

金梦莹, 陈金凤, 曹钰镁, 沈芋, 李新爱, 侯胜宏, 郭大乐, 罗禹. 尖海龙共附生真菌 *Talaromyces amestolkiae* 的化学成分[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26 (5): 1230-1234

Jin MY, Chen JF, Cao YM, Shen YR, Li XN, Hou SH, Guo DL, Luo Y, Deng Y. Study of the chemical constituents of *Talaromyces amestolkiae*, a symbiotic fungus of *Syngnathus acus* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2020, 26 (5): 1230-1234

尖海龙共附生真菌 *Talaromyces amestolkiae* 的化学成分

金梦莹¹ 陈金凤¹ 曹钰镁¹ 沈芋蓉¹ 李新爱¹ 侯胜宏³ 郭大乐¹ 罗禹²✉ 邓赞¹✉

¹成都中医药大学药学院中药材标准化教育部重点实验室, 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验-省部共建国家重点实验室培育基地 成都 611137

²西南医科大学药学院 泸州 646000

³四川禾亿制药有限公司 成都 611630

摘要 对尖海龙共附生真菌 *Talaromyces amestolkiae* 的化学成分进行研究. 采用固体培养基对该菌株进行培养, 利用硅胶柱、Sephadex-LH-20凝胶柱、MCI柱、制备色谱等方法对化学成分进行分离纯化, 并运用质谱、核磁共振等方法进行结构鉴定. 共分离得到10个化合物, 分别为methyl 2-formyl-4-methylfuro[3,2-b]pyrrole-5-carboxylate (1)、4-甲基苕黑酚 (2)、麦角甾-5,7,22-三烯-3-醇 (3)、3-甲氧基苯酚 (4)、thailandolide B (5)、aspergillumarin B (6)、(R)-3-(3-hydroxypropyl)-8-hydroxy-3,4-dihydroisocoumarin (7)、3-hydroxymethyl-6,8-dimethoxycoumarin (8)、penicifuran D (9)、penicifuran C (10). 其中化合物1为首次分离得到的天然产物, 化合物2-10均首次从 *T. amestolkiae* 中分离. (参 33)

关键词 尖海龙; 共附生真菌; *Talaromyces amestolkiae*; 化学成分

Chemical constituents of *Talaromyces amestolkiae*, a symbiotic fungus of *Syngnathus acus*

JIN Mengying¹, CHEN Jinfeng¹, CAO Yumei¹, SHEN Yurong¹, LI Xinai¹, HOU Shenghong³, GUO Dale¹, LUO Yu²✉ & DENG Yun¹✉

¹Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine of Ministry of Education; Sichuan Provincial Key Laboratory of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medical Resources; Ministry of State Key Laboratory Breeding Base; School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

²School of Pharmacy, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

³Sichuan Heyi Pharmaceutical Co., Ltd, Chengdu 611630, China

Abstract This study focused on the chemical constituents of *Talaromyces amestolkiae*, a symbiotic fungus obtained from *Syngnathus acus* Linnaeus. *Talaromyces amestolkiae* was cultured with solid-state fermentation, and its secondary metabolites were separated by silica gel, Sephadex LH-20, MCI column, as well as preparative chromatography. The subsequent compounds were identified by spectral methods. Ten compounds were isolated and identified as methyl 2-formyl-4-methylfuro[3,2-b]pyrrole-5-carboxylate (1), 4-methylorcnol (2), ergosta-5,7,22-trien-3-ol (3), 3-methoxyphenol (4), thailandolide B (5), aspergillumarin B (6), (R)-3-(3-hydroxypropyl)-8-hydroxy-3,4-dihydroisocoumarin (7), 3-hydroxymethyl-6,8-dimethoxycoumarin (8), penicifuran D (9), penicifuran C (10). Compound 1 was obtained from natural source for the first time. Compounds 2-10 were isolated from this genus for the first time.

Keywords *Syngnathus acus* Linnaeus; symbiotic fungus; *Talaromyces amestolkiae*; chemical constituent

收稿日期 Received: 2019-10-09 接受日期 Accepted: 2019-11-21

国家自然科学基金面上项目 (81373961)、四川省科技厅省青年科技创新研究团队专项计划 (2016TD0006)、中国博士后科学基金 (2017M622985)、四川省教育厅科研项目 (18ZA0191) 和成都中医药大学青年教师创新基金 (ZRQN1766) 资助 Supported by the National Natural Sciences Foundation of China (81373961), the Special Plan for Provincial Youth Science and Technology Innovation Research Team of Sichuan Provincial Science and Technology Department (2016TD0006), the China Postdoctoral Science Foundation (2017M622985), the Sichuan Provincial Department of Education Research Project (18ZA0191) and the Chengdu University of Traditional Chinese Medicine Young Teacher Innovation Fund (ZRQN1766)

✉通讯作者 Corresponding authors (E-mail: dengyun@cducm.edu.cn; uoyu@163.com)

海洋共附生真菌是指与宿主共生、附生或内生的真菌,其宿主包括海洋动植物、海洋浮木、海水和海底沉积物等^[1]。海洋共附生真菌与其宿主互惠互利,这种密切关系不仅使海洋共附生真菌产生与宿主相同或者相似的化合物,还能产生宿主不具有的新的活性物质^[2]。近年来,海洋共附生真菌次级代谢产物的研究已成为海洋药物的研究热点之一^[3-4]。

尖海龙又名小海龙、钱串子,在分类学上属脊索动物门(Chordate)硬骨鱼纲(Steichthyes)海龙目(Syngnathiforms)海龙科(Syngnathidae),广泛分布于我国沿海地区。根据文献报道,尖海龙的化学成分主要包括甾体类、脂肪酸及酯类、蛋白质及氨基酸类和微量元素等^[5-8]。作为重要的海洋中药之一,尖海龙性温味甘,临床作用显著,具有抗疲劳、抗衰老、抗肿瘤、性激素样作用、提高心肌收缩力和治疗麻痹等功效^[9-12]。

篮状菌(*Talaromyces* sp.)广泛分布在食物、植物、土壤和海绵中^[13],其代谢产物种类丰富且部分具有较好的生物活性。课题组前期从尖海龙中分离得到一株共附生真菌 *Talaromyces amestolkiae*, 目前关于该菌株代谢产物的化学成分研究较少。陈森华等先后从 *T. amestolkiae* 的发酵提取物中分离得到18个新的化合物,包括6个异香豆素、2个苯并呋喃和4个萜类,以及12个已知化合物^[14-15]。其中两个新的萜类 amestokolide A 和 amestokolide B 具有较强的抗炎活性,能够抑制激活 RAW264.7 细胞中脂多糖的一氧化氮(NO)的产生, IC₅₀ 为 1.6 ± 0.1 μmol/L; 两个新的苯并呋喃 5-hydroxy-7-methoxy-2-methylbenzofuran-3-carboxylic acid 和 1-(5-hydroxy-7-methoxybenzofuran-3-yl) ethan-1-one 对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌具有一定抗菌活性, MIC 值在 25-50 μmol/L 之间; 一个新的异香豆素和3个已知异香豆素能抑制 α-葡萄糖苷酶活性, IC₅₀ 分别为 89.4、17.2、36.4 和 38.1 μmol/L。为了寻找 *T. amestolkiae* 中结构新颖的化合物及丰富 *T. amestolkiae* 的化学成分,我们对 *T. amestolkiae* 菌株进行大规模的固体发酵,从该菌发酵产物中分离得到10个化合物,分别鉴定为 methyl 2-formyl-4-methylfuro [3,2-b] pyrrole-5-carboxylate (1)、4-甲基苔黑酚(2)、麦角甾-5,7,22-三烯-3-醇(3)、3-甲氧基苯酚(4)、thailandolide B (5)、aspergillumarin B (6)、(R)-3-(3-hydroxypropyl)-8-hydroxy-3,4-dihydroisocoumarin (7)、3-hydroxymethyl-6,8-dimethoxycoumarin (8)、penicifuran D (9)、penicifuran C (10)。其中化合物1为新的天然产物,化合物2-10均首次从 *T. amestolkiae* 中分离。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

SW-CJ-2FD型洁净工作台(苏州安泰空气技术有限公司)、LDZX-50KBS型立式高压灭菌锅(上海申安医疗器械厂)、LRHS-250-II型恒温恒湿培养箱(上海跃进医疗器械有限公司)、ZWY-2112B型恒温培养振荡器(上海智城分析仪器制造公司)、BUG25-12型超声清洗器(上海必能信超声有限公司)、SL302N型电子天平(上海民侨精密科学仪器有限公司)、100-A自动部分收集器(上海沪西分析仪器厂有限公司)、DZF型真空干燥箱(北京科伟永兴仪器有限公司)、DF-90多功能暗箱式紫外透射仪(上海宝山顾村电仪器厂)、Anton paar数字式旋光仪MCP 200(安东帕上海商贸有限公司)、Ultimate 3000高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技公

司)、NP 7000型制备型高效液相色谱仪(江苏汉邦仪器有限公司)、Bruker Ascend 400核磁共振仪(TMS为内标,德国布鲁克公司)、Bruker Ascend 700核磁共振仪(TMS为内标,德国布鲁克公司)、富士CHROMATOREX硅胶填料(三菱化学公司)、Sephadex-LH-20(美国Pharmacia公司)、MCI柱(三菱化学公司)、HPLC柱(纳普分析技术有限公司)、GF 254高效薄层硅胶板(青岛海洋化工厂)。甲醇、石油醚、氯仿、乙酸乙酯、丙酮等试剂均为分析纯(成都科龙化工试剂厂)。

1.2 菌种来源

尖海龙于2018年9月采集于海南省陵水黎族自治县,由成都中医药大学王光志副教授鉴定为尖海龙 *Syngnathus acus Linnaeus*。从尖海龙中分离得到一株共附生真菌(编号HL-2-3),送测,将获得的18S rRNA基因序列提交到NCBI的GenBank基因库,与数据库中的已知序列进行比对分析,该菌株鉴定为 *Talaromyces amestolkiae* (Genbank Accession NO. MH856395),保存于成都中医药大学生化制药实验室。

1.3 培养基

M1培养基:葡萄糖10 g,蛋白胨2 g,酵母提取粉1 g,磷酸二氢钠1 g,琼脂17 g,超纯水1 L。

糙米固体培养基:绿糙米50 g/瓶,超纯水50 mL(含5%人造海水)/瓶,蛋白胨2 g/瓶。

人造海水:氯化钠24.20 g,氯化镁5.01 g,硫酸钠4.00 g,氯化钙1.14 g,氯化钾0.70 g,重碳酸钠0.18 g,溴化钾0.12 g,硼酸0.03 g,氯化锶0.014 g,氟化钠0.003 g,超纯水1 L。

2 试验

2.1 菌株的发酵培养

将 *T. amestolkiae* 菌株放置于超净工作台上,用灭菌后的接种针挑取菌株接种至M1液体培养基在30 °C、120 r/min振荡培养7 d得到菌株发酵液。将菌株发酵液接种至固体培养基中,共发酵180瓶,室温下静态发酵30 d。

2.2 提取与分离

用甲醇对发酵产物进行超声提取,提取液减压浓缩后得流浸膏,将流浸膏用水进行分散后用相同体积乙酸乙酯萃取,萃取液经浓缩得提取物浸膏65 g。将浸膏经硅胶柱层析,以石油醚-丙酮(100:0→1:9)梯度进行洗脱,根据TLC分析后合并,共得到27个组分(Fr.1-Fr.27)。Fr.7经Sephadex-LH-20凝胶柱(三氯甲烷:甲醇,1:1)层析,根据TLC检测后合并,得到Fr.7-1-Fr.7-7等7个组分,Fr.7-5经半制备型HPLC(甲醇:水,55:45,流速3 mL/min)分离纯化得到化合物1(1.6 mg); Fr.7-6经半制备型HPLC(甲醇:水,55:45,流速3 mL/min)分离纯化得到化合物2(0.6 mg); Fr.9静置析出白色针状结晶,经适量环己烷洗涤,得到化合物3(4.3 mg); Fr.9经半制备型HPLC(甲醇:水,53:47,流速3 mL/min)分离纯化得到化合物4(3.9 mg); Fr.15经Sephadex-LH-20凝胶柱(三氯甲烷:甲醇,1:1)层析,根据TLC检测后合并,得到Fr.15-1-Fr.15-7等7个组分,Fr.15-2经半制备型HPLC(甲醇:水,70:30,流速3 mL/min)分离纯化得到化合物5(3.2 mg); Fr.15-4经半制备型HPLC(甲醇:水,70:30,流速3 mL/min)分离纯化得到化合物6(8.1 mg); Fr.17经Sephadex-LH-20凝胶柱(三氯甲烷:甲醇,1:1)层析,根据TLC检测后合并,得到Fr.17-1-Fr.17-8等8个组分,Fr.17-4经半制备型HPLC(甲醇:水,40:60,流速3 mL/min)分离纯化得到化合物7(2.2 mg); Fr.20经Sephadex-LH-20凝胶柱(三氯甲烷:甲醇,1:1)

层析, 根据TLC检测后合并, 得到Fr.20-1-Fr.20-8等8个组分, Fr.20-4经MCI柱层析, 以甲醇: 水 (1: 4→100: 0) 梯度进行洗脱, 根据TLC检测后合并, 得到Fr.20-4-1-Fr.20-4-10等10个组分, Fr.20-4-7经半制备型HPLC (甲醇: 水, 60: 40, 流速3 mL/min) 分离纯化得到化合物**8** (14.5 mg); Fr.20-8经半制备型HPLC (甲醇: 水, 45: 55, 流速3 mL/min) 分离纯化得到化合物**9** (3.3 mg) 和化合物**10** (2.8 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 206 $[M-H]^-$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 10.13 (1H, s, H-7), 7.01 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-3), 6.42 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 3.92 (3H, s, H-9), 2.73 (3H, s, H-10), ^{13}C NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 187.41 (C-7), 169.40 (C-2), 156.96 (C-8), 146.48 (C-6a), 139.08 (C-5), 127.57 (C-3a), 119.12 (C-3), 98.90 (C-6), 56.53 (C-9), 12.76 (C-10)。以上核磁数据与文献[16]报道的核磁数据基本一致, 故鉴定此化合物为methyl 2-formyl-4-methylfuro[3,2-b]pyrrole-5-carboxylate。

化合物**2**: 粉色粉末; ESI-MS m/z : 139 $[M+H]^+$; 1H NMR (700 MHz, CD_3OD) δ : 6.14 (2H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2, 6), 2.14 (3H, s, 4-CH₃), 2.00 (3H, s, 5-CH₃), ^{13}C NMR (175 MHz, CD_3OD) δ : 156.70 (C-3), 156.01 (C-1), 139.23 (C-5), 114.95 (C-4), 109.15 (C-6), 100.97 (C-2), 20.22 (5-CH₃), 10.95 (2-CH₃)。以上核磁数据与文献[17]报道的核磁数据基本一致, 故鉴定此化合物为4-甲基苜蓿酚。

化合物**3**: 白色针状结晶; ESI-MS m/z : 397 $[M+H]^+$; 1H NMR (700 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.57 (1H, dd, $J = 5.7, 2.6$ Hz, H-6), 5.38 (1H, dt, $J = 5.7, 2.8$ Hz, H-7), 5.22 (1H, dd, $J = 15.3, 7.4$ Hz, H-23), 5.17 (1H, dd, $J = 15.3, 7.4$ Hz, H-22), 3.66 – 3.61 (1H, m, H-3), 1.04 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 0.95 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-28), 0.84 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-27), 0.82 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-26), 0.63 (3H, s, H-18), ^{13}C NMR (175 MHz, $CDCl_3$) δ : 141.51 (C-8), 139.95 (C-5), 135.73 (C-22), 132.16 (C-23), 119.76 (C-6), 116.46 (C-7), 70.64 (C-3), 55.93 (C-17), 54.74 (C-14), 46.44 (C-9), 43.02 (C-24), 43.00 (C-13), 40.99 (C-4), 40.57 (C-20), 39.27 (C-12), 38.56 (C-1), 37.21 (C-10), 33.27 (C-25), 32.26 (C-2), 28.44 (C-16), 23.17 (C-15), 21.30 (C-11), 21.27 (C-21), 20.11 (C-27), 19.81 (C-26), 17.77 (C-28), 16.46 (C-19), 12.22 (C-18)。以上核磁数据与文献[18]报道的核磁数据基本一致, 故鉴定此化合物为麦角甾-5,7-22-三烯-3-醇。

化合物**4**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 125 $[M+H]^+$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.14–6.80 (1H, m, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.40 (1H, dd, $J = 2.4, 1.0$ Hz, H-6), 6.37 (1H, td, $J = 2.4, 1.0$ Hz, H-4), 6.35 (1H, dd, $J = 2.2, 0.9$ Hz, H-2), 3.73 (3H, s, H-7), ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 162.42 (C-3), 159.05 (C-1), 130.83 (C-5), 108.80 (C-6), 106.11 (C-4), 102.33 (C-2), 55.53 (C-7)。以上核磁数据与文献[19]报道的核磁数据基本一致, 故鉴定此化合物为3-甲氧基苯酚。

化合物**5**: 白色结晶; ESI-MS m/z : 485 $[M+H]^+$; $[\alpha]_D^{20} + 83.3$ ($c = 0.21$, $CDCl_3$)。H NMR (175 MHz, $CDCl_3$) δ : 11.05 (1H, s, 7-OH), 7.15 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-1), 6.50 (1H, s, H-5'), 6.16 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-7'), 5.99 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-2), 4.71 (1H, qd, $J = 6.6, 1.7$ Hz, H-8'), 4.17 (1H, dd, $J = 8.9, 2.9$ Hz, H-7), 2.95 (1H, dd, $J = 15.5, 5.0$ Hz, H-11 β), 2.60 (1H, dd, $J = 15.4, 14.1$ Hz, H-11 α), 2.27 (1H, dd, $J = 14.1, 5.0$ Hz, H-9), 2.26–2.23 (1H, m, H-6 α), 2.18 (1H, dd, $J = 14.1, 4.7$ Hz, H-5), 2.16 (3H, s, 7'-OCOCH₃), 1.85 (1H, td, $J = 14.5, 3.0$ Hz, H-6 β), 1.48 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-9'), 1.35 (3H, s, H-15a), 1.27 (3H, s, H-12a), 1.16 (3H, s, H-14a), 1.15 (3H, s, H-13a), ^{13}C NMR (700 MHz, $CDCl_3$) δ : 203.81 (C-4), 170.72 (7'-OCOCH₃), 168.91 (C-10), 162.50 (C-4'), 159.78 (C-5'), 156.20 (C-1), 136.03 (C-2'), 127.74 (C-2), 112.44 (C-3'), 106.47 (C-5'), 102.51 (C-1'), 79.87 (C-8), 76.24 (C-8'), 72.08 (C-7), 64.32 (C-7'), 44.84 (C-4), 42.64 (C-5), 42.07 (C-9), 38.66 (C-10), 27.77 (C-14a), 27.60 (C-15a), 26.77 (C-6), 21.67 (C-11), 21.62 (C-12a), 21.45 (C-13a), 20.83 (7'-OCOCH₃), 16.58 (C-9')。以上核磁数据与文献[20]报道的核磁数据基本一致, 故鉴定此化合物为thailandolide B。

化合物**6**: 白色针状固体; ESI-MS m/z : 249 $[M-H]^-$; $[\alpha]_D^{20} - 11.0$ ($c = 0.24$, MeOH)。H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.45 (1H, dd, $J = 8.5, 7.4$ Hz, H-6), 6.84 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7), 6.78 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-5), 4.62 (1H, m, H-3), 3.76 (1H, m, H-4'), 3.06–2.90 (2H, m, H-4), 1.91–1.70 (2H, m, H-2'), 1.67–1.54 (2H, m, H-1'), 1.54–1.43 (2H, m, H-3'), 1.17 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-5'), ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 171.51 (C-1), 163.21 (C-8), 141.64 (C-10), 137.38 (C-6), 119.35 (C-5), 116.70 (C-7), 109.52 (C-9), 81.37 (C-3), 68.32 (C-4'), 39.81 (C-3'), 35.80 (C-2'), 33.65 (C-4), 23.52 (C-5'), 22.27 (C-1')。以上核磁数据与文献[21]报道的核磁数据基本一致, 故鉴定此化合物为aspergillumarin B。

化合物**7**: 棕色油状; ESI-MS m/z : 221 $[M-H]^-$; $[\alpha]_D^{20} - 127.9$ ($c = 0.14$, MeOH)。H NMR (700 MHz, CD_3OD) δ : 7.47–7.44 (1H, dd, $J = 8.5, 7.5$ Hz, H-6), 6.85 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 6.79 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-5), 4.65 (1H, m, H-3), 3.63 (2H, d, $J = 6.2$ Hz, H-13), 3.04 (1H, dd, $J = 16.4, 3.4$ Hz, H-4a), 2.96 (1H, dd, $J = 16.4, 11.3$ Hz, H-4b), 1.91 (2H, m, H₂-12), 1.88–1.77 (1H, m, H-11a), 1.74–1.67 (1H, m, H-11b), ^{13}C NMR (700 MHz, CD_3OD) δ : 171.28 (C-1), 163.05 (C-8), 141.42 (C-10), 137.21 (C-6), 119.15 (C-5), 116.54 (C-7), 109.32 (C-9), 81.06 (C-3), 62.26 (C-13), 33.53 (C-4), 32.18 (C-12), 28.79 (C-11)。以上核磁数据与文献[22]报道的核磁数据基本一致, 故鉴定此化合物为(R)-3-(3-hydroxypropyl)-8-hydroxy-3,4-dihydroisocoumarin。

化合物**8**: 淡黄色粉末; ESI-MS m/z : 237 $[M+H]^+$; 1H NMR (175 MHz, CD_3OD) δ : 7.89 (1H, t, $J = 1.7$ Hz, H-4), 6.80 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-5), 6.71 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-7), 4.50 (2H, d, $J = 1.7$ Hz, H-1'), 3.93 (3H, s, 8-OCH₃), 3.84 (3H, s, 6-OCH₃), ^{13}C NMR (175 MHz, CD_3OD) δ : 162.43 (C-2), 158.33 (C-6), 149.38 (C-8), 139.75 (C-4), 138.88 (C-8a), 130.55 (C-3), 121.41 (C-4a), 103.94 (C-7), 101.64 (C-5), 60.21 (C-1'), 56.89 (8-OCH₃), 56.39 (6-OCH₃)。以上核磁数据与文献[23]报道的核磁数据基本一致, 故鉴定此化合物为3-hydroxymethyl-6,8-dimethoxycoumarin。

化合物**9**: 棕色粉末; ESI-MS m/z : 191 $[M-H]^-$; 1H NMR (700 MHz, CD_3OD) δ : 8.53 (1H, s, H-2), 7.02 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-4), 6.35 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-6), 2.52 (3H, s, H-9), ^{13}C NMR (175 MHz, CD_3OD) δ : 195.79 (C-8), 156.69 (C-5),

154.64 (C-2), 143.99 (C-7), 140.97 (C-7a), 127.26 (C-3a), 123.80 (C-3), 102.08 (C-6), 98.88 (C-4), 27.86 (C-9). 以上核磁数据与文献[24]报道的核磁数据基本一致, 故鉴定此化合物为 penicifuran D.

化合物10: 棕色针状固体; ESI-MS m/z : 191 [M-H]⁻; ¹H NMR (700 MHz, CD₃OD) δ : 10.12 (1H, s, H-8), 6.92 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-4), 6.30 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6), 2.74 (3H, s, H-9), ¹³C NMR (175 MHz, CD₃OD) δ : 186.85 (C-8), 168.83 (C-2), 156.15 (C-5), 143.03 (C-7), 138.29 (C-7a), 127.03 (C-3a), 118.68 (C-3), 101.17 (C-6), 97.58 (C-4), 12.20 (C-9). 以上核磁数据与文献[24]报道的核磁数据基本一致, 故鉴定此化合物为 penicifuran C.

4 讨论与结论

本研究从尖海龙共附生真菌 *T. amestolkiae* 固体发酵产物中分离得到10个化合物, 包括2个二氢异香豆素类化合物(6, 7), 2个苯并呋喃类化合物(9, 10), 1个香豆素类化合物(8), 1个萜类化合物(5), 1个甾体化合物(3), 1个苔黑酚类

化合物(2)和两个其他化合物(1, 4). 化合物5与陈森华等从红树林内生菌 *T. amestolkiae* 中分离得到的 chrodrimanin A^[15] 在C-10位上构型相反, 相关文献^[25]报道也分别从不同来源的同属真菌中分离得到一些差向异构体. 由此, 我们可以推断, 不同来源的同属真菌可以通过相同的生源合成途径产生代谢产物, 而代谢产物对其自身立体构型具有一定选择性. 根据相关报道, 二氢异香豆素类化合物具有抗菌、抗肿瘤、抗疟疾和杀虫作用等活性^[26-29]; 苯并呋喃类化合物具有抗菌、细胞毒、杀虫及抑制组蛋白去乙酰化酶等作用^[30]; 苔黑酚类化合物能抗辐射损伤, 还对许多霉菌具有抗菌活性^[31]; 化合物3具有一定的卤虫致死活性^[32]; 化合物6对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌具有较弱的抗菌活性^[33].

海洋微生物种类繁多, 生存环境独特, 往往能促使其产生许多结构新颖、活性显著的化合物, 具有潜在的药物研究开发价值. 本研究结果进一步丰富了海洋共附生真菌 *T. amestolkiae* 的化学成分, 为今后海洋共附生微生物资源的开发和利用提供了参考.

参考文献 [References]

- 1 张翠仙, 彭光天, 何细新, 雷玲芳. 中国海洋共附生真菌次生代谢产物最新研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25 (9): 1284-1291+1273 [Zhang CX, Peng GT, He XX, Lei LF. Advance on bioactive secondary metabolites from marine symbiotic and epiphyte fungi in China [J]. Nat Prod Res Dev, 2013, 25 (9): 1284-1291+1273]
- 2 张圣良, 楚肖肖, 赵友兴, 孔凡栋, 黄小龙. 海洋生物共附生真菌的分离、鉴定及抗菌活性分析[J]. 生物技术通报, 2019, 35 (3): 59-64 [Zhang SL, Chu XX, Zhao YX, Kong FD, Huang XL. Isolation, identification, and antibacterial activity of fungi associated with marine organisms [J]. Biotechnol Bull, 2019, 35 (3): 59-64]
- 3 王洪亮. 三种珊瑚共附生真菌的化学成分及生物活性研究[D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2019 [Wang HX. Chemical bioactivity invention of three coral-associated fungi [D]. Shanghai: The Second Military Medical University, 2019]
- 4 王荻潇. 两株石珊瑚共附生真菌的鉴定及其代谢产物抗菌活性研究[D]. 广州: 广东海洋大学, 2017 [Wang DX. The research of identification and inhibitory activity of the metabolic products from two derived fungi isolated from scleractinia [D]. Guangzhou: Guangdong Ocean University, 2017]
- 5 张朝晖, 徐国钧, 徐珞珊, 王强, 难波恒雄, 门田重利. 尖海龙的化学成分研究[J]. 中草药, 1998 (6): 370-372 [Zhang ZH, Xu GJ, Xu LS, Wang Q, Namba T, Kadota S. Study on chemical constituents of *Syngnathus acus Linnaeus* [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 1998 (6): 370-372]
- 6 许益民, 陈建伟, 郭戊. 海马和海龙中磷脂成分与脂肪酸的分析研究[J]. 中国海洋药物, 1994 (1): 14-18 [Xu YM, Chen JW, Guo X. Analysis of phospholipids and fatty acids in *Hippocampus* and *Syngnathus* [J]. Chin J Mar Drugs, 1994 (1): 14-18]
- 7 张朝晖, 徐国钧, 徐珞珊, 王强. 海龙科药用动物的理化分析[J]. 中药材, 1997 (3): 140-144 [Zhang ZH, Xu GJ, Xu LS, Wang Q. Physical and chemical analysis of medicinal animals in *Syngnathus* [J]. J Chin Med Mater, 1997 (3): 140-144]
- 8 苑红蕊. 海洋中药尖海龙化学物质基础研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015 [Yuan HR. Studies on chemical constituents of *Syngnathus acus Linnaeus* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015]
- 9 胡建英, 李八方. 海洋生药尖海龙的抗疲劳作用研究[J]. 中国海洋药物, 2002 (4): 48-53 [Hu JY, Li BF. Study on anti-fatigue effect of marine health medicine *Syngnathus acus Linnaeus* [J]. Chin J Mar Drugs, 2002 (4): 48-53]
- 10 许东晖, 谢江海, 梅雪婷, 许实波. 我国海龙的研究进展[J]. 中国海洋药物, 2005 (2): 51-56 [Xu DH, Xie JH, Mei XT, Xu SB. Research progress on *Syngnathus* in China [J]. Chin J Mar Drugs, 2005 (2): 51-56]
- 11 孙康, 陈勉, 刘霞, 刘飞, 朱希强, 凌沛学. 海龙的抗肿瘤生物活性成分研究现状[J]. 食品与药品, 2016, 18 (2): 145-149 [Sun K, Chen M, Liu X, Liu F, Zhu XQ, Ling PX. Research status on anti-tumor bioactive substances in *syngnathus* [J]. Food Drugs, 2016, 18 (2): 145-149]
- 12 许东晖, 蒋国津, 梅雪婷, 许实波. 尖海龙对胚胎尿生殖窦致小鼠前列腺增生模型的药理作用[J]. 中国海洋药物, 2011, 30 (1): 31-35 [Xu DH, Jiang GJ, Mei XT, Xu SB. Pharmacological researches of *Syngnathus acus Linnaeus* on mouse benign prostatic hyperplasia model induced by fetal urogenital sinus implants [J]. Chin J Mar Drugs, 2011, 30 (1): 31-35]
- 13 Zhai, MM., Li J, Jiang CX, Shi YP, Di DL, Crews P, Wu QX. The bioactive secondary metabolites from *Talaromyces* species [J]. Nat Prod Biopros, 2016, 6 (1): 1-24
- 14 Chen SH, Liu YY, Liu ZM, Cai RL, Lu YJ, Huang XS, She ZG. Isocoumarins and benzofurans from the mangrove endophytic fungus *Talaromyces amestolkiae* possess a-glucosidase inhibitory and antibacterial activities [J]. RSC Adv, 2016, 6: 26412-26420

- 15 Chen SH, Ding M, Liu WY, Huang XS, Liu ZM, Lu YJ, Liu HJ, She ZG. Anti-inflammatory meroterpenoids from the mangrove endophytic fungus *Talaromyces amestolkiae* YX1 [J]. *Phytochemistry*, 2018, **146**: 8-15
- 16 Bencková M, Kratošáková A. Synthesis of pyrrolo [2', 3': 4, 5] furo [3, 2-c] pyridines [J]. *Monatsh Chem*, 1995, **126** (3): 753-758
- 17 王立东, 吴少华, 陈有为, 余莹, 杨丽源, 李绍兰, 李治滢. 一株印楝植物内生真菌*Epicoccum* sp.次级代谢产物的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2009, **21** (6): 916-918 [Wang LD, Wu SH, Chen YW, Yu Y, Yang LY, Li SL, Li ZY. Studies on the secondary metabolites of endophytic fungus *Epicoccum* sp. isolated from *Azadirachta indica* [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2009, **21** (6): 916-918]
- 18 杜建厂, 王兴娜, 谭仁祥, 刘吉开. 担子菌亮光铍菌化学成分的研究[J]. 中草药, 2006 (9): 1297-1300 [Du JX, Wang XN, Tan RX, Liu JK. Chemical constituents of basidiomycete *Coltricum nitidum* [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2006 (9): 1297-1300]
- 19 杨君泽, 何山, 丁立建. 繁茂膜海绵来源青霉属真菌*Penicillium* sp. HPQJ10的化学成分研究[J]. 中草药, 2017, **48** (24): 5105-5111 [Yang JZ, He S, Ding LJ. Study on chemical constituents from sponge-derived fungus *Penicillium* sp. HPQJ10 [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2017, **48** (24): 5105-5111]
- 20 Dethoup T, Manoch L, Kijjoa A, Pinto M, Gales L, Damas AM, Silva AMS, Eaton G, Herz W. Merodrimanes and other constituents from *Talaromyces thalidiasis* [J]. *J. Nat Prod*, 2007, **70**: 1200-1202
- 21 Li SD, Wei MY, Chen GY, Lin YC. Two new dihydroisocoumarins from the endophytic fungus *Aspergillus* sp. collected from the South China Sea [J]. *Chem Nat Compd*, 2012, **48** (3): 371-373
- 22 Sun J, Zhu ZX, Song YL, Ren Y, Dong D, Zheng J, Liu T, Zhao YF, Tu PF, Li J. Anti-neuroinflammatory constituents from the fungus *Penicillium purpurogenum* MHZ 111 [J]. *Nat Prod Res*, 2017, **31** (5): 562-567
- 23 Huang HB, L Qi, Feng XJ, Chen B, Wang J, Liu L, She ZG, Lin YC. Structural elucidation and NMR assignments of four aromatic lactones from a mangrove endophytic fungus (No. GX4-1B) [J]. *Magn Reson Chem*, 2010, **48**: 496-499
- 24 Qi J, Shao CL, Li ZY, Gan LS, Fu XM, Bian WT, Zhao HY, Wang CY. Isocoumarin derivatives and benzofurans from a sponge-derived *Penicillium* sp. fungus [J]. *J Nat Prod*, 2013, **76** (4): 571-579
- 25 李丹. 两株海洋共附生真菌的次级代谢产物及其生物活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012 [Li D. The secondary metabolites from two marine symbiotic fungi and their ecological effects [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012]
- 26 Maneekarn C, Prasat K, Masahiko I, Amporn R, Morakot T, Yodhathai T. Antimalarial halorosellinic acid from the marine fungus *Halorosellinia oceanica* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, **11** (15): 1965-1969
- 27 Han Z, Mei WL, Zhao YX, Deng YY, Dai HF. A new cytotoxic isocoumarin from endophytic fungus *Penicillium* sp. 091402 of the mangrove plant *Bruguiera sexangula* [J]. *Chem Nat Compd*, 2009, **45**: 805-807
- 28 Hoepfner D, McNamara CW, Lim CS, Studer C, Riedl R, Aust T, McCormack SL, Plouffe DM, Meister S, Schuierer S, Plikat U, Hartmann N, Staedtler F, Cotesta S, Schmitt EK, Petersen F, Supek F, Glynn RJ, Winzler EA. Selective and specific inhibition of the plasmodium falciparum lysyl-tRNA synthetase by the fungal secondary metabolite cladosporin [J]. *Cell Host Microbiol*, 2012, **11** (6): 654-663
- 29 Flewelling AJ, Johnson JA, Gray CA. Antimicrobials from the marine algal endophyte *Penicillium* sp. [J]. *Nat Prod Com*, 2013, **8** (3): 373-374
- 30 李雪虎, 梁剑平, 陆锡宏, 陶蕾. 苯并呋喃类化合物的生物活性及构效关系研究[J]. 亚太传统医药, 2011, **7** (9): 136-139 [Li XH, Liang JP, Lu XH, Tao L. Progress in research on structure-activity relationship of benzofurans [J]. *Asia-Pac Tradit Med*, 2011, **7** (9): 136-139]
- 31 彭晓赞, 梁法亮, 李冬利, 陈玉婵, 陶美华, 章卫民, 赵运林. 茯砖茶中冠突散囊菌的次级代谢产物及其生物活性研究[J]. 中草药, 2013, **44** (14): 1881-1886 [Peng XY, Liang FL, Li DL, Chen YC, Tao MH, Zhang WM, Zhao YL. Secondary metabolites of *Eurotium cristatum* from fu brick tea and their biological activities [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2013, **44** (14): 1881-1886]
- 32 周静. 一种南海珊瑚与一株珊瑚共附生真菌次级代谢产物及斑马鱼鱼毒活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012 [Zhou J. Secondary metabolites from a soft coral and a gorgonian-derived fungus their zebrafish toxicity [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012]
- 33 Fromtling RA, Galgiani JN, Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Bartizal KF, Bartlett MS, Body BA, Frey C, Hall G, Roberts GD. Multicenter evaluation of a broth macrodilution antifungal susceptibility test for yeasts [J]. *Am Soc Microbiol*, 1993, **37** (1): 39-45