

# Sekundarni metaboliti gljivica roda *Aspergillus* iz mora i njihova biološka aktivnost

---

Hartl, Nina

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:539459>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Nina Hartl**

**Sekundarni metaboliti gljivica roda *Aspergillus* iz  
mora i njihova biološka aktivnost**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Mikrobiologija s parazitologijom Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Zavodu za mikrobiologiju pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Maje Šegvić Klarić.

*Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Maji Šegvić Klarić na stručnom vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada. Hvala mom suprugu Zvonimiru na strpljenju i podršci, hvala sinu Mateju na motivaciji. Hvala mojoj obitelji na vremenu koje su proveli čuvajući Mateja dok sam ja pisala ovaj rad. Hvala mojoj sestri Ivi na pomoći oko prevođenja. Hvala prijateljici Viktoriji na svim savjetima i pomoći u vezi biologije. Hvala i svim ostalim prijateljima na podršci i vjeri u mene, a naročito Idi, Josipu, Ani, Danijeli, Petri. Na kraju naravno hvala i dragom Bogu na povjerenim talentima i sposobnosti.*

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
1.1. DEFINIRANJE MORSKIH GLJIVICA .....	1
1.2. RAZNOLIKOST I METODE IDENTIFIKACIJE MORSKIH GLJIVICA.....	3
1.3. SEKUNDARNI METABOLITI IZ MORSKIH GLJIVICA .....	6
2. OBRAZLOŽENJE TEME .....	8
3. MATERIJALI I METODE .....	9
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	10
4.1. TAKSONOMIJA RODA <i>Aspergillus</i> IZ MORA.....	10
4.2. SEKUNDARNI METABOLITI RODA <i>Aspergillus</i> IZ MORA.....	16
4.2.1. ANTIMIKROBNE TVARI.....	22
4.2.1.1. ANTIBAKTERIJSKE TVARI .....	22
4.2.1.2. ANTIFUNGALNE TVARI .....	24
4.2.1.3. ANTIVIRUSNE TVARI.....	25
4.2.2. CITOTOKSIČNE TVARI .....	26
5. ZAKLJUČAK.....	28
6. LITERATURA .....	29
7. SAŽETAK .....	38
8. SUMMARY.....	39
9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA	

## 1. UVOD

### 1.1. ŠTO SU MORSKE GLJIVICE?

Popriličan broj mikologa kroz povijest zapazio je pojavu morskih gljivica međutim one se nisu detaljnije proučavale sve do 1950-ih. Tada se istraživanjem gljivica na morskoj travi znanstvenika Sparrowa, Cottona i Sutherlanda otvara široko područje morske mikologije (Jones, 2011). Ono što se tada smatralo morskom gljivicom uvelike je bilo oblikovano salinitetom vode. Pa tako Johnson i Sparrow predlažu definiciju da je morska gljivica ona koja je „sposobna razviti se do reproduktivne zrelosti iako je izložena u nekoj točki u svom rastu salinitetu od 30 promila ili više bilo da je cijeli životni vijek pod vodom ili samo povremeno prekrivena morskom vodom u plimi“ (Johnson i Sparrow, 1961). Definiranje morskih gljivica samo na temelju fizioloških parametara nepotpuno je pošto su gljivice izrazito prilagodljivi mikroorganizmi i stoga mnoge mogu rasti jednako dobro pod cijelim spektrom saliniteta (Pang i sur., 2016).

Ubrzo su i drugi znanstvenici počeli istraživati morske gljivice. Barghoom i Linder svojim su radom o morskim gljivicama iz drvenih supstrata pokrenuli lavinu drugih radova uključujući i one Jana i Erike Kohlmeyer (Jones, 2011). Ovi su znanstvenici skupa otkrili preko 150 novih vrsta i preko 50 novih rodova morskih gljivica. Razvili su metode i sačuvali 25 000 uzoraka i bilješki s terena u njujorškom botaničkom vrtu (Gladfelter i sur., 2019). Ujedno su i predložili novu definiciju morskih gljivica koja se više nije temeljila samo na fiziološkim parametrima već je obuhvatila šire, ekološke parametre. Oni su morske gljivice podijelili na obligatne i fakultativne. Obligatne su definirane kao „one koje rastu i sporuliraju isključivo na morskim staništima i staništima u blizini ušća“, a fakultativne kao „one iz slatkovodnih i kopnenih staništa koje imaju sposobnost rasti (a možda čak i sporulirati) u morskom okruženju.“ Ova je definicija bila općeprihvaćena i citirana u većini studija u proteklih 35 godina (Pang i sur., 2016).

Pojavom novih metoda identifikacije kao što su DNA analize dolazi do potrebe za proširivanjem Kohlmeyerove definicije. Jones predlaže da se uz rast i sporulaciju pri definiranju određene gljivice kao morske treba odrediti i njezina metabolička aktivnost, prilagođenost morskom okolišu te njezina uloga u moru. Kao primjer da Kohlmeyerovu definiciju treba proširiti uzima slučaj gljivice *Malassezia* spp. Ona je poznata kao stalni stanovnik zdrave i bolesne ljudske kože međutim uočeno je da se javlja i u cijelom spektru morskih staništa: od polarnih područja do dubokomorskih sedimenata te je čak dominantna u određenim morskim staništima što (Amend, 2014). Stoga bi se *Malassezia* spp. trebala definirati kao uistinu morska iako ne raste i ne sporulira isključivo na morskom staništu. (Jones i sur., 2015).

Konačno bitno je naglasiti da se pridjev „morski“ u terminu „morska gljivica“ u većini slučajeva odnosi na okoliš iz kojega je gljivica izolirana dok se termin „obligatna morska“ odnosi na gljivice koje aktivno koloniziraju određeni okoliš te su fiziološki aktivne i imaju efektivnu ekološku ulogu u morskom staništu. Slično pridjevu „morski“, pojam „gljivica izolirana iz morskog okoliša“ (eng. „marine-derived fungi“) pojam je koji se odnosi na okoliš iz kojeg je gljivica izolirana (morski ili moru sličan) pri čemu su njezino podrijetlo, ekološka uloga ili odnosi s drugim morskim organizmima nepoznati. Razlog tomu je taj što se pojam „gljivica izolirana iz morskog okoliša“ većinom koristi u kemiji prirodnih spojeva. Ta se grana kemije bavi proučavanjem spojeva koje su sintetizirali živi organizmi dakle proučava metabolite koje su sintetizirale gljivice, a ne to je li ta gljivica uistinu morska (Pang i sur., 2016).

## 1.2. RAZNOLIKOST I METODE IDENTIFIKACIJE MORSKIH GLJIVICA

Unatoč gotovo stoljeću aktivnog istraživanja na području morske mikologije, raznolikost morskih gljivica slabo je poznata i uvelike je oblikovana metodom identifikacije koja je korištena za proučavanje. Naime, za prva istraživanja rađena na morskim gljivicama većinom su korištene metode koje ovise o uzgoju gljivica u kulturi. Takva su istraživanja upućivala na to da ima jako malo vrsta morskih gljivica i da su ograničene samo na obalna područja gdje je obilje organskog supstrata međutim novija DNA istraživanja, koja uključuju metode molekularne biologije, pokazuju da to nije tako.

Rani pokušaji opisivanja raznolikosti morskih gljivica fokusirali su se uglavnom na vrste povezane s biljkama i algama koje tvore primjetne makroskopske reproduktivne strukture kao i one koje se mogu uzgojiti u kulturi. Ovakvo uzorkovanje koje je većinom bilo na obali dovelo je znanstvenike do mišljenja da je morska mikrobiota nedovoljno razvijena u usporedbi s kopnenom te da postoji jako malo vrsta morskih gljivica koje većinom spadaju u potkraljevstvo Dikarya (Amend i sur., 2019). Danas je poznato da se zapravo jako mali postotak gljivica može uzgojiti u kulturi. To potvrđuje i činjenica da je današnja kolekcija gljivica uzgojenih u kulturi procijenjena na otprilike 75000 vrsta što je samo 5% od ukupnog broja svih do sada opisanih kopnenih i morskih gljivica. Od gljivica uzgojenih u kulturi samo je njih 467 izolirano iz mora što će reći da je samo oko 0.6% proučavanih gljivica dobiveno iz morskih izvora. Ti rezultati sugeriraju da morske gljivice nisu raznolike niti sveprisutne u morskom okolišu što je malo vjerojatno jer morska staništa zauzimaju oko 70% površine Zemlje, a sve je više istraživanja koja potvrđuju prisutnost gljivica u gotovo svim morskim staništima (Richards i sur., 2012).

Novijim analizama neovisnim o uzgoju u kulturi proširio se spektar staništa za istraživanje pa se tako s algi i biljaka koje rastu u obalnim područjima fokus prebacuje na staništa kao što su ona unutar planktona (Scholz i sur., 2016), u stupcu vode (Picard, 2017), te u morskim sedimentima (Orsi i sur., 2013). Istraživanja DNA iz okoliša omogućila su i uvid u svijet do tada nevidljivih gljivica - onih koje se ne mogu uzgojiti u kulturi i tako proširile filogenetičko stablo gljivica (Ahrendt i sur., 2018). Naime, molekularne analize DNA iz okoliša otkrile su neočekivano veliki broj do sada neopisanih gljivica koje su poznate samo iz genetičkog materijala (eng. „dark matter fungi“). Te su gljivice sveprisutne u okolišu ali do sada još nisu uspješno izolirane i uzgojene u kulturi. Iako postoje indikacije da su prisutne u gotovo cijelom filogenetičkom stablu, posebno su uobičajene u granama koje se rano odvajaju kao što su hitridomiceti (Grossart i sur., 2016).

Metode koje su se koristile za istraživanja koja su dovela do velikog napretka u razumijevanju raznolikosti gljivica su: amplificiranje gena koji su važni za taksonomiju iz DNA iz okoliša uz pomoć lančane reakcije polimeraze (PCR), konstrukcija genskih knjižnica, sekvenciranje i filogenetičke analize. Za DNA analize koje su specifične za gljivice najčešće se sekvenciraju regije unutar gena koji kodira za ribosomsku RNA (rRNA). Pri tome se jedni znanstvenici fokusiraju na sekvence koje kodiraju RNA za malu/veliku podjedinicu ribosoma (eng. „small/large subunit ribosomal DNA“ ili „SSU rDNA/LSU rDNA“) kao npr. Comaeu (2016) i Picard (2017), a drugi na ITS regije. Dvije ITS regije nalaze se između rRNA gena za veliku (28S) i malu (18S) podjedinicu ribosoma koje su razdvojene 5.8S rRNA genom. Varijabilna priroda ITS regija omogućava jako dobru rezoluciju i preciznost prilikom klasifikacije na razini roda ili vrste ali nije od velike pomoći prilikom određivanja viših filogenetskih razina. S druge strane SSU rRNA gen ne može razlučiti između srodnih vrsta gljivica ali je jako koristan za smještanje gljivice u više taksonomske razine. Neki znanstvenici stoga predlažu kombinirani pristup koji obuhvaća proučavanje gena SSU, 5.8S i LSU te ITS sekvenci čime su onda pokriveni i viši i niži filogenetski čvorovi (Richards i sur., 2012).

Analize DNA iz okoliša dovele su do značajnog unaprjeđenja filogenetike morskih gljivica, međutim i one imaju svoja ograničenja. Ponajprije, amplificiranje ITS sekvence što se smatra tzv. Barkodom za identifikaciju gljivica (Schoch i sur., 2012) koamplificira i druge eukariote kao što su zooplanktoni i neke biljke domaćini. Zatim, početnice za ITS regiju rDNA su dizajnirane uz pomoć sekvenci iz kopnenih gljivica te su pristrane prema kopnenim gljivicama iz potkraljevstva Dikarya. Posljedično, odjeljci specifični za morske gljivice manje su zastupljeni u takvim analizama, ali ne zato što ih ima manje nego zato što nisu razvijene dobre početnice koje bi amplificirale specifično morske odjeljke. Još jedna od mana analiza DNA iz okoliša jest ta da one ne mogu pouzdano razlučiti je li neka gljivica metabolički aktivna i doprinosi li i kako ekosustavu mora (Amend i sur., 2019).



### 1.3 SEKUNDARNI METABOLITI IZ MORSKIH GLJIVICA

U posljednjih petnaestak godina pojavio se popriličan broj radova koji opisuju metabolite gljivica koje su izolirane iz oceana, morskih životinja i algi, obalnih područja i staništa u blizini ušća. U gotovo svim tim radovima autori se služe terminom „gljivica izolirana iz mora“ (eng. „marine-derived fungi“) kako bi naglasili lokaciju odakle je gljivica izolirana, ali bez da su se prethodno zapitali je li ta gljivica uistinu morska (ona čiji rast i razmnožavanje direktno ovise o morskom okolišu) ili bi i kopnena gljivica pod istim uvjetima proizvela iste metabolite.

Stopa otkrića prirodnih produkata iz gljivica izoliranih iz mora s vremenom se eksponencijalno povećava, a iz pravih morskih gljivica se smanjuje ili u najboljem slučaju ostaje ista. Kako objasniti tu pojavu? Većina prirodnih produkata iz morskih gljivica do 1990. izolirana je suradnjom morskih mikologa i kemičara ili tako da su se metaboliti izolirali iz sojeva koji su dostupni u javnim kolekcijama kultura gljivica koje su prethodno taksonomski određene kao uistinu morske. Nažalost, danas su te suradnje sve rjeđe, a strogo definirani vremenski okviri novijih studija ne idu u prilog sporo rastućim morskim gljivicama. U većini istraživanja dostupnim u literaturi o prirodnim produktima iz morskih gljivica uzorci uzeti iz morskih staništa bi se obradili te bi se gljivice uzgojile na hranjivim podlogama uz prisustvo morske vode. Na prvi pogled se možda čini da se takvim pristupom izoliraju morske gljivice, međutim na tim hranjivim podlogama najčešće će porasti samo brzo rastuće osmotolerantne ili osmofilne kopnene gljivice koje će zbog prisustva morske vode proizvesti drugačije metabolite. Nasuprot tome, morske gljivice rastu jako sporo u kulturi i iz morskog okoliša se najčešće izoliraju uz pomoć mamaca kao što su drvene ploče i kolci te stabljike morske trave (najčešće *Corollospora maritima* i *Spartina maritima*) te za njihovu izolaciju i kultivaciju treba imati više vremena, ali i više znanja. Jedna tehnika pokazala se izrazito učinkovita u uzorkovanju iz morskih supstrata a uključuje kombinaciju filtracije čestica supstrata i nanošenje čestica tehnikom razrjeđivanja. Očišćeni supstrat se homogenizira te ispire i filtrira kroz mrežice sa sve manjom veličinom pora. Čestice određene veličine se zatim skupe i suspendiraju u velikom razrjeđenju na pločice s 48 ili 96 jažica. Ta tehnika ne prevenira izolaciju svih spora ali povećava vjerojatnost hvatanja gljivica koje potječu iz vegetativnih fragmenata uklopljenih u matriks.

U literaturi od 1970 do 2002 od 80 izolata gljivica iz mora samo 16 njih su vrste koje se smatraju uistinu morskim, a preostalih 64 izolata su ili gljivice koje mogu živjeti i u moru i na kopnu ili nisu identificirane. Iz tih 16 vrsta izoliran je 41 metabolit, a iz svih 80 vrsta izolirano je sveukupno 272 metabolita. S druge strane, u literaturi od 2005 do 2010 izolirano je preko

200 sojeva gljivica međutim samo se 5 od njih može smatrati uistinu morskim gljivicama (pri čemu su 2 od tih 5 prethodno već izolirana). Proučavanje tih 5 vrsta rezultiralo je sa 16 novih metabolita od ukupno preko 600 metabolita izoliranih. Iz ovih podataka može se vidjeti da postoji obilje metabolita dobivenih iz gljivica iz mora, međutim očito je i da su uistinu morske gljivice poprilično zanemarene (Overy i sur., 2014).

## 2. OBRAZLOŽENJE TEME

Danas kada se svijet susreće sa sve više slučajeva rezistencije na antibiotike od presudne je važnosti pronaći nove tvari koje pokazuju antibakterijsko djelovanje ne samo na široki spektar bakterija nego i na rezistentne sojeve. Sljedeći primjer Alexandera Fleminga, znanstvenici i danas inspiraciju za nove antibiotike traže u gljivicama, pogotovo onim izoliranim iz mora.

Osim bakterijskih infekcija danas veliki javnozdravstveni problem predstavljaju i maligne bolesti. Broj osoba oboljelih od karcinoma u stalnom je porastu. Svjetska zdravstvena organizacija predviđa da će se globalno broj oboljelih od raka u 2040. godini povećati na 30,2 milijuna, dok će broj umrlih porasti na 16,4 milijuna godišnje. I u tom pogledu znanstvenici se sve više okreću traženju ideja u prirodnim produktima, pogotovo u sekundarnim metabolitima gljivica ([www.gco.iarc.fr](http://www.gco.iarc.fr)).

Gljivice izolirane iz mora obećavajući su izvor biološki aktivnih sekundarnih metabolita. Pošto žive u kompetitivnom okruženju s jedinstvenim uvjetima pH, temperature, tlaka, kisika, svjetla, nutrijenata i saliniteta, proizvode zapanjujuće raznolike sekundarne metabolite koji pokazuju iznimno zanimljiva djelovanja.

Rod *Aspergillus* najčešći je rod askomiceta u moru. Zbog njihove jako dobre prilagodljivosti, gljivice roda *Aspergillus* žive u gotovo svim morskim staništima u moru koja su istraživana. Osim toga, njihov profil sekundarnih metabolita jako je poseban i predstavlja dobar izvor za razvoj novih lijekova.

Cilj ovog rada je opisati dio sekundarnih metabolita gljivica iz roda *Aspergillus* izoliranih iz mora, koji su otkriveni u razdoblju od 2005. do 2019. godine, a koji su pokazali neka zanimljiva djelovanja na bakterijske, gljivične ili virusne infekcije ili na maligne bolesti.

### 3. MATERIJALI I METODE

U ovom diplomskom radu korištene su stručne i znanstvene knjige iz područja mikrobiologije s naglaskom na mikologiju i morsku mikologiju.

Pretraživanje znanstvenih i stručnih članaka u bibliografskim bazama (Scopus, Science Direct, Springer Link, PubMed) se radilo prema ključnim riječima: marine mycology, marine fungi, marine-derived fungi, *Aspergillus*, new bioactive compounds, secondary metabolites, marine *Aspergillus*

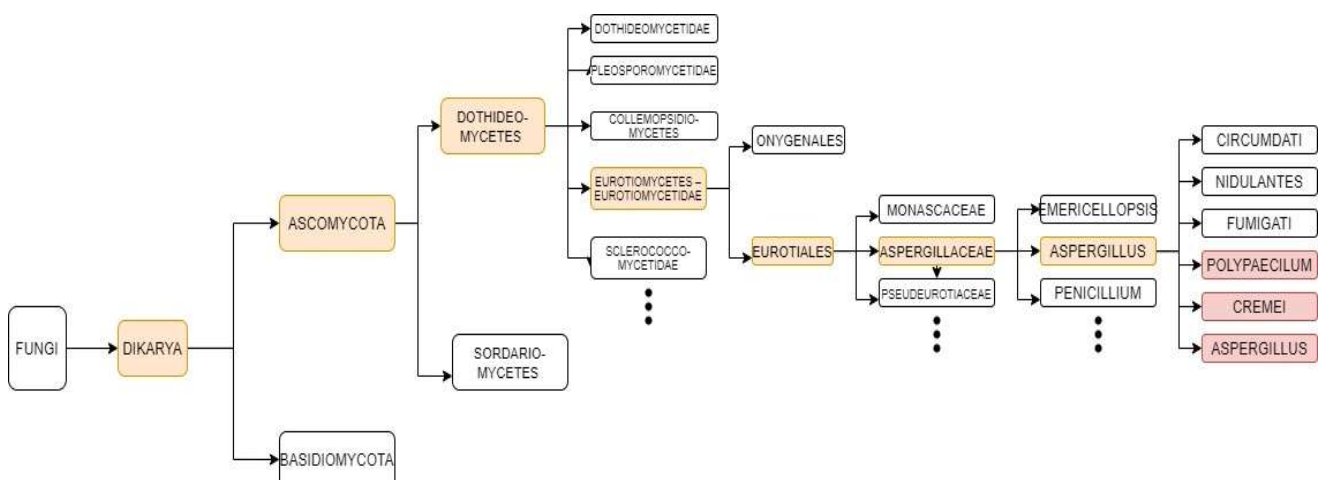
Pretraživane su i mrežne stranice : [www.marinefungi.org](http://www.marinefungi.org) , <https://www.mycobank.org> ,  
<http://www.speciesfungorum.org> , <http://www.marinespecies.org>,  
<https://www.aspergilluspenicillium.org>,  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=1131492>.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. TAKSONOMIJA RODA *Aspergillus* IZ MORA

Rod *Aspergillus* poznat je po svojoj raznolikosti, izuzetno dobroj prilagođenosti različitim fiziološkim uvjetima te po velikom ekonomskom značaju. Neke vrste roda *Aspergillus* rastu pri ekstremno niskim aktivitetima vode uzrokovanim visokim koncentracijama soli, a neke pri vrlo visokim ili niskim temperaturama, niskom pH i/ili niskim koncentracijama kisika. Osim njihove jako dobre prilagođenosti različitim uvjetima, vrste roda *Aspergillus* poznate su i po proizvodnji velikog broja različitih bioaktivnih sekundarnih metabolita. Neki od tih metabolita se danas koriste kao lijekovi npr. lovastatin, lijek za snižavanje kolesterola, kojeg proizvodi gljivica *Aspergillus terreus*. Osim korisnih metabolita, gljivice roda *Aspergillus* mogu proizvesti i razne štetne tvari kao što su mikotoksini: aflatoksin, ohratoksin i patulin koji imaju jako bitan ekonomski utjecaj jer su česti kontaminanti hrane. Veliki se broj vrsta koristi i u biotehnologiji za proizvodnju organskih kiselina i enzima ili u prehrambenoj industriji za fermentaciju. Vrste roda *Aspergillus* se povezuju i s uzrokovanjem bolesti kako kod ljudi tako i kod životinja. S obzirom na njihovu čestu upotrebu i izolaciju, neadekvatna taksonomija ili nedovoljno definirana nomenklatura ovog roda može dovesti do jako velikih zabuna stoga je bitno držati se najnovijih pravila nomenklature koja su odredili stručnjaci od autoriteta (Samson i sur., 2014).

*Aspergillus* je jedan od najbitnijih rodova carstva gljivica. On spada u porodicu Aspergillaceae zajedno s drugim jednako važnim rodом *Penicillium*. Aspergillaceae je porodica reda Eurotiales, razred Eurotiomycetes, odjeljak Ascomycota, potkraljevstvo Dykaria kao što je prikazano slikom 1.



Slika 1. Taksonomija roda *Aspergillus* prema Houbraken i sur. (2014), Samson i sur. (2014), Frisvad i Larsen (2015), te mrežnoj stranici <https://www.marinefungi.org>.

Rod *Aspergillus* tradicionalno je bio imenovan prema morfološkim karakteristikama te bojama kolonija i konidija. Za to je bila korištena tzv. dualna nomenklatura. Gljivice iz odjeljka askomiceta (Ascomycetes) imaju gene koji kodiraju za proizvodnju askospora i konidija međutim zbog različite funkcije i mehanizma proizvodnje one često nisu proizvedene istovremeno. Iz tog razloga mikolozi su odlučili koristiti različito ime za stanje u kojem gljivica proizvodi askospore – telemorf i za stanje u kojem gljivica proizvodi konidije – anamorf. Telemorf se smatrao bitnijim stanjem te se pri imenovanju gljivice koristilo ime za telemorf kada gljivica proizvodi askospore, ili kada proizvodi i askospore i konidije – holomorf, a ime za anamorf se smjelo koristiti samo u slučaju da gljivica proizvodi samo konidije bez proizvodnje askospora (Pitt i Hocking, 2009).

Nakon Međunarodnog botaničkog kongresa u Melbourneu 2011. dualna nomenklatura gljivica se ukida i usvaja se Međunarodni kodeks nomenklature algi, gljivica i biljaka u kojem anamorf dobiva jednaki prioritet kao i telemorf. U travnju 2012. Međunarodna komisija za rodove *Penicillium* i *Aspergillus* raspravljala je primjenu nomenklature s jednim imenom na vrste roda *Aspergillus* i *Penicillium*. Donesen je zaključak da će se ime *Aspergillus* koristiti za sve vrste roda *Aspergillus* uključujući i telemorfe. Posljedica toga jest to da će rodovi koji se temelje na telemorfu (*Neosartorya*, *Emericella*, *Eurotium*, *Petromyces*) biti pridruženi rodu *Aspergillus* (Houbraken i sur., 2014).

Osim promjena u imenima rodova, prihvaćanjem Melburnškog Kodeksa došlo je i do promjene u imenima porodica. Tako je nekadašnja porodica telemorfa Trichocomaceae podijeljena na tri zasebne porodice: Aspergillaceae, Thermoascaceae i Trichocomaceae. Većina vrsti porodice Aspergillaceae dobro raste u mediju s niskim aktivitetom vode (Houbraken i sur., 2014). Iz tog razloga (što mogu svoj metabolizam lako prilagoditi vrlo raznolikim okolišnim čimbenicima) jako je teško razlučiti kopnene od morskih vrsti ovog roda i porodice pa među stručnjacima sve više prevladava mišljenje da se morsko podrijetlo gljivica iz roda *Aspergillus* ne može točno dokazati. Odnosno smatra se da je gljivica iz roda *Aspergillus* morska ako je matriks iz kojega je izolirana morski, bez obzira na to je li mu to originalno stanište ili ne (Salvatore i sur., 2018). To je potvrdio i rad iz 2010. autora Zuluaga-Montero i suradnika koji je proučavajući infraspecifičnu filogeniju vrste *Aspergillus flavus* dokazao da ne postoji mogućnost da se razlikuje morska od kopnene gljivice *A. flavus* (Zuluaga-Montero i sur., 2010).

Gljivice u moru se mogu podijeliti na obligatne i fakultativne morske. Prema Kohlmejerovoj definiciji, obligatne su „one koje rastu i sporuliraju isključivo na morskim staništima i staništima u blizini ušća“, a fakultativne „one iz slatkovodnih i kopnenih staništa

koje imaju sposobnost rasti (a možda čak i sporulirati) u morskom okruženju (Kohlmeyer i Kohlmeyer, 1979). Fakultativne morske gljivice su najčešće kopnene gljivice donesene u more vjetrom, kišom ili vodenim slivovima. S obzirom na to da su jako učestale u moru, neke populacije mogu razviti i adaptacije za rast u morskom okruženju te s vremenom postati i obligatno morske. Gljivice roda *Aspergillus* poznate su po svojoj sveprisutnosti kako na kopnu tako i u moru. Dapače, rod *Aspergillus* najčešći je od svih rodova askomiceta u moru (Jones i sur., 2015). Međutim morske gljivice roda *Aspergillus* uglavnom se ne mogu razlikovati od kopnenih zato se kao morske uzimaju one koje su višestruko izolirane iz morskog okoliša.

Poznati mikolog E.B. Gareth Jones 2019. godine postavio je stranicu [www.marinefungi.org](http://www.marinefungi.org) koja omogućava pretraživanje rodova morskih gljivica, detaljne opise vrsta i klasifikaciju svih do sada zabilježenih morskih gljivica. Trenutno je popisano 83 vrste u rodu *Aspergillus* te će se u ovom diplomskom radu morskim gljivicama roda *Aspergillus* smatrati samo one koje su uvrštene na popis na ovoj stranici (Jones i sur., 2019).

Popis vrsta prema stranici [www.marinefungi.org](http://www.marinefungi.org)

\**Aspergillus* P. Micheli ex Haller, Hist Stirp Helv 3: 113 (1768)

1. #*A. aculeatus* Iizuka, J. Agric. Chem. Soc. Japan: 807 (1953)
2. *A. amstelodami* Thom & Church, The Genus *Aspergillus*: 113 (1926)
3. *A. awamori* Nakaz., Rep. Gov. Res. Inst. Formosa: 1 (1907)
4. #*A. candidus* Link, Mag. Gesell. Naturf. Freunde, Berlin 3(1-2): 16 (1809)
5. *A. carbonarius* (Bainier) Thom, in Thom & Currie, J. Agric. Res. 7: 12 (1916)
6. #*A. carneus* Blochwitz, Anns. Mycol. 31(1/2): 81 (1933)
7. *A. clavatus* Desm., Annales des Sciences Naturelles Botanique 2: 71 (1834)
8. *A. cervinus* Masee, Bull. Misc. Inf., Kew 1914: 158 (1914)
9. *A. chevalieri* Thom & Church, The Genus *Aspergillus*: 111 (1926)
10. #*A. conicus* Blochwitz Annales Mycologici 12 (1): 38 (1914) (isolated from brown alga *Padina*, *Posidonia oceanica*, *Holothurian polii* from Tunisian Sea)
11. #*A. creberjurjević*, S.W. Peterson & B.W. Horn, IMA Fungus 3 (1): 69 (2012) (isolated from corals, also from *Holothurian polii* isolated from Tunisian Sea)
12. *A. cristatus* Raper & Fennell, The Genus *Aspergillus*: 169 (1965)
13. *A. ficuum* (Reichardt) Thom & Currie, J. Agric. Res. 7: 12 (1916)
14. *A. fischeri* Wehmer, Zentbl. Bakt. ParasitKde, Abt. II 18: 390 (1907)
15. *A. flavipes* (Bainier & R. Sartory) Thom & Church, Manual of the Aspergilli: 179 (1926) (isolated from corals)
16. #*A. flavus* Link, Mag. Gesell. Naturf. Freunde Berlin 3: 16 (1809)
17. #*A. flocculosus* (Y.K. Shih) Samson, S.W. Peterson, Frisvad & Varga, Stud. Mycol. 69: 45 (2011) derived from the seaweed *Padina* sp. collected in Vietnam
18. #*A. foetidus* Thom & Raper, Manual of the Aspergilli: 219 (1945)
19. #*A. fumigatus* Fresen., Beitr. Mykol. 3: 81 (1863) (isolated from corals)
20. *A. glaucus* (L.) Link, Mag. Gesell. Naturf. Freunde Berlin 3(1-2): 82 (1809)
21. #*A. gracilis* Bainier, Bull. Soc. Mycol. Fr. 23(2): 92 (1907)

22. *A. heyangensis* Z.T. Qi, Z.M. Sun & Yu X. Wang, Acta Mycol. Sinica: 81 (1994) (isolated from brown alga *Padina*)
  23. *A. insuetus* (Bainier) Thom & Church, Manual of the Aspergilli: 153 (1929)(isolated from brown alga *Padina*)
  24. *A. insulicola* Montem. & A.R. Santiago, Mycopathologia 55 (2): 130 (1975) (isolated from brown alga *Padina*)
  25. *A. jensenii* Jurjević, S.W. Peterson & B.W. Horn, IMA Fungus 3 (1): 70 (2012) (isolated from corals)
  26. *A. kanagawaensis* Nehira, J. Jap. Bot.: 109 (1951)
  27. *A. melleus* Yukawa, J. Coll. Agric. Imp. Univ. Tokyo: 358 (1911)
  28. *A. nidulans* (Eidam) G. Winter, Rabenhorst's Kryptogamen-Flora, Pilze - Ascomyceten 1(2): 62 (1884)
  29. *A. niger* Tiegh., Annal. Sci. Natur. Bot. 8: 240 (1867)(Isolated from deep sea sediments)
  30. *A. nomius* Kurtzman, B.W. Horn & Hesselt., Antonie van Leeuwenhoek 53(3): 151 (1987)
  31. *A. nutans* McLennan & Ducker, Aust. J. Bot. 2(3): 355 (1954)
  32. *A. ochraceus* K. Wilh., Beit Kenntni Pilzgattung Aspergillus: 66 (1877)
  33. *A. ochraceopetaliformis* Bat. & Maia, Anais Soc. Biol. Pernambuco 15(1): 213 (1957)
  34. *A. ostianus* Wehmer, Bot. Zbl.: 461 (1897)
  35. *A. penicillioides* Speg., Revta. Fac. Agron. Vet. Univ. Na.c La Plata 2: 245 (1896)(isolated from deep sea sediments)
  36. *A. protuberus* Munt.-Cvetk., Mikrobiologiya 5: 119 (1968)
  37. *A. pseudodeflectus* Samson & Mouch., Antonie van Leeuwenhoek 41(3): 345 (1975)
  38. *A. pseudoglauca* Blochwitz\* Annls mycol. 27(3/4): 207 (1929)
  39. *A. pulverulentus* (McAlpine) Wehmer, Bot. Zentralbl.: 394 (1907)
  40. *A. puulaauensis* Jurjević, S.W. Peterson & B.W. Horn, IMA Fungus 3 (1): 71 (2012) (isolated from corals)
  41. *A. repens* (Corda) Sacc., Michelia 2(8): 577 (1882)
  42. *A. restrictus* G. Sm., J. Textile Res. Inst.: 115 (1931) (isolated from deep sea sediments)
  43. *A. ruber* Thom & Church, The Aspergilli: 112 (1926)
  44. *A. sclerotiorum* G.A. Huber, Phytopathology 23: 306 (1933)
  45. *A. subsessilis* Raper & Fennell, The Genus *Aspergillus*: 530 (1965)
  46. *A. sydowii* (Bainier & Sartory) Thom & Church, The Aspergilli: 147 (1926) (isolated from deep sea sediments)
  47. *A. taichungensis* Yaguchi, Someya & Udagawa, Mycoscience 36(4): 421 (1995)
  48. *A. tamarii* Kita, Centralbl. Bakteriol., Abt. 2: 433 (1913)
  49. *A. terreus* Thom, Am. J. Bot. 5 (2): 85 (1918)
  50. *A. terricola* É.J. Marchal, Rev. Mycol. (Toulouse): 101 (1893)
  51. *A. tubingensis* Mosseray, La Cellule 43: 245 (1934)
  52. *A. unguis* (Weill & L. Gaudin) Dodge, Medical mycology. Fungous diseases of men and other mammals: 637 (1935)
  53. *A. ustus* (Bainier) Thom & Church, The Aspergilli: 152 (1926)
  54. *A. versicolor* (Vuill.) Tirab., Ann. Bot.: 9 (1908) (isolated from deep sea sediments)
  55. *A. wentii* Wehmer, Centralbl. Bakteriol.: 150 (1896)
  56. *A. westerdijkiae* Frisvad & Samson, Stud. Mycol. 50(1): 30 (2004)
- Additional species:**
57. *A. allahabadii* B.S. Mehrotra & Agnihotri, Mycologia 54 (4): 400 (1962)



58. *A. avenaceus* G. Sm., Transactions of the British Mycological Society 26 (1-2): 24 (1943)
59. *A. lucknowensis* J.N. Rai, J.P. Tewari & S.C. Agarwal, Canadian Journal of Botany 46 (12): 1483 (1968)
60. *A. multicolor* Sappa, Allionia 2 (1): 87 (1954)
61. *A. paradoxus* Fennell & Raper, Mycologia 47: 69 (1955)
62. *A. parasiticus* Speare, Bull. Div. Pathol. Physiol., Hawaiian Sugar Planters' Assoc. Exp. Sta.: 38 (1912)
63. *A. aeneus* Sappa, Allionia 2 (1): 84 (1954)
64. *A. brunneouniseriatus* Suj. Singh & B.K. Bakshi, Trans. Br. mycol. Soc. 44(2): 160 (1961)
65. *A. curviformis* H.J. Chowdhery & J.N. Rai, Nova Hedwigia 32(1): 231 (1980)
66. *A. flavescens* Wreden, Saccardo's Syll. fung. IV: 70; XII: 860; XIX: 117
67. *A. giganteus* Wehmer, Mém. Soc. Phys. Hist. nat. Genève 33(2): 85 (1901)
68. *A. globosus* Link, Magazin der Gesellschaft Naturforschenden Freunde Berlin 3 (1): 33 (1809)
69. *A. janus* Raper & Thom, Mycologia 36 (6): 556 (1944)
70. *A. japonicus* Saito, Bot. Mag. Tokyo: 61 (1906)
71. *A. panamensis* Raper & Thom, Mycologia 36 (6): 568 (1944)
72. *A. penicilliformis* Kamyschko, Botanicheskie Materialy Otdela Sporovyh Rastenij Botanicheskogo Instituti Imeni V.L. Komarova 16: 91 (1963)
73. *A. phoenicis* (Corda) Thom, Journal of Agricultural Research 7: 14 (1916)
74. *A. puniceus* Kwon-Chung & Fennell, The Genus Aspergillus: 547 (1965)
75. *A. rugulosus* Thom & Raper, Mycologia 31 (6): 660 (1939)
76. *A. stellatus* Curzi, Rendic. Accad. naz. Lincei: 424-428 (1934)
77. *A. striatus* J.N. Rai, J.P. Tewari & Mukerji, Canadian Journal of Botany 42 (11): 1521 (1964)
78. *A. sulphureus* (Fresen.) Wehmer, Mem. Soc. Phys. Genève: 113 (1901)
79. *A. varians* Wehmer, Bot. Centralbl.: 460 (1899)
80. *A. violaceus* Fennell & Raper, Mycologia 47: 75 (1955)
81. # *A. creber* Jurjević, S.W. Peterson & B.W. Horn, IMA Fungus 3(1): 69 (2012) isolated from the marine holothurian in the Tunisian Sea.
82. # *A. foetidus* Thom & Raper, Manual of the Aspergilli: 219 (1945), isolated from the marine holothurian in the Tunisian Sea
83. # *A. fructus* Jurjević, S.W. Peterson & B.W. Horn, IMA Fungus 3(1): 70 (2012), isolated from the marine holothurian in the Tunisian Sea
84. # *A. micronesiensis*, Visagie, Hirooka & Samson, in Samson, Visagie, Houbraken, Hong, Hubka, Klaassen, Perrone, Seifert, Susca, Tanney, Varga, Kocsubé, Szigeti, Yaguchi & Frisvad, Stud. Mycol. 78: 105 (2014), isolated from the marine holothurian in the Tunisian Sea.
85. # *A. spelaus*, A. Nováková, Hubka, S.W. Peterson & M. Kolařík, in Hubka, Nováková, Kolařík, Varga, Jurjevic & Peterson, Mycologia 107(1): 194 (2015), isolated from the marine holothurian in the Tunisian Sea.

#### 4.2. SEKUNDARNI METABOLITI RODA *Aspergillus* IZ MORA

U posljednjih dvadesetak godina morske su gljivice dobile na važnosti zbog njihove sposobnosti da proizvode jako puno strukturno vrlo različitih sekundarnih metabolita. Unatoč činjenici da su mnoge od tih gljivica zapravo gljivice koje žive i na kopnu i u moru, u većini se slučajeva ispostavilo da morsko okruženje tj. prisutnost morske soli utječe na stvaranje drugačijeg profila metabolita. To otkriće dovelo je do opisivanja sve više prirodnih produkata iz morskih gljivica koje nerijetko imaju farmakološki značajnu bioaktivnost te se mogu smatrati potencijalnim kandidatima za razvoj novih lijekova (Imhoff, 2016). Zbog sve većeg smanjenja učinkovitosti trenutno dostupnih antibiotika produkti od posebnog interesa su naravno produkti s antimikrobnom aktivnošću. Osim njih, također su jako značajni i produkti s citotoksičnom aktivnošću. Jedan od takvih produkata je i plinabulin. On je sintetički analog prirodnog produkta halimida izoliranog iz morske gljivice *Aspergillus ustus*. Djeluje tako što inhibira polimerizaciju tubulina te tako narušava vaskularnu endotelnu arhitekturu tumora. BeyondSpring Pharmaceuticals razvija plinabulin te se trenutno odvija faza 3 kliničkog istraživanja na pacijentima s rakom pluća nemalih stanica (Jaspars i sur., 2016).

Obilje gljivica izoliranih iz mora zapravo spada u rodove koji su itekako dobro poznati s kopna kao što je rod *Aspergillus*. Rod *Aspergillus* poznat je po proizvodnji jako velikog broja sekundarnih metabolita. Iz tog razloga kemotaksonomija roda *Aspergillus* često je korištena za opisivanje vrsta. Danas je poznato da su profili sekundarnih metabolita specifični za vrstu dok se individualni sekundarni metaboliti mogu pojavljivati u blisko srodnim vrstama ali i manje srodnim vrstama te čak i u potpuno nesrodnim vrstama. Unutar određene sekcije roda *Aspergillus* često veliki broj vrsta dijeli sposobnost proizvodnje određenog sekundarnog metabolita. Ta sposobnost najvjerojatnije je naslijeđena od zajedničkog pretka (Fristvad i Larsen, 2015). Proizvodnja određenog sekundarnog metabolita je stoga dovoljna da bi se određenu gljivicu smjestilo u neku sekciju, a proizvodnja nekoliko sekundarnih metabolita može biti dovoljno za identificiranje gljivice roda *Aspergillus* čak i do vrste. (Samson i sur., 2014). Danas postoji šest glavnih serija roda *Aspergillus*: *Circumdati*, *Nidulantes*, *Fumigati*, *Polypacilum/Phalosimplex*, *Cremeri* i *Aspergillus*. Zadnje tri serije dijele značajku da dobro rastu pri niskim aktivitetima vode i često mogu podnijeti visoke koncentracije natrij klorida (Fristvad i Larsen 2015). Iz tog razloga gljivice roda *Aspergillus* jako su zatupljene u moru i često su iz njega izolirane pri čemu se radi detaljna analiza sekundarnih metabolita koji su proizvedeni i njihovog djelovanja.

Gljivice roda *Aspergillus* proizvode jako veliki broj različitih spojeva: alkaloida, poliketida, terpene, sterole i analoge cerebrozida (Lee i sur., 2013). Osim toga mogu proizvoditi

i različite druge bioaktivne metabolite kao što su veliki peptidi, ribotoksini i lektini međutim male molekule su najznačajnije i o njima će najviše biti riječ.

U razdoblju od 2006. do 2019. iz gljivica iz mora izolirano je preko 2500 metabolita (Jones i sur., 2019). U ovom radu biti će navedeni samo oni metaboliti koji su izolirani iz gljivica roda *Aspergillus* koji su pokazali značajno antibakterijsko, antivirusno, antifungalno ili citotoksično djelovanje. Ti podatci, dobiveni pretraživanjem literature, prikazani su u tablici 1. Sve skupa ovaj rad pokriva 99 metabolita. Cilj nije bio nabrojati sve metabolite nego istaknuti one koji imaju farmakološki značajnu bioaktivnost te se mogu smatrati potencijalnim kandidatima za razvoj novih lijekova.

Tablica 1. Metaboliti gljivica roda *Aspergillus* otkriveni u razdoblju od 2006. do 2019. godine

	SEKUNDARNI METABOLIT	GLJIVICA	STANIŠTE	ZEMLJA	DJELOVANJE	REFERENCA
1	(-) sidonolska kiselina	<i>Aspergillus spp.</i>	spužva	Kina	antibakterijsko	Li i sur., 2012a
2	(-)-sidonol	<i>Aspergillus spp.</i>	spužva	Kina	antibakterijsko	Li i sur., 2012a
3	(+)-metil sidovat	<i>Aspergillus spp.</i>	koralj	Kina	antibakterijsko	Wei i sur., 2010
4	(+)-sidovična kiselina	<i>Aspergillus spp.</i>	koralj	Kina	antibakterijsko	Wei i sur., 2010
5	(22E)-ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol	<i>Aspergillus awamori</i>	sediment	Kina	citotoksično	Gao i sur., 2008
6	(22R,23S)-epoksi-3 $\beta$ ,11 $\alpha$ ,14 $\beta$ ,16 $\beta$ -tetrahidroksiergosta-5,7dien-12-on	<i>Aspergillus flocculosus</i>	sediment	Kina	antifungalno	Zheng i sur., 2009
7	14-hidroksiterezin	<i>Aspergillus sydowi</i>	naplavno drvo	Kina	citotoksično	Zhang i sur., 2008
8	14-norpseurotin A	<i>Aspergillus sydowi</i>	naplavno drvo	Kina	antibakterijsko	Zhang i sur., 2008
9	18-oksotriprostatin A	<i>Aspergillus sydowi</i>	naplavno drvo	Kina	citotoksično	Zhang i sur., 2008
10	24-hidroksilergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-on	<i>Aspergillus clavatus</i>	mangrov	Kina	antifungalno	Li i sur., 2017
11	3-((1-hidroksi-3-(2metilbut-3-en-2-il)-2-oksoindolin-3-il)metil)-1-metil-3,4-dihidrobenzo[e][1,4]diazepin-2,5-dion	<i>Aspergillus spp.</i>	spužva	Mediteran	antibakterijsko	Zhou i sur., 2014
12	4,4'-dimetoksi-5,5-dimetil-7,7-oksodikumarin	<i>Aspergillus clavatus</i>	mangrov	Kina	antifungalno	Li i sur., 2017
13	4"-deoksiizoterfenilin	<i>Aspergillus candidus</i>	sediment	Japan	citotoksično	Wei i sur., 2007
14	4"-deoksiizoterprenin	<i>Aspergillus candidus</i>	sediment	Japan	citotoksično	Wei i sur., 2007
15	6-metoksispirotriprostatin B	<i>Aspergillus sydowi</i>	naplavno drvo	Kina	citotoksično	Zhang i sur., 2008
16	6 $\beta$ ,16 $\beta$ -diacetoksi-25-hidroksi-3,7dioksi-29-nordammara-1,17(20)-dien-21-oička kiselina	<i>Aspergillus sydowi</i>	naplavno drvo	Kina	antibakterijsko	Zhang i sur., 2008
17	6 $\beta$ ,9 $\alpha$ -dihidroksi-14-p-nitrobenzoilcinnamid	<i>Aspergillus ochraceus</i>	alga	Kina	citotoksično	Fang i sur., 2014
18	aflatoksin B2b	<i>Aspergillus flavus</i>	mangrov	Kina	antibakterijsko	Wang i sur., 2012a
19	akreomstricin	<i>Aspergillus spp.</i>	spužva	Korea	antibakterijsko	Julianti i sur., 2011

	SEKUNDARNI METABOLIT	GLJIVICA	STANIŠTE	ZEMLJA	DJELOVANJE	REFERENCA
20	analog sterigmatocistina	<i>Aspergillus versicolor</i>	spužva	Kina	antibakterijsko	Song i sur., 2014.
21	anhidrid tubingenoične kiseline	<i>Aspergillus tubingensis</i>	spužva	Izrael	antifungalno	Koch i sur., 2014
22	asperamid A	<i>Aspergillus niger</i>	alga	Kina	antifungalno	Zhang i sur., 2007a
23	asperbifenil	<i>Aspergillus spp.</i>	morska voda	Kina	antivirusno	Wu i sur 2009
24	aspergicin	<i>Aspergillus spp.</i>	mangrov		antibakterijsko	Zhu i sur., 2011
25	aspergilid A	<i>Aspergillus ostianus</i>	spužva	Mikronezija	citotoksično	Kito i sur, 2008
26	aspergilid B	<i>Aspergillus ostianus</i>	spužva	Mikronezija	citotoksično	Kito i sur, 2008
27	aspergilid C	<i>Aspergillus ostianus</i>	spužva	Mikronezija	citotoksično	Kito i sur, 2008
28	aspergillumarin A	<i>Aspergillus spp.</i>	mangrov	Japan	antibakterijsko	Li i sur., 2012b
29	aspergillumarin B	<i>Aspergillus spp.</i>	mangrov	Japan	antibakterijsko	Li i sur., 2012b
30	aspergilusen A	<i>Aspergillus sydowii</i>	spužva		antibakterijsko	Wang i sur., 2014
31	aspergiolid A	<i>Aspergillus glaucus</i>	sediment	Kina	citotoksično	Du i sur 2007
32	aspergiterpenoid A	<i>Aspergillus spp.</i>	spužva	Kina	antibakterijsko	Li i sur., 2012a
33	asperindol A	<i>Aspergillus spp.</i>	životinja		citotoksično	Ivanets i sur., 2018
34	asperksanton	<i>Aspergillus spp.</i>	morska voda	Kina	antivirusno	Wu i sur 2009
35	asperterestid	<i>Aspergillus terreus</i>	koralj	Kina	antivirusno	He i sur., 2013
36	aspetriton A	<i>Aspergillus spp.</i>	koralj	Kina	antibakterijsko	Wang i sur., 2017
37	aspironol	<i>Aspergillus spp.</i>	hidrotermalni izvor	Pacifik	citotoksično	Chen i sur., 2014a
38	aspohalazin A2	<i>Aspergillus spp.</i>	životinja		ctotoksično	Li i sur., 2018
39	austalid M	<i>Aspergillus spp.</i>	spužva	Jadransko more	antibakterijsko	Zhou i sur., 2011
40	austalid N	<i>Aspergillus spp.</i>	spužva	Jadransko more	antibakterijsko	Zhou i sur., 2011
41	austalid R	<i>Aspergillus spp.</i>	spužva	Jadransko more	antibakterijsko	Zhou i sur., 2011
42	averufin	<i>Aspergillus versicolor</i>	sediment	Kina	antibakterijsko	Hu i sur., 2019
43	azaspirofuran A	<i>Aspergillus sydowi</i>	sediment	Kina	citotoksično	Ren i sur., 2010
44	cefalimizin A	<i>Aspergillus fumigatus</i>	riba		citotoksično	Yamada i sur., 2007
45	citohalazin Z17	<i>Aspergillus flavipes</i>	mangrova	Kina	citotoksično	Lin i sur, 2009b
46	dehidroksiklorofusarielin B	<i>Aspergillus spp.</i>	alga	Korea	antibakterijsko	Du i sur 2007
47	derivat antrakina	<i>Aspergillus versicolor</i>	alga	Kina	antibakterijsko	Zhang i sur., 2012

	SEKUNDARNI METABOLIT	GLJIVICA	STANIŠTE	ZEMLJA	DJELOVANJE	REFERENCA
48	epiaspinonediol	<i>Aspergillus spp.</i>	hidrotermalni izvor	Pacifik	citotoksično	Chen i sur., 2014a
49	ester (22E)-ergosta-7,22-dien-3b,5a,6a-triola i 6 različitih masnih kiselina	<i>Aspergillus awamori</i>	sediment	Kina	citotoksično	Gao i sur., 2007
50	felutamid C	<i>Aspergillus versicolor</i>	spužva	Korea	citotoksično	Lee i sur., 2010
51	flavuzid A	<i>Aspergillus flavus</i>	mangrov	Kina	antibakterijsko	Yang i sur., 2001
52	flavuzid B	<i>Aspergillus flavus</i>	mangrov	Kina	antibakterijsko	Yang i sur., 2002
53	hevalon E	<i>Aspergillus spp.</i>	spužva	Tajland	antibakterijsko	Prompanya i sur., 2014
54	izoasteltoksin	<i>Aspergillus ochraceopetaliformis</i>	sediment	Antarktik	antivirusno	Wang i sur., 2016
55	izorhodoptilometrin-1-metil eter	<i>Aspergillus versicolor</i>	alga	Egipat	antibakterijsko	Hawas i sur., 2012
56	izo- $\alpha$ -ciklopiazonska kiselina	<i>Aspergillus flavus</i>	alga	Kina	citotoksično	Lin i sur 2009a
57	karbonaron A	<i>Aspergillus carbonarius</i>	sediment	Kina	citotoksično	Zhang i sur., 2007b
58	karbonaron B	<i>Aspergillus carbonarius</i>	sediment	Kina	citotoksično	Zhang i sur., 2007b
59	kipukasin H	<i>Aspergillus versicolor</i>	koralj	Kina	antibakterijsko	Chen i sur., 2014b
60	kipukasin I	<i>Aspergillus versicolor</i>	koralj	Kina	antibakterijsko	Chen i sur., 2014b
61	klavatustid A	<i>Aspergillus clavatus</i>	životinja	Tajvan	citotoksično	Jiang i sur., 2013
62	klavatustid B	<i>Aspergillus clavatus</i>	životinja	Tajvan	citotoksično	Jiang i sur., 2013
63	kordiol E	<i>Aspergillus spp.</i>	koralj	Kina	antibakterijsko	Chen i sur., 2013
64	kotanin	<i>Aspergillus clavatus</i>	mangrov	Kina	antifungalno	Li i sur., 2017
65	kristatumin A	<i>Aspergillus glaucus</i>	spužva	Mediteran	antibakterijsko	Zhou i sur., 2014
66	kristatumin D	<i>Aspergillus glaucus</i>	spužva	Mediteran	antibakterijsko	Zhou i sur., 2014
67	kristatumin E	<i>Aspergillus glaucus</i>	spužva	Mediteran	antibakterijsko	Zhou i sur., 2014
68	nema ime	<i>Aspergillus spp.</i>	spužva	Kina	antibakterijsko	Li i sur., 2012a
69	notoamid A	<i>Aspergillus spp.</i>	školjka	Japan	citotoksično	Tsukamoto i sur., 2008
70	notoamid B	<i>Aspergillus spp.</i>	školjka	Japan	citotoksično	Tsukamoto i sur., 2009
71	notoamid C	<i>Aspergillus spp.</i>	školjka	Japan	citotoksično	Tsukamoto i sur., 2010
72	notoamid D	<i>Aspergillus spp.</i>	školjka	Japan	citotoksično	Tsukamoto i sur., 2011

	SEKUNDARNI METABOLIT	GLJIVICA	STANIŠTE	ZEMLJA	DJELOVANJE	REFERENCA
73	ohraceopon A	<i>Aspergillus ochraceopetaliformis</i>	sediment	Antarktik	antivirusno	Wang i sur., 2016
74	opiobolin U	<i>Aaspergillus ustus</i>	alga	Zhoushan	antibakterijsko	Liu i sur., 2013
75	prenilterfenilin	<i>Aspergillus candidus</i>	sediment	Japan	citotoksično	Wei i sur., 2007
76	preussin	<i>Aspergillus candidus</i>	spužva	Tajland	antibakterijsko	Buttachon i sur., 2018
77	sklerotid A	<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	slano polje	Kina	antifungalno	Zheng i sur., 2009
78	sklerotid B	<i>Aspergillus sclerotium</i>	nepoznato	Kina	antifungalno	Zheng i sur., 2009
79	sklerotid B	<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	slano polje	Kina	antifungalno	Zheng i sur., 2010
80	spiculisporanska kiselina B	<i>Aspergillus spp.</i>	životinja	Kina	antibakterijsko	Wang i sur., 2012b
81	spiculisporanska kiselina C	<i>Aspergillus spp.</i>	životinja	Kina	antibakterijsko	Wang i sur., 2012b
82	spiculisporanska kiselina D	<i>Aspergillus spp.</i>	životinja	Kina	antibakterijsko	Wang i sur., 2012b
83	teremid A	<i>Aspergillus terreus</i>	sediment	Kina	antibakterijsko	Wang i sur., 2011
84	teretonin E	<i>Aspergillus insuetus</i>	spužva	Sredozemlje	inhibitor respiratornog lanca mitohondrija	Lopez-Gresa i sur, 2009
85	teretonin F	<i>Aspergillus insuetus</i>	spužva	Sredozemlje	inhibitor respiratornog lanca mitohondrija	Lopez-Gresa i sur, 2009
86	teretonin G	<i>Aspergillus spp.</i>	životinja	Japan	antibakterijsko	Fukuda i sur., 2014
87	teridemid B	<i>Aspergillus terreus</i>	sediment	Kina	antibakterijsko	Wang i sur., 2011
88	terpentin B	<i>Aspergillus terreus</i>	mangrova	Kina	citotoksično	Lin i sur 2008
89	terpeptin A	<i>Aspergillus terreus</i>	mangrova	Kina	citotoksično	Lin i sur 2008
90	trikohalazin A	<i>Aspergillus spp.</i>	životinja	Kina	ctotoksično	Li i sur., 2018
91	tropolakton A	<i>Aspergillus spp.</i>	spužva	Havaji	citotoksično	Cueto i sur, 2006
92	tropolakton B	<i>Aspergillus spp.</i>	spužva	Havaji	citotoksično	Cueto i sur, 2006
93	tropolakton C	<i>Aspergillus spp.</i>	spužva	Havaji	citotoksično	Cueto i sur, 2006
94	ustusoran E	<i>Aspergillus ustus</i>	sediment	Kina	citotoksično	Lu i sur., 2009
95	vaikialoid A	<i>Aspergillus spp.</i>	sediment	Kina	antifungalno	Wang i sur., 2012c

	SEKUNDARNI METABOLIT	GLJIVICA	STANIŠTE	ZEMLJA	DJELOVANJE	REFERENCA
96	vaikialoid B	<i>Aspergillus spp.</i>	sediment	Kina	antifungalno	Wang i sur., 2012c
97	variekolorkinon A	<i>Aspergillus variecolor</i>	sediment	Kina	citotoksično	Wang i sur., 2007
98	variekolorkinon B	<i>Aspergillus variecolor</i>	sediment	Kina	citotoksično	Wang i sur., 2007
99	versikolorin B	<i>Aspergillus versicolor</i>	sediment	Kina	antibakterijsko	Hu i sur., 2019



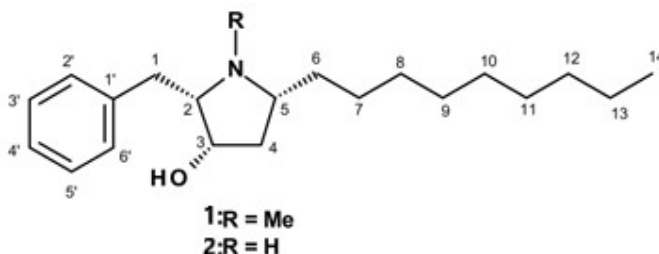
#### 4.2.1. ANTIMIKROBNE TVARI

Od ukupno 99 metabolita analiziranih u ovom radu njih 42 je pokazalo antibakterijsko, 11 antifungalno, a 5 antivirusno djelovanje.

##### 4.2.1.1. ANTIBAKTERIJSKE TVARI

Antibakterijski lijekovi su jedni od najkorištenijih lijekova na svijetu. U posljednje vrijeme bakterijska rezistencija sve više raste, pa tako raste i potreba za novim antibakterijskim lijekovima. Gljivice su se oduvijek smatrale važnim izvorom novih antibakterijskih spojeva zbog njihove raznolikosti i proizvodnje širokog spektra sekundarnih metabolita. Danas se posebno puno istražuju sekundarni metaboliti gljivica izoliranih iz mora te su one prepoznate kao potencijalni izvor novih antibakterijskih lijekova jer u morskim uvjetima gljivice proizvode drugačije metabolite (Imhoff i sur., 2016).

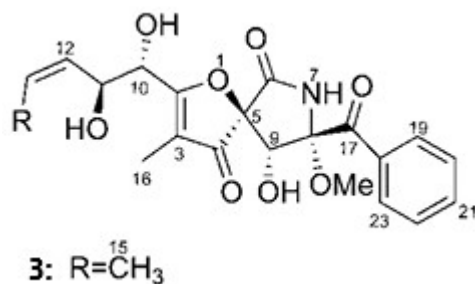
Preusin (struktura broj 1, slika 2) i njegov N-demetilirani analog, preusin C (struktura broj 2, slika 2) hidropsiprolidinski su alkaloidi koji su po prvi puta izolirani iz morske gljivice *A. candidus*. Primijećeno je da je za antibakterijsko djelovanje preusina od presudne važnosti bila prisutnost N-metilne skupine na pirolidinskom prstenu. To je potvrdila i učinkovitost preusina u usporedbi s njegovim analogom preusinom C. Naime, samo je preusin pokazao značajno antibakterijsko djelovanje; inhibitorni efekt na gram-pozitivne bakterije između ostalog i na meticilin-rezistentni *S. aureus* (MRSA) i na vankomicin-rezistentne enterokoke (VRE). Osim toga uspješno je interferirao s formacijom biofilma kod *S. aureus* ATCC 29213 i *E. faecalis* ATCC29212 u koncentracijama jednakim ili iznad minimalne inhibitorne koncentracije te je pokazao jako sinergističko djelovanje s vankomicinom i oksacilinom protiv VRE i MRSA te s kolistinom protiv *E. coli* 1410/1. Iz tog razloga nije pogrešno za zaključiti da je preusin jako dobar model za razvoj nove klase antibiotika (Buttachon i sur., 2019).



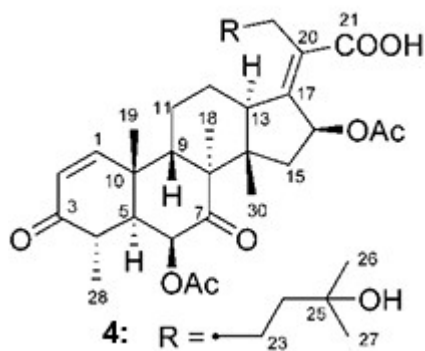
Slika 2. Strukturna formula preusina (1) i preusina C (2) prema Buttachon i sur. (2019)

14-norpseurotin (struktura broj 3, slika 3) i  $6\beta,16\beta$ -diacetoksi-25-hidroksi-3,7dioksi-29-nordamara-1,17(20)-dien-21-oička kiselina (struktura broj 4, slika 4) novi su oksapirolaktam i

29-nordamaranski triterpenoid izolirani iz gljivice *A. sydowii* PFW1-13. Oba su spoja pokazala značajnu antibakterijsku aktivnost na *E. coli*, *B. subtilis* i *M. lysoleicticus*. Zato se oni mogu smatrati potencijalnim modelima za razvoj novih antibakterijskih lijekova (Zhang i sur., 2008).



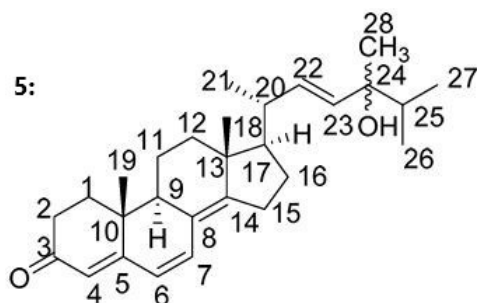
Slika 3. Strukturna formula 14-norpseurotina prema Zhang i sur. (2008)



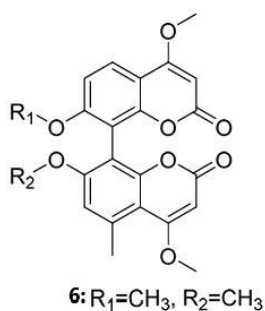
Slika 4. Strukturna formula 6β,16β-diacetoksi-25-hidroksi-3,7dioksi-29-nordamara-1,17(20)-dien-21-oičke kiseline prema Zhang i sur. (2008)

#### 4.2.1.2. ANTIFUNGALNE TVARI

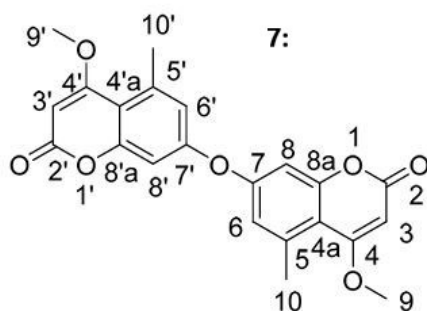
Gljivice roda *Fusarium* mogući su uzročnici infekcija korneje i oka, pneumonije i osteomijelitisa (Kayser i sur., 2005), stoga su tvari koje djeluju na vrste roda *Fusarium* od velike važnosti za ljudsko zdravlje. Primjeri takve tvari su 24-hidroksilergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-on (struktura broj 5, slika 5), kotanin (struktura broj 6, slika 6) i 4,4'-dimetoksi-5,5'-dimetil-7,7'-oksidikumarin (struktura broj 7, slika 7) koji su izolirani iz gljivice *A. clavatus* iz mora. Derivat sterona 24-hidroksilergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-on značajno je inhibirao gljivice *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum musae* i *Penicillium italicum*, a derivati kumarina kotanin i 4,4'-dimetoksi-5,5'-dimetil-7,7'-oksidikumarin pokazali su veću antifungalnu aktivnost prema *Fusarium oxysporum* nego pozitivna kontrola, triadimefon. Ovo je istraživanje potvrdilo da bi ovi spojevi mogli služiti kao model za razvoj novih antifungalnih lijekova (Li i sur., 2017).



Slika 5. Strukturna formula 24-hidroksilergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-ona prema Li i sur. (2017)



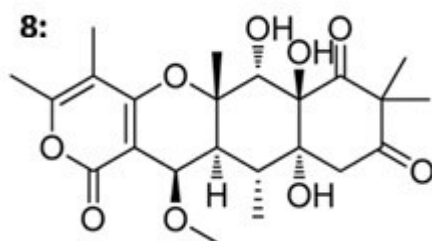
Slika 6. Strukturna formula kotanina prema Li i sur. (2017)



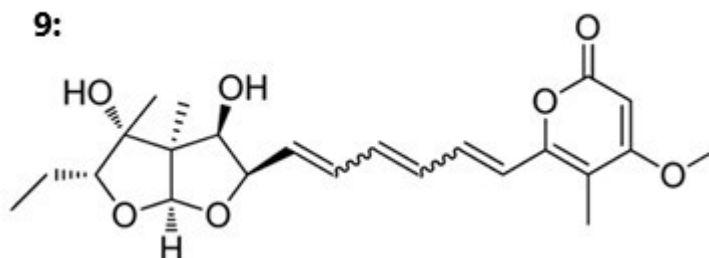
Slika 7. Strukturna formula 4,4'-dimetoksi-5,5'-dimetil-7,7'-oksidikumarina prema Li i sur. (2017)

#### 4.2.1.3. ANTIVIRUSNE TVARI

U posljednjih sto godina došlo je do pojave čak tri velike pandemije gripe: Španjolska 1918, H2N2 1957, i H3N2 1968. Konačno, u lipnju 2009 godine WHO je identificirala novi soj tzv. svinjske gripe H1N1 i time ponovno podignula razinu svijesti o pandemiji gripe u svijetu. Prirodni produkti su oduvijek bili i nastavljaju biti važan izvor antiviralnih lijekova. Jedan od primjera su: visoko oksigenirani  $\alpha$ -piron meroseskviterpenoid ohraceopon A (struktura broj 8, slika 8) i izomer asteltoksina s dvostrukom vezom, izoasteltoksin (struktura broj 9, slika 9). Ohraceopon A je prvi primjer  $\alpha$ -piron mezoseskviterpenoida koji ima linearni tetraciklički ugljikovodični kostur. Oni su izolirani iz gljivice *A. ochraceopetaliformis* SCSIO 05702 koja je nađena u uzorku sedimenta na Antarktiku. Ispitana je njihova antiviralna aktivnost. Oba su spoja pokazala značajnu antiviralnu aktivnost prema H1N1 i H3N2 virusu gripe zbog čega ih možemo smatrati dobrim modelima za razvoj novih lijekova protiv gripe (Wang i sur., 2016).



Slika 8. Strukturna formula ohraceopona A prema Wang i sur. (2016)

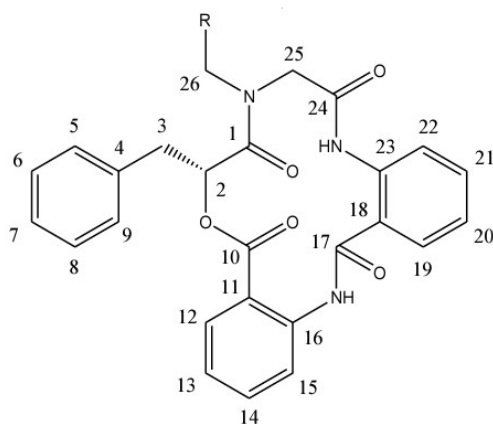


Slika 9. Strukturna formula izoasteltoksina prema Wang i sur. (2016)

## 4.2.2. CITOTOKSIČNE TVARI

Od ukupno 99 metabolita u ovom radu njih 39 pokazalo je citotoksično djelovanje.

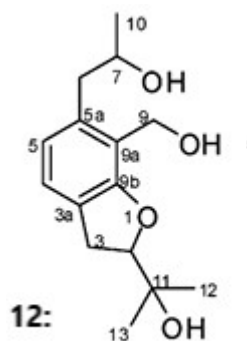
Više od 600.000 ljudi godišnje umre od hepatocelularnog karcinoma zbog čega ova bolest predstavlja veliki zdravstveni problem. Iz tog razloga istraživanje ovog područja u svijetu bi se trebalo značajno pojačati kako na medicinskom, tako i na farmaceutskom području (Ferenci i sur., 2010). Klavatustidi A (struktura broj 10, slika 10) i B (struktura 11, slika 10) dva su nova spoja koja sadrže neobičan dimer antranilne kiseline. Izolirani su iz gljivice *A. clavatus* C2WU koja je izolirana iz *Xenograpsus testudinatus*, račića koji živi u ekstremnim uvjetima sumporom obogaćenih hidrotermalnih izvora u Tajvanu. Posebnost njihove strukture-dimer antranilne kiseline bi mogao biti produkt koji je nastao potaknut stresom zbog ekstremnih uvjeta te bi mogao imati anti-stresna svojstva. Klavatustidi A i B pokazali su značajnu sposobnost supresije proliferacije stanica hepatocelularnog karcinoma (HepG2, SMMC-7721 i Bel-7402) i inducirali su akumulaciju HepG2 stanica u G1 fazi i redukciju stanica u S fazi. Oni su strukturalno vrlo posebni i pružaju priliku za dizajn i sintezu analoga koji bi im mogli poboljšati aktivnost i tako postati potencijalni novi citostatici (Jiang i sur., 2013).



**10:** R = CH<sub>3</sub>  
**11:** R = H

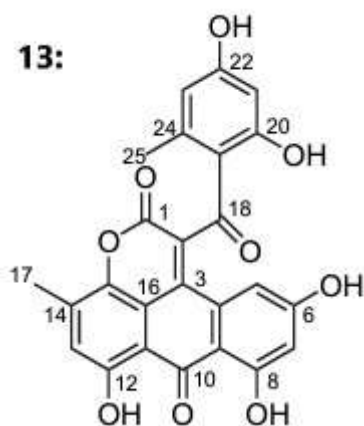
Slika 10. Strukturna formula klavatustida A i B prema Jing i sur. (2013)

Ustusoran E (struktura broj 12, slika 11) derivat je izokromana izoliran iz gljivice *A. ustus* 094102 izolirane s drva mangrove u Kini. Pokazao je značajnu citotoksičnu aktivnost prema HL-60 staničnoj liniji s IC<sub>50</sub> vrijednosti od 0.13 μM (Lu i sur., 2009).



Slika 11. Strukturna formula ustusorana E prema Lu i sur. (2009)

Aspergiolid A (struktura broj 13, slika 12) derivat je antrakinona s nafto[1,2,3-de]kromen-2,7-dionskim kosturom izoliran iz gljivice *A. glaucus*. Pokazao je značajnu citotoksičnu aktivnost prema A-549, HL-60, BEL-7402, i P388 staničnim linijama (Du i sur., 2007). Aspergiolid A i ustusoran E predstavljaju potencijalne modele za razvoj novih citotoksičnih lijekova.



Slika 12./ Strukturna formula aspergiolida A prema Du i sur. (2007)

## 5. ZAKLJUČAK

Gljivice roda *Aspergillus* ubikvitarne su i prisutne u gotovo svim staništima na svijetu pa tako i u moru. Rod *Aspergillus* najčešći je rod askomiceta u moru te je naročito važan zbog posebnih i jedinstvenih sekundarnih metabolita koje proizvodi pod utjecajem tlaka, pH i saliniteta morske vode. Pretraživanjem literature može se pronaći veliki broj do sada zabilježenih sekundarnih metabolita s biološkom aktivnošću odnosno, antibakterijskim, antifungalnim, antivirusnim i citostatičkim djelovanjem. Iz tih podataka može se zaključiti da su sekundarni metaboliti gljivica iz roda *Aspergillus* dobri modeli za razvoj novih antimikrobnih i antitumorskih lijekova.

## 6. LITERATURA

Ahrendt SR, Quandt CA, Ciobanu D, Clum A, Salamov A, Andreopoulos B, Cheng JF, Woyke T, Pelin A, Henrissat B, Reynolds NK, Benny GL, Smith ME, James TY, i Grigoriev IV Leveraging single-cell genomics to expand the fungal tree of life. *Nat Microbiol*, 2018, 3, 1417–1428.

Amend A, From dandruff to deep-sea vents: *Malassezia*-like fungi are ecologically hyper-diverse. *PLoS Pathog*, 2014, 10, 1-4.

Amend A, Burgaud G, Cunliffe M, Edgcomb VP, Ettinger CL, Gutiérrez MH, Heitman J, Hom EFY, Ianiri G, Jones AC, Kagami M, Picard KT, Quandt CA, Raghukumar S, Riquelme M, Stajich J, Vargas-Muñiz J, Walker AK, Yarden O, Gladfelter AS Fungi in the marine environment: open questions and unsolved problems. *mBio*, 2019, 10, 1-15

Bai ZQ, Lin XP, Wang YZ, Wang JF, Zhou XF, Yang B, Liu J, Yang XW, Wang Y, Liu YH, New phenyl derivatives from endophytic fungus *Aspergillus flavipes* AIL8 derived of mangrove plant *Acanthus ilicifolius*. *Fitoterapia*, 2014, 95, 194–202

Buttachon S, Ramos A, Inácio Â, Dethoup T, Gales L, Lee M, Costa P, Silva A, Sekeroglu N, Rocha E, Pinto M, Pereira J, Kijjoa A, Bis-indolyl benzenoids hydroxypyrrolidine derivatives and other constituents from cultures of the marine sponge-associated fungus *Aspergillus candidus* KUFA0062. *Mar. Drugs*, 2018, 1-22

Chen M, Fu XM, Kong CJ, Wang CY, Nucleoside derivatives from the marine-derived fungus *Aspergillus versicolor*. *Nat Prod Res*, 2014b, 28, 895–900

Chen M, Shao CL, Fu XM, Xu RF, Zheng JJ, Zhao DL, She ZG, Wang CY, Bioactive indole alkaloids and phenyl ether derivatives from a marine-derived *Aspergillus sp.* fungus. *J Nat Prod*, 2013, 76, 547–553

Chen XW, Li CW, Cui CB, Hua W, Zhu TJ, Gu QQ, Nine new and five known polyketides derived from a deep sea-sourced *Aspergillus sp* 16-02-1. *Mar. Drugs*, 2014a, 12, 3116-3137

Cueto M, MacMillan JB, Jensen PR, Fenical WR, Tropolactones A-D four meroterpenoids from a marine-derived fungus of the genus *Aspergillus*. *Phytochemistry*, 2006, 67, 1826–1831

Du L, Zhu TJ, Fang YC, Liu HB, Gu QQ, Zhu WM, Aspergiolide A a novel anthraquinone derivative with naphtho[123-de]chromene-27-dione skeleton isolated from a marine-derived fungus *Aspergillus glaucus*, *Tetrahedron*, 2007, 63, 1085–1088



Fang W, Lin X, Zhou X, Wan J, Cytotoxic and antiviral nitrobenzoyl sesquiterpenoids from the marine derived fungus *Aspergillus ochraceus* Jcm1F17. *Med Chem Commun*, 2014, 5, 701–705

Ferenci P, Fried M, Labrecque D, Bruix J, Sherman M, Omata M, Heathcote J, Piratsivuth T, Kew M, Otegbayo JA, Zheng SS, Sarin S, Hamid SS, Modawi SB, Fleig W, Fedail S, Thomson A, Khan A, Malfertheiner P, Lau G, Carillo FJ, Krabshuis J, Le Mair A, Hepatocellular carcinoma (HCC): a global perspective. *J Clin Gastroenterol*, 2010, 44, 239–245

Frisvad JC, Larsen TO, Chemodiversity in the genus *Aspergillus*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2015, 99, 7859–7877

Fukuda T, Kurihara Y, Kanamoto A, Tomoda H, Terretinin G a new sesterterpenoid antibiotic from marine-derived *Aspergillus sp* OPMF00272. *J Antibiot*, 2014, 67, 593–595

Gao H, Hong K, Zhang X, Liu HW, Wang NL, Zhuangand L, Yao XS, New Steryl Esters of Fatty Acids from the Mangrove Fungus *Aspergillus awamori*. *Helv Chim Acta*, 2007, 90, 1165–1178

Gladfelter AS, James TY, Amend AS, Marine fungi. *Curr*, 2019, 29, 183–199

Grossart HP, Wurzbacher C, James TY, Kagami M, Discovery of dark matter fungi in aquatic ecosystems demands a reappraisal of the phylogeny and ecology of zoosporic fungi. *Fungal Ecol*, 2016, 19, 28–38

Hawas UW, El-Beih AA, El-Halawany AM, Bioactive anthraquinones from endophytic fungus *Aspergillus versicolor* isolated from red sea algae. *Arch Pharm Res*, 2012, 35, 1749–1756

He F, Bao J, Zhang XY, Tu ZC, Shi YM, Qi SH, Asperterrestide A a cytotoxic cyclic tetrapeptide from the marine-derived fungus *Aspergillus terreus* SCSGAF0162. *J Nat Prod*, 2013, 76, 1182–1186

Houbraken J, Vries RP, Samson AR, Modern taxonomy of biotechnologically important *Aspergillus* and *Penicillium* species. *Adv Appl Microbiol*, 86, 2014, 199-249

Hu J, Li Z Gao J, He H, Dai H, Xia X, Liu C, Zhang L, Song F, New diketopiperazines from a marine-derived fungus strain *Aspergillus versicolor* MF180151 . *Mar Drugs*, 2019, 17, 261-269

Imhoff J, Natural products from marine fungi—still an underrepresented resource. *Mar Drugs*, 2016, 14, 1-19

Ivanets E, Yurchenko A, Smetanina O, Rasin A, Zhuravleva O, Pivkin M, Popov R, von Amsberg G, Afiyatullo S, Dyshlovoy S, Asperindoles A–D and a p-Terphenyl derivative from the ascidian-derived fungus *Aspergillus sp* KMM 4676 *Mar Drugs*, 2018, 16, 232-240

Jaspars M, De Pascale D, Andersen JH, Reyes F, Crawford AD, Ianora A, The marine biodiscovery pipeline and ocean medicines of tomorrow. *J Mar Biol Assoc UK*, 2016, 96, 151–158

Jiang W, Ye P, Chen ACT, 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, *Mar Drugs*, 2013,1-11

Johnson TW Sparrow FK Fungi in Oceans and Estuaries. Njemačka, Cramer,1961, str. 27

Jones EBG, Suetrong S, Sakayaroj J, Bahkali AH, Abdel-Wahab MA, Boekhout T, Pang KL, Classification of marine Ascomycota Basidiomycota Blastocladiomycota and Chytridiomycota *Fungal Diversity*, 2015, 737

Jones EBG Fifty years of marine mycology *Fungal Diversity* 2011 50 73–112

Jones EBG, Pang KL, Abdel-Wahab MA, Scholz B, Hyde KD, Boekhout T, Ebel R, Rateb ME, Henderson L, Sakayaroj J, Suetrong S, Dayarathne MC, Kumar V, Raghukumar S, Sridhar KR, Bahkali AHA, Gleason FH, Norphanphoun C An online resource for marine fungi. *Fungal Divers* 2019, 96,347–433

Julianti E, Oh H, Jang KH, Lee JK, Lee SK, Oh DC, Oh KB, Shin J, Acremostictin a highly oxygenated metabolite from the marine fungus *Acremonium strictum*. *J Nat Prod*, 2011, 74 2592–2594

Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Medical microbiology, Stuttgart Thieme 2005, str., 355

Kito K, Ookura Yoshida S, Namikoshi N, Oi T, Kusumi T, New cytotoxic 14-membered macrolides from marine-derived fungus *Aspergillus ostianus*. *Org Lett*, 2008, 10, 225–228

Klasifikacija morskih gljivica, 2019. [www.marinefungi.org/higher-classifications-4php](http://www.marinefungi.org/higher-classifications-4php) pristupljeno 16.4.2021.

Koch L, Lodin A, Herold I, Ilan M, Carmeli S, Yarden O. Sensitivity of *Neurospora crassa* to a marine-derived *Aspergillus tubingensis* anhydride exhibiting antifungal activity that is mediated by the MAS1 protein. *Mar Drugs*, 2014, 12, 4713–4731

Kohlmeyer J, Kohlmeyer E. Marine mycology: the higher fungi, New York: Academic Press 1979, str., 3

Lee YM, Kim MJ, Li H, Zhang P, Bao B, Lee KJ, Jung JH. Marine-Derived *Aspergillus* species as a source of bioactive secondary metabolites. *Mar Biotechnol*, 2013, 15, 499–519

Lee YM, Dang Hong J, Lee CO, Bae KS, Kim DK, Jung JH. A cytotoxic fellutamide analogue from the sponge-derived fungus *Aspergillus versicolor*. *Korean Chem Soc*, 2010, 31, 205–208

Li D, Xu Y, Shao CL, Yang RY, Zheng CJ, Chen YY, Fu XM, Qian PY, She ZG, de Voogd NJ, Wang CY. Antibacterial bisabolane-type sesquiterpenoids from the sponge-derived fungus *Aspergillus sp.* *Mar Drugs*, 2012a, 10, 234–241

Li SD, Wei MY, Chen GY, Lin YC. Two new dihydroisocoumarins from the endophytic fungus *Aspergillus sp* collected from the south china sea. *Chem Nat Compd*, 2012b, 48, 371–373

Li W, Xiong P, Zheng W, Zhu X, She Z, Ding W, Li C. Identification and antifungal activity of compounds from the mangrove endophytic fungus *Aspergillus clavatus* R7 . *Mar Drugs*, 2017, 15, 1-10

Li X, Ding W, Wang P, Xu J. Two novel aspochalasins from the gut fungus *Aspergillus sp* Z4. *Mar drugs*, 2018, 77, 1-20

Lin AQ, Du L, Fang B, Wang Zhu. Iso- $\alpha$ -cyclopiazonic acid a new natural product isolated from the marine-derived fungus *Aspergillus flavus* C-F-3. *Chem Nat Compd*, 2009a, 45, 677–680

Lin Z, Zhu T, Fang Y, Gu Q. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR assignments of two new indolic enamide diastereomers from a mangrove endophytic fungus *Aspergillus sp.* *Magn Reson Chem*, 2008, 46, 1212–1216

Lin ZJ, Zhang GJ, Zhu TJ, Liu R, Wei HJ, Gu QQ. Bioactive cytochalasins from *Aspergillus flavipes* an endophytic fungus associated with the mangrove plant *Acanthus ilicifolius*. *Helv Chim Acta*, 2009b, 92, 1538–1544

- Liu XH, Miao FP, Qiao MF, Cichewicz RH, Ji NY. Terretinin ophiobolin and drimane terpenes with absolute configurations from an algicolous *Aspergillus ustus*. *RSC Adv*, 2013, 3, 588–595
- Lopez-Gresa MP, Cabedo N, Gonzalez-Mas MC, Ciavatta ML, Avila C, Primo J. Terretonins E and F inhibitors of the mitochondrial respiratory chain from the marine-derived fungus *Aspergillus insuetus*. *Nat Prod*, 2009, 72, 1348–1351
- Lu ZY, Wang Y, Miao CD, Liu PP, Hongand K, Zhu WM. Sesquiterpenoids and benzofuranoids from the marine-derived fungus *Aspergillus ustus* 094102. *Nat Prod*, 2009, 72, 1761–1767
- Orsi W, Biddle JF, Edgcomb V. Deep sequencing of seafloor eukaryotic rRNA reveals active fungi across marine subsurface provinces. *PLoS ONE*, 2013, 8,1-10
- Overy DP, Bayman P, Kerr RG, Bills GF. An assessment of natural product discovery from marine (sensu strictu) and marine-derived fungi. *Mycology*, 2014, 5, 145–167
- Pang KL, Overy DP, Jones EBG, Calado M, Burgaud G, Walker AK, Johnson JA, Kerr RG, Cha HJ, Bills GF. ‘Marine fungi’ and ‘marine-derived fungi’ in natural product chemistry research: toward a new consensual definition. *Fungal Biol Rev*, 2016, 30, 163–175
- Picard KT. Coastal marine habitats harbor novel early-diverging fungal diversity. *Fungal Ecol*, 2017, 25,1–13
- Pitt J i Hocking AD. Fungi and food spoilage. New York, Springer Science Business Media, 2009, str., 11-16
- Procijenjeni broj oboljelih od raka do 2040. godine, 2020., <https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/isotype>, pristupljeno 26.05.2021.
- Prompanya C, Dethoup T, Bessa LJ, Pinto MMM, Gales L, Costa PM, Silva AMS, Kijjoa A. New isocoumarin derivatives and meroterpenoids from the marine sponge-associated fungus *Aspergillus similanensis* sp nov KUFA 0013. *Mar Drugs*, 2014, 12, 5160–5173
- Ren H, Liu R, Chen L, Zhu TJ, Zhuand WM, Gu Q. Two new hetero-spirocyclic  $\gamma$ -lactam derivatives from marine sediment-derived fungus *Aspergillus sydowi* D2–6. *Arch Pharmacol Res*, 2010, 33, 499–502
- Richards TA, Jones MDM, Leonard G, Bass D. Marine fungi: their ecology and molecular diversity. *Annu Rev Mar Sci*, 2012, 4, 495–522

Salvatore MM, Nicoletti R, Salvatore F, Naviglio D, Andolfi A. GC–MS approaches for the screening of metabolites produced by marine-derived *Aspergillus*. *Mar Chem*, 2018, 206, 19–33

Samson RA, Visagie CM, Houbraken J, Hong S-B, Hubka V, Klaassen CHW, Perrone G Seifert KA, Susca A, Tanney JB, Varga J Ocsubé S, Szigeti G, Yaguchi T, Frisvad JC. Phylogeny identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Stud Mycol*, 2014 78, 141–173

Schoch CL, Seifer KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA, Chen W, Bolchacova E, Voigt K, Crous PW, Miller AN, Wingfield MJ, Aime MC, An KD, Bai FY, Barreto RW, Begerow D, Bergeron MJ, Blackwell M, Boekhout T, Bogale M, Boonyuen N, Burgaz AR, Buyck B, Cai L, Cai Q, Cardinali G, Chaverri P, Coppins BJ, Crespo A, Cubas P, Cummings C, Damm U, de Beer ZW, de Hoog GS, DelPrado R, Dentinger B, DieguezUribeondo J, Divakar PK, Douglas B, Duenas M, Duong TA, Eberhardt U, Edwards JE, Elshahed MS, Fliiegerova K, Furtado M, Garcia MA, Ge ZW, Griffith GW, Griffiths K, Groenewald JZ, Groenewald M, Grube M, Gryzenhout M, Guo LD, Hagen F, Hambleton S, Hamelin RC, Hansen K, Harrold P, Heller G, Herrera C, Hirayama K, Hirooka Y, Ho HM, Hoffmann K, Hofstetter V, Hognabba F, Hollingsworth PM, Hong SB, Hosaka K, Houbraken J, Hughes K, Huhtinen S, Hyde KD, James T, Johnson EM, Johnson JE, Johnston PR, Jones EBG, Kelly LJ, Kirk PM, Knapp DG, Koljalg U, Kovacs GM, Kurtzman CP, Landvik S, Leavitt SD, Liggenstoffer AS, Liimatainen K, Lombard L, Luangsaard JJ, Lumbsch HT, Maganti H, Maharachchikumbura SSN, Martin MP, May TW, McTaggart AR, Methven AS, Meyer W, Moncalvo JM, Mongkolsamrit S, Nagy LG, Nilsson RH, Niskanen T, Nyilasi I, Okada G, Okane I, Olariaga I, Otte J, Papp T, Park D, Petkovits T, PinoBodas R, Quaedvlieg W, Raja HA, Redecker D, Rintoul TL, Ruibal C, SarmientoRamirez JM, Schmitt I, Schussler A, Shearer C, Sotome K, Stefani FOP, Stenroos S, Stielow B, Stockinger H, Suetrong S, Suh SO, Sung GH, Suzuki M, Tanaka K, Tedersoo L, Telleria MT, Tretter E, Untereiner WA, Urbina H, Vagvolgyi C, Vialle A, Vu TD, Walther G, Wang QM, Wang Y, Weir BS, Weiss M, White MM, Xu J, Yahr R, Yang ZL, Yurkov A, Zamora JC, Zhang N, Zhuang WY Schindel, D. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *PNAS*, 2012, 109, 6241–6246

Scholz B, Guillou L, Marano AV, Neuhauser S, Sullivan BK, Karsten U, Küpper FC Gleason FH. Zoospore parasites infecting marine diatoms – a black box that needs to be opened. *Fungal Ecol*, 2016, 19, 59–76

Song FH, Ren B, Chen CX, Yu K, Liu XR, Zhang YH, Yang N, He HT, Liu XT, Dai HQ, Zhang LX. Three new sterigmatocystin analogues from marine-derived fungus *Aspergillus versicolor* MF359. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2014, 98, 3753–3758

Tsukamoto S, Kato H, Samizo M, Nojiri Y, Onuki H, Hirota H, Ohta N. Notoamides F–K prenylated indole alkaloids isolated from a marine-derived *Aspergillus* sp. *Nat Prod*, 2008, 71, 2064–2067

Wang JF, Lin XP, Qin C, Liao SR. Antimicrobial and antiviral sesquiterpenoids from sponge-associated fungus *Aspergillus sydowii* ZSDS1-F6. *J Antibiot*, 2014, 67, 581–583

Wang H, Lu ZY, Qu HJ, Liu PP, Miao CD, Zhu TH, Li J, Hong K, Zhu WM. Antimicrobial aflatoxins from the marine-derived fungus *Aspergillus flavus* 092008. *Arch Pharm Res*, 2012a, 35, 1387–1392

Wang J, Wei X, Qin X, Tian X, Liao L, Li K, Zhou X, Yang X, Wang F, Zhang T. Antiviral merosesquiterpenoids produced by the antarctic fungus *Aspergillus ochraceopetaliformis* SCSIO 05702. *J. Nat Prod*, 2016, 79, 59–65

Wang R, Liu TM, Shen MH, Yang MQ, Feng QY, Tang XM, Li XM. Spiculisporic acids B–D three new  $\gamma$ -butenolide derivatives from a sea urchin-derived fungus *Aspergillus* sp HDF2. *Molecules*, 2012b, 17, 13175–13182

Wang W, Liao Y, Tang C, Huang X, Luo Z, Chen J, Cai P. Cytotoxic and antibacterial compounds from the coral-derived fungus *Aspergillus tritici* SP2-8-1. *Mar Drugs*, 2017, 15, 1-20

Wang XR, You JL, King JB, Powell DR, Cichewicz RH. Waikialoid a suppresses hyphal morphogenesis and inhibits biofilm development in pathogenic *Candida albicans*. *J Nat Prod*, 2012c, 75, 707–715

Wang Y, Zheng JK, Liu PP, Wang W, Zhu WM. Three new compounds from *Aspergillus terreus* PT06-2 grown in a high salt medium. *Mar Drugs*, 2011, 9, 1368–1378

WangWL, Lu ZY, Tao HW, Zhu TJ, Fang YC, Gu QQ, Zhu WM. Isoechinulin-type alkaloids varicolorins a–l from halotolerant *Aspergillus varicolor*. *Mar Drugs*, 2007, 70, 1558–1564

Webster J, Weber R, Introduction to Fungi. New York, Cambridge University Press, 2007 str 36

Wei H, Inada H, Hayashi A, Higashimoto Pruksakorn P, Kamada S, Arai S, Ishida S, Kobayashi M. Prenylterphenyllin and its dehydroxyl analogs new cytotoxic substances from a marine-derived fungus *Aspergillus candidus* IF10. *J Antibiot*, 2007, 60, 586–590

Wei MY, Wang CY, Liu Shao She ZG, Lin YC, Five sesquiterpenoids from a marine-derived fungus *Aspergillus sp* isolated from a gorgonian *Dichotella gemmacea*. *Mar Drugs*, 2010, 8, 941–949

WuZJ, Ouyangand MA, Tan QW. New asperxanthone and asperbiphenyl from the marine fungus *Aspergillus sp*. *PestManage Sci*, 2009, 65, 60–65

Yamada T, Imai E, Nakatuji K, Numata A, Tanaka R. Cephalimysin A a potent cytotoxic metabolite from an *Aspergillus species* separated from a marine fish. *Tetrahedron Lett*, 2007 48, 6294–6296

Yang G, Sandjo L, Yun K, Leutou AS, Kim GD, Choi HD, Kang JS, Hong J, Son BW. Flavusides A and B antibacterial cerebrosides from the marine-derived fungus *Aspergillus flavus*. *Chem Pharm Bull*, 2011, 59, 1174–1177

Zhang M, Wang WL, Fang YC, Zhu TJ, Gu QQ, ZhuWM. Cytotoxic alkaloids and antibiotic nordammarane triterpenoids from the marine-derived fungus *Aspergillus sydowi*. *Nat Prod*, 2008, 71, 985–989

Zhang Y, Wang S, Li XM, Cui CM, Feng C, Wang BG. New sphingolipids with a previously unreported 9-methyl-c20-sphingosine moiety from a marine algous endophytic fungus *Aspergillus niger* EN-13. *Lipids*, 2007a, 42, 759–764

Zhang Y, Li XM, Wang BG. Anthraquinone derivatives produced by marine-derived fungus *Aspergillus versicolor* EN-7. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2012, 76, 1774–1776

Zhang YP, Zhu TJ, Fang C, Liu HB, Gu QQ, ZhuWM. Carbonarones A and B New Bioactive  $\gamma$ -pyrone and  $\alpha$ -pyridone derivatives from the marine-derived fungus *Aspergillus carbonarius*. *J Antibiot*, 2007b, 60, 153–157

Zheng CJ, Shao CL, Wu LY, Chen M, Wang KL, Zhao DL, Sun XP, Chen GY, Wang CY. Bioactive phenylalanine derivatives and cytochalasins from the soft coral-derived fungus *Aspergillus elegans*. *Mar Drugs*, 2013, 11, 2054–2068

Zheng J, Zhu H, Hong K, Wang Y, Liu P, Wang P. Novel cyclic hexapeptides from marine-derived fungus *Aspergillus sclerotiorum* PT06-1. *Org Lett*, 2009, 11, 5262–5265

Zhou YM, Debbab A, Wray V, Lin WH, Schulz B, Trepos R, Pile C, Hellio C, Proksch P, Aly AH. Marine bacterial inhibitors from the sponge-derived fungus *Aspergillus sp.* *Tetrahedron Lett*, 2014, 55, 2789–2792

Zhou YM, Mandi A, Debbab A, Wray V, Schulz B, Muller WEG, Lin WH, Proksch P, Kurtan T, Aly AH. New austalides from the sponge-associated fungus *Aspergillus sp.* *Eur J Org Chem*, 2011, 30, 6009–6019

Zhu F, Chen GY, Chen X, Huang MZ, Wan XQ. Aspergicin a new antibacterial alkaloid produced by mixed fermentation of two marine-derived mangrove epiphytic fungi. *Chem Nat Compd*, 2011, 47, 767–769

Zuluaga-Montero A, Ramírez-Camejo L, Rauscher J, Bayman P. Marine isolates of *Aspergillus flavus*: denizens of the deep or lost at sea?. *Fungal Ecol*, 2010, 3, 386–391



## 7. SAŽETAK

Gljivice roda *Aspergillus* proizvode jedinstvene metabolite od kojih veliki broj ima obećavajuću farmakološku aktivnost. Ovaj diplomski rad daje pregled sekundarnih metabolita koji su pokazali značajno antibakterijsko, antivirusno, antifungalno i antitumorsko djelovanje. Sve skupa ovaj rad pokriva 99 metabolita koji su otkriveni u razdoblju od 2005. do 2019. godine. Među biološki aktivnim metabolitima s antimikrobnim djelovanjem ističu se preusin (djeluje na gram-pozitivne bakterije, MRSA i VRE), 14-norpseurotin, 6 $\beta$ ,16 $\beta$ -diacetoksi-25-hidroksi-3,7dioksi-29-nordamara-1,17(20)-dien-21-oička kiselina (djeluju na gram-negativne i gram-pozitivne bakterije), 24-hidroksilergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-on, kotanin, 4,4-dimetoksi-5,5-dimetil-7,7-oksodikumarin, ohraceopon A i izoasteltoksin, a klavatustid A i B, ustusoran E, i aspergiolid A istaknuli su se svojim antitumorskim djelovanjem. Iz tih podataka može se zaključiti da su sekundarni metaboliti gljivica iz roda *Aspergillus* dobri modeli za razvoj novih antimikrobnih i antitumorskih lijekova.

## 8. SUMMARY

Species of the *Aspergillus* genus are capable of producing unique metabolites, a considerable number of which display promising pharmacological activity. This diploma thesis gives an overview of secondary metabolites which showed some considerable antibacterial, antiviral, antifungal or cytotoxic activity. Overall, 99 metabolites which were discovered in the period from 2005 until 2019 are presented. Among all biologically active products the most important ones with antimicrobial activities are preussin (shows antibacterial activity towards gram-positive bacteria, MRSA, VRE), 14-norpseurotine, 6 $\beta$ ,16 $\beta$ -diacetoxy-25-hydroxy-3,7-dioxy-29-nordammara-1,17(20)-dien-21-oic acid, (shows antibacterial activity towards gram-negative and gram-positive bacteria), kotanin, 24-hydroxyergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one, 4,4-dimethoxy-5,5-dimethyl-7,7-oxydicoumarin, ochraceopone A and isoasteltoxin, while clavatusides A, B, ustusorane E, and aspergiolide A showed significant anticancer activity. From this data, it can be deduced that secondary metabolites from *Aspergillus* species could be used as good models for development of new antimicrobial and anticancer drugs.

## **9. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD**

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Zavod za mikrobiologiju  
Schrottova 39, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### Sekundarni metaboliti gljivica roda *Aspergillus* iz mora i njihova biološka aktivnost

**Nina Hartl**

#### SAŽETAK

Gljivice roda *Aspergillus* proizvode jedinstvene metabolite od kojih veliki broj ima obećavajuću farmakološku aktivnost. Ovaj diplomski rad daje pregled sekundarnih metabolita koji su pokazali značajno antibakterijsko, antivirusno, antifungalno i antitumorsko djelovanje. Sve skupa ovaj rad pokriva 99 metabolita koji su otkriveni u razdoblju od 2005. do 2019. godine. Među biološki aktivnim metabolitima s antimirkobnim djelovanjem ističu se preusin (djeluje na gram-pozitivne bakterije, MRSA i VRE), 14-norpseurotin, 6 $\beta$ ,16 $\beta$ -diacetoksi-25-hidroksi-3,7dioksi-29-nordamara-1,17(20)-dien-21-oička kiselina (djeluju na gram-negativne i gram-pozitivne bakterije), 24-hidroksilergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-on, kotanin, 4,4-dimetoksi-5,5-dimetil-7,7-oksodikumarin, ohraceopon A i izoasteltoksin, a klavatustid A i B, ustusoran E, i aspergiolid A istaknuli su se svojim antitumorskim djelovanjem. Iz tih podataka može se zaključiti da su sekundarni metaboliti gljivica iz roda *Aspergillus* dobri modeli za razvoj novih antimikrobnih i antitumorskih lijekova.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 45 stranica, 12 grafičkih prikaza, 1 tablicu i 86 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: *Aspergillus*, sekundarni metaboliti, gljivice izolirane iz mora, morske gljivice

Mentor: **Dr. sc. Maja Šegvić Klarić**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Maja Šegvić Klarić**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.  
**Dr. sc. Ana Mornar Turk**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.  
**Dr. sc. Ana-Marija Domijan**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: .1. lipnja 2021.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Pharmacy  
Department of microbiology  
Schrottova street 39, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### Secondary metabolites from marine derived *Aspergillus* species and their activities

**Nina Hartl**

#### SUMMARY

Species of the *Aspergillus* genus are capable of producing unique metabolites, a considerable number of which display promising pharmacological activity. This diploma thesis gives an overview of secondary metabolites which showed some considerable antibacterial, antiviral, antifungal or cytotoxic activity. Overall, 99 metabolites which were discovered in the period from 2005 until 2019 are presented. Among all biologically active products the most important ones with antimicrobial activities are preussin (shows antibacterial activity towards gram-positive bacteria, MRSA, VRE), 14-norpseurotine, 6 $\beta$ ,16 $\beta$ -diacetoxy-25-hidroxy-3,7dioxy-29-nordammara-1,17(20)-dien-21-oic acid, (shows antibacterial activity towards gram-negative and gram-positive bacteria), kotanin, 24-hidroxylergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one, 4,4-dimethoxy-5,5-dimethyl-7,7-oxycoumarin, ochraceopone A and isoasteltoxin, while clavustides A, B, ustusorane E, and aspergiolide A showed significant anticancer activity. From this data, it can be deduced that secondary metabolites from *Aspergillus* species could be used as good models for development of new antimicrobial and anticancer drugs

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 45 pages, 12 figures, 1 table and 86 references. Original is in Croatian language.

Keywords: *Aspergillus*, secondary metabolites, marine derived fungi, marine fungi

Mentor: **Maja Šegvić Klarić, Ph.D. Full Professor**, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Maja Šegvić Klarić, Ph.D. Full Professor**, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Ana Mornar Turk, Ph.D. Associate Professor**, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Ana-Marija Domijan, Ph.D. Associate Professor**, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: June 1st, 2021.