

海洋真菌 *Penicillium* sp. HD-1-1 次级代谢产物研究

王 聪, 王玉妃, 徐 辉, 许 睿, 兰建洲, 孔凡栋, 周丽曼*

广西民族大学化学化工学院, 林产化学与工程国家民委重点实验室, 广西林产化学与工程重点实验室, 广西林产化学与工程协同创新中心, 广西高校少数民族医药古方挖掘与开发重点实验室, 广西 南宁 530006

摘 要: **目的** 研究涠洲岛来源的海洋真菌 *Penicillium* sp. HD-1-1 产生的次级代谢产物及其生物活性。**方法** 利用硅胶柱色谱和半制备液相等技术进行化合物的分离纯化, 运用 HRESIMS、NMR 等方法对化合物的结构进行鉴定, 使用 CCK-8 法评估化合物的细胞毒活性。**结果** 从涠洲岛海洋真菌 *Penicillium* sp. HD-1-1 次级代谢产物中分离鉴定了 1 个新的霉酚酸类化合物以及 16 个已知化合物, 分别为 6-(5-甲氧羰基-3-甲基戊-2-烯)-7-羟基-3,5-二甲氧基-4-甲基苯酚-1-酮 (1)、霉酚酸 (2)、甲基麦考酚酸 (3)、6-(5-甲氧羰基-3-甲基戊-2-烯)-3,7-二羟基-5-甲氧基-4-甲基苯酚-1-酮 (4)、6-(5-羧基-3-甲基戊-2-烯)-3,7-二羟基-5-甲氧基-4-甲基苯酚-1-酮 (5)、7-羟基-5-甲氧基-4-甲基-6-(3-甲基-4-氧代戊基)-二氢异苯并呋喃-1-酮 (6)、6-(3-羧基丁酯)-7-羟基-5-甲氧基-4-甲基苯酚-1-酮 (7)、breynivosamide A (8)、伞形香青酰胺 (9)、*N*-(*N'*-苯甲酰基-*S'*-苯丙氨酰基)-*S'*-苯丙氨醇苯甲酸酯 (10)、(3*S*,6*R*)-6-(对-羟苯基)-1,4-二甲基-3,6-二甲硫基哌嗪-2,5-二酮 (11)、(3*R*,6*R*)-6-(对-羟苯基)-1,4-二甲基-3,6-二甲硫基哌嗪-2,5-二酮 (12)、(+)-新海胆灵 A (13)、(3*R*,8*S*)-5,7-二羟基-3-(1-羟乙基)苯酚 (14)、5,7-二甲氧基-4-甲基异苯并呋喃-1(3*H*)-酮 (15)、saccharonol A (16)、6,8-二羟基-3-羟甲基异香豆素 (17)。细胞毒活性结果表明化合物 2 和 3 对人胃癌 AGS 细胞显示出强细胞毒活性, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值分别是 0.69、1.12 μmol/L, 此外化合物 2 对人非小细胞肺癌 NCI-H1581 细胞表现出中等程度的抑制活性, IC₅₀ 值为 17.95 μmol/L, 化合物 3 对人结肠癌 HT29 细胞也显示出中等抑制活性, IC₅₀ 值为 19.30 μmol/L。**结论** 化合物 1 为新的霉酚酸类化合物, 命名为甲氧基霉酚酯。化合物 2 和 3 具有肿瘤细胞毒活性。

关键词: 海洋真菌; 青霉菌 HD-1-1; 霉酚酸衍生物; 肿瘤细胞毒活性; 甲氧基霉酚酯; 霉酚酸; 甲基麦考酚酸

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)07-2142-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.07.002

Study on secondary metabolites of marine-derived *Penicillium* sp. HD-1-1

WANG Cong, WANG Yufei, XU Hui, XU Rui, LAN Jianzhou, KONG Fandong, ZHOU Liman

Key Laboratory of Universities in Guangxi for Excavation and Development of Ancient Ethnomedicinal Recipes, Guangxi Collaborative Innovation Center for Chemistry and Engineering of Forest Products, Guangxi Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products, Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products, State Ethnic Affairs Commission, School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi Minzu University, Nanning 530006, China

Abstract: Objective To study the secondary metabolites and biological activities of marine-derived *Penicillium* sp. HD-1-1 from Weizhou Island. **Methods** The compounds were isolated and purified by silica gel column chromatography and semi-preparative liquid chromatography. The structures of the compounds were identified by HRESIMS, NMR and other methods. The cytotoxicity of compounds was evaluated by CCK-8 method. **Results** A new mycophenolic acid compound and 16 known compounds were isolated and identified from the secondary metabolites of marine fungus *Penicillium* sp. HD-1-1 and identified as: 6-(5-methoxycarbonyl-3-methylpent-2-enyl)-7-hydroxy-3,5-dimethoxy-4-methylphthalan-1-one (1), mycophenolic acid (2), methyl mycophenolic acid (3), 6-(5-methoxycarbonyl-3-methylpent-2-enyl)-3,7-dihydroxy-5-methoxy-4-methylphthalan-1-one (4), 6-(5-carboxy-3-methylpent-2-enyl)-3,7-dihydroxy-5-methoxy-4-methylphthalan-1-one (5), 7-hydroxy-5-methoxy-4-methyl-6-(3-methyl-

收稿日期: 2023-12-14

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (82204276); 广西科技基地与人才专项 (桂科 AD22035018); 国家自然科学基金资助项目 (82360699); 广西高等学校千名中青年骨干教师培育计划; 广西研究生教育创新计划项目 (YCSW2023255); 广西民族大学校级引进人才科研启动项目 (2020KJQD09); 广西民族大学相思湖青年创新团队 (2021RSCXSHQN01)

作者简介: 王 聪, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为海洋药物化学。E-mail: wangcong123206@163.com

***通信作者:** 周丽曼, 讲师, 硕士生导师, 研究方向为天然药物化学。E-mail: zhouliman88@126.com

4-oxopentyl)-phthalan-1-one (6), 6-(3-carboxybutyl)-7-hydroxy-5-methoxy-4-methylphthalan-1-one (7), breynivosamide A (8), anabellamide (9), *N*-(*N'*-benzoyl-*S*^{*}-phenylalaninyl)-*S*^{*}-phenylalaninol benzoate (10), (3*S*,6*R*)-6-(*p*-hydroxybenzyl)-1,4-dimethyl-3,6-bis(methylthio) piperazine-2,5-dione (11), (3*R*,6*R*)-6-(*p*-hydroxybenzyl)-1,4-dimethyl-3,6-bis(methylthio) piperazine-2,5-dione (12), (+)-neoechinulin A (13), (3*R*,8*S*)-5,7-dihydroxy-3-(1-hydroxyethyl)phthalide (14), 5,7-dimethoxy-4-methylisobenzofuran-1(3*H*)-one (15), saccharonol A (16) and 6,8-dihydroxy-3-hydroxymethylisocoumarin (17). The results of cytotoxic activity showed that compounds 2 and 3 showed strong cytotoxic activity against AGS cells, with IC₅₀ values of 0.69 μmol/L and 1.12 μmol/L, respectively. Compound 2 showed moderate inhibitory activity against NCI-H1581 cells with IC₅₀ value of 17.95 μmol/L, and compound 3 also showed moderate inhibitory activity against HT29 cells with IC₅₀ value of 19.30 μmol/L. **Conclusion** Compound 1 is a new mycophenolic acid compound, named methoxy mycophenolate. Compounds 2 and 3 have tumor cytotoxic activities.

Key words: marine fungi; *Penicillium* sp. HD-1-1; mycophenolic acid analogues; tumor cytotoxic activity; methoxy mycophenolate; mycophenolic acid; methyl mycophenolic acid

海洋真菌具备特殊的生态环境(高盐、高压、寡营养等)、强大的基因簇,复杂的遗传背景决定了其在次生代谢产物方面具有高产率的优势,以及具有抗菌、抗炎、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤等生物功能多样性^[1-4],是探索新型生物活性海洋天然产物(MNPs)的重要源泉^[5-6]。

自 1893 年 Bartolomeo Gosio 首次报道霉酚酸(mycophenolic acid, MPA)以来,MPA 及其衍生物因其广泛的生物活性包括抗炎、抗真菌、抗病毒、免疫抑制等受到广泛关注。当前临床实践中,最常用的 2 种 MPA 衍生物是霉酚酸酯(mycophenolate mofetil, MMF)^[7]以及霉酚酸钠(mycophenolate sodium, MPS)。MPA 的特点是经胃肠道吸收很差,而 MMF 的酯化反应显著提高了其生物利用率,在预防器官移植排异领域做出了重要贡献^[8],但易导致消化疾病、血液疾病、癌症和神经系统疾病等。这些毒副作用以及 MPA 在体内的葡萄糖醛酸化作用限制了 MPA 类化合物的临床应用。因此,MPA 衍生物的研究和开发成为当前药物研究的热点,寻找更加有效且低毒的 MPA 类似物作为潜在的药物候选物成为研究人员关注的重点领域。海洋微生物在高盐、高压、低温、寡营养的环境下产生有别于陆生微生物的独特生理代谢途径,进而更有可能产生结构新颖、活性独特的次级代谢产物,为霉酚酸衍生物类药物研究和开发带来新的机遇。Chen 等^[9]从南海深海沉积物来源的细小青霉次级代谢产物中分离得到 3 种新的霉酚酸类似物,Zhang 等^[10]从珊瑚来源的 *Penicillium bialowiezense* 次级代谢产物中分离得到 5 种具有良好免疫抑制活性的新的霉酚酸类似物,显示了海洋天然产物在霉酚酸类似物研究方面的潜在价值。

涠洲岛地处热带和亚热带交界处,是独特的火

山兼海洋地貌,具有十分丰富的微生物类群,是有待开发的微生物资源宝库^[11]。本研究从广西涠洲岛火山口来源的团扇藻样品中分离得到一株青霉 *Penicillium* sp. HD-1-1,通过液态培养从发酵物中分离鉴定了 1 个新的霉酚酸类化合物(1)和 16 种已知的化合物,分别为霉酚酸(mycophenolic acid, 2)、甲基麦考酚酸(methyl mycophenolic acid, 3)、6-(5-甲氧羰基-3-甲基戊-2-烯)-3,7-二羟基-5-甲氧基-4-甲基苯酚-1-酮 [6-(5-methoxycarbonyl-3-methylpent-2-enyl)-3,7-dihydroxy-5-methoxy-4-methylphthalan-1-one, 4]、6-(5-羧基-3-甲基戊-2-烯)-3,7-二羟基-5-甲氧基-4-甲基苯酚-1-酮 [6-(5-carboxy-3-methylpent-2-enyl)-3,7-dihydroxy-5-methoxy-4-methylphthalan-1-one, 5]、7-羟基-5-甲氧基-4-甲基-6-(3-甲基-4-氧代戊基)-二氢异苯并呋喃-1-酮 [7-hydroxy-5-methoxy-4-methyl-6-(3-methyl-4-oxopentyl)-phthalan-1-one, 6]、6-(3-羧基丁酯)-7-羟基-5-甲氧基-4-甲基苯酚-1-酮 [6-(3-carboxybutyl)-7-hydroxy-5-methoxy-4-methylphthalan-1-one, 7]、breynivosamide A (8)、伞形香青酰胺(anabellamide, 9)、*N*-(*N'*-苯甲酰基-*S*^{*}-苯丙氨酰基)-*S*^{*}-苯丙氨醇苯甲酸酯 [*N*-(*N'*-benzoyl-*S*^{*}-phenylalaninyl)-*S*^{*}-phenylalaninol benzoate, 10]、(3*S*,6*R*)-6-(对-羟苯基)-1,4-二甲基-3,6-二甲硫基哌嗪-2,5-二酮 [(3*S*,6*R*)-6-(*p*-hydroxybenzyl)-1,4-dimethyl-3,6-bis(methylthio)piperazine-2,5-dione, 11]、(3*R*,6*R*)-6-(对-羟苯基)-1,4-二甲基-3,6-二甲硫基哌嗪-2,5-二酮 [(3*R*,6*R*)-6-(*p*-hydroxybenzyl)-1,4-dimethyl-3,6-bis(methylthio)piperazine-2,5-dione, 12]、(+)-新海胆灵 A [(+)-neoechinulin A, 13]、(3*R*,8*S*)-5,7-二羟基-3-(1-羟乙基)苯酚 [(3*R*,8*S*)-5,7-dihydroxy-3-(1-hydroxyethyl)phthalide, 14]、5,7-二甲氧基-4-甲基异苯并呋喃-1(3*H*)-酮 [5,7-dimethoxy-4-methylisobenzofuran-1(3*H*)-

one, 15]、saccharonol A (16)、6,8-二羟基-3-羟甲基异香豆素 (6,8-dihydroxy-3-hydroxy-methylisocoumarin, 17)。其结构见图 1。通过 CCK-8 法测试化合物对 5 种肿瘤细胞 (人非小细胞肺癌 A549 细胞、人非小细胞肺癌 NCI-H1581 细胞、人乳腺癌 MCF7 细胞、人胃癌 AGS 细胞、人结直肠癌 HT29 细胞) 的细胞毒活性。结果显示, 化合物 2 和 3 对

于 AGS 细胞显示出强细胞毒活性, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC_{50}) 值分别为 0.69、1.12 $\mu\text{mol/L}$ 。此外, 化合物 2 对 NCI-H1581 细胞显示出一定的抑制活性, 其 IC_{50} 值为 17.95 $\mu\text{mol/L}$, 化合物 3 对 HT29 细胞显示出中等抑制活性, 其 IC_{50} 值为 19.30 $\mu\text{mol/L}$, 丰富了霉酚酸衍生物作为海洋微生物来源天然产物的基础研究。

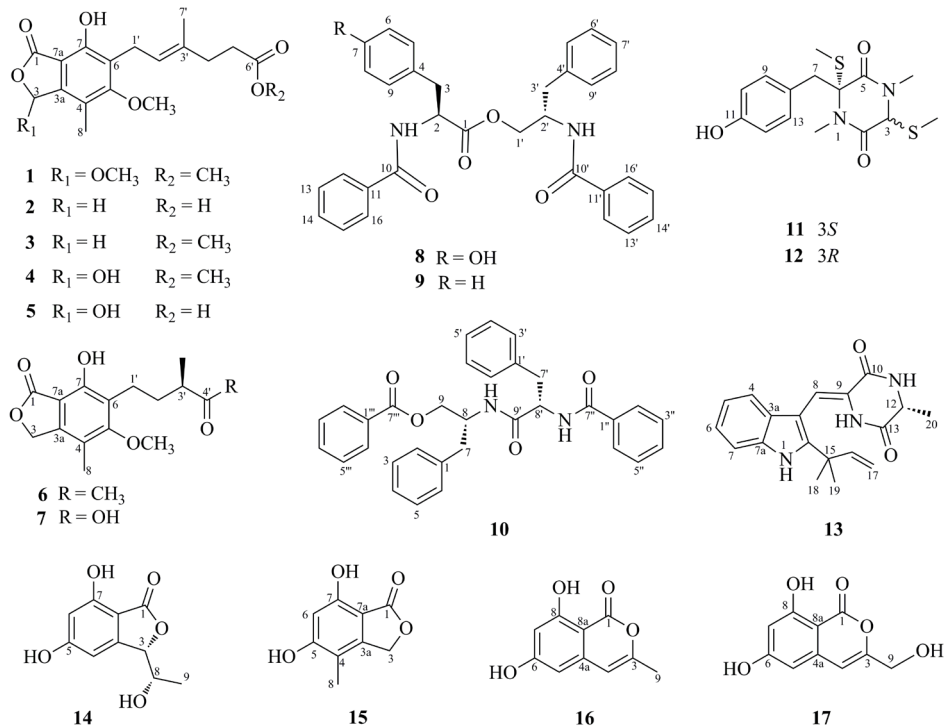


图 1 化合物 1~17 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—17

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

HCB-1300V 型洁净工作台 (青岛海尔特种电器有限公司), LRH-500A 型生化培养箱 (广东泰宏君科学仪器股份有限公司), AD500S-P 型高剪切分散乳化机 (上海昂尼仪器仪表有限公司), LDZX-75KBS 型立式高压蒸汽灭菌器 (上海申安医疗器械厂), ZF-20D 型暗箱式紫外分析仪 (巩义市予华仪器有限责任公司), Agilent 1260 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司), Nacalai tesque COSMOSIL 5C₁₈-MS-II 型 (250 mm×10 mm, 5 μm) 半制备柱, COSMOSIL 5C₁₈-MS-II 型 (250 mm×20 mm, 5 μm) 色谱柱, YMC*GEL ODS-A-HG 反相硅胶 (日本 YMC Group), 细胞级 DMSO (SIGMA 公司), MCO-18AC 二氧化碳细胞培养箱 (PHcbi 公司), 布鲁克 400 MHz 核磁共振波谱仪 (布鲁克公司),

MULTISKAN MK3 多功能酶标仪 (Thermo 公司), CHEETAH 9200 型中压制备色谱 (天津博纳艾杰尔科技有限公司), LC3000 型高效液相色谱仪 (上海楚定分析仪器有限公司), 实验试剂为色谱纯 (苏州速研医药科技有限公司) 或分析纯 (成都市科隆化学品有限公司)。细胞毒活性测定的 5 种肿瘤细胞 (A549 细胞、NCI-H1581 细胞、MCF7 细胞、AGS 细胞、HT29 细胞) 均购自武汉普诺赛公司, 所用阳性对照为盐酸阿霉素 (doxorubicin hydrochloride, Dox, Solarbio Life Sciences 公司)。

1.2 菌株来源及鉴定

菌株 HD-1-1 分离自广西涠洲岛火山口 (N21°1'42.97", E109°7'46.29") 的团扇藻样品中, 由上海生工生物工程股份有限公司完成菌株基因组 DNA 提取、扩增、纯化与测序工作, 在 NCBI 数据库中对 ITS 测序鉴定的结果进行比对, 综合菌株生

长形态与 ITS 测序鉴定结果 (GenBank accession No. OR742886), 将菌株鉴定为 *Penicillium* sp. HD-1-1, 并利用 MEGA (Version 7.0) 绘制菌株的系统进化树。

2 方法

2.1 菌株发酵

在 PDA 培养基上接种 *Penicillium* sp. HD-1-1 置 28 °C 恒温培养箱中培养 4 d, 在超净工作台将长有菌的培养基划成小块投入灭菌后的真菌 2 号液体培养基中, 室温条件下, 静置发酵 30 d, 发酵规模为 300 mL×100 瓶。

真菌 2 号发酵培养基: 味精 0.01 g/mL、磷酸二氢钾 0.000 5 g/mL、海水素 0.033 g/mL、酵母膏 0.003 g/mL、琼脂 0.02 g/mL、麦芽糖 0.02 g/mL、葡萄糖 0.01 g/mL、甘露醇 0.02 g/mL。

2.2 次级代谢产物的提取分离

使用醋酸乙酯对 *Penicillium* sp. HD-1-1 菌株的发酵物进行了 3 次萃取, 经滤过和减压浓缩, 最终获得了 35.6 g 粗提物。用石油醚和 90% 甲醇-水各 3 L 将粗提物充分溶解, 在分液漏斗中混匀、静置过夜。对完全分层的 2 种液体分别进行减压浓缩, 得到石油醚萃取物 4.05 g 和 90% 甲醇-水萃取物 29.24 g。

对 90% 甲醇-水萃取物进行减压硅胶柱色谱, 采用石油醚-醋酸乙酯 (1:0、10:1、9:1、8:1、6:1、4:1、2:1、1:1、0:1) 梯度洗脱, 经过 TLC-HPLC 的分析, 合样后获得了 12 个组分 Fr. 1~12。Fr. 6 (168.3 mg) 通过 HPLC 制备 (C₁₈ 半制备柱, 甲醇-0.1% 三氟乙酸水溶液 65:35, 4 mL/min), 得到了化合物 **6** (t_R =6.7 min, 6 mg) 和 **16** (t_R =7.7 min, 7 mg)。Fr. 8 (137.3 mg) 通过 HPLC (C₁₈ 半制备柱, 甲醇-酸水 70:30, 4 mL/min) 制, 得到化合物 **9** (t_R =18.6 min, 12.3 mg)。Fr. 9 (1.901 1 g) 通过高效液相色谱 (C₁₈ 色谱柱, 甲醇-水 70:30, 10 mL/min), 得到化合物 **7** (t_R =17.2 min, 9 mg)、**10** (t_R =17.8 min, 119 mg)、**15** (t_R =17.9 min, 35 mg)。Fr. 10 (5.643 7 g) 经中压制备色谱, 甲醇-水 (10%→100%) 梯度洗脱, 共分得 12 个组分 Fr. 10.1~10.12。Fr. 10.4 经半制备 HPLC, 乙腈-酸水 (40:60, 4 mL/min) 分离得到化合物 **3** (t_R =14.82 min, 80 mg)。Fr. 10.8 经半制备 HPLC, 乙腈-酸水 (40:60, 4 mL/min) 分离得到化合物 **2** (t_R =14.9 min, 5 mg)。Fr. 11 (7.776 6 g) 经中压制备色谱, 甲醇-水 (20%→100%) 梯度洗脱, 共分得 9 个组分 Fr. 10.1~10.9。Fr. 11.2 经半制备 HPLC, 甲醇-水

(20:80, 体积流量 4 mL/min) 分离得到化合物 **14** (t_R =9.1 min, 3.2 mg)。Fr. 11.4 经半制备 HPLC, 甲醇-酸水 (40:60, 体积流量 4 mL/min) 分离得到化合物 **11** (t_R =25.3 min, 8.1 mg)、**12** (t_R =26.5 min, 14.7 mg)、**17** (t_R =9.6 min, 7.5 mg)。Fr. 11.6 经半制备 HPLC, 甲醇-酸水 (60:40, 体积流量 4 mL/min) 分离得到化合物 **13** (t_R =8.4 min, 250 mg)。Fr. 11.7 经半制备 HPLC, 甲醇-酸水 (60:40, 体积流量 4 mL/min) 分离得到化合物 **4** (t_R =16.5 min, 7.5 mg)。Fr. 11.9 (3.75 g) 经中压制备色谱梯度洗脱, 洗脱体系: 甲醇-水 (20%→100%), 共分得 10 个组分 Fr. 11.9.1~11.9.10。Fr. 11.9.3 经半制备 HPLC, 甲醇-酸水 (55:45, 体积流量 4 mL/min) 分离得到化合物 **5** (t_R =13.2 min, 6.1 mg)。Fr. 11.9.6 经半制备 HPLC, 甲醇-酸水 (60:40, 体积流量 4 mL/min) 分离得到化合物 **8** (t_R =16.1 min, 5.2 mg)、**1** (t_R =20.2 min, 41.3 mg)。

2.3 电子圆二色谱 (electronic circular dichroism, ECD) 计算

根据密度泛函理论 (density functional theory, DFT) 在 Gaussian 09 软件中进行 ECD 计算。首先通过 hyperchem 软件对在 5.0 kcal/mol (1 kcal=4.2 kJ) 内进行了初步构象搜索, 之后在 B3LYP/6-31G (d) 水平上进行几何优化和单点能计算, 获得 Boltzmann 占比在 1% 以上稳定构象。用 SCRF/PCM 方法在相同的 DFT 水平上评价甲醇溶液的溶剂效应并通过 B3LYP/6-31G (d) 中的 TDDFT 计算得到化合物甲醇中的电子激发能和旋转强度 (选择的激发态数目为 30 个)。

2.4 化合物抗肿瘤活性测试

采用 CCK-8 法测定细胞毒活性^[12], 用 DMSO 将化合物溶解为 20 μmol/L 的溶液。用 10 % 胎牛血清培养液将细胞稀释成单细胞悬液, 96 孔板每孔接种 90 μL 5×10⁴ 个/mL 的贴壁细胞, 在 37 °C、5% CO₂ 的条件下预培养 24 h。之后每孔加入 10 μL 样品溶液, 培养 48 h 后, 吸出旧培养基和样品溶液, 每孔各加入 100 μL 稀释 10 倍的 CCK-8 溶液, 在 27 °C、5% CO₂ 条件下培养 4 h (避光操作, 实时观察)。用酶标仪检测 450 nm 处吸光度 (A), 用 Excel 标准化处理原始数据, 按照公式计算初筛抑制率。若抑制率大于 50 % 则说明化合物对肿瘤细胞有较好抑制活性, 后续对其进行 IC₅₀ 测定, 用 GraphPad Prism 8 (版本 8.0.2, GraphPad Software Inc) 计算

IC₅₀, 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。实验中每个浓度设 3 个复孔, 同时设置空白组、药物组和对照组, 以盐酸阿霉素为阳性对照。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{药物}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

3 结果与分析

3.1 菌株鉴定结果

菌株 HD-1-1 的 ITS 序列 PCR 扩增序列长度为 508 bp, 这与 NCBI 数据库中的 *Penicillium* sp.

在系统进化树上是一分支, 进一步观察其形态特征可以发现, 菌落绒状致密边缘为白色, 能生成大量的孢子, 孢子面为蓝绿色, 这与青霉菌的形态特征是一致的。因此, 初步鉴定 HD-1-1 这一菌株是青霉菌 *Penicillium brevicompactum*, 并将其命名为 *Penicillium* sp. HD-1-1 (图 2)。

3.2 化合物结构鉴定

化合物 1: 黄色粉末; $[\alpha]_D^{25} + 37.9$ (c 4.1, CD₃OD);

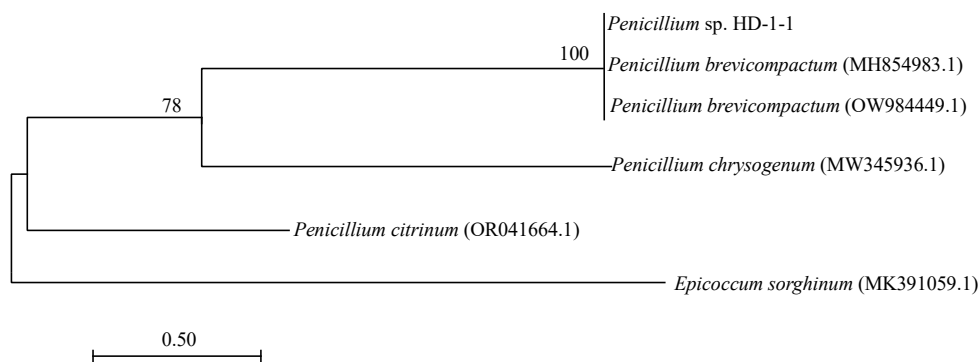


图 2 菌株 *Penicillium* sp. HD-1-1 的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of *Penicillium* sp. HD-1-1

高分辨质谱 HR-ESI-MS 在 m/z 387.141 8 给出准分子离子峰 $[M + Na]^+$ (计算值 387.141 4, C₁₉H₂₄O₇Na); 红外光谱给出羟基 (3 430 cm⁻¹)、酯羰基 (1 742 cm⁻¹)、苯环 (1 622, 1 651 cm⁻¹) 等结构片段信号; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 218 (4.39), 252 (3.87), 307 (3.70), 显示了霉酚酸类化合物的特征吸收, 表明结构中有苯并呋喃酮色团, 与霉酚酸吸收相似为同系列化合物^[13]。¹³C-NMR 及 HSQC 谱表明分子中存在 7 个苯环或双键季碳 (δ_C 165.1, 154.7, 143.4, 135.0, 126.0, 120.4, 108.6), 2 个酯羰基 (δ_C 175.5, 171.0), 3 个亚甲基 ($\delta_{C/H}$ 23.7/3.36, 33.7/2.38, 35.7/2.25), 2 个连氧或双键次甲基 ($\delta_{C/H}$ 104.5/6.31, 124.2/5.21), 3 个甲氧基 ($\delta_{C/H}$ 51.9/3.54, 56.4/3.55, 61.5/3.74), 2 个甲基 ($\delta_{C/H}$ 11.1/2.18, 16.2/ 1.78), 这些数据与 6-(5-carboxy-3-methylpent-2-enyl)-7-hydroxy-3,5-dimethoxy-4-methylphthalan-1-one 的核磁数据非常相似^[10]。与其相比, 多了 1 个甲氧基的信号 ($\delta_{C/H}$ 51.9/3.54), 6'位羰基碳向高场移动表明可能在 6'位发生酯化。HMBC 谱给出关键的 6'-OMe 与 C-6'($\delta_{H/C}$ 3.54/175.5) 的相关信号, 证明了这个甲氧基的位置。此外, HMBC 谱图还给出 5-OMe 与 C-5 相关信号, 3-OMe 与 C-3 相关信号, H-2'与 C-4'相关信号, H-4'与 C-5'相关信号, H-5'与 C-6'相关信号, H-8 与 C-4、C-3a、C-5 相关信号, H-7'与 C-2'、C-3'、

C-4'相关信号, H-1'与 C-5、C-6、C-7 相关信号。¹H-¹H COSY 谱中给出 H-1'/H-2'/H-7'、H-4'/H-5'的相关信号(图 3)。这些信号进一步确证了化合物 1 的结构。ROESY 谱给出 H-1'(δ_H 3.36) 和 H-7'(δ_H 1.78) 的相关信号, 表明 Δ^2 双键构型为 *E*。为了确定化合物 1 的绝对构型, 使用 Gaussian 09 软件对化合物 1 的 ECD 进行了计算, 计算曲线和实测 ECD 曲线具有较好拟合(图 4), 表明化合物 1 的 C-3 位绝对构型为 *S* 型, 经结构检索确认为新化合物, 命名为甲氧基霉酚酸酯。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据见表 1。

化合物 2: 白色粉末; ESI-MS m/z 343.1 $[M + Na]^+$, 分子式 C₁₇H₂₀O₆; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 5.25 (1H, t, J = 6.9 Hz, H-2'), 5.22 (2H, s, H-3), 3.76 (3H, s, 5-OMe), 3.38 (2H, d, J = 6.9 Hz, H-1'), 2.36 (2H, t, J = 7.2 Hz, H-5'), 2.26 (2H, t, J = 7.6 Hz,

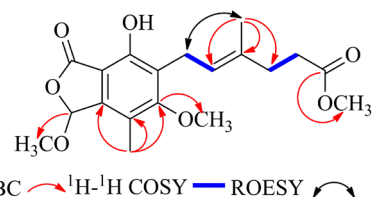


图 3 化合物 1 的主要 ¹H-¹H COSY、HMBC 和 ROESY 相关性

Fig. 3 Key ¹H-¹H COSY, HMBC and ROESY correlations of compound 1

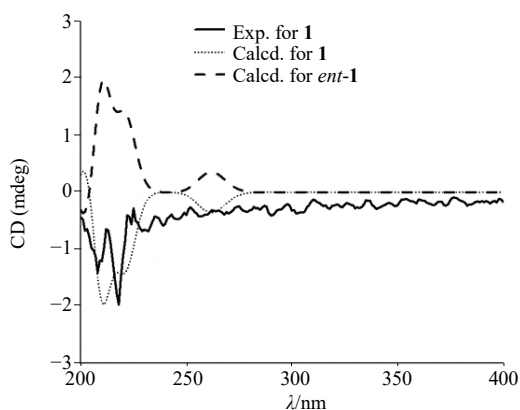


图 4 化合物 1 的实测和计算 ECD 谱图

Fig. 4 Experimental and calculated ECD spectra of compound 1

表 1 化合物 1 的 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) 和 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) 数据

Table 1 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) and $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) data of compound 1

碳位	δ_{H}	δ_{C}
1		171.0, C
3	6.31 (1H, s)	104.5, CH
3a		143.4, C
4		120.4, C
5		165.1, C
6		126.0, C
7		154.7, C
7a		108.6, C
8	2.18 (3H, s)	11.1, CH_3
3-OMe	3.55 (3H, s)	56.4, CH_3
5-OMe	3.74 (3H, s)	61.5, CH_3
1'	3.36 (2H, brd, $J = 7.0$ Hz)	23.7, CH_2
2'	5.21 (1H, t, $J = 7.0$ Hz)	124.2, CH
3'		135.0, C
4'	2.25 (2H, t, $J = 7.5$ Hz)	35.7, CH_2
5'	2.38 (2H, t, $J = 7.6$ Hz)	33.7, CH_2
6'		175.5, C
7'	1.78 (3H, s)	16.2, CH_3
6'-OMe	3.54 (3H, s)	51.9, CH_3

H-4'), 2.14 (3H, s, H-8), 1.81 (3H, s, H-7'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 177.3 (C, C-6'), 173.8 (C, C-1), 164.8 (C, C-5), 154.7 (C, C-7), 146.6 (C, C-3a), 135.0 (C, C-3'), 124.4 (CH, C-2'), 123.6 (C, C-6), 117.8 (C, C-4), 107.7 (C, C-7a), 70.8 (CH_2 , C-3), 61.6 (CH_3 , 5-OMe), 35.8 (CH_2 , C-4'), 33.8 (CH_2 , C-5'), 23.6 (CH_2 , C-1'), 16.3 (CH_3 , C-7'), 11.4 (CH_3 , C-8)。

该化合物的数据与文献报道的一致^[14], 故鉴定化合物 2 为霉酚酸。

化合物 3: 褐色粉末; ESI-MS m/z 357.1 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 分子式 $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_6$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ : 5.23 (3H, s, H-3, 2'), 3.75 (3H, s, 5-OMe), 3.56 (3H, s, 6'-OMe), 3.37 (2H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1'), 2.39 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, H-5'), 2.26 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-4'), 2.14 (3H, s, H-8), 1.80 (3H, s, H-7'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 175.6 (C, C-6'), 173.8 (C, C-1), 164.8 (C, C-7), 154.8 (C, C-5), 146.6 (C, C-4), 134.8 (C, C-3'), 124.6 (CH, C-2'), 123.6 (C, C-7a), 117.8 (C, C-6), 107.7 (C, C-3a), 70.8 (CH_2 , C-3), 61.5 (CH_3 , 5-OMe), 52.0 (CH_3 , 6'-OMe), 35.7 (CH_2 , C-4'), 33.7 (CH_2 , C-5'), 23.6 (CH_2 , C-1'), 16.2 (CH_3 , C-7'), 11.4 (CH_3 , C-8)。该化合物的数据与文献报道的一致^[15], 故鉴定化合物 3 为甲基麦考酚酸。

化合物 4: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -81.6$ (c 0.75, CD_3OD); ESI-MS m/z 373.1 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 分子式 $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_7$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.54 (1H, s, H-3), 5.23 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2'), 3.76 (3H, s, 5-OMe), 3.57 (3H, s, 6'-OMe), 3.39 (2H, d, $J = 6.7$ Hz, H-1'), 2.39 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-5'), 2.27 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-4'), 2.25 (3H, s, H-8), 1.80 (3H, s, H-7'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 175.6 (C, C-6'), 171.6 (C, C-1), 165.2 (C, C-5), 154.3 (C, C-7), 145.8 (C, C-3a), 135.0 (C, C-3'), 125.5 (C, C-6), 124.3 (CH, C-2'), 120.4 (C, C-4), 108.7 (C, C-7a), 99.6 (CH, C-3), 61.5 (CH_3 , 5-OMe), 51.9 (CH_3 , 6'-OMe), 35.7 (CH_2 , C-4'), 33.7 (CH_2 , C-5'), 23.7 (CH_2 , C-1'), 16.2 (CH_3 , C-7'), 11.1 (CH_3 , C-8)。该化合物的数据与文献报道的一致^[10], 故鉴定化合物 4 为 6-(5-甲氧羰基-3-甲基戊-2-烯)-3,7-二羟基-5-甲氧基-4-甲基苯酚-1-酮。

化合物 5: 棕色粉末; ESI-MS m/z 359.2 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 分子式 $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_7$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.60 (1H, brs, H-3), 5.25 (1H, t, $J = 6.3$ Hz, H-2'), 3.76 (3H, s, 5-OMe), 3.40 (2H, d, $J = 6.9$ Hz, H-1'), 2.28~2.38 (4H, m, H-4', 5'), 2.25 (3H, s, H-8), 1.81 (3H, s, H-7'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 179.5 (C, C-6'), 171.7 (C, C-1), 165.2 (C, C-5), 154.5 (C, C-7), 145.7 (C, C-3a), 135.2 (C, C-3'), 125.5 (C, C-6), 124.1 (CH, C-2'), 120.3 (C, C-4), 108.8 (C, C-7a), 100.9 (CH, C-3), 61.5 (C, 5-OMe), 35.8 (CH_2 , C-4'), 33.9 (CH_2 , C-5'), 23.7 (CH_2 , C-1'), 16.3 (CH_3 , C-7'),

11.1 (CH₃, C-8)。该化合物的数据与文献报道的一致^[16], 故鉴定化合物 **5** 为 6-(5-羧基-3-甲基戊-2-烯)-3,7-二羟基-5-甲氧基-4-甲基苯酚-1-酮。

化合物 **6**: 棕色粉末; $[\alpha]_D^{25}$ -68.0 (c 0.90, CD₃OD); ESI-MS m/z 607.3 [2M+Na]⁺, 分子式 C₁₆H₂₀O₅; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.24 (2H, s, H-3), 3.78 (3H, s, 5-OMe), 2.65 (2H, m, H-1'), 2.60 (1H, m, H-3'), 2.18 (3H, s, H-8), 2.15 (3H, s, H-5'), 1.91 (1H, m, H-2'), 1.58 (1H, m, H-2'), 1.13 (3H, d, J = 7.6 Hz, 3'-CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 215.6 (C, C-4'), 173.7 (C, C-1), 164.9 (C, C-5), 154.7 (C, C-3a), 146.8 (C, C-7), 123.9 (C, C-4), 117.9 (C, C-6), 107.7 (C, C-1a), 70.8 (CH₂, C-3), 61.6 (CH₃, 5-OMe), 47.9 (CH, C-3'), 33.4 (CH₂, C-2'), 28.2 (CH₃, 4'-CH₃), 22.2 (CH₂, C-1'), 16.7 (CH₃, 3'-CH₃), 11.4 (CH₃, C-8)。该化合物的数据与文献报道的一致^[17], 故鉴定化合物 **6** 为 7-羟基-5-甲氧基-4-甲基-6-(3-甲基-4-氧代戊基)-二氢异苯并呋喃-1-酮。

化合物 **7**: 白色粉末; $[\alpha]_D^{25}$ -8.9 (c 0.90, CD₃OD); ESI-MS m/z 611.3 [2M+Na]⁺, 分子式 C₁₅H₁₈O₆; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.25 (2H, s, H-3), 3.79 (3H, s, 5-OMe), 2.71 (2H, m, H-1'), 2.45 (1H, m, H-3'), 2.15 (3H, s, H-8), 1.88 (1H, m, H-2'), 1.65 (1H, m, H-2'), 1.21 (3H, d, J = 7.0 Hz, H-5'); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 180.6 (C, C-4'), 173.8 (C, C-1), 164.9 (C, C-5), 154.8 (C, C-7), 146.8 (C, C-3a), 124.0 (C, C-6), 117.9 (C, C-4), 107.7 (C, C-7a), 70.8 (CH₂, C-3), 61.6 (CH₃, 5-OMe), 40.7 (CH, C-3'), 34.5 (CH₂, C-2'), 22.4 (CH₂, C-1'), 17.5 (CH₃, C-5'), 11.4 (CH₃, C-8)。该化合物的数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **7** 为 6-(3-羧基丁酯)-7-羟基-5-甲氧基-4-甲基苯酚-1-酮。

化合物 **8**: 红棕色粉末; $[\alpha]_D^{25}$ -28.4 (c 0.5, CD₃OD); ESI-MS m/z 545.3 [M+Na]⁺, 分子式 C₃₂H₃₀O₅N₂; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.71 (2H, d, J = 7.2 Hz, H-12, 16), 7.66 (2H, d, J = 7.1 Hz, H-12', 16'), 7.51 (1H, m, H-14), 7.47 (1H, m, H-14'), 7.40 (2H, t, J = 7.8 Hz, H-13, 15), 7.36 (2H, t, J = 7.7 Hz, H-13', 15'), 7.26 (2H, m, H-6', 8'), 7.22 (2H, m, H-5', 9'), 7.18 (2H, m, H-7'), 7.07 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5), 7.07 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-9), 6.70 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-6), 6.70 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-8), 4.73 (1H, dd, J = 9.2, 6.1 Hz, H-2), 4.56 (1H, m, H-2'), 4.40

(1H, dd, J = 11.3, 4.3 Hz, H-1'), 4.12 (1H, dd, J = 11.2, 5.9 Hz, H-1'), 3.18 (1H, dd, J = 14.0, 6.1 Hz, H-3), 3.04 (1H, dd, J = 13.9, 9.1 Hz, H-3), 2.94 (1H, dd, J = 13.8, 6.6 Hz, H-3'), 2.88 (1H, dd, J = 13.7, 8.3 Hz, H-3'); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 173.3 (C, C-1), 170.4 (C, C-10), 170.3 (C, C-10'), 157.4 (C, C-7), 139.1 (C, C-4'), 135.6 (C, C-11'), 135.0 (C, C-11), 132.9 (CH, C-14), 132.6 (CH, C-14'), 131.2 (CH, C-5), 130.3 (CH, C-9), 129.5 (CH, C-5', 9'), 129.5 (CH, C-13, 15), 129.5 (CH, C-6', 8'), 129.5 (CH, C-13', 15'), 129.1 (C, C-4), 128.5 (CH, C-12, 16), 128.4 (CH, C-12', 16'), 127.6 (CH, C-7'), 116.3 (CH, C-6), 116.3 (CH, C-8), 66.7 (CH₂, C-1'), 56.6 (CH, C-2), 52.0 (CH, C-2'), 38.0 (CH₂, C-3'), 37.2 (CH₂, C-3)。该化合物的数据与文献报道的一致^[18], 故鉴定化合物 **8** 为 breynivosamide A。

化合物 **9**: 橙红色粉末; $[\alpha]_D^{25}$ -26.9 (c 1.23, CD₃OD); ESI-MS m/z 1035.5 [2M+Na]⁺, 分子式 C₃₂H₃₀N₂O₄; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.88 (1H, d, J = 7.6 Hz, N-Hb), 8.35 (1H, d, J = 8.3 Hz, N-Ha), 7.76 (2H, dd, J = 15.3, 7.4 Hz, H-12', 16'), 7.76 (2H, dd, J = 15.3, 7.4 Hz, H-12, 16), 7.51 (1H, m, H-14), 7.50 (1H, m, H-14'), 7.42 (2H, m, H-13, 15), 7.40 (2H, m, H-13', 15'), 7.14~7.23 (5H, m, H-5~9), 7.21~7.26 (5H, m, H-5'~9'), 4.66 (1H, m, H-2'), 4.44 (1H, m, H-2), 4.19 (1H, m, H-1b), 4.19 (1H, m, H-1a), 3.17 (1H, m, H-3'b), 3.06 (1H, m, H-3'a), 2.86 (1H, m, H-3b), 2.86 (1H, m, H-3a); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 171.6 (C, C-1), 166.7 (C, C-10'), 166.2 (C, C-10), 138.3 (C, C-4), 137.9 (C, C-4'), 134.5 (C, C-11), 133.6 (C, C-11'), 131.6 (CH, C-14), 131.2 (CH, C-14'), 129.1 (CH, C-5, 9), 129.0 (CH, C-5', 9'), 128.3 (CH, C-13, 15), 128.3 (CH, C-13', 15'), 128.2 (CH, C-6', 8'), 128.2 (CH, C-6, 8), 127.4 (CH, C-7'), 127.2 (CH, C-12', 16'), 126.5 (CH, C-12, 16), 126.2 (CH, C-7), 65.5 (CH₂, C-1'), 54.5 (CH, C-2'), 49.9 (CH, C-2), 36.3 (CH₂, C-3'), 35.9 (CH₂, C-3)。该化合物的数据与文献报道的一致^[19], 故鉴定化合物 **9** 为 伞形香青酰胺。

化合物 **10**: 白色粉末; ESI-MS m/z 529.3 [M+Na]⁺, 分子式 C₃₂H₃₀N₂O₄, ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.66~7.70 (4H, m, H-2'', 2''', 6'', 6'''), 7.18~7.41 (10H, m, H-2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6, 6'),

7.35~7.52 (6H, m, H-3'', 3''', 4'', 4''', 5'', 5'''), 4.80 (1H, dd, $J = 9.5, 5.8$ Hz, H-8'), 4.57 (1H, m, H-8), 4.41 (1H, dd, $J = 11.5, 4.5$ Hz, H-9 α), 4.14 (1H, dd, $J = 11.4, 6.4$ Hz, H-9 β), 3.28 (1H, m, H-7' α), 3.12 (1H, dd, $J = 13.8, 9.0$ Hz, H-7' β), 2.94 (1H, dd, $J = 13.7, 6.6$ Hz, H-7 α), 2.88 (1H, dd, $J = 13.7, 8.3$ Hz, H-7 β); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 173.1 (C, C-9'), 170.4 (C, C-7'''), 170.3 (C, C-7'''), 139.1 (C, C-1), 138.5 (C, C-1'), 135.6 (C, C-1''), 135.0 (C, C-1'''), 132.9 (C, C-4'''), 132.6 (CH, C-4''), 130.3 (CH, C-2', 6'), 130.2 (CH, C-2, 6), 129.6 (CH, C-2''', 6'''), 129.5 (CH, C-3, 5), 129.5 (CH, C-3'', 5''), 129.5 (CH, C-3''', 5'''), 128.5 (CH, C-4'), 128.4 (CH, C-2'', 6''), 127.9 (CH, C-3', 5'), 127.6 (CH, C-4), 66.8 (CH₂, C-9), 56.3 (CH₂, C-8'), 51.9 (CH₂, C-8), 38.0 (CH₂, C-7'), 37.8 (CH₂, C-7)。该化合物的数据与文献报道的一致^[20], 故鉴定化合物 **10** 为 *N*-(*N'*-苯甲酰基-*S**-苯丙氨酰基)-*S**-苯丙氨醇苯甲酸酯。

化合物 **11**: 无色油状物; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +17.5$ (c 0.80, CD_3OD); ESI-MS m/z 703.3 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.98 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-9), 6.98 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-13), 6.68 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-10), 6.68 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-12), 3.49 (1H, d, $J = 14.2$ Hz, H-7a), 3.23 (3H, s, 1-NMe), 3.14 (1H, d, $J = 14.3$ Hz, H-7b), 3.02 (3H, s, 4-NMe), 1.94 (3H, s, 6-SMe), 1.58 (3H, s, 3-SMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 167.1 (C, C-2), 166.4 (C, C-5), 158.2 (C, C-11), 131.7 (CH, C-9), 126.0 (CH, C-13), 116.3 (C, C-8), 116.3 (CH, C-10), 116.3 (CH, C-12), 76.8 (C, C-6), 65.9 (CH, C-3), 42.8 (CH₂, C-7a), 33.8 (CH₃, 4-NMe), 30.9 (CH₃, 1-NMe), 16.3 (CH₃, 3-SMe), 13.5 (CH₃, 6-SMe)。该化合物的数据与文献报道的一致^[21], 故化合物 **11** 鉴定为 (3*S*,6*R*)-6-(对-羟苯基)-1,4-二甲基-3,6-二甲硫基哌嗪-2,5-二酮。

化合物 **12**: 无色油状物; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -24.4$ (c 1.20, CD_3OD); ESI-MS m/z 703.2 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.98 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-9), 6.98 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-13), 6.68 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-10), 6.68 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-12), 3.49 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-7a), 3.23 (3H, s, 1-NMe), 3.15 (1H, d, $J = 3.1$ Hz, H-7b), 3.02 (3H, s, 4-NMe), 1.94 (3H, s, 6-SMe), 1.58 (3H, s,

3-SMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 167.0 (C, C-2), 166.5 (C, C-5), 158.3 (C, C-11), 132.5 (CH, C-9), 132.5 (CH, C-13), 126.4 (C, C-8), 116.7 (CH, C-10), 116.7 (CH, C-12), 77.9 (C, C-6), 66.5 (CH, C-3), 41.3 (CH₂, C-7a), 33.6 (CH₃, 4-NMe), 31.2 (CH₃, 1-NMe), 13.7 (CH₃, 3-SMe), 12.4 (CH₃, 6-SMe)。该化合物的数据与文献报道的一致^[21], 故鉴定化合物 **12** 为 (3*R*,6*R*)-6-(对-羟苯基)-1,4-二甲基-3,6-二甲硫基哌嗪-2,5-二酮。

化合物 **13**: 淡黄色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -3.48$ (c 0.5, CD_3OD); ESI-MS m/z 346.2 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.42 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-4), 7.25 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-7), 7.21 (1H, s, H-8), 7.12 (1H, dt, $J = 1.1, 7.2$ Hz, H-5), 7.07 (1H, dt, $J = 1.2, 8.1$ Hz, H-6), 6.10 (1H, dd, $J = 10.7, 17.5$ Hz, H-16), 5.12 (1H, dd, $J = 1.0, 4.0$ Hz, H-17a), 5.08 (1H, dd, $J = 1.0, 11.0$ Hz, H-17b), 4.22 (1H, dd, $J = 7.0, 14.0$ Hz, H-12), 1.55 (3H, m, H-18), 1.54 (3H, m, H-19), 1.52 (3H, s, H-20); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 168.7 (C, C-10), 162.3 (C, C-13), 146.2 (CH, C-16), 146.0 (C, C-2), 136.8 (C, C-7a), 127.3 (C, C-3a), 124.7 (C, C-9), 122.5 (CH, C-6), 121.2 (CH, C-5), 119.9 (CH, C-4), 114.4 (CH, C-8), 112.7 (CH, C-7), 112.6 (CH₂, C-17), 104.3 (C, C-3), 52.6 (CH, C-12), 40.4 (C, C-15), 28.2 (CH₃, C-18), 28.1 (CH₃, C-19), 20.7 (CH₃, C-20)。该化合物的数据与文献报道的一致^[22], 故鉴定化合物 **13** 为 (+)-新海胆灵 A。

化合物 **14**: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -24.7$ (c 0.32, CD_3OD); ESI-MS m/z 233.1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_5$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.47 (1H, s, H-4), 6.31 (1H, s, H-6), 5.22 (1H, s, H-3), 3.98 (1H, s, H-8), 1.16 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-9); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 173.4 (C, C-1), 167.1 (C, C-5), 160.4 (C, C-7), 153.5 (C, C-3a), 105.7 (C, C-7a), 104.3 (CH, C-6), 103.3 (CH, C-4), 85.8 (CH, C-3), 69.9 (CH, C-8), 17.8 (CH₃, C-9)。该化合物的数据与文献报道的一致^[23], 故鉴定化合物 **14** 为 (3*R*,8*S*)-5,7-二羟基-3-(1-羟乙基)苯酚。

化合物 **15**: 白色粉末; ESI-MS m/z 383.1 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 10.28 (2H, s, 5, 7-OH), 6.41 (1H, s, H-6), 5.09 (2H, s, H-3), 1.90 (3H, s, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz,

CD₃OD) δ : 169.1 (C, C-1), 162.0 (C, C-5), 156.0 (C, C-7), 149.3 (C, C-3a), 108.6 (C, C-4), 102.2 (C, C-7a), 102.1 (CH, C-6), 67.7 (CH₂, C-3), 10.2 (CH₃, C-8)。该化合物的数据与文献报道的一致^[24], 故鉴定化合物 **15** 为 5,7-二甲氧基-4-甲基异苯并呋喃-1(3*H*)-酮。

化合物 **16**: 黄色粉末; ESI-MS m/z 407.1 [2M+Na]⁺, 分子式 C₁₀H₈O₄; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.32 (1H, s, H-4), 6.30 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-5), 6.28 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-7), 2.23 (3H, s, H-9); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 167.9 (C, C-1), 167.3 (C, C-3), 164.9 (CH, C-4), 155.6 (C, C-4a), 141.5 (CH, C-5), 105.5 (C, C-6), 103.4 (CH, C-7), 102.4 (C, C-8), 99.7 (C, C-8a), 19.2 (CH₃, C-9)。该化合物的数据与文献报道的一致^[25], 故鉴定化合物 **16** 为 saccharonol A。

化合物 **17**: 黄色粉末; ESI-MS m/z 417.2 [2M+H]⁺, 分子式 C₁₀H₈O₅; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.50 (1H, brs, H-4), 6.35 (1H, m, H-5), 6.33 (1H, m, H-7), 4.34 (2H, s, H-9); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 167.5 (C, C-1), 167.4 (C, C-8), 164.9 (C, C-6), 157.4 (C, C-3), 140.7 (C, C-4a), 104.8 (CH, C-4), 104.4 (CH, C-5), 103.0 (CH, C-7), 99.9 (C, C-8a), 61.3 (CH₂, C-9)。该化合物的数据与文献报道的一致^[26], 故鉴定化合物 **17** 为 6,8-二羟基-3-羟甲基异香豆素。

3.3 活性测试结果

通过测试 13 个化合物对 5 种肿瘤细胞 (A549、

NCI-H158、MCF7、AGS、HT29) 的抑制活性 (表 2) 发现, 化合物 **2** 和 **3** 对 AGS 细胞具有较强抑制活性, IC₅₀ 分别为 0.69、1.12 μ mol/L。此外化合物 **2** 对 NCI-H1581 细胞具有中等抑制活性, IC₅₀ 值为 17.95 μ mol/L, 化合物 **3** 对 HT29 细胞具有中等抑制活性, IC₅₀ 值为 19.30 μ mol/L。

4 讨论

本研究以涠洲岛火山口海洋真菌 *Penicillium* sp. HD-1-1 为研究对象, 分离得到 1 个新的霉酚酸类化合物 (**1**) 以及 16 个已知化合物 (**2**~**17**)。通过分析活性测试结果及化合物之间的结构差异, 发现化合物 **2** 和 **3** 仅在 C-6' 位置有差异, 说明 C-6' 位置的 COOH 酯化为 COOCH₃ 增加了化合物对于 HT29 细胞的细胞毒活性, 降低了化合物对于 AGS 细胞和 NCI-H1581 细胞的细胞毒活性。化合物 **2** 和 **5** 相比, 说明苯并呋喃环上 C-3 位置的羟基取代降低了化合物对于 5 种肿瘤细胞的细胞毒活性。化合物 **1**、**4** 与化合物 **3** 相比, 说明苯并呋喃环上 C-3 位置发生的甲氧基取代、及羟基取代降低了化合物对于 5 种肿瘤细胞的细胞毒活性。结构的改变可能影响其在体内的吸收和稳定性、对肿瘤细胞的亲和力、片段的酶分解行为, 这些因素微妙相关进而造成活性的变化^[27]。

本研究发现的新霉酚酸类衍生物, 丰富了海洋天然来源的 MPAs 家族。此外, 还研究了该类化合物对于 5 种肿瘤细胞 (A549、NCI-H1581、MCF-7、

表 2 13 个化合物的细胞增殖抑制活性测试
Table 2 Antitumor activities for 13 compounds

化合物	浓度/ (μ mol·L ⁻¹)	细胞抑制率/%				
		A549 细胞	NCI-H158 细胞	MCF7 细胞	AGS 细胞	HT29 细胞
1	20	6.27±3.61	0.73±2.25	1.61±3.30	5.96±4.44	8.93±1.97
2	20	37.18±2.38	52.42±2.00	54.55±2.20	70.58±1.87	67.42±0.53
3	20	40.76±3.64	48.54±4.10	39.07±1.20	67.17±1.90	60.22±4.04
4	20	4.67±2.58	-0.59±2.41	1.93±4.23	4.59±1.86	10.51±1.85
5	20	11.11±8.03	-2.24±4.20	-0.26±2.60	6.02±4.04	8.97±4.33
6	20	3.92±2.69	1.51±3.05	2.03±1.64	1.71±3.42	10.28±2.98
7	20	6.71±3.77	0.09±5.30	2.64±1.19	2.24±6.00	6.28±5.14
8	20	13.70±7.19	-2.42±5.27	1.26±4.24	5.05±3.65	10.97±2.37
9	20	13.94±1.45	0.87±0.60	-1.32±2.59	1.33±6.62	9.55±3.71
10	20	3.37±6.62	2.24±0.96	4.28±1.17	1.17±4.27	12.63±3.30
11	20	3.95±1.21	0.96±0.28	1.48±1.26	0.69±3.18	9.82±3.99
12	20	2.22±4.52	1.00±3.02	2.99±1.92	4.84±6.15	9.59±2.14
14	20	13.22±4.41	-0.32±1.65	2.32±2.86	4.77±3.48	7.32±3.83
Dox	20	75.02±0.41	93.16±1.11	53.72±0.42	99.21±0.39	83.63±1.10

AGS、HT29) 的细胞毒活性, 为霉酚酸衍生物的生物活性探索研究提供了相应参考, 以期获得新的有前途的霉酚酸类药物先导化合物。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Newman D J, Cragg G M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019 [J]. *J Nat Prod*, 2020, 83(3): 770-803.
- [2] Karthikeyan A, Joseph A, Nair B G. Promising bioactive compounds from the marine environment and their potential effects on various diseases [J]. *J Genet Eng Biotechnol*, 2022, 20(1): 14.
- [3] Haque N, Parveen S, Tang T T, *et al.* Marine natural products in clinical use [J]. *Mar Drugs*, 2022, 20(8): 528.
- [4] Chen Y, Pang X Y, He Y C, *et al.* Secondary metabolites from coral-associated fungi: Source, chemistry and bioactivities [J]. *J Fungi*, 2022, 8(10): 1043.
- [5] Hai Y, Cai Z M, Li P J, *et al.* Trends of antimalarial marine natural products: Progresses, challenges and opportunities [J]. *Nat Prod Rep*, 2022, 39(5): 969-990.
- [6] Carroll A R, Copp B R, Davis R A, *et al.* Marine natural products [J]. *Nat Prod Rep*, 2022, 39(6): 1122-1171.
- [7] Allison A C, Eugui E M. Mycophenolate mofetil, a rationally designed immunosuppressive drug [J]. *Clin Transplant*, 1993, 7(1): 96-112.
- [8] 黄润业, 亓兰达, 陈国参, 等. 免疫抑制剂霉酚酸的研究及产业化进展 [J]. *微生物学报*, 2021, 61(10): 3010-3025.
- [9] Chen X H, Zhou G L, Sun C X, *et al.* Penicacids E-G, three new mycophenolic acid derivatives from the marine-derived fungus *Penicillium parvum* HDN17-478 [J]. *Chin J Nat Med*, 2020, 18(11): 850-854.
- [10] Zhang Q, Yang B Y, Li F L, *et al.* Mycophenolic acid derivatives with immunosuppressive activity from the coral-derived fungus *Penicillium bialowiezense* [J]. *Mar Drugs*, 2018, 16(7): 230.
- [11] Wang C, Wang Y F, Sun J, *et al.* A pair of new spirocyclic alkaloid enantiomers with TrxR inhibitory activities were isolated from marine-derived *Aspergillus ruber* TX-M4-1 [J]. *J Ocean Univ China*, 2023, 22(6): 1677-1682.
- [12] 王聪, 王立平, 范杰, 等. 深海链霉菌 *Streptomyces malaysiensis* OUCMDZ-2167 来源的细胞毒性产物 [J]. *有机化学*, 2017, 37(3): 658-666.
- [13] Chen X H, Zhou G L, Sun C X, *et al.* Penicacids E-G, three new mycophenolic acid derivatives from the marine-derived fungus *Penicillium parvum* HDN17-478 [J]. *Chin J Nat Medicines*, 2020, 18(11): 850-854.
- [14] Lu X H, Zheng Z H, Zhang H, *et al.* Two new members of mycophenolic acid family from *Penicillium brevicompactum* Dierckx [J]. *J Antibiot*, 2009, 62(9): 527-529.
- [15] Elsebai M F. Secondary metabolites from the marine-derived fungus *Phaeosphaeria spartinae* [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(9): 1504-1509.
- [16] Jekkel A, Barta I, Boros S, *et al.* Microbial transformation of mycophenolic acid [J]. *J Mol Catal B Enzym*, 2002, 19/20: 209-214.
- [17] Jones D F, Moore R H, Crawley G C. Microbial modification of mycophenolic acid [J]. *J Chem Soc C*, 1970, (12): 1725.
- [18] Umeokoli B O, Onyegbule F A, Okoye F B C, *et al.* New amide and dioxopiperazine derivatives from leaves of *Breynia nivos*a [J]. *Fitoterapia*, 2017, 122: 16-19.
- [19] Nwodo N J, Okoye F B, Lai D W, *et al.* Two trypanocidal dipeptides from the roots of *Zapoteca portoricensis* (Fabaceae) [J]. *Molecules*, 2014, 19(5): 5470-5477.
- [20] Chang R J, Wang C H, Zeng Q, *et al.* Chemical constituents of the stems of *Celastrus rugosus* [J]. *Arch Pharm Res*, 2013, 36(11): 1291-1301.
- [21] Shi Z Z, Miao F P, Fang S T, *et al.* Sulfurated diketopiperazines from an algicolous isolate of *Trichoderma virens* [J]. *Phytochem Lett*, 2018, 27: 101-104.
- [22] Wei X, Feng C, Wang S Y, *et al.* New indole diketopiperazine alkaloids from soft coral-associated epiphytic fungus *Aspergillus* sp. EGF 15-0-3 [J]. *Chem Biodivers*, 2020, 17(5): e2000106.
- [23] Yang S S, Chen Y F, Ko H H, *et al.* Undescribed alkyne-geranylcyclohexenetriols from the endophyte *Diaporthe caulivora* 09F0132 and their anti-melanogenic activity [J]. *Phytochemistry*, 2022, 202: 113312.
- [24] Chen L L, Zhu T H, Zhu G L, *et al.* Bioactive natural products from the marine-derived *Penicillium brevicompactum* OUCMDZ-4920 [J]. *Chin J Org Chem*, 2017, 37(10): 2762.
- [25] 张再, 倪绍伟, 徐雪, 等. 望江南的化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(15): 3873-3876.
- [26] Takenaka Y, Morimoto N, Hamada N, *et al.* Phenolic compounds from the cultured mycobionts of *Graphis proserpens* [J]. *Phytochemistry*, 2011, 72(11/12): 1431-1435.
- [27] Suzuki S, Takaku S, Mori T. Antitumor activity of derivatives of mycophenolic acid [J]. *J Antibiot*, 1976, 29(3): 275-285.

[责任编辑 王文倩]