



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106749306 B

(45)授权公告日 2019.06.07

(21)申请号 201611080522.2

A01P 1/00(2006.01)

(22)申请日 2016.11.30

A01P 7/00(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

A01P 13/00(2006.01)

申请公布号 CN 106749306 A

C09D 5/16(2006.01)

(43)申请公布日 2017.05.31

审查员 吴凤意

(73)专利权人 厦门大学

地址 361005 福建省厦门市思明南路422号

(72)发明人 刘辉 冯丹青 盛彦青 陈思羽

邓贤明 徐庆妍 胡志钰 柯才焕

(74)专利代理机构 厦门南强之路专利事务所

(普通合伙) 35200

代理人 马应森

(51)Int.Cl.

C07D 493/08(2006.01)

A01N 43/90(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页 附图2页

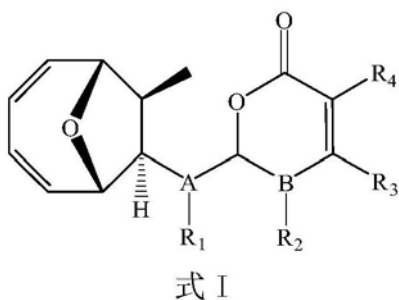
(54)发明名称

南强菌素及其衍生物作为海洋防污剂的应用

(57)摘要

南强菌素及其衍生物作为海洋防污剂的应用,涉及海洋防污剂。南强菌素及其衍生物能显著抑制海洋污损生物藤壶的附着和沙筛贝的足丝分泌,具高效的防污活性,同时对非靶标生物丰年虫毒性较低。南强菌素及其衍生物为天然有机化合物及其衍生物,对环境友好,并能通过微生物发酵稳定供应,在规模化应用于海洋防污涂料方面具较大潜力。所述南强菌素及其衍生物在制备海洋防污剂中的应用。所述南强菌素及其衍生物不仅可单独作为海洋防污剂,而且可用于制备海洋防污涂料,还可以与其它防污剂复配使用。毒性较低,不含有毒重金属,在海洋环境中易降解,对环境友好,安全性高。

1. 南强菌素及其衍生物在制备海洋防污剂中的应用, 所述海洋防污剂中含有至少一种南强菌素及其衍生物, 所述南强菌素及其衍生物的化学结构通式如式I所示:



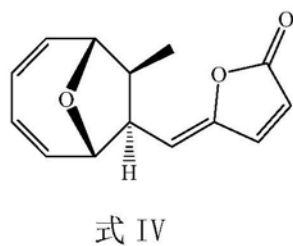
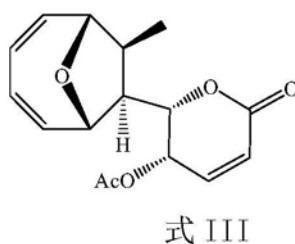
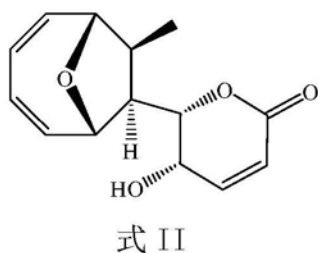
在式I中:

“—A—”和“—B—”表示—(C_nH_m)—, 其中—(C_nH_m)—表示饱和或不饱和的直链烃基, n=0~6, m=0~12;

R₁、R₂、R₃和R₄可独立地选自氢原子、卤素原子、羟基、甲氧基、乙酰基、氨基、氰基、酰胺基。

2. 如权利要求1所述应用, 其特征在于所述南强菌素及其衍生物在制备海洋防污涂料中应用。

3. 南强菌素及其衍生物在制备海洋防污剂中的应用, 所述南强菌素及其衍生物的化学结构通式如II~IV所示:



4. 如权利要求3所述应用, 其特征在于所述海洋防污剂中含有至少一种所述南强菌素及其衍生物。

5. 如权利要求3所述南强菌素及其衍生物在制备海洋防污涂料中应用。

南强菌素及其衍生物作为海洋防污剂的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及海洋防污剂,具体是涉及南强菌素及其衍生物作为海洋防污剂的应用。

背景技术

[0002] 海洋环境中,海洋生物在人工设施表面的附着和生长,对人类经济活动造成不利影响的现象称之为海洋生物污损(marine biofouling)。引起海洋生物污损的主要生物类群包括海洋底栖细菌、底栖硅藻、大型藻类、海绵、水螅类、珊瑚类、龙介虫、双壳类、藤壶、苔虫类、棘皮类和海鞘等,范围几乎涉及到所有海洋生物的主要门类,这些生物统称为海洋污损生物(marine fouling organisms)。海洋生物污损会带来以下一系列危害:增加船舶航行阻力,导致航速降低及燃料消耗增加,阻塞管道,加速金属腐蚀,降低海洋仪器和设施使用性能和寿命,造成养殖产量和品质下降,随船舶航行引起生物入侵等。采用化学防污剂是目前最为经济有效且普遍采用的污损生物防除方法。但随着一系列高毒性、具致畸作用的化学防污剂(如有机锡类化合物、敌草隆、Irgarol 1051等)相继被禁用或限用,当前迫切需要研发出环保型海洋防污剂,以减少对海洋环境的破坏和人类健康的威胁。

[0003] 从天然产物中筛选环境友好型的高效防污剂是一个重要途径。天然防污产物具有生物可降解、毒性低等优点,是潜在的新型环保防污剂。目前从海绵、珊瑚、海藻等海洋生物中已经分离出大量的天然防污产物,但其中一大部分在海洋生物体内含量微少,且大部分海洋生物样品采集困难,获取量较少,其提取或人工合成成本高,因此难以开发应用。海洋微生物则可以通过发酵以及遗传改造等方法,能提供大量的防污活性物质,可以有助于解决天然防污产物规模化应用中的产量难题。

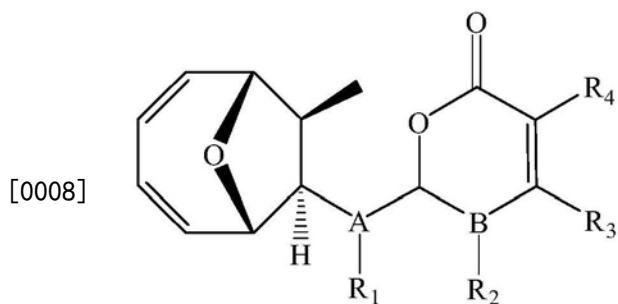
[0004] 南强菌素(又名:去乙酰真菌环氧乙酯,deacetyl-mycoepoxydiene)是海洋微生物—红树内生真菌拟茎点霉(*Phomopsis* sp.)中的一种次级代谢产物,分子结构新颖独特,为含有氧桥的环氧二烯衍生物。这类化合物具作用机制新、抗肿瘤活性高、毒副作用小、结构新颖等优势,但是目前研究报道较少,主要集中在体外评价其抗肿瘤、抗炎等活性以及有关环氧二烯骨架有机合成等。中国专利CN 1903858A公开了南强菌素的制备方法以及对人B淋巴瘤Raji细胞具有良好的抗性(IC_{50} 为 $3\mu\text{g mL}^{-1}$)。中国专利CN 102319240A公开了南强菌素作为Hsp90抑制剂的应用,能有效抑制Hsp90以及炎症因子的表达,可以用于制备炎症性疾病治疗的药物。关于南强菌素在海洋污损生物防除领域未见任何相关报道。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供具抑制海洋污损生物附着活性且较低毒性的南强菌素及其衍生物。

[0006] 本发明的另一个目的是提供南强菌素及其衍生物在制备海洋防污剂中的应用。

[0007] 所述南强菌素及其衍生物的化学结构通式如式I所示。



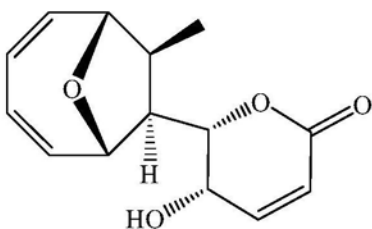
式 I

[0009] 在式I中：

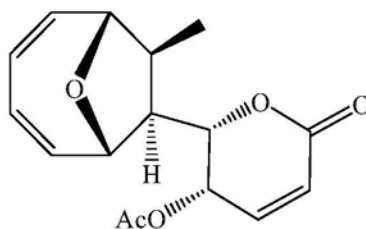
[0010] “—A—”和“—B—”表示—(C_nH_m)—，其中—(C_nH_m)—表示饱和或不饱和的直链烃基，n=0~6，m=0~12；

[0011] R₁、R₂、R₃和R₄可独立地选自氢原子、卤素原子、羟基、甲氧基、乙酰基、烷基、氨基、氰基、酰胺基、芳香基或卤代芳香基。

[0012] 所述南强菌素及其衍生物可为式II~IV所示化合物：

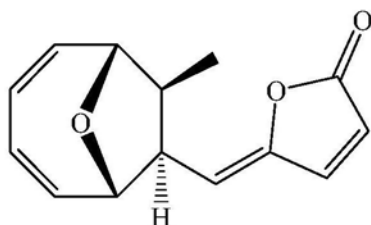


式 II



式 III

[0013]



式 IV

[0014] 实验表明，上述南强菌素及其衍生物能显著抑制海洋污损生物的附着，具有良好的防污活性，同时对非靶标生物丰年虫幼体毒性较低，在应用于环境友好型海洋防污涂料方面具良好的潜力。

[0015] 经实验室生物模型检测（包括白脊藤壶金星幼体附着实验和沙筛贝足丝分泌实验），本发明所述南强菌素及其衍生物对海洋污损生物具显著的防污活性，半有效浓度（EC₅₀值，指抑制50%所检测生物附着或足丝分泌的有效浓度，此值越低，表明防污活性越高）在20μg mL⁻¹以下，显示出高效的防污活性。另一方面，对丰年虫无节幼体进行毒性检测，结果显示，呈现出较低的毒性，南强菌素及其衍生物对丰年虫无节幼体的24h半致死浓度（LC₅₀值，指杀死50%所检测生物的有效浓度，此值越高，表明毒性越低）均在100μg mL⁻¹以上。

[0016] 实验结果表明，本发明所述南强菌素及其衍生物在制备海洋防污剂中的应用。

[0017] 本发明提供的海洋防污剂中含有至少一种所述南强菌素及其衍生物。

[0018] 所述南强菌素及其衍生物不仅可单独作为海洋防污剂，而且可用于制备海洋防污

涂料,还可以与其它防污剂复配使用。

[0019] 本发明可作为海洋防污剂以常规方法制备海洋防污涂料,涂料中含有至少一种本发明所述的南强菌素及其衍生物,可通过浸渍、喷涂或涂布等常规方式施用所述防污涂料至海洋人工设施表面,这些海洋人工设施包括(但不限于):船只、海上油气平台、浮标、码头、桥墩、船坞、海水管道、海洋探测器、木桩及海水养殖网箱。

[0020] 本发明具有以下有益效果:

[0021] 1.本发明中的南强菌素及其衍生物为天然存在的有机化合物及其衍生物,且毒性较低,不含有毒重金属,在海洋环境中易降解,对环境友好,安全性高。

[0022] 2.本发明中的南强菌素及其衍生物对海洋污损生物表现出显著的抑制附着活性,可为海洋抗污损涂料或其它抗污损产品的开发提供有价值的先导化合物,有良好的应用前景。

[0023] 3.本发明中的南强菌素及其衍生物可通过微生物发酵大量获得,商业化应用潜力大。

附图说明

[0024] 图1为南强菌素对白脊藤壶金星幼体附着的影响。

[0025] 图2为真菌环氧乙酯(南强菌素衍生物)对白脊藤壶金星幼体附着的影响。

[0026] 图3为南强菌素对沙筛贝足丝分泌的影响。

[0027] 图4为真菌环氧乙酯(南强菌素衍生物)对沙筛贝足丝分泌的影响。

[0028] 图5为南强菌素对丰年虫无节幼体存活的影响。

[0029] 图6为真菌环氧乙酯(南强菌素衍生物)对丰年虫无节幼体存活的影响。

[0030] 图1~6中,ck1表示空白对照,ck2表示溶剂对照。

具体实施方式

[0031] 下面结合实施例对本发明作进一步说明,但不以任何方式限制本发明。

[0032] 实施例1南强菌素及其衍生物对白脊藤壶金星幼体的防污活性检测

[0033] 藤壶是世界范围内污损危害最大的一类生物,以藤壶金星幼体为生物模型已成为目前天然防污产物筛选中应用最久、最广泛、最主要的检测活性方法。本实施方式选择白脊藤壶 *Balanus albicostatus* 金星幼体作为防污检测模型,通过化合物作用下对金星幼体的附着率影响来作为评估防污活性的指标。藤壶成体采集于厦门市五缘湾游艇码头,其金星幼体在实验室内培养获得。

[0034] 配制南强菌素和真菌环氧乙酯(南强菌素衍生物)溶液的一系列浓度梯度(以甲醇溶解),每组3个平行样。空白对照组中直接加入10mL膜滤海水(经孔径为0.22 μ m的滤膜过滤,下同),溶剂对照组中是向培养皿加入1mL甲醇,待甲醇完全挥发至干,再加入10mL海水。实验组则是向培养皿中加入1mL所配溶液,待其均匀挥发至干,化合物均匀覆盖培养皿底部和侧面,再在培养皿中加入10mL海水。每个培养皿中加入30~50只幼体,置于26 $^{\circ}$ C黑暗环境中,待溶剂对照组幼体附着率达80%以上时,用体视显微镜观察金星幼体的附着情况,求出各化合物对白脊藤壶金星幼体的半抑制附着浓度EC₅₀值。

[0035] 检测结果见附图1~2所示,南强菌素和真菌环氧乙酯对金星幼体的EC₅₀分别为

1.63和2.04 $\mu\text{g mL}^{-1}$,显示出高效的防污活性,表明南强菌素和真菌环氧乙酯均能显著地抑制白脊藤壶金星幼体的附着。

[0036] 实施例2南强菌素及其衍生物对沙筛贝的防污活性检测

[0037] 沙筛贝*Mytilopsis sallei*原产于中美洲热带水域,是生长速度快、成熟快、繁殖率高的物种,常分布水流较缓的内湾或浅水海域,以其足丝进行附着,常附着于船底、养殖网箱、浮筏及海水管道等表面,对内湾航运和水产养殖等带来了巨大的经济损失,同时对本地底栖生物生存造成威胁。本实施方式是通过化合物作用下对沙筛贝足丝的分泌条数影响来作为评估其防污活性的依据。

[0038] 选取健康的沙筛贝稚体,壳长约10mm,通过海水洗净其表面,剪去原有足丝。称取南强菌素和真菌环氧乙酯,以二甲亚砜(DMSO)为溶剂,配制成一系列浓度梯度溶液。取干净的24孔板,先加入1990 μL 膜滤海水至孔中,再加入10 μL 所配溶液,另设置空白对照(溶液和溶剂均不添加)和溶剂对照(仅添加溶剂),每个梯度下设置10个平行组。将沙筛贝放入孔中,每孔一个。室温黑暗环境静置24h。24h后观察每个孔中沙筛贝足丝盘产生的数量。

[0039] 检测结果如附图3~4,南强菌素和真菌环氧乙酯对沙筛贝足丝分泌均表现出一定的抑制活性, EC_{50} 分别为16.73和10.26 $\mu\text{g mL}^{-1}$,具有较好的防污活性。

[0040] 实施例3南强菌素及其衍生物对非靶标生物丰年虫的毒性检测

[0041] 丰年虫*Artemia salina*分布广泛、个体小、对环境变化反应灵敏,同时丰年虫卵易于保存,能迅速大量培养出幼体,因此丰年虫常被作为一种监测海洋环境中毒性物质的检测生物。本实施方式是通过检测南强菌素和真菌环氧乙酯对丰年虫II~III期无节幼体的24h急性毒性作用,以幼体的死亡率作为评估毒性高低的依据。丰年虫II~III期无节幼体由实验室培养获得。

[0042] 配制一系列浓度梯度的南强菌素和真菌环氧乙酯溶液(以DMSO介溶),以24孔板为实验容器,设置空白对照(仅添加2ml海水)、溶剂对照(仅添加含0.5%DMSO的2ml海水)以及实验组,每个浓度维持6个平行组,每个孔2mL体系(10 μL 溶液+1990 μL 膜滤海水),每个孔控制幼体数量在10~20只。在25 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗环境下培养,24h后进行观察幼体的状态,统计幼体的健康数、死亡数并记录。

[0043] 检测结果如附图5~6所示,南强菌素和真菌环氧乙酯对丰年虫无节幼体表现出较低的毒性, LC_{50} 均大于100 $\mu\text{g mL}^{-1}$,显示出南强菌素和真菌环氧乙酯可作为环境友好型海洋防污剂的良好潜力。

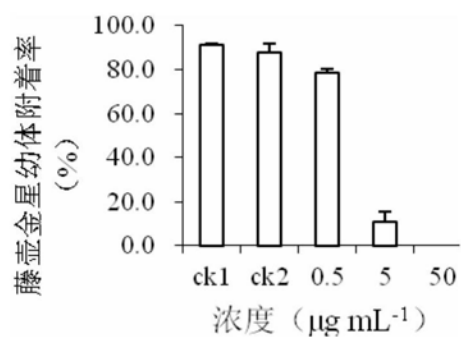


图1

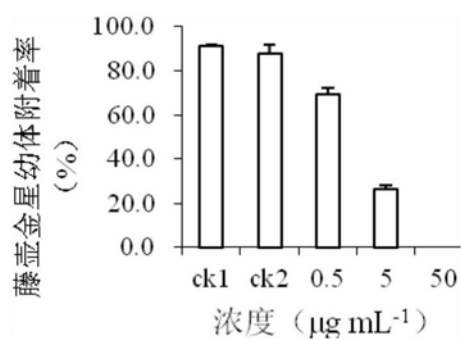


图2

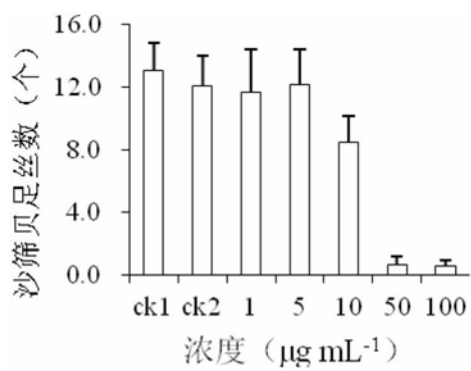


图3

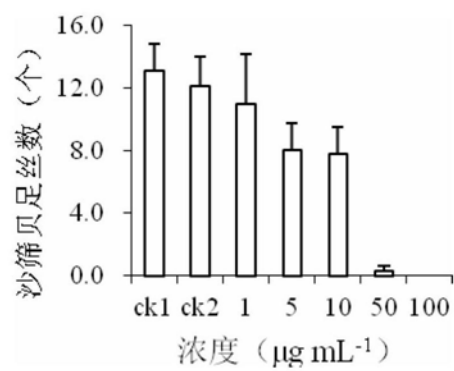


图4

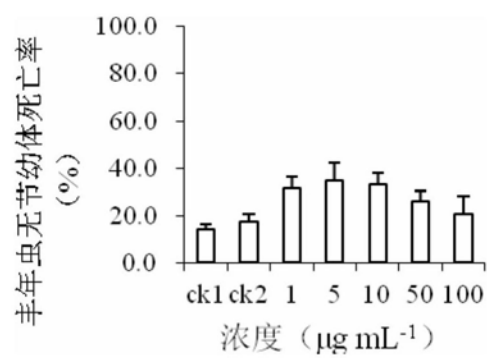


图5

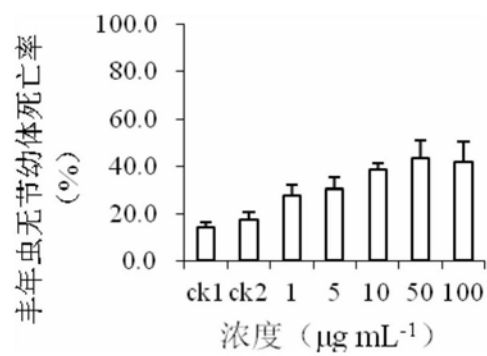


图6