, C. M.; Lokey, R. S. Pinpointing pseurotins from a marine-derived *Aspergillus* as tools for chemical genetics using a synthetic lethality yeast screen. *Journal of Natural Products*, 2007, 70: 1672-1675.
- [73] Song, F.; Liu, X.; Guo, H.; Ren, B.; Chen, C.; Piggott, A. M.; Yu, K.; Gao, H.; Wang, Q.; Liu, M.; Liu, X.; Dai, H.; Zhang, L.; Capon, R. J. Brevianamides with antitubercular potential from a marinederived isolate of *Aspergillus versicolor*. *Organic Letters*, 2012, 14: 4770-4773.
- [74] Liu, X.; Song, F.; Ma, L.; Chen, C.; Xiao, X.; Ren, B.; Liu, X.; Dai, H.; Piggott, A. M.; Gay, Y. Sydowiols A- C: Mycobacterium tuberculosis protein tyrosine phosphatase inhibitors from an East China Sea marine-derived fungus, *Aspergillus sydowii*. *Tetrahedron Letters*, 2013, 54: 6081-6083.
- [75] Zheng, J.; Zhu, H.; Hong, K.; Wang, Y.; Liu, P.; Wang, X.; Peng, X.; Zhu, W. Novel cyclic hexapeptides from marine-derived fungus, *Aspergillus sclerotiorum* PT06-1. *Organic Letters*, 2009, 11: 5262-5265.
- [76] Zheng, J.; Xu, Z.; Wang, Y.; Hong, K.; Liu, P.; Zhu, W. Cyclic tripeptides from the halotolerant fungus *Aspergillus sclerotiorum* PT06-1. *Journal of Natural Products*, 2010, 73: 1133-1137.

- 
- [77] Wang, Y.; Zheng, J.; Liu, P.; Wang, W.; Zhu, W. Three new compounds from *Aspergillus terreus* PT06-2 grown in a high salt medium. *Marine Drugs*, 2011, 9: 1368-1378.
- [78] Dong, Y.; Cui, C.; Li, C.; Hua, W.; Wu, C.; Zhu, T.; Gu, Q. Activation of dormant secondary metabolite production by introducing neomycin resistance into the deep-sea fungus, *Aspergillus versicolor* ZBY-3. *Marine Drugs*, 2014, 12: 4326-4352.
- [79] Zhuang, Y.; Teng, X.; Wang, Y.; Liu, P.; Li, G.; Zhu, W. New quinazolinone alkaloids within rare amino acid residue from coral-associated fungus, *Aspergillus versicolor* LCJ-5-4. *Organic Letters*, 2011, 13: 1130-1133.
- [80] Zhu, T.; Chen, Z.; Liu, P.; Wang, Y.; Xin, Z.; Zhu, W. New rubrolides from the marine-derived fungus *Aspergillus terreus* OUCMDZ-1925. *The Journal of Antibiotics*, 2014, 67: 315-318.
- [81] Li, Y.; Li, X.; Kim, S.; Kang, J. S.; Choi, H. D.; Rho, J.R.; Son, B. W. Golmaenone, a new diketopiperazine alkaloid from the marine-derived fungus *Aspergillus* sp. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2004, 52: 375-376.
- [82] Zhang, Y.; Li, X. M.; Feng, Y.; Wang, B. G. Phenethyl-alpha-pyrone derivatives and cyclodipeptides from a marine algous endophytic fungus *Aspergillus niger* EN-13. *Natural Product Research*, 2010, 24: 1036-1043.
- [83] Cui, C. M.; Li, X. M.; Meng, L.; Li, C. S.; Huang, C. G.; Wang, B. G. 7-Nor-ergosterolide, a pentalactone-containing norsteroid and related steroids from the marine-derived endophytic *Aspergillus ochraceus* EN-31. *Journal of Natural Products*, 2010, 73: 1780-1784.
- [84] Izumikawa, M.; Hashimoto, J.; Takagi, M.; Shin-ya, K. Isolation of two new terpeptin analogs— JBIR-81 and JBIR-82—from a seaweed-derived fungus,

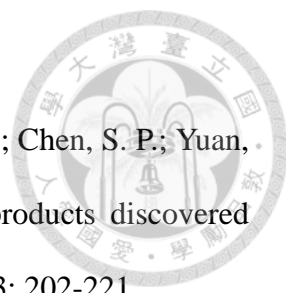
- 
- Aspergillus* sp. SpD081030G1f1. The Journal of Antibiotics, 2010, 63: 389-391.
- [85] Li, D.; Li, X.; Wang, B. Natural anthraquinone derivatives from a marine mangrove plant-derived endophytic fungus *Eurotium rubrum*: structural elucidation and DPPH radical scavenging activity. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2009, 19: 675-680
- [86] Sun, S.; Ji, C.; Gu, Q.; Li, D.; Zhu, T. Three new polyketides from marine-derived fungus *Aspergillus glaucus* HB1-19. Journal of Asian Natural Product Research, 2013, 15: 956-961.
- [87] Sun, S.; Ji, C.; Gu, Q.; Li, D.; Zhu, T. Three new polyketides from marine-derived fungus *Aspergillus glaucus* HB1-19. Journal of Asian Natural Product Research, 2013, 15: 956-961.
- [88] Ui, H.; Shiomi, K.; Yamaguchi, Y.; Masuma, R.; Nagamitsu, T.; Takano, D.; Sunazuka, T.; Namikoshi, M.; Omura, S. Nafuredin, a novel inhibitor of NADH-fumarate reductase, produced by *Aspergillus niger* FT-0554. The Journal of Antibiotics, 2001, 54: 234-238.
- [89] Capon, R. J.; Skene, C.; Stewart, M.; Ford, J.; Richard, A. J.; Williams, L.; Lacey, E.; Gill, J. H.; Heiland, K.; Friedel, T. Aspergillicins A-E: five novel depsipeptides from the marine-derived fungus *Aspergillus carneus*. Organic and Biomolecular Chemistry, 2003, 1: 1856-1862.
- [90] David, E. C.; Radha, I. The absolute configuration of cyclonerodiol. Tetrahedron Letters, 1977, 40: 3511-3514.
- [91] Strickler, H.; Ohloff, G.; Kovats, E. Absolute configuration and relationship to the products of Wolff-Kishner reduction of 2, 6, 6-reimethyl-2-vinyl-tetrahydropyran-5-one. Tetrahedron Letters, 1964, 12: 649-655.

- 
- [92] Kawahara, N.; Nakajima, S.; Astoh, Y.; Yamazaki, M.; Lawai, K. I. Studies on fungal products. XVIII. Isolation and structures of a new fungal depsidone related to nidulin and a new phthalide from *Emericella unguis*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 1988, 36: 1970-1975.
- [93] Sureram, S.; Wiyakrutta, S.; Ngamrojanavanich, N.; Mahidol, C.; Ruchirawat, S.; Kittakoop, P. Depsidones, aromatase inhibitors and radical scavenging agents from the marine-derived fungus *Aspergillus unguis* CRI282-03. *Planta medica*, 2012, 78: 582-588.
- [94] Cao, S.; Alex, S.; Lee, Y.; Huang, Y.; Flotow, H.; Siewbee, Ng.; Butler, M. S.; Buss, A. D. Agonodepsides A and B: Two new depsides from a filamentous fungus F7524. *Journal of Natural Products*, 2002, 65: 1037-1038.
- [95] Uchida, R.; Nakajyo, K.; Kobayashi, K.; Ohshiro, T.; Terahara, T.; Imada, C.; Tomoda, H. 7-chlorofolipastatin, an inhibitor of sterol *O*-acyltransferase, produced by marine-derived *Aspergillus unguis* NKH-007. *The Journal of Antibiotics*, 2016, 69: 647-651.
- [96] Klaiklay, S.; Rukachaisirikul, V.; Aungphao, W.; Phongpaichit, S.; Sakayaroj, J. Depsidone and phthalide derivatives from the soil-derived fungus *Aspergillus unguis* PSU-RSPG199. *Tetrahedron Letters*, 2016, 57: 4348-4351.
- [97] Sureram, S.; Kesornpun, C.; Mahidol, C.; Ruchirawat, S.; Kttakoop, P. Directed biosynthesis through biohalogenation of secondary metabolites of the marine-derived fungus *Aspergillus unguis*. *The Royal Society of Chemistry*. 2013, 3: 1781-1788.
- [98] Jung, K. K.; Lee, H. S.; Cho, J. Y.; Shin, W. C.; Rhee, M. H.; Kim, T. G.; Kang, J. H.; Kim, S. H.; Kang, Y. S. Inhibitory effect of curcumin on nitric oxide production from lipopolysaccharide-activated primary microglia. *Life Science*,

2006, 79: 2022-2031.

- 
- [99] Hsiao, G.; Fong, T. H.; Tzu, N. H.; Lin, K. H.; Chou, D. S.; Sheu J. R. A potent antioxidant, lycopene, affords neuroprotection against microglia activation and focal cerebral ischemia in rats. *In Vivo*, 2004, 18, 351-356.
- [100] Hans, O. H.; Laurell, G.; Identification of cephalosporin-resistant staphylococcus aureus with the disk diffusion method. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1972, 5: 422-426.
- [101] 何振隆，精油之抗菌活性，林業研究專訓，2008： 31-37。
- [102] Hsu, L. H.; Wang, F. H.; Sun, P. L.; Hu, F. R.; Chen, Y. L. The antibiotic polymyxin B exhibits novel antifungal activity against *Fusarium* species. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2017, 49: 740-748.
- [103] Sierankiewicz, J.; Gatenbeck, S. A new depsidone from *Aspergillus nidulans*. *Acta Chemica Scandinavica*, 1972, 26: 455-458.
- [104] Cherie, A. M.; David G. Bourne.; James N. B.; Jason R. D.; Dianne S. H.; Catherine H. L.; Lyndon E. L.; Shilo L.; Andrew M.; Dianne M. T. Screening marine fungi for inhibitors of the C<sub>4</sub> plant enzyme pyruvate phosphate dikinase: unguinol as a potential novel herbicide candidate. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 3: 1921-2927.
- [105] Pansanit, A.; Park, E. J.; Kondratyuk, T. P.; Pezzuto, J. M.; Lirdprapamongkol, K.; Kittakoop, P. Vermelhotin, an anti-inflammatory agent, suppresses nitric oxide production in RAW 264.7 cells via p38 inhibition. *Journal of Natural Products*, 2013, 76: 1824-1827.
- [106] Sureram, S.; Wiyakrutta, S.; Ngamrojanavanich, N.; Mahidol, C.; Ruchirawat, S.; Kittakoop, P. Depsidones, aromatase inhibitors and radical scavenging agents from the marine-derived fungus *Aspergillus unguis* CRI282-03. *Planta medica*,

2012, 78: 582-588.

- 
- [107] Wu, Y. W.; Chen, J. H. ;Hu, G. P.; Yu, J. C.; Zhu, X.; Lin, Y. C.; Chen, S. P.; Yuan, J. Statistical research on the bioactivity of marine natural products discovered during the 28 years from 1985 to 2012. *Marine Drugs*, 2015, 13: 202-221.
- [108] 趙成英、劉海珊、朱偉明。海洋麴黴來源的新天然產物。微生物學報，2016，5：331-362。