

太子参内生真菌草酸青霉中 1 个新的香豆酮类化合物

贾林川, 胡晓峰, 邵 露, 柴海全*, 刘晓晓*

青岛市中医医院 药剂科, 山东 青岛 266071

摘 要: 目的 研究太子参 *Pseudostellaria heterophylla* 内生真菌草酸青霉 *Penicillium oxalicum* 的次级代谢产物。方法 采用正、反相硅胶柱色谱, 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱以及制备薄层色谱 (pTLC) 等色谱技术进行系统分离纯化, 采用质谱 (MS)、核磁共振 (NMR) 等波谱学手段对单体化合物进行结构鉴定。结果 从草酸青霉发酵产物的醋酸乙酯萃取液中分离鉴定了 12 个化合物, 包括 1 个香豆酮类化合物 5,7-二羟基-2-甲基苯并呋喃-3-羧酸 (1)、5 个异香豆素类化合物 (3*R*,4*R*)-(-)-4-hydroxymellein (2)、*O*-methylnellein (3)、acremone G (4)、decarboxycitrinone (5) 和 decarboxyhydroxycitrinone (6)、4 个没药烷型倍半萜类化合物 (7*S*,11*S*)-(+)-12-acetoxysydonic acid (7)、(5*S*)-(+)-11-dehydroxydonic acid (8)、sydonic acid (9) 和 1-hydroxy-boivinianin A (10)、2 个混源萜类化合物 decaturin D (11) 和 decaturin C (12)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为草酸苯并呋喃 A, 化合物 2~6、10 为首次从草酸青霉中分离得到。

关键词: 太子参; 草酸青霉; 内生真菌; 次级代谢产物; 草酸苯并呋喃 A; 香豆酮; 异香豆素; 倍半萜; 混源萜

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2020)22-5681-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.22.003

A new benzofuran from *Penicillium oxalicum*, an endophytic fungus isolated from *Pseudostellaria heterophylla*

JIA Lin-chuan, HU Xiao-feng, SHAO Lu, CHAI Hai-quan, LIU Xiao-xiao

Department of Pharmacy, Traditional Chinese Medical Hospital of Qingdao, Qingdao 266071, China

Abstract: **Objective** To study the secondary metabolites of *Penicillium oxalicum*, an endophytic fungus isolated from the medicinal plant *Pseudostellaria heterophylla*. **Methods** The secondary metabolites were isolated by silica gel, Sephadex LH-20 column chromatographies, and prep-TLC methods. Their structures were elucidated by using various spectroscopic techniques including HRESIMS and NMR spectra. **Results** A benzofuran compound 5,7-dihydroxy-2-methylbenzofuran-3-carboxylic acid (1), five isocoumarins including (3*R*,4*R*)-(-)-4-hydroxymellein (2), *O*-methylnellein (3), acremone G (4), decarboxycitrinone (5) and decarboxyhydroxycitrinone (6), four bisabolane-type sesquiterpenoids including (7*S*,11*S*)-(+)-12-acetoxysydonic acid (7), (5*S*)-(+)-11-dehydroxydonic acid (8), sydonic acid (9) and 1-hydroxy-boivinianin A (10), as well as two meroterpenoid-type alkaloids decaturin D (11) and decaturin C (12) were isolated. **Conclusion** Compound 1 is a new benzofuran compound and named as oxafuranone A, while compounds 2—6 and 10 are characterized from *P. oxalicum* for the first time.

Key words: *Pseudostellaria heterophylla* (Miq) Pax; *Penicillium oxalicum*; endophytic fungus; secondary metabolites; oxafuranone A; benzofuran; isocoumarin; sesquiterpenoids; meroterpenoids

太子参为石竹科植物孩儿参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq) Pax 的干燥块根, 具有益气健脾、生津润肺等功效, 临床上常用于肺燥干咳、自汗口渴、脾虚体倦、食欲不振等症状^[1]。近年来, 已从太子参中分离得到环肽、皂苷、甾醇、氨基酸等多种活性成分, 具有心肌保护、降血糖、免疫调节等

多种药理功能^[2-3]。而与其他药用植物相比, 关于太子参内生真菌及其次级代谢产物的研究较少。蔡巧燕等^[4]从太子参中分离获得 18 株内生真菌, 其中有 6 株菌株发酵产物对不同肿瘤细胞具有显著的抑制作用, 3 株菌株发酵产物具有较好的抗氧化活性。因此, 太子参内生真菌活性次级代谢产物具有深入

收稿日期: 2020-05-09

作者简介: 贾林川 (1986—), 主管药师。E-mail: jia83628435@163.com

*通信作者 柴海全, 主管药师。E-mail: chaihaiquan@163.com

刘晓晓, 主管中药师, E-mail: 15269261998@126.com

发掘的潜力, 从中有望获得结构新颖、活性显著的先导化合物。

本研究从太子参中分离得到一株内生真菌草酸青霉 *Penicillium oxalicum*, 通过静置培养后从其发酵液的醋酸乙酯萃取液中分离得到了 12 个化合物(图 1)。采用现代波谱学方法, 将其分别鉴定为 1 个香豆酮类化合物 5,7-二羟基-2-甲基苯并呋喃-3-羧酸 (5,7-dihydroxy-2-methylbenzofuran-3-carboxylic acid, **1**), 5 个异香豆素类化合物 (3*R*,4*R*)-(-)-4-

hydroxymellein (**2**)、*O*-methyelmellein (**3**)、acremone G (**4**)、decarboxycitrinone (**5**) 和 decarboxyhydroxycitrinone (**6**), 4 个没药烷型倍半萜类化合物 (7*S*,11*S*)-(+)-12-acetoxysydnic acid (**7**)、(*S*)-(+)-11-dehydroxydnic acid (**8**)、sydnic acid (**9**) 和 1-hydroxy-boivinianin A (**10**), 2 个混源萜类化合物 decaturin D (**11**) 和 decaturin C (**12**)。其中, 化合物 **1** 为新化合物, 命名为草酸苯并呋喃酸 A, 化合物 **2**~**6**、**10** 为首次从草酸青霉中分离得到。

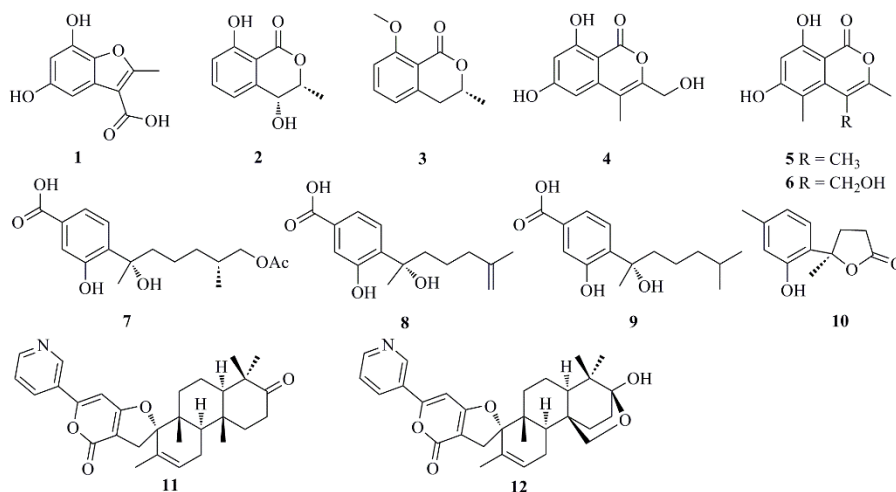


图 1 从草酸青霉中分离鉴定的化合物

Fig. 1 Structures of compounds isolated from *P. oxalicum*

1 仪器与材料

UV-2700 紫外分光光度计 (日本 Shimadzu 公司); Agilent DD2-500 MHz 型核磁共振波谱仪 (美国 Agilent 公司); LTQ Orbitrap XL 混合线性离子阱质谱仪 (美国 Thermo Scientific 公司); Waters Acquity UPLC 超高效液相色谱仪 (配置 PDA 二极管阵列检测器, 美国 Waters 公司); Waters 2545 制备色谱仪 (美国 Waters 公司); 快速纯化制备液相色谱 Flash Isolera one (瑞典 Biotage 公司); R-100 型旋转蒸发器 (瑞士 Buchi 公司); MD 4C NT 型化学隔膜泵 (德国 Vacuubrand 公司); Lobar LiChroprep RP-18 硅胶 (40~63 μm , 德国 Merck 公司); 葡聚糖凝胶 Sephadex LH20 (德国 Merck 公司); 薄层色谱 GF₂₅₄ 硅胶预制板和柱色谱用硅胶 (100~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂)。

太子参于 2016 年 7 月采集自临沂市河东区重沟镇万家湖村 (标本编号 20160722A)。新鲜太子参经表面消毒后, 分离纯化得到供试菌草酸青霉。通过形态学观察与 ITS 序列系统发育分析, 将该菌株鉴定为 *Penicillium oxalicum*。菌种保存于中国海洋大

学海洋生命学院 (编号 *P. oxalicum* TZS-201607)。

2 提取与分离

草酸青霉菌株发酵采用马铃薯葡萄糖肉汤培养基 (PDB, 北京索莱宝公司)。采用 1 L 三角烧瓶发酵培养, 每瓶装液体培养基 300 mL, 置于室温下静置培养 30 d, 分别收集菌丝体和发酵液。发酵液以等体积醋酸乙酯萃取; 菌丝体晾干、粉碎后用 95% 乙醇萃取。2 部分萃取液经减压浓缩后得粗提物 16.6 g。之后经减压柱色谱进行梯度洗脱, 洗脱体系为石油醚-醋酸乙酯 (50:1→1:1) 和二氯甲烷-甲醇 (20:1→5:1)。采用 TLC 和 HPLC 检测并合并相似部分, 共得到 6 个组分 (A~F)。组分 C [0.8 g, 石油醚-醋酸乙酯 (1:1)] 经 C18 反相硅胶柱色谱和 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 分离得到化合物 **11** (5.9 mg) 和 **12** (35.6 mg)。组分 D [1.2 g, 二氯甲烷-甲醇 (20:1)] 依次经 C18 反相硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 分离得到化合物 **2** (10.2 mg)、**3** (8.6 mg)、**7** (2.0 mg)、**8** (6.5 mg)、**9** (8.5 mg) 和 **10** (10.5 mg)。组分 E (2.0 g, 二氯甲烷-甲醇 10:1) 经正相硅胶柱色谱分段 [二氯甲

烷-甲醇 (50:1→10:1)], 分成 2 个亚组分 E1 和 E2。组分 E1 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 分离得到化合物 **1** (5.2 mg) 和 **4** (10.6 mg)。组分 E2 经 GF₂₅₄ 制备薄层色谱 [二氯甲烷-甲醇 (20:1)] 分离得到化合物 **5** (3.5 mg) 和 **6** (6.2 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状物。高分辨质谱给出准分子离子峰 m/z 207.029 8 $[M-H]^+$ ($C_{10}H_7O_5$, 计算值 207.029 3), 推测其分子式为 $C_{10}H_8O_5$, 具有 7 个不饱和度。该化合物 1H -NMR (表 1) 和 HSQC 谱图较为简单, 显示 2 个相互耦合的芳香质子信号 (δ_H 6.85, d, $J = 1.9$ Hz, H-4; δ_H 6.19, d, $J = 1.9$ Hz, H-6) 和 1 个甲基信号 (δ_H 2.64, s, H₃-8)。 ^{13}C NMR 谱图显示共有 10 个碳信号, 包括 1 个羧基碳 (δ_C 166.8)、8 个芳香族或烯族碳 (δ_C 160.0, 154.0, 141.8, 136.3, 129.5, 112.9, 99.3, 97.5) 和 1 个甲基 (δ_C 13.9)。化合物 **1** 的平面结构是通过分析其二维核磁共振谱图确定的。在 HMBC 谱图中 (图 2), H-4 与 C-6 和 C-7a, H-6 与 C-5、C-7 和 C-7a 的相关证明结构中

表 1 化合物 **1** 的氢谱 (500 MHz) 和碳谱 (125 MHz) 数据 (DMSO- d_6)

Table 1 1H -NMR (500 MHz) and ^{13}C -NMR (125 MHz) data of compound **1** in DMSO- d_6

碳位	δ_H	δ_C
2		160.0
3		112.9
3a		129.5
4	6.85 (d, $J = 1.9$ Hz)	99.3
5		154.0
6	6.19 (d, $J = 1.9$ Hz)	97.5
7		141.8
7a		136.3
8	2.64 (s)	13.9
9		166.8

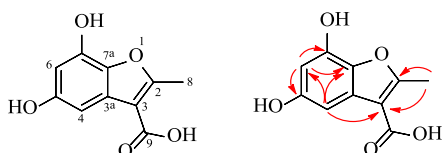


图 2 化合物 **1** 的结构和 HMBC 相关

Fig. 2 Structure and HMBC correlations of compound **1**

C-2 与 C-7a 的化学位移, 推测该结构中存在苯并呋喃单元。经查阅文献, 发现化合物 **1** 的结构与 5-hydroxy-7-methoxy-2-methylbenzofuran-3-carboxylic acid^[5] 非常相似, 唯一不同在于化合物 **1** 的核磁共振谱图中缺少 1 个甲氧基基团。因此, 化合物 **1** 为 5-hydroxy-7-methoxy-2-methylbenzofuran-3-carboxylic acid 的脱甲基化衍生物, 其结构为 5,7-二羟基-2-甲基苯并呋喃-3-羧酸。经文献检索, 化合物 **1** 为新化合物, 命名为草酸苯并呋喃酸 A。

化合物 **2**: 淡黄色油状物。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.56 (1H, dd, $J = 8.6, 7.4$ Hz, H-6), 7.04 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 6.93 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-7), 4.72 (1H, d, $J = 6.1$ Hz, H-3), 4.52 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-4), 1.38 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-9); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 169.4 (C-1), 161.0 (C-8), 142.8 (C-4a), 137.0 (C-6), 119.1 (C-5), 117.2 (C-7), 107.3 (C-8a), 78.8 (C-4), 67.8 (C-3), 16.3 (C-9)。经文献检索, 以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 **2** 为 (3*R*,4*R*)-(-)-4-hydroxymellein。

化合物 **3**: 淡黄色油状物。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.49 (1H, dd, $J = 8.5, 7.5$ Hz, H-6), 7.02 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 6.86 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-7), 4.47 (1H, m, H-3), 3.79 (3H, s, 8-OMe), 2.90 (1H, dd, $J = 16.2, 2.5$ Hz, H-4 α), 2.78 (1H, dd, $J = 16.1, 11.4$ Hz, H-4 β), 1.32 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, 3-Me); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 161.6 (C-1), 160.8 (C-8), 142.6 (C-4a), 134.9 (C-6), 119.6 (C-5), 113.5 (C-8a), 111.6 (C-7), 74.1 (C-3), 56.2 (8-OMe), 35.5 (C-4), 20.7 (3-Me)。经文献检索, 以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **3** 为 *O*-methylnellein。

化合物 **4**: 无色油状物。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.27 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-6), 6.18 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-8), 4.30 (2H, brs, H-11), 2.03 (3H, s, H-12); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 171.1 (C-1), 165.7 (C-7), 163.6 (C-9), 151.5 (C-3), 140.2 (C-5), 110.6 (C-4), 103.5 (C-8), 103.1 (C-6), 96.1 (C-10), 58.4 (C-11), 12.1 (C-12)。经文献检索, 以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **4** 为 acremonone G。

化合物 **5**: 无色油状物。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.76 (1H, s, 8-OH), 10.79 (1H, br s, 6-OH), 6.44 (1H, s, H-7), 2.28 (3H, s, H-13), 2.23 (3H, s, H-12), 2.20 (3H, s, H-11); ^{13}C -NMR (125

MHz, DMSO- d_6) δ : 166.5 (C-1), 164.7 (C-6), 161.6 (C-8), 149.6 (C-3), 139.2 (C-10), 111.5 (C-5), 110.4 (C-4), 101.4 (C-7), 99.3 (C-9), 18.0 (C-12), 17.5 (C-11), 13.8 (C-13)。经文献检索, 以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **5** 为 decarboxycitrinone。

化合物 **6**: 无色油状物。¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.69 (1H, s, 8-OH), 10.83 (1H, brs, 6-OH), 6.46 (1H, s, H-7), 5.20 (1H, t, $J = 4.6$ Hz, H-11 α), 4.47 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-11 β), 2.43 (3H, s, H-13), 2.33 (3H, s, H-12); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 166.4 (C-1), 164.9 (C-6), 161.7 (C-8), 154.2 (C-3), 138.2 (C-10), 114.4 (C-5), 111.6 (C-4), 101.4 (C-7), 99.2 (C-9), 57.1 (C-11), 17.7 (C-12), 11.9 (C-13)。经文献检索, 以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **6** 为 decarboxyhydroxycitrinone。

化合物 **7**: 白色粉末状固体。¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.43 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-4), 7.39 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.28 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 3.86 (1H, dd, $J = 6.8, 10.5$ Hz, H-12 α), 3.71 (1H, dd, $J = 6.0, 10.5$ Hz, H-12 β), 2.00 (1H, m, H-8 α), 1.96 (3H, s, 12-OAc), 1.81 (1H, m, H-8 β), 1.70 (1H, m, H-11), 1.64 (3H, s, H-14), 1.46 (1H, m, H-9 α), 1.33 (1H, m, H-10 α), 1.25 (1H, m, H-9 β), 1.15 (1H, m, H-10 β), 0.83 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-13); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 170.9 (12-OAc), 167.6 (C-15), 157.0 (C-1), 136.6 (C-6), 131.2 (C-3), 127.2 (C-5), 119.9 (C-4), 118.6 (C-2), 78.2 (C-7), 69.4 (C-12), 43.1 (C-8), 34.2 (C-10), 33.1 (C-11), 29.3 (C-12), 21.8 (C-9), 20.6 (12-OAc), 16.9 (C-13)。经文献检索, 以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **7** 为 (7*S*,11*S*)-(+)-12-acetoxysydonic acid。

化合物 **8**: 白色粉末状固体。¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.40 (1H, s, H-2), 7.32 (2H, brs, H-4, 5), 4.63 (1H, m, H-12 α), 4.59 (1H, m, H-12 β), 1.98 (1H, m, H-8 α), 1.91 (2H, brs, H-10), 1.66 (1H, m, H-8 β), 1.59 (3H, s, H-14), 1.51 (3H, s, H-13), 1.42 (1H, m, H-9 α), 1.12 (1H, m, H-9 β); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 167.6 (C-15), 154.6 (C-1), 145.4 (C-11), 137.6 (C-6), 130.7 (C-3), 126.8 (C-5), 119.6 (C-4), 116.8 (C-2), 110.0 (C-12), 74.6 (C-7), 40.8 (C-8), 37.5 (C-10), 28.2 (C-14), 21.9 (C-13), 21.6 (C-9)。经文献检索, 以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化

合物 **8** 为 (*S*)-(+)-11-dehydrosydonic acid。

化合物 **9**: 白色粉末状固体。¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.39 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.34 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-4), 7.30 (1H, s, H-2), 1.98 (1H, m, H-8 α), 1.68 (1H, m, H-8 β), 1.50 (3H, s, H-14), 1.43 (1H, dt, $J = 13.0, 6.6$ Hz, H-11), 1.28 (1H, m, H-9 α), 1.05 (2H, m, H-10), 1.01 (1H, m, H-9 β), 0.77 (1H, d, $J = 6.4$ Hz, H-13), 0.76 (1H, d, $J = 6.4$ Hz, H-12); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 167.3 (C-15), 154.6 (C-1), 137.8 (C-6), 130.3 (C-3), 127.0 (C-5), 119.8 (C-4), 116.8 (C-2), 74.8 (C-7), 41.5 (C-8), 38.8 (C-10), 28.3 (C-14), 27.3 (C-11), 22.6 (C-13), 22.3 (C-12), 21.3 (C-9)。经文献检索, 以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **9** 为 sydonic acid。

化合物 **10**: 无色油状物。¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.05 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 6.64 (1H, s, H-2), 6.58 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-4), 2.60 (1H, m, H-9 α), 2.49 (1H, m, H-8 α), 2.35 (1H, m, H-8 β), 2.35 (1H, m, H-9 β), 2.18 (3H, s, H-12), 1.64 (3H, s, H-11); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 177.0 (C-10), 153.7 (C-1), 138.4 (C-3), 127.9 (C-6), 125.0 (C-5), 119.8 (C-4), 117.2 (C-2), 86.5 (C-7), 34.1 (C-8), 28.9 (C-9), 26.8 (C-11), 21.0 (C-12)。经文献检索, 以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **10** 为 1-hydroxy-boivinianin A。

化合物 **11**: 无色油状物。¹H-NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.07 (1H, s, H-2), 8.68 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-6), 8.23 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-4), 7.54 (1H, dd, $J = 8.0, 4.8$ Hz, H-5), 7.31 (1H, s, H-12), 5.70 (1H, s, H-17), 3.06 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-15 α), 2.89 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-15 β), 2.36 (1H, m, H-26 α), 2.04 (1H, m, H-26 β), 2.04 (1H, m, H-18), 1.89 (1H, m, H-25 α), 1.69 (1H, m, H-19), 1.68 (1H, m, H-30), 1.58 (1H, m, H-21 α), 1.58 (1H, m, H-22), 1.51 (1H, m, H-25 β), 1.51 (1H, m, H-21 β), 1.35 (1H, m, H-23), 1.01 (3H, s, H-33), 0.99 (3H, s, H-29), 0.97 (3H, s, H-32), 0.94 (3H, s, H-31); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 216.3 (C-27), 170.4 (C-9), 160.0 (C-11), 160.0 (C-7), 151.9 (C-6), 147.2 (C-2), 133.5 (C-4), 131.4 (C-16), 128.5 (C-17), 127.7 (C-3), 124.4 (C-5), 101.6 (C-10), 100.4 (C-14), 94.7 (C-12), 54.5 (C-23), 47.0 (C-28), 47.0 (C-19), 40.9 (C-20), 38.7 (C-25), 36.5 (C-24), 34.0 (C-26), 31.5 (C-21), 28.3 (C-15), 26.9 (C-33), 23.1

(C-18), 21.5 (C-32), 19.0 (C-22), 18.5 (C-30), 16.0 (C-31), 15.5 (C-29)。经文献检索, 以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **11** 为 decaturin D。

化合物 **12**: 无色油状物。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.07 (1H, s, H-2), 8.66 (1H, dd, $J = 4.7, 1.1$ Hz, H-6), 8.23 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-4), 7.55 (1H, dd, $J = 7.9, 4.9$ Hz, H-5), 7.29 (1H, s, H-12), 5.68 (1H, brs, H-17), 4.07 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-29 α), 3.73 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-29 β), 3.04 (1H, d, $J = 16.3$ Hz, H-15 α), 2.84 (1H, d, $J = 16.3$ Hz, H-15 β), 2.10 (1H, m, H-26 α), 2.09 (1H, m, H-25 α), 1.99 (1H, m, H-18 α), 1.76 (1H, m, H-18 β), 1.66 (1H, m, H-19), 1.65 (1H, m, H-26 β), 1.65 (1H, m, H-30), 1.53 (1H, m, H-22), 1.52 (1H, m, H-21 α), 1.26 (1H, m, H-21 β), 1.24 (1H, m, H-23), 1.12 (1H, m, H-25 β), 0.91 (3H, s, H-33), 0.87 (3H, s, H-32), 0.83 (3H, s, H-31); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 169.8 (C-9), 159.5 (C-11), 159.4 (C-7), 151.3 (C-6), 146.7 (C-2), 133.0 (C-4), 131.1 (C-16), 128.0 (C-17), 127.1 (C-3), 123.8 (C-5), 101.1 (C-10), 99.5 (C-27), 99.4 (C-14), 94.1 (C-12), 66.2 (C-29), 49.5 (C-23), 41.8 (C-19), 39.9 (C-20), 39.8 (C-28), 34.6 (C-25), 34.3 (C-24), 34.1 (C-21), 29.8 (C-26), 29.3 (C-15), 27.6 (C-33), 22.7 (C-18), 18.6 (C-32), 18.5 (C-22), 17.8 (C-30), 15.2 (C-31)。经文献检索, 以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **12** 为 decaturin C。

4 细胞毒活性测试

采用 MTT 法对分离获得的单体化合物进行细胞毒活性测试。供试肿瘤细胞包括人非小细胞肺癌细胞 A549、人乳腺管癌细胞 BT-549、人宫颈癌细胞 HeLa、人肝癌细胞 HepG2、人乳腺癌细胞 MCF-7 和人髓系白血病单核细胞 THP-1。化合物 **1** 对 HeLa 细胞表现出一定的抑制活性, IC₅₀ 值为 (29.6 $\pm$ 1.1) μ mol/L, 其他化合物未表现出活性(IC₅₀>50 μ mol/L)。

5 讨论

植物内生菌是指其生活史的一定阶段或全部阶段定居于健康植物的各种组织、器官内部以及细胞间隙的微生物^[15]。植物内生菌可以与宿主植物和谐共生, 不会引起宿主植物产生侵染或明显病害, 在促进植物生长发育及在植物抗生物、非生物胁迫中发挥了积极作用^[16]。作为一种新型的、极具潜力的微生物资源, 植物内生菌具有丰富的物种多样性, 目前从几乎所有已知植物中均发现了内生菌的存

在。由于其长期生存在宿主植物体内特殊的生态环境中, 内生菌进化产生了独特的生理和代谢途径, 可编码合成较多的活性次级代谢产物, 已成为发掘新型天然活性物质的重要途径之一^[17]。已有研究表明, 植物内生菌次级代谢产物具有广泛的抑菌、杀虫、抗肿瘤、抗病毒、酶抑制等活性, 表现出显著的药用、农用价值^[17-18]。

本研究以太子参内生真菌草酸青霉为目标菌株, 开展了其发酵液醋酸乙酯组分化学成分研究。共从中分离得到了 12 个单体化合物, 包括 1 个新的香豆酮类化合物、5 个异香豆素类化合物、4 个没药烷型倍半萜类化合物和 2 个 decaturin 型混源萜类化合物。以上研究表明从太子参内生真菌中有望获得结构新颖的代谢产物, 为后续太子参内生真菌的研究提供了参考依据。此外, 本研究中分离获得的单体化合物未表现出显著的细胞毒活性, 因此尚需进行其他靶点的生物活性的筛选, 以期为先导化合物的发现提供化合物模板。

参考文献

- [1] 张春丽, 徐国波, 刘俊, 等. 太子参化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(7): 1132-1135.
- [2] 宋叶, 林东, 梅全喜, 等. 太子参化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国药师, 2019, 22(8): 1506-1510.
- [3] 林泗定, 戴启文, 张鸿程, 等. 太子参化学成分和生物活性研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2010, 19(19): 33-34.
- [4] 蔡巧燕, 林珊, 肖桂清, 等. 太子参内生真菌体外抗肿瘤、抗氧化活性研究[J]. 福建中医药大学学报, 2011, 21(6): 43-45.
- [5] Chen S, Liu Y, Liu Z, *et al.* Isocoumarins and benzofurans from the mangrove endophytic fungus *Talaromyces amestolkiae* possess α -glucosidase inhibitory and antibacterial activities[J]. *RSC Adv*, 2016, 6: 26412.
- [6] Krohn K, Kock I, Elsässer B, *et al.* Bioactive natural products from the endophytic fungus *Ascochyta* sp. from *Melilotus dentatus*—configurational assignment by solid-state CD and TDDFT calculations[J]. *Eur J Org Chem*, 2007, 2007(7): 1123-1129.
- [7] Glauser G, Gindro K, Fringeli J, *et al.* Differential analysis of mycoalexins in confrontation zones of grapevine fungal pathogens by ultrahigh pressure liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry and capillary nuclear magnetic resonance[J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(4): 1127-1134.
- [8] Rukachaisirikul V, Rodglin A, Sukpondma Y, *et al.*

- Phthalide and isocoumarin derivatives produced by an *Acremonium* sp. isolated from a mangrove *Rhizophora apiculata* [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75: 853-858.
- [9] Whyte A C, Gloer J B. Cercophorins A-C: novel antifungal and cytotoxic metabolites from the coprophilous fungus *Cercophora areolata* [J]. *J Nat Prod*, 1996, 59(8): 765-769.
- [10] Tsukada M, Fukai M, Miki K, *et al.* Chemical constituents of a marine fungus, *Arthrinium sacchari* [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(7): 1645-1649.
- [11] Lu Z Y, Zhu H J, Fu P, *et al.* Cytotoxic polyphenols from the marine-derived fungus *Penicillium expansum* [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73: 910-914.
- [12] Hamasaki T, Nagayama K, Hatsuda Y. Two new metabolites, sydonic acid and hydroxysydonic acid from *Aspergillus sydowi* [J]. *Agric Biol Chem*, 1978, 42(1): 37-40.
- [13] Li X D, Li X M, Xu G M, *et al.* Antimicrobial phenolic bisabolanes and related derivatives from *Penicillium aculeatum* SD-321, a deep sea sediment-derived fungus [J]. *J Nat Prod*, 2015, 78(4): 844-849.
- [14] Li C, Gloer J B, Wicklow D T, *et al.* Antiinsectan decaturin and oxalicine analogues from *Penicillium thiersii* [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68(3): 319-322.
- [15] 郭良栋. 内生真菌研究进展 [J]. 菌物系统, 2001, 20(1): 148-152.
- [16] 李盼盼, 袁晓龙, 李金海, 等. 湖北烟草内生真菌生物多样性和种群结构分析 [J]. 微生物学报, 2018, 58(10): 1853-1863.
- [17] 靳 锦, 赵 庆, 张晓梅, 等. 植物内生菌活性代谢产物最新研究进展 [J]. 微生物学杂志, 2018, 38(3): 103-113.
- [18] Strobel G, Daisy B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2003, 67: 491-502.