

## 一株海洋青霉中的新二萜糖酯

王聪<sup>1\*</sup>, 高谕康<sup>1</sup>, 雷福厚<sup>1</sup>, 谭学才<sup>1</sup>, 申利群<sup>1</sup>, 高程海<sup>2</sup>, 易湘茜<sup>2</sup>, 李小燕<sup>1</sup>

1. 广西民族大学化学化工学院, 广西林产化学与工程重点实验室, 广西高校食品安全与药物分析化学重点实验室, 广西南宁 530006
2. 广西中医药大学药学院/海洋药物研究所, 广西南宁 530020

**摘要:** 目的 分离鉴定海洋来源真菌 *Penicillium* sp. H1 的活性天然产物。方法 利用柱色谱等方法对次级代谢产物进行分离、纯化, 运用质谱、核磁共振和比旋光等手段鉴定化合物的结构, 采用药敏纸片法评价化合物的抗菌活性。结果 从海洋真菌 *Penicillium* sp. H1 的发酵产物中分离得到了 5 个化合物, 分别鉴定为炭角菌素 E (1)、烟曲霉素 C (2)、震颤真菌毒素 (3)、penicillide (4) 以及啞南平 A (5)。化合物 1 对香蕉枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* 有中等的抑制活性, 最小抑制浓度 (MIC) 值为 32.0  $\mu\text{g/mL}$ ; 化合物 2 对金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 有抑制活性, MIC 值为 64.0  $\mu\text{g/mL}$ 。结论 化合物 1 为新化合物, 化合物 1 和 2 具有一定的抗菌活性。

**关键词:** 海洋真菌 *Penicillium* sp. H1; 次生代谢产物; 抑菌活性; 炭角菌素 E; 烟曲霉素 C; 啞南平 A

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)11-2518-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.11.002

## A new glycosyl ester isolated from marine-derived *Penicillium* sp.

WANG Cong<sup>1</sup>, GAO Yu-kang<sup>1</sup>, LEI Fu-hou<sup>1</sup>, TAN Xue-cai<sup>1</sup>, SHEN Li-qun<sup>1</sup>, GAO Cheng-hai<sup>2</sup>, Yi Xiang-xi<sup>2</sup>, LI Xiao-yan<sup>1</sup>

1. Guangxi Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products, Key Laboratory of Guangxi Colleges and Universities for Food Safety and Pharmaceutical Analytical Chemistry, School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University for Nationalities, Nanning 530006, China
2. School of Pharmaceutical Sciences/Institutes of Marine Drugs, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530020, China

**Abstract: Objective** To isolate and identify the active natural products of marine-derived *Penicillium* sp. H1. **Methods** The isolations and purifications of secondary metabolites were performed by means of column chromatography over silica gel. And their structures were elucidated through the spectroscopic analysis of MS, NMR, and specific rotations. The bioactivities were assayed by paper diffusion. **Results** From the fermentation broth of marine-derived *Penicillium* sp. H1, five compounds were isolated and identified as xylarinonerin E (1), fumitremorgin C (2), verruculogen (3), penicillide (4), and pyripyropene A (5), respectively. Compound 1 showed moderate antifungal activity against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* with MIC value of 32.0  $\mu\text{mol/mL}$ . Compound 2 displayed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* with MIC value of 64.0  $\mu\text{g/mL}$ . **Conclusion** Compound 1 is a new compound. Compounds 1 and 2 exhibit moderate antimicrobial activities.

**Key words:** marine-derived *Penicillium* sp. H1; secondary metabolite; antimicrobial activity; xylarinonerin E; fumitremorgin C; pyripyropene A

1945 年, Brotzu 从海水样品中分离得到了一株具有抗菌活性的真菌顶头孢霉 *Cephalosporium acremonium*, 对其具有抗菌活性的次级代谢产物进

行了分离鉴定, 为头孢霉素 C, 这是第 1 例海洋真菌来源的抗生素<sup>[1]</sup>。海洋真菌是天然药物先导化合物发现的重要研究方向和资源宝库<sup>[2]</sup>。北部湾地处

收稿日期: 2018-12-30

基金项目: 广西民族大学引进人才科研启动项目 (2017KJQD004); 广西民族大学青年基金项目 (2018MDQN003); 2018 年广西高校中青年教师基础能力提升项目 (2018KY0177); 广西科技基地和人才专项 (桂科 AD18126005); 广西创新驱动发展重大专项子课题 (桂科 AA17204087-21); 国家自然科学基金项目 (21662006); 中国博士后科学基金面上项目 (2016M602920XB); 广西科技部重点资助项目 (AB16890009)

\*通信作者 王聪, 讲师, 主要研究方向为海洋微生物药物化学的研究。E-mail: wangcong@gxun.edu.cn

热带和亚热带,是一个地处越南及我国广西、海南和雷州半岛之间的半封闭大海湾<sup>[3]</sup>,具有丰富的海洋微生物多样性,对其海洋真菌进行研究,可以发现新活性化合物<sup>[4-6]</sup>。到目前为止,鲜有报道来自于北部湾(广西海域)海洋真菌活性次级代谢产物<sup>[7-8]</sup>。为了寻找海洋真菌来源的活性天然产物,本课题组继续对来自广西北部湾海域沉积物来源的真菌 *Penicillium* sp. H1 进行了研究<sup>[9]</sup>,通过改变培养基,从该菌株代谢产物中分离鉴定了 1 个新

化合物炭角菌素 E (xylarinonericin E, **1**) 和 4 个已知化合物: 烟曲霉素 C (fumitremorgin C, **2**)、震颤真菌毒素 (verruculogen, **3**)、penicillide (**4**) 以及啞南平 A (pyripyropene A, **5**), 5 个化合物与原始培养基分离的化合物的结构均不同(图 1)。对化合物进行了抑菌活性的测试,结果显示,化合物 **1** 对香蕉枯萎病菌的最小抑制浓度(MIC)值为 32.0  $\mu\text{g/mL}$ ,化合物 **2** 对金黄色葡萄球菌的 MIC 值为 64.0  $\mu\text{g/mL}$ 。

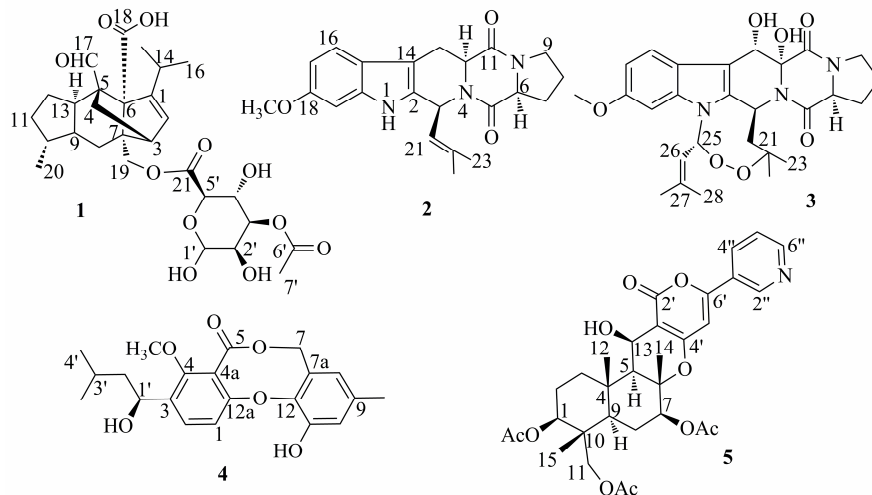


图 1 化合物 1~5 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—5

## 1 仪器与材料

HCB-1300V 洁净工作台(青岛海尔特种电器有限公司);生化培养箱 LRH-500A 型(广东泰宏君科学仪器股份有限公司);高压灭菌锅 YXQ-LS-75SII 型(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);柱色谱及薄层色谱用硅胶 H(青岛海洋化工集团公司);数控超声波清洗器 KQ-500DB 型(昆山市超声仪器有限公司);质谱仪 Mariner API-TOF 型(美国应用生物系统公司);核磁共振仪 Agilent-DD2 500 型(美国 Agilent 公司);高分辨 ESIMS Q-TOF ULTIMA GLOBAL GAA076 LC(美国 Waters 公司);旋光仪 POLAX-L 型(美国 Atago 公司);红外 Nicolet NEXUS 470 型(美国 Nicolet 公司);提取分离用醋酸乙酯、石油醚、二氯甲烷、甲醇等均为工业用化学纯产品。

2017 年 11 月从广西北部湾海域沉积物样品(N21°44'39", E108°35'25")中分离得到 1 株海洋真菌 *Penicillium* sp. H1。综合菌株生长形态以及菌株 ITS 序列比对(GenBank accession No. MK064156),

将该菌株鉴定为青霉属真菌 *Penicillium* sp.。

## 2 方法

### 2.1 菌株发酵

将菌株 *Penicillium* sp. H1 接种在 PDA 培养基中,28  $^{\circ}\text{C}$  培养箱中培养 3 d,将培养好的菌株接种于灭菌后的 200 mL 大米培养液(大米 80 g、NaCl 6.6 g、自来水 120 mL)的锥形瓶(1 000 mL)中,28  $^{\circ}\text{C}$  静置培养 30 d,发酵规模为 10 L。

### 2.2 菌株分子鉴定

菌株基因组 DNA 的提取、扩增以及测序纯化由上海生工生物工程股份有限公司完成。采用通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') / ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'); PCR 扩增采用 30.2  $\mu\text{L}$  反应体系,包括 ddH<sub>2</sub>O 25  $\mu\text{L}$ , PCR Buffer 2.5  $\mu\text{L}$ , dNTP 1  $\mu\text{L}$ , F 和 R 各 0.5  $\mu\text{L}$ , DNA 模板 0.5  $\mu\text{L}$ , 酶 0.2  $\mu\text{L}$ ; PCR 反应条件为 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 4 min, 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 45 s, 55  $^{\circ}\text{C}$  退火 45 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min, 共 30 个循环,最后 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。利用 Blast 软件从 Genbank 数据库中搜索相似菌属的

ITS 基因序列, 用软件 CMEGA 6 构建系统发育树。

### 2.3 次级代谢产物的提取分离

**2.3.1 菌株 *Penicillium* sp. H1 提取物的制备** 将培养物采用醋酸乙酯萃取, 滤过, 减压浓缩后得到浸膏 6.8 g。

**2.3.2 活性产物的分离** 将浸膏进行减压硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯 (10:1、8:1、6:1、4:1、2:1、1:1、1:2) 梯度洗脱, 收集、浓缩后经 TLC 检测合并得到 6 个流分 (Fr. 1~6)。Fr. 3 (1.1 g) 经过反相硅胶柱色谱, 甲醇-水 (10%~100%) 梯度洗脱后, 收集、浓缩后经 TLC 检测合并得到 5 个流分 Fr. 3.1~3.5。Fr. 3.1 (108 mg) 采用甲醇凝胶色谱洗脱, 收集、浓缩后经 TLC 检测合并得到 3 个流分 Fr. 3.1.1~3.1.3。Fr. 3.1.1 (19 mg) 采用硅胶柱色谱以石油醚-醋酸乙酯 (3:1~1:1) 梯度洗脱纯化得到化合物 **1** (2.6 mg)。Fr. 3.2 (67 mg) 采用硅胶柱色谱以石油醚-醋酸乙酯 (3:1~1:1) 梯度洗脱纯化得到化合物 **2** (5.6 mg) 和 **3** (10.3 mg)。Fr. 3.3 (105 mg) 采用硅胶柱色谱以石油醚-醋酸乙酯 (4:1~2:1) 梯度洗脱纯化得到化合物 **4** (6.1 mg) 和 **5** (5.0 mg)。

### 2.4 抑菌活性评价

抑菌活性测试采用药敏纸片法和二倍稀释法<sup>[10-11]</sup>。将金黄色葡萄球菌均匀涂布到 LB 培养基 (酵母浸膏 5 g、胰蛋白胨 10 g、氯化钠 5 g、琼脂 20 g、自来水 1 L) 上, 香蕉枯萎病菌涂布到 YPD 培养基 (葡萄糖 20 g、蛋白胨 20 g、酵母浸膏 10 g、琼脂 20 g、自来水 1 L) 上。吸取样品 10  $\mu$ L 于无菌滤纸片上, 待纸片干燥后将其贴于培养基上, 倒置于 28  $^{\circ}$ C 培养箱中, 培养时间为 12~24 h, 观察有无抑菌圈产

生。致病真菌和细菌的阳性药分别是酮康唑和环丙沙星。对有活性的化合物继续以二倍稀释法测定其 MIC。

## 3 结果与分析

### 3.1 菌株鉴定结果

菌株 H1 的 18 S rDNA 基因的 PCR 扩增序列的长度为 556 bp, 与 NCBI 数据库中的菌株 *Penicillium* sp. (序列号 HM595497.1) 的 18 S rDNA 基因序列同源率为 96%, 亲缘关系最近, 在系统发育树上处于同一分支。故将菌株 H1 (GenBank 登录号 MK064156) 初步鉴定为青霉菌 *Penicillium* sp., 见图 2。进一步观察其形态特征, 菌落呈淡绿色, 不透明, 表面比较干燥, 呈现粉末状, 与青霉属的形态类似。与 *Penicillium* sp. 的形态特征相一致, 故鉴定菌株 H1 为青霉属真菌 *Penicillium* sp.。

### 3.2 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末,  $[\alpha]_D^{25} +84^{\circ}$  ( $c$  0.1, MeOH)。UV  $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$  (nm): 207 (3.63)。HR-ESI-MS 在  $m/z$  573.232 5 给出准分子离子峰  $[M+Na]^+$ , 提示分子式为  $C_{28}H_{38}O_{11}$ 。红外光谱给出羟基 (3 388  $\text{cm}^{-1}$ )、羰基 (1 649  $\text{cm}^{-1}$ ) 等官能团的特征吸收峰。该化合物与化合物 sordaricin 有相似的紫外吸收, 初步判断为同系列二萜类化合物。从以下信息中可以判断出该化合物的母核为 sordaricin<sup>[12-14]</sup>。DEPT-135 可以看出 5 个亚甲基信号  $\delta_C$  71.3 ( $\text{CH}_2$ , C-19), 32.3 ( $\text{CH}_2$ , C-11), 29.2 ( $\text{CH}_2$ , C-4), 29.1 ( $\text{CH}_2$ , C-8), 26.5 ( $\text{CH}_2$ , C-12);  $^1\text{H-NMR}$  给出以下信号: 1 个烯氢信号  $\delta_H$  6.03 (1H, brd,  $J = 3.2$  Hz, H-2); 1 个醛基氢信号  $\delta_H$  9.74 (1H, s, H-17); 3 个甲基信号  $\delta_H$  0.97 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, H-16), 0.92 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, H-15), 0.76 (3H,

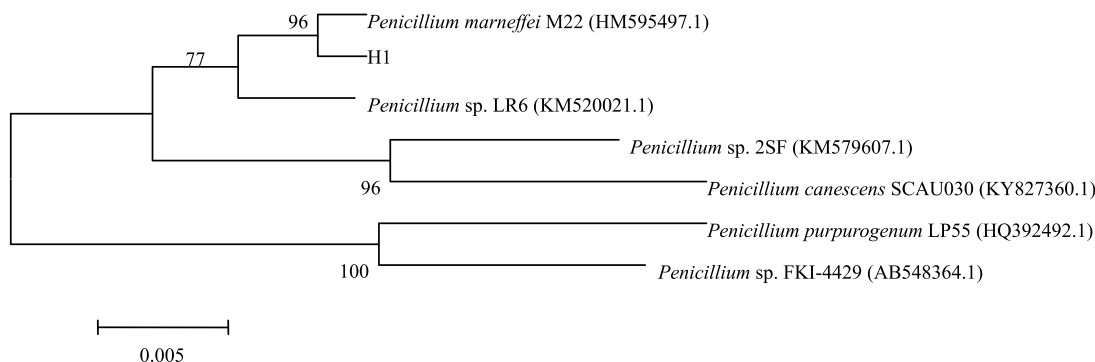


图 2 H1 菌株的系统发育树状关系

Fig. 2 Phylogenetic tree analysis of strain H1

d,  $J = 6.5$  Hz, H-20), 以上给出了 sordaricin 二萜的关键信号。这些 NMR 数据与化合物 sordaricin 很相似<sup>[13]</sup>, 提示其为 sordaricin 的衍生物。化合物 1 的  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 谱图中给出了氢-氢偶合相关 (图 3), 化合物 1 的 HMBC 谱图中出现了关键的氢-碳远程偶合相关信号 (图 3)。ROESY 谱图中给出 H-13、H-20 以及 H-17 的相关性, 确定了该化合物的母核为 sordaricin。还包含了 1 段糖片段信号:  $\delta_{\text{C}}$  94.9 (CH, C-1'), 69.2 (CH, C-2'), 74.0 (CH, C-3'), 66.8 (CH, C-4'), 72.9 (CH, C-5')。 $^1\text{H}$ -NMR (表 1) 给出了相应的糖氢信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.13 (1H, d,  $J = 3.2$  Hz, H-1'), 3.92 (1H, dd,  $J = 3.2, 3.2$  Hz, H-2'), 5.09 (1H, dd,  $J = 9.0, 3.2$  Hz, H-3'), 4.08 (1H, dd,  $J = 9.0, 9.0$  Hz, H-4'), 4.35 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-5')。HMBC 谱图中出现了如下关键的氢-碳远程偶合相关: 即甲基质子 ( $\delta_{\text{H}}$  2.09) 与羰基碳 ( $\delta_{\text{C}}$  171.7) 和 1 个次甲基碳信号 ( $\delta_{\text{C}}$  74.0)、次甲基质子 ( $\delta_{\text{H}}$  5.09) 与羰基碳 ( $\delta_{\text{C}}$  171.7) 的相关信号 (图 3)。sordaricin 二萜骨架和糖片段的连接是根据关键的 HMBC 信号: 亚甲基质子 ( $\delta_{\text{H}}$  4.31) 与羰基碳 ( $\delta_{\text{C}}$  171.0) 的相关信号。根据 H-4'和 H-5'之间大的偶合常数 ( $J = 9.0$  Hz) 以及 H-4'和 H-3'之间大的偶合常数 ( $J = 9.0$  Hz) 推断出 H-3'、H-4'和 H-5'位于糖环的 a 键; 根据 H-3'和 H-2'之间小的偶合常数 ( $J = 3.2$  Hz) 推断出 H-2'位于糖环的 e 键。ROESY 谱中 H-3'和 H-5'相关, 进一步确定 H-3'和 H-5'位于糖环的同面, 且同位于 a 键。因此化合物 1 的结构确定如图 1 所示。经检索为 1 个新化合物, 命名为炭角菌素 E。

化合物 2: 黄色固体,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -36.3^\circ$  ( $c$  0.1,  $\text{CHCl}_3$ )。ESI-MS  $m/z$ : 402.1  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 分子式  $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_3$ ;  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 8.48 (1H, s, H-1), 7.34 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-16), 6.85 (1H, s, H-19), 6.67 (1H, dd,  $J = 8.6, 1.6$  Hz, H-17), 5.99 (1H, d,  $J =$

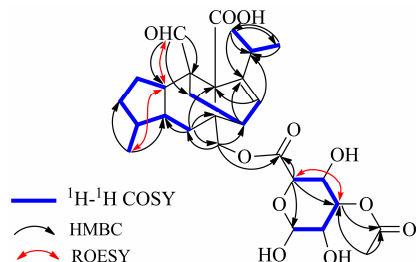


图 3 化合物 1 的主要  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY、HMBC、ROESY 相关  
Fig. 3 Key  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HMBC, and ROESY correlations of compound 1

表 1 化合物 1 的 NMR 数据 (500/125 MHz,  $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$ )

Table 1 NMR data of compound 1 (500/125 MHz, mixture of  $\text{CDCl}_3$  and  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

碳位	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1		148.5, C
2	6.03 (1H, d, $J = 3.2$ Hz)	131.1, CH
3	2.71 (1H, t, $J = 3.8$ Hz)	46.5, CH
4	1.85 (1H, m), 1.27 (1H, m)	29.2, $\text{CH}_2$
5		58.8, C
6		72.9, C
7		65.0, C
8	1.82 (1H, m), 1.74 (1H, m)	29.1, $\text{CH}_2$
9	1.77 (1H, m)	41.6, CH
10	1.86 (1H, m)	31.3, CH
11	2.06 (1H, m), 1.20 (1H, m)	32.3, $\text{CH}_2$
12	1.81 (1H, m), 0.93 (1H, m)	26.5, $\text{CH}_2$
13	2.02 (1H, m)	41.6, CH
14	1.85 (1H, m)	27.9, CH
15	0.92 (3H, d, $J = 6.7$ Hz)	22.4, $\text{CH}_3$
16	0.97 (3H, d, $J = 6.7$ Hz)	21.2, $\text{CH}_3$
17	9.74 (1H, s)	205.9, CH
18		174.4, C
19	4.31 (1H, d, $J = 10.8$ Hz), 4.44 (1H, d, $J = 10.8$ Hz)	71.3, $\text{CH}_2$
20	0.76 (3H, d, $J = 6.5$ Hz)	17.4, $\text{CH}_3$
21		171.0, C
1'	5.13 (1H, d, $J = 3.2$ Hz)	94.9, CH
2'	3.92 (1H, dd, $J = 3.2, 3.2$ Hz)	69.2, CH
3'	5.09 (1H, dd, $J = 9.0, 3.2$ Hz)	74.0, CH
4'	4.08 (1H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz)	66.8, CH
5'	4.35 (1H, d, $J = 9.0$ Hz)	72.9, CH
6'		171.7, C
7'	2.09 (3H, s)	21.0, $\text{CH}_3$

9.6 Hz, H-3), 4.60 (1H, m, H-21), 4.23 (1H, m, H-12), 4.21 (1H, m, H-6), 3.77 (3H, s, 18- $\text{OCH}_3$ ), 3.55 (2H, m, H-9), 3.40 (1H, dd,  $J = 15.5, 4.2$  Hz, H-13), 2.96 (1H, dd,  $J = 15.5, 11.8$  Hz, H-13), 2.33 (1H, m, H-7), 2.07 (1H, m, H-7), 2.05 (1H, m, H-8), 2.03 (1H, m, H-8), 1.97 (3H, s, H-24), 1.62 (3H, s, H-23);  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 171.6 (C, C-5), 168.1 (C, C-11), 157.6 (C, C-18), 138.9 (C, C-20), 135.3 (C, C-22), 133.6 (CH, C-2), 125.2 (CH, C-21), 121.9 (C,

C-15), 119.2 (CH, C-16), 110.0 (CH, C-17), 106.0 (C, C-14), 95.9 (CH, C-19), 60.4 (CH, C-6), 57.9 (CH, C-12), 56.0 (CH<sub>3</sub>, 18-OCH<sub>3</sub>), 52.3 (CH, C-3), 46.4 (CH<sub>2</sub>, C-9), 29.5 (CH<sub>2</sub>, C-7), 25.9 (CH<sub>3</sub>, C-23), 23.9 (CH<sub>2</sub>, C-8), 22.7 (CH, C-13), 18.3 (CH<sub>3</sub>, C-24)。以上数据与文献报道一致<sup>[15]</sup>, 故鉴定化合物 **2** 为 fumitremorgin C。

化合物 **3**: 白色固体,  $[\alpha]_D^{25} -79.8^\circ$  ( $c$  0.1, CHCl<sub>3</sub>)。ESI-MS  $m/z$ : 534.2  $[M+Na]^+$ , 分子式 C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.90 (1H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-16), 6.83 (1H, dd,  $J = 8.7, 2.1$  Hz, H-17), 6.64 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-25), 6.59 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-19), 6.05 (1H, d,  $J = 10.1$  Hz, H-3), 5.66 (1H, s, H-13), 5.04 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-26), 4.48 (1H, m, H-6), 3.84 (3H, s, 18-OCH<sub>3</sub>), 3.65 (2H, m, H-9), 2.50 (1H, m, H-7), 2.10 (2H, m, H-7, H-8), 2.02 (1H, m, H-21), 1.72 (3H, s, H-24), 1.97 (1H, m, H-8), 1.74 (3H, s, H-28), 2.00 (3H, m, H-29), 1.67 (1H, m, H-21), 1.01 (3H, s, H-23); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 170.9 (C, C-11), 166.3 (C, C-5), 156.5 (C, C-18), 143.3 (C, C-27), 136.4 (C, C-20), 131.7 (C, C-2), 121.8 (CH, C-16), 121.1 (C, C-15), 118.6 (CH, C-26), 109.5 (CH, C-17), 105.7 (C, C-14), 94.1 (CH, C-19), 86.0 (CH, C-25), 82.7 (C, C-12), 82.3 (C, C-12), 68.8 (CH, C-13), 58.9 (CH<sub>2</sub>, C-6), 55.9 (CH<sub>3</sub>, 18-OCH<sub>3</sub>), 51.3 (CH<sub>2</sub>, C-9), 49.0 (CH, C-3), 45.5 (CH<sub>2</sub>, C-21), 29.2 (CH<sub>2</sub>, C-7), 27.2 (CH<sub>3</sub>, C-24), 25.8 (CH<sub>3</sub>, C-23), 24.3 (CH<sub>3</sub>, C-29), 22.8 (CH<sub>2</sub>, C-8), 19.0 (CH<sub>3</sub>, C-28)。以上数据与文献报道一致<sup>[16]</sup>, 故鉴定化合物 **3** 为 verruculogen。

化合物 **4**: 无色固体,  $[\alpha]_D^{25} +19^\circ$  ( $c$  0.1, CHCl<sub>3</sub>)。ESI-MS  $m/z$ : 395.2  $[M+Na]^+$ , 分子式 C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.59 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-2), 6.89 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-1), 6.86 (1H, s, H-10), 6.38 (1H, brs, H-8), 5.10 (1H, dd,  $J = 8.6, 3.8$  Hz, H-1'), 5.08 (2H, m, H-7), 3.98 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>), 2.25 (3H, s, 9-CH<sub>3</sub>), 1.80 (1H, m, H-3'), 1.68 (1H, m, H-2'), 1.48 (1H, m, H-2'), 0.99 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz, H-5'), 0.97 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz, H-4'); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 167.4 (C, C-5), 154.7 (C, C-4), 151.5 (C, C-12a), 147.4 (C, C-11), 141.4 (C, C-12), 137.3 (C, C-3), 135.2 (C, C-9), 131.2 (CH, C-2), 125.9 (C, C-7a), 120.9 (CH, C-8), 119.8 (C, C-4a), 117.6 (CH,

C-1), 117.6 (CH, C-10), 69.1 (CH<sub>2</sub>, C-7), 66.9 (CH, C-1'), 62.9 (CH<sub>3</sub>, 4-OCH<sub>3</sub>), 47.8 (CH<sub>2</sub>, C-2'), 25.1 (CH, C-3'), 23.6 (CH<sub>3</sub>, C-5'), 22.0 (CH<sub>3</sub>, C-4'), 21.0 (CH<sub>3</sub>, 9-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[17]</sup>, 故鉴定化合物 **4** 为 penicillide。

化合物 **5**: 无色固体,  $[\alpha]_D^{25} +61^\circ$  ( $c$  0.1, CHCl<sub>3</sub>)。ESI-MS  $m/z$ : 606.3  $[M+Na]^+$ , 分子式 C<sub>31</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>10</sub>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  9.03 (1H, s, H-2''), 8.63 (1H, d,  $J = 4.2$  Hz, H-6''), 8.28 (1H, ddd,  $J = 8.2, 3.5, 1.7$  Hz, H-4''), 7.55 (1H, dd,  $J = 8.0, 4.8$  Hz, H-5''), 6.82 (1H, s, H-5'), 4.98 (1H, m, H-7), 4.97 (1H, m, H-13), 4.80 (1H, dd,  $J = 11.5, 5.0$  Hz, H-1), 3.77 (1H, d,  $J = 11.9$  Hz, H-11), 3.74 (1H, d,  $J = 11.9$  Hz, H-11), 2.15 (1H, m, H-3), 2.16 (3H, s, 7-OCOCH<sub>3</sub>), 2.09 (3H, s, 11-OCOCH<sub>3</sub>), 2.02 (3H, s, 1-OCOCH<sub>3</sub>), 1.90 (1H, m, H-2), 1.84 (1H, m, H-2), 1.80 (1H, m, H-8), 1.74 (3H, s, H-14), 1.64 (1H, m, H-8), 1.61 (1H, m, H-9), 1.48 (3H, s, H-12), 1.46 (1H, m, H-5), 1.27 (1H, m, H-3), 0.91 (3H, s, H-15); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 172.6 (C, 11-OCOCH<sub>3</sub>), 172.5 (C, 7-OCOCH<sub>3</sub>), 172.0 (C, 1-OCOCH<sub>3</sub>), 165.1 (C, C-2'), 164.1 (C, C-4'), 158.2 (C, C-6'), 151.9 (CH, C-6''), 147.4 (CH, C-2''), 135.0 (CH, C-4''), 129.2 (C, C-3''), 125.5 (CH, C-5''), 104.5 (C, C-3'), 101.0 (CH, C-5'), 84.5 (CH, C-6), 79.8 (CH, C-7), 75.3 (CH, C-1), 66.0 (CH<sub>2</sub>, C-11), 60.3 (CH, C-13), 55.5 (CH, C-5), 46.6 (CH, C-9), 41.7 (C, C-10), 39.1 (C, C-4), 37.1 (CH<sub>2</sub>, C-3), 26.1 (CH<sub>2</sub>, C-8), 23.8 (CH<sub>2</sub>, C-2), 21.1 (CH<sub>3</sub>, 7-OCOCH<sub>3</sub>), 21.0 (CH<sub>3</sub>, 1-OCOCH<sub>3</sub>), 20.7 (CH<sub>3</sub>, 11-OCOCH<sub>3</sub>), 17.9 (CH<sub>3</sub>, C-12), 16.8 (CH<sub>3</sub>, C-14), 13.5 (CH<sub>3</sub>, C-15)。以上数据与文献报道一致<sup>[10]</sup>, 故鉴定化合物 **5** 为 pyripyropene A。

### 3.3 抑菌活性测试结果

化合物 **1** 对香蕉枯萎病菌具有中等强度的抑制活性, MIC 为 32.0  $\mu\text{g/mL}$  (阳性药酮康唑的 MIC 为 2.0  $\mu\text{g/mL}$ )。化合物 **2** 对金黄色葡萄球菌有抑制活性, MIC 值为 64.0  $\mu\text{g/mL}$  (阳性药环丙沙星的 MIC 为 8  $\mu\text{g/mL}$ )。

## 4 结论

本实验对海洋真菌 *Penicillium* sp. H1 的次生代谢产物进行了研究, 该菌株在大米培养基条件下主要代谢产生 5 个化合物, 其中化合物 **1** 为新化合物。化合物 **1** 对香蕉枯萎病菌 MIC 为 32.0  $\mu\text{g/mL}$ , 化合

物 2 对金黄色葡萄球菌 MIC 值为 64.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

目前关于广西北部湾来源海洋真菌的活性次级代谢产物的研究主要是菌株分离和鉴定,并未对菌株进行次级代谢产物的研究<sup>[18]</sup>。北部湾地处热带和亚热带,资源丰富,蕴含着有丰富的海洋微生物资源<sup>[3]</sup>,海域沉积物来源的真菌具有多样性、独特性和丰富性,是海洋青霉菌的重要栖息地,是产生结构新颖、活性独特化合物的重要资源来源。目前还处于待开发阶段,关于北部湾海洋真菌来源的抗菌活性化合物的研究报道较少,因此,从北部湾海洋来源的真菌中寻找抗菌活性化合物具有很大的潜力。

#### 参考文献

- [1] Newton G G, Abraham E P. Cephalosporin C, a new antibiotic containing sulphur and D-alpha-amino adipic acid [J]. *Nature*, 1955, 175(4456): 548-548.
- [2] Venter J C, Remington K, Heidelberg J F, et al. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea [J]. *Science*, 2004, 304(5667): 66-74.
- [3] 于清武. 北部湾(广西海域)海洋生物多样性研究现状与对策 [J]. *南方农业学报*, 2014, 45(12): 2293-2296.
- [4] Zhang Y, Zhu T, Fang Y, et al. Carbonarones A and B, new bioactive  $\gamma$ -pyrone and  $\alpha$ -pyridone derivatives from the marine-derived fungus *Aspergillus carbonarius* [J]. *J Antibiot*, 2007, 60(2): 153-157.
- [5] Ren H, Liu W. Nidurufin as a new cell cycle inhibitor from marine-derived fungus *Penicillium flavidorsum* SHK1-27 [J]. *Arch Pharm Res*, 2011, 34(6): 901-905.
- [6] Li Y, Wu C, Liu D, et al. Chartarlactams A-P, phenylspirodrimanones from the sponge-associated fungus *Stachybotrys chartarum* with antihyperlipidemic activities [J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(1): 138-147.
- [7] 高程海, 易湘茜, 方 燕, 等. 柳珊瑚共生细菌 *Bacillus subtilis* 发酵液化学成分研究 [J]. *广西科学*, 2011, 18(3): 222-225.
- [8] 龙 彬, 高程海, 胡丽琴, 等. 柳珊瑚共生菌 *Bacillus methylotrophicus* 发酵液化学成分研究 [J]. *广西科学*, 2014, 21(1): 89-92.
- [9] 王 聪, 刘春娟, 雷福厚, 等. 海洋真菌 *Penicillium* sp. H1 中 1 个新的二萜糖苷类化合物 [J]. *中草药*, 2018, 49(24): 5746-5750.
- [10] 王文玲, 王立平, 王 聪, 等. 珊瑚真菌 *Aspergillus* sp. OUCMDZ-3658 产生的生物碱 [J]. *中国海洋药物*, 2015, 34(6): 1-11.
- [11] 陈玲玲, 朱统汉, 朱国良, 等. 海洋来源真菌 *Penicillium brevicompactum* OUCMDZ-4920 的活性产物研究 [J]. *有机化学*, 2017, 37(10): 2752-2762.
- [12] 王歆竹, 刘 佳, 周德雄, 等. 短指软珊瑚 *Simularia* sp. 内生真菌 Ta31-2 代谢产物研究 [J]. *广西师范大学学报: 自然科学版*, 2014, 32(1): 87-90.
- [13] 周啟辉, 许 丹, 樊成奇, 等. 高纬北极真菌 *Penicillium* sp. C-5 次级代谢产物的研究 [J]. *中国海洋药物*, 2013, 32(2): 26-30.
- [14] Rykachaisirikul V, Buadam S, Phongpaichit S, et al. Amide, cyclohexenone, and cyclohexenone-sordaricin derivatives from the endophytic fungus *Xylaria plebeja* PSU-G30 [J]. *Tetrahedron*, 2013, 69(50): 10711-10717.
- [15] 张柳红, 王嘉健, 洪 葵, 等. 红树林内生真菌 *Aspergillus* sp. 085035 次级代谢产物研究 [J]. *中药材*, 2017, 40(2): 342-346.
- [16] 毛瑞华, 吴文明, 方 伟, 等. 海洋真菌 *Aspergillus fumigatus* 次级代谢产物研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2016, 28(12): 1857-1863.
- [17] Suzuki K, Nozawa K, Udagawa S, et al. Penicillide and dehydroisopenicillide from *Talaromyces derxii* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(6): 2096-2098.
- [18] 张 艳, 蓝桃菊, 廖仕同, 等. 广西北部湾红树植物内生真菌多样性 [J]. *微生物学通报*, 2017, 44(4): 783-794.