

海洋真菌 *Penicillium* sp. MDW-627 次级代谢产物研究

徐 辉¹, 高文鹏¹, 杜为胜¹, 兰建洲¹, 李培海², 孔凡栋^{1*}, 王 聪^{1*}

1. 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, 林木生物质低碳高质利用广西高校工程研究中心, 广西 南宁 530006
2. 山东省斑马鱼人类疾病模型与药物筛选工程技术研究中心, 齐鲁工业大学(山东省科学院)生物研究所, 山东 济南 250103

摘要: **目的** 研究涠洲岛来源的海洋真菌 *Penicillium* sp. MDW-627 产生的次级代谢产物及其促血管生成活性。 **方法** 综合运用红外光谱(IR)、紫外吸收光谱(UV)、高分辨质谱(HR-ESI-MS)及核磁共振(1D/2D NMR)技术, 鉴定化合物的结构, 并通过圆二色谱(ECD)以及文献比对确定化合物的绝对构型。对化合物进行基于斑马鱼模型的促血管生成活性测试。 **结果** 分离鉴定了 1 个新嗜氮酮类化合物以及 9 个已知化合物: 5-Cl-peniazaphilone G (1)、sclerotioramine (2)、(+)-sclerotiorin (3)、11-*epi*-geumsanol B (4)、isochromophilone VI (5)、peniazaphilone C (6)、弯孢菌霉素(7)、diaporthelactone (8)、8-hydroxy-6-methoxy-3-methylisocoumarin (9)、异麦芽酚(10)。促血管生成活性结果显示化合物 5 在浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 时具有促血管生成活性。 **结论** 化合物 1 为新的嗜氮酮类化合物, 命名为 5-Cl-盘尼阿扎菲酮, 化合物 5 具有促血管生成活性。

关键词: 海洋真菌 *Penicillium* sp. MDW-627; 次级代谢产物; 嗜氮酮衍生物; 促血管生成活性; 5-Cl-盘尼阿扎菲酮

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)20-7281-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.20.002

Secondary metabolites of marine-derived *Penicillium* sp. MDW-627

XU Hui¹, GAO Wenpeng¹, DU Weisheng¹, LAN Jianzhou¹, LI Peihai², KONG Fandong¹, WANG Cong¹

1. Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products, State Ethnic Affairs Commission, Guangxi Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products, Engineering Research Center of Low-carbon and High-quality Utilization of Forest Biomass, University of Guangxi, School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi Minzu University, Nanning 530006, China
2. Engineering Research Center of Zebrafish Models for Human Diseases and Drug Screening of Shandong Province, Biology Institute, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250103, China

Abstract: Objective To investigate the secondary metabolites produced by the marine-derived fungus *Penicillium* sp. MDW-627 isolated from Weizhou Island and evaluate their pro-angiogenic activity. **Methods** The structures of the compounds were elucidated using a combination of infrared spectroscopy (IR), ultraviolet-visible spectroscopy (UV), High-Resolution ElectroSpray Ionization Mass Spectrometry (HR-ESI-MS), and multidimensional nuclear magnetic resonance (1D/2D NMR). The absolute configuration of the compounds was determined by electronic circular dichroism (ECD) spectroscopy in combination with literature comparison. The pro-angiogenic activity of the compounds was assessed using a zebrafish model. **Results** A new azaphilone derivative and nine known compounds were isolated and identified: 5-Cl-peniazaphilone G (1), sclerotioramine (2), (+)-sclerotiorin (3), 11-*epi*-geumsanol B (4), isochromophilone VI (5), peniazaphilone C (6), curvularin (7), diaporthelactone (8), 8-Hydroxy-6-methoxy-3-methylisocoumarin (9), isomaltol (10). The pro-angiogenic activity assay revealed that compound 5 exhibited significant vascular growth-promoting effects at a concentration of 40 $\mu\text{mol/L}$. **Conclusion** Compound 1 was identified as a new azaphilone derivative, designated as 5-Cl-peniazaphilone, and compound 5 demonstrated significant pro-angiogenic activity.

收稿日期: 2025-06-13

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(82204276); 广西自然科学基金资助项目(2025GXNSFAA069557, 2019GXNSFBA185002); 广西高等学校千名中青年骨干教师培育计划

作者简介: 徐 辉, 硕士研究生, 研究方向为海洋药物化学。E-mail: xh18366260483@163.com

*通信作者: 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

孔凡栋, 教授, 研究生导师, 研究方向为天然药物化学。E-mail: kongfandong0127@126.com

Key words: marine fungi *Penicillium* sp. MDW-627; secondary metabolites; azaphilone derivatives; pro-angiogenic activity; 5-Cl-peniazaphilone G

由于高盐、高压、寡营养等独特的海洋环境,海洋真菌形成了独特的代谢途径和防御机制,能产生大量骨架多样、结构新颖的代谢产物,具有抗肿瘤、抗菌、抗病毒等多种生物活性^[1-3]。近年来,海洋源真菌作为具有药用价值的海洋天然产物的潜在储存库而受到越来越多的关注。海洋真菌是海洋活性天然化合物的重要来源^[4],其蕴含的次级代谢产物结构类型繁多,如生物碱、聚酮、甾体、萜类、大环内酯和肽类等,为药物的研发提供了宝贵资源。广西北部湾地处热带和亚热带,拥有珊瑚礁、滨海湿地、海草床等典型生态系统,其独特的地理位置和生态环境孕育了丰富的微生物资源^[5]。嗜氮酮类化合物(Azaphilones)是一类具有独特吡喃-喹诺酮骨架结构的天然产物,广泛分布于真菌次级代

谢产物中,尤其是青霉属、曲霉属等丝状真菌。这类化合物因其核心结构中含有 1 个特征性的氮杂原子(通常取代吡喃环上的氧原子)而得名,展现出丰富的结构多样性和显著的生物活性^[6]。近年来研究表明,嗜氮酮类化合物具有广泛的生物活性,如抗菌、抗病毒、抗癌和抗炎活性等^[7]。

前期本课题组从北部湾来源真菌 *Neopestalotiopsis* sp. HN-1-6 的代谢产物中发现了 6 个嗜氮酮类化合物,并发现此类化合物具有促血管生成活性^[8]。因此,本实验对真菌 *Penicillium* sp. MDW-627 的次级代谢产物及其促血管生成活性进行研究,分离鉴定了 1 个新嗜氮酮类化合物 5-Cl-peniazaphilone G 以及 9 个已知化合物。促血管生成活性结果显示,化合物 5 在浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 时具有促血管生成活性(图 1)。

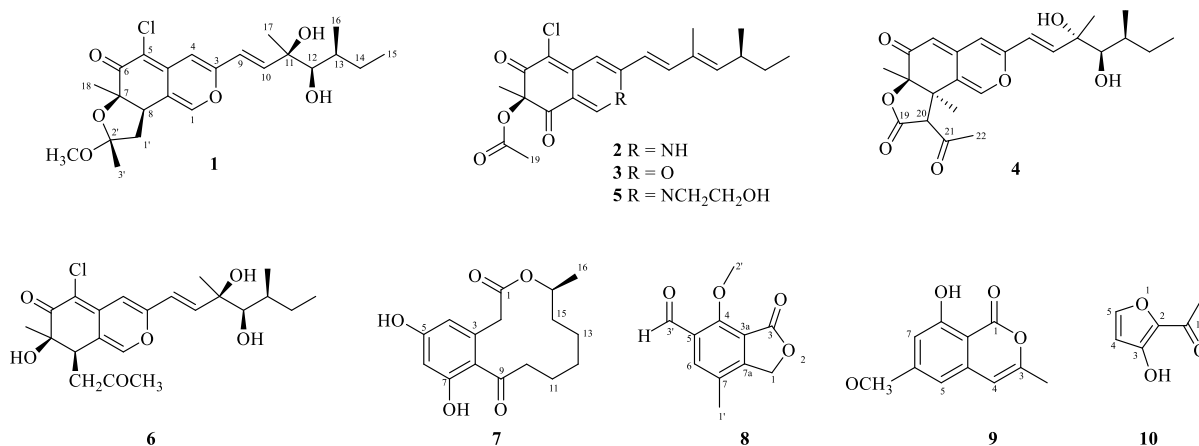


图 1 化合物 1~10 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—10

1 仪器与材料

MAGNA-IR550 傅里叶变换红外光谱(Thermo 公司), Agilent Cary 60 紫外可见光谱仪(美国安捷伦科技有限公司) 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), Bruker AVANCE 400 MHz 核磁共振仪(德国 Bruker 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)。MDW-627(原始编号 TX-M1-3)分离自广西北海市涠洲岛的苔藓样品。转基因 *Tg(fli-1:EGFP)* 系斑马鱼来源于山东省斑马鱼人类疾病模型与药物筛选工程技术研究中心, 阿魏酸购自上海源叶生物科技有限公司。

2 方法

2.1 菌株发酵

将 *Penicillium* sp. MDW-627(原始编号 TX-M1-3)^[9]接种于 PDA 培养基上, 置于 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 3 d。在超净工作台将长有菌的培养基划成小块投

入灭菌后的大米培养基中, 室温条件下, 静置发酵 40 d, 发酵规模为大米 80 g、海水 120 mL 发酵 50 瓶。

2.2 次级代谢产物的提取分离

菌株 *Penicillium* sp. MDW-627 发酵结束后, 用等体积的醋酸乙酯浸泡并超声萃取 3 次, 经减压浓缩获得浸膏 145.32 g。对浸膏用 90% 甲醇-水和石油醚进行分液萃取, 获得 69.43 g 90% 甲醇-水的粗浸膏。对 90% 甲醇-水的粗浸膏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 Fr. 1~6。Fr. 2 (20.2 g) 为化合物 3。Fr. 3 (869.1 mg) 通过半制备 HPLC (45% 乙腈) 获得化合物 1 ($t_R=17.2$ min, 5.0 mg)。Fr. 4 (159.2 mg) 通过半制备 HPLC (50% 甲醇) 获得化合物 7 ($t_R=5.4$ min, 5.1 mg) 和 8 ($t_R=20.5$ min, 2.3 mg)。Fr. 5 (2.12 g) 通过中压制备色谱 (20%~100% 甲醇) 获得 7 个组分 (Fr. 4.1~4.7)。Fr. 4.2 (195.8 mg) 通过半制备 HPLC (35% 乙腈) 获得化合物 9 ($t_R=5.3$ min, 4.0 mg) 和 10 ($t_R=13.2$ min, 16.5 mg)。Fr. 4.5 (117.7 mg) 通过半制备 HPLC (55% 甲醇) 获得化合物 6 ($t_R=16.3$ min, 5.9 mg)。Fr. 4.6 (290.6 mg) 通过半制备 HPLC (65% 甲醇) 获得化合物 5 ($t_R=19.3$ min, 5.0 mg)。Fr. 4.7 (416.5 mg) 通过半制备 HPLC (80% 甲醇) 获得化合物 2 ($t_R=8.3$ min, 55 mg) 和 4 ($t_R=10.7$ min, 1.2 mg)。

2.3 促血管生成活性测试

将转基因 *Tg (fli-1: EGFP)* 系斑马鱼卵放于 $(28.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 培养箱中发育 20~24 h, 收集鱼卵去除养鱼水后加入 1 mg/mL 链霉蛋白酶 E, 脱除卵膜获得斑马鱼胚胎。向 24 孔板中依次加入 2 mL 的养鱼水、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 血管生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂 (PTK787) 和待测样品 (40 $\mu\text{mol/L}$) 以及 10 个斑马鱼胚胎作为实验组, 以只加入养鱼水和斑马鱼胚胎的体系作为对照组, 以加入养鱼水、PTK787 和斑马鱼胚胎的体系作为阳性药组, 每组实验 3 个平行。实验体系于 $(28.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 培养 24 h 后, 使用 OLYMPUS 荧光显微镜观察斑马鱼节间血管的生长情况, 拍照统计分析确定各样品的促进血管生成活性^[10]。

3 结果与分析

3.1 化合物结构鉴定

化合物 1: 黄色油状物, $[\alpha]_D^{25} + 10$ (c 0.10

MeOH); 高分辨质谱 HR-ESI-MS 在 m/z 461.170 7 (计算值 461.170 1) 给出准分子离子峰 $[M+Na]^+$ 和在 m/z 463.168 4 给出准分子离子峰 $[M+2+Na]^+$, 其比例为 3:1, 表明在化合物 1 中存在 1 个氯原子, 因此, 确定分子式为 $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_6$, 不饱和度为 8。红外光谱给出羟基 (3413 cm^{-1})、酯羰基 (1646 cm^{-1})、苯环 (1453 cm^{-1}) 等结构片段信号; $\text{UV } \lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 200 (4.55), 294 (3.43), 385 (3.48), 显示了嗜氮酮类化合物的特征吸收, 其核磁数据与 peniazaphilone G^[11] 高度相似, 唯一差异在于化合物 1 中以 1 个芳香非质子化碳取代了 peniazaphilone G 中的芳香次甲基。结合 HRESIMS 提供的分子式信息, 1 被鉴定为 peniazaphilone G 的 C-5 位氯代衍生物。通过化合物 1 的二维核磁数据详细分析 (图 2) 进一步验证了这一结论, 由此确定化合物的平面结构。在 NOESY 图谱中, 看到 $\text{H}_3\text{-18}$ 与 H-8 相关, 说明它们具有相同的朝向。此外, 在 NOESY 谱图中观察到不到 H-8 与 H-3' 的相关, 结合化合物 1 的 C-7、CH-8、CH₂-1'、C-2' 及 CH₃-3' 的核磁数据与文献中的化合物 peniazaphilone G 的相应 NMR 数据一致, 证明它们手性碳 C-7 及 C-8 具有相同的相对构型。化合物 1 的 C-10~C-15 侧链的化学位移与文献中的 8a-*epi*-eupenicilazaphilone C 的相应数据一致, 说明它们的手性碳 C-11、C-12 及 C-13 具有相同相对构型^[12]。化合物 1 的 ECD 数据与已知化合物 peniazaphilone G 的 ECD 数据 (图 3) 非常相似, 确定化合物 1 的绝对构型为 7*R*, 8*R*, 11*S*, 12*R*, 13*S*, 2'*R*。此外, 根据从生源上看, 此类化合物 C-13 位构型均为 *S*, 这进一步证明了以上构型的推断, 具体 NMR 数据见表 1。经 Scifinder 数据库检索, 化合物 1 为新化合物, 命名为 5-Cl-盘尼阿扎菲酮。

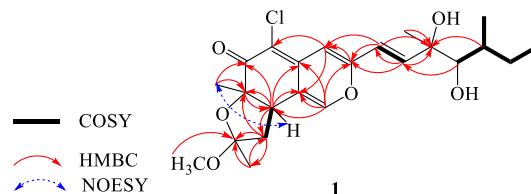


图 2 化合物 1 的主要 ^1H - ^1H COSY、HMBC 相关性
Fig. 2 Key ^1H - ^1H COSY, HMBC key correlations of compound 1

化合物 2: 红色油状物, ESI-MS m/z : 390.2 $[M+H]^+$, 分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{ClNO}_4$, ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.04 (1H, s, H-1), 7.17 (1H, d, $J=16.1$ Hz, H-10), 7.11 (1H, s, H-4), 6.41 (1H, d, $J=16.1$ Hz, H-

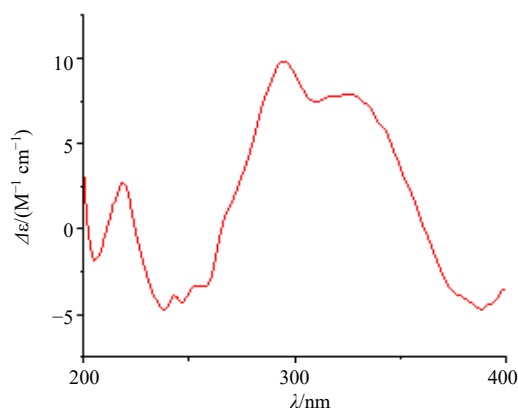


图 3 化合物 1 的实测 ECD 谱图

Fig. 3 Experimental ECD spectra of compound 1

表 1 化合物 1 的 ^1H - 和 ^{13}C -NMR 数据 (400/100 MHz, CDCl_3)Table 1 ^1H - and ^{13}C -NMR data of compound 1 (400/100 MHz, CDCl_3)

碳位	δ_{H}	δ_{C} , type
1	7.19 (s)	143.7, CH
3		156.3, C
4	6.54 (s)	106.2, CH
4a		139.4, C
5		111.0, C
6		189.8, C
7		85.0, C
8	3.40 (dd, $J = 12.4, 6.8$ Hz)	43.7, CH
8a		116.7, C
9	6.43 (d, $J = 15.5$ Hz)	120.3, CH
10	6.58 (d, $J = 15.5$ Hz)	141.1, CH
11		76.1, C
12	3.54 (s)	79.1, CH
13	1.54 (m)	36.6, CH
14	1.42 (m)	28.9, CH_3
	1.31 (m)	
15	0.91 (t, $J = 7.5$ Hz)	12.0, CH_3
16	0.88 (d, $J = 7.0$ Hz)	13.3, CH_3
18	1.42 (s)	24.8, CH_3
1'	2.13, (dd, $J = 12.4, 6.8$ Hz)	45.6, CH_2
	2.06, (dd, $J = 12.4, 12.4$ Hz)	
2'		105.8, C
3'	1.44 (s)	21.9, CH_3
4'	3.34 (s)	49.1, CH_3

9), 5.75 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, H-12), 2.55 (1H, m, H-13), 2.12 (3H, s, H-20), 1.91 (3H, s, H-17), 1.51 (3H, s, H-18), 1.47 (1H, m, H-14a), 1.33 (1H, m, H-14b), 1.04 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-16), 0.89 (3H, t, $J = 7.3$ Hz, H-

15); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 195.2 (C, C-8), 185.7 (C, C-6), 171.6 (C, C-19), 149.3 (CH, C-12), 148.9 (C, C-4a), 148.0 (C, C-3), 143.3 (CH, C-10), 139.6 (CH, C-1), 133.8 (C, C-11), 118.4 (CH, C-9), 115.7 (C, C-8a), 112.4 (CH, C-4), 102.0 (C, C-5), 86.1 (C, C-7), 36.2 (CH, C-13), 31.2 (CH_2 , C-14), 23.8 (CH_3 , C-18), 20.6 (CH_3 , C-20), 20.2 (CH_3 , C-16), 12.5 (CH_3 , C-17), 12.3 (CH_3 , C-15)。以上数据与文献报道的一致^[4], 故鉴定化合物 2 为 sclerotioramine。

化合物 3: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 391.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{ClO}_5$, ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.20 (1H, s, H-1), 7.19 (1H, d, $J = 12.7$ Hz, H-10), 6.87 (1H, s, H-4), 6.37 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-9), 5.74 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, H-12), 2.39 (1H, m, H-13), 2.13 (3H, s, H-20), 1.89 (3H, s, H-17), 1.54 (3H, s, H-18), 1.44 (1H, m, H-14a), 1.32 (1H, m, H-14b), 1.02 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-16), 0.88 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-15); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 192.8 (C, C-6), 188.0 (C, C-8), 171.5 (C, C-19), 160.5 (C, C-3), 155.2 (CH, C-1), 149.5 (CH, C-12), 144.1 (CH, C-10), 141.6 (C, C-5), 133.9 (C, C-11), 117.4 (CH, C-9), 115.7 (C, C-4a), 110.6 (C, C-8a), 107.3 (CH, C-4), 86.2 (C, C-7), 36.3 (CH, C-13), 31.2 (CH_2 , C-14), 22.9 (CH_3 , C-18), 20.6 (CH_3 , C-16), 19.9 (CH_3 , C-20), 12.5 (CH_3 , C-17), 12.4 (CH_3 , C-15)。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 3 为 (+)-sclerotiorin。

化合物 4: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 439.2 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_7$, ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.59 (1H, s, H-1), 6.83 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-10), 6.40 (1H, s, H-4), 6.34 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-9), 5.45 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-5), 4.22 (1H, d, $J = 12.3$ Hz, H-20), 3.93 (1H, s, H-8), 3.43 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-12), 2.40 (3H, s, H-22), 1.72 (1H, m, H-13), 1.54 (3H, s, H-18), 1.42 (1H, m, H-14a), 1.34 (3H, s, H-17), 1.29 (1H, m, H-14b), 0.89 (3H, t, $J = 7.6$ Hz, H-15), 0.82 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-16); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 201.7 (C, C-21), 194.1 (C, C-6), 170.9 (C, C-19), 158.5 (C, C-3), 149.5 (CH, C-1), 145.7 (C, C-4a), 145.0 (CH, C-10), 119.9 (CH, C-9), 115.9 (C, C-8a), 109.2 (CH, C-4), 106.5 (CH, C-5), 84.0 (C, C-7), 81.1 (CH, C-12), 76.7 (C, C-11), 57.5 (CH, C-20), 43.8 (CH, C-8), 36.3 (CH, C-13), 30.0 (CH_2 , C-14), 29.9 (CH_3 , C-22), 26.8 (CH_3 , C-17), 23.5 (CH_3 , C-18), 14.4 (CH_3 , C-16), 12.2

(CH₃, C-15)。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **4** 为 11-*epi*-geumsanol B。

化合物 **5**: 红色油状物, ESI-MS m/z : 456.1 [M+Na]⁺, 分子式为 C₂₃H₂₈ClNO₅, ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 8.16 (1H, s, H-1), 7.19 (1H, s, H-4), 7.10 (1H, d, J = 15.5 Hz, H-10), 6.57 (1H, d, J = 15.5 Hz, H-9), 5.78 (1H, d, J = 9.7 Hz, H-12), 4.24 (2H, m, H-21), 3.84 (2H, t, J = 5.0 Hz, H-22), 2.54 (1H, m, H-13), 2.03 (3H, s, H-20), 1.92 (3H, d, J = 0.9 Hz, H-17), 1.51 (3H, s, H-18), 1.45 (1H, m, H-14a), 1.36 (1H, m, H-14b), 1.04 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-16), 0.90 (3H, t, J = 7.4 Hz, H-15); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 195.1 (C, C-8), 185.5 (C, C-6), 171.6 (C, C-19), 151.9 (C, C-4a), 148.8 (CH, C-12), 148.4 (CH, C-10), 146.5 (C, C-3), 144.5 (CH, C-1), 133.9 (C, C-11), 117.2 (CH, C-9), 116.3 (C, C-8a), 112.6 (CH, C-4), 101.2 (C, C-5), 86.2 (C, C-7), 61.1 (CH₂, C-22), 57.5 (CH₂, C-21), 36.2 (CH, C-13), 31.2 (CH₂, C-14), 23.8 (CH₃, C-18), 20.6 (CH₃, C-20), 20.2 (CH₃, C-16), 12.7 (CH₃, C-17), 12.4 (CH₃, C-15)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **5** 为 isochromophilone VI。

化合物 **6**: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 447.2 [M+Na]⁺, 分子式为 C₂₂H₂₉ClO₆, ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.44 (1H, s, H-1), 6.53 (1H, s, H-4), 6.61 (1H, d, J = 15.6 Hz, H-10), 6.38 (1H, d, J = 15.6 Hz, H-9), 3.51 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-12), 3.40 (1H, dd, J = 10.2, 0.8 Hz, H-8), 3.10 (1H, dd, J = 18.4, 2.9 Hz, H-1'), 2.36 (1H, dd, J = 18.5, 10.2 Hz, H-1'), 2.07 (3H, s, H-3'), 1.70 (1H, m, H-13), 1.38 (1H, m, H-14a), 1.34 (3H, s, H-17), 1.32 (1H, m, H-14b), 1.30 (3H, s, H-18), 0.97 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-16), 0.92 (3H, t, J = 7.4 Hz, H-15); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 207.1 (C, C-2'), 192.0 (C, C-6), 156.7 (C, C-3), 145.6 (CH, C-1), 144.9 (CH, C-10), 141.4 (C, C-4a), 120.5 (CH, C-9), 119.5 (C, C-8a), 107.4 (C, C-5), 106.1 (CH, C-4), 78.4 (CH, C-12), 75.9 (C, C-11), 74.1 (C, C-7), 41.4 (CH₂, C-1'), 40.2 (CH, C-8), 35.5 (CH, C-13), 30.7 (CH₃, C-3'), 28.8 (CH₂, C-14), 26.8 (CH₃, C-18), 23.9 (CH₃, C-17), 13.5 (CH₃, C-16), 12.0 (CH₃, C-15)。以上数据与文献报道一致^[11], 故化合物 **6** 鉴定为 peniazaphilone C。

化合物 **7**: 白色粉末, ESI-MS: m/z 293.1 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₆H₂₀O₅, ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.26 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-4), 6.22 (1H, d,

J = 2.3 Hz, H-6), 4.92 (1H, m, H-15), 3.87 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-2a), 3.64 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-2b), 3.22 (1H, m, H-10a), 2.74 (1H, m, H-10b), 1.73 (1H, m, H-11a), 1.59 (1H, m, H-14a), 1.55 (1H, m, H-11b), 1.47 (1H, m, H-13a), 1.43 (1H, m, H-14b), 1.40 (1H, m, H-12a), 1.30 (1H, m, H-13b), 1.26 (1H, m, H-12b), 1.13 (3H, d, J = 6.3 Hz, H-16); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 209.8 (C, C-9), 172.9 (C, C-1), 161.2 (C, C-5), 159.5 (C, C-7), 137.2 (C, C-3), 120.9 (C, C-8), 112.2 (CH, C-4), 102.7 (CH, C-6), 73.9 (CH, C-15), 44.7 (CH₂, C-10), 40.5 (CH₂, C-2), 33.0 (CH₂, C-14), 27.7 (CH₂, C-12), 24.9 (CH₂, C-13), 23.9 (CH₂, C-11), 20.5 (CH₃, C-16)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **7** 为 curvularin。

化合物 **8**: 无色固体, ESI-MS m/z : 207.0 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₁H₁₀O₄, ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.90 (1H, s, H-3'), 7.90 (1H, s, H-6), 5.53 (2H, s, H-1), 4.26 (3H, s, H-2'), 2.38 (3H, s, H-1'); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 190.5 (CH, C-3'), 168.0 (C, C-3), 162.2 (C, C-4), 148.8 (C, C-7a), 140.8 (CH, C-6), 132.2 (C, C-7), 125.2 (C, C-5), 116.8 (C, C-3a), 70.4 (CH₂, C-1), 63.2 (CH₃, C-2'), 16.1 (CH₃, C-1')。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **8** 为 diaporthelactone。

化合物 **9**: 无色固体, ESI-MS m/z : 207.1 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₁H₁₀O₄, ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.45 (1H, s, H-7), 6.31 (1H, s, H-5), 3.88 (3H, s, H-10), 2.19 (3H, s, H-9); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 166.9 (C, C-1), 162.4 (C, C-8), 165.1 (C, C-6), 156.1 (C, C-3), 144.0 (C, C-4a), 105.0 (CH, C-4), 103.9 (C, C-8a), 101.6 (CH, C-5), 99.7 (CH, C-7), 56.3 (CH₃, C-10), 19.2 (CH₃, C-9)。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **9** 为 8-hydroxy-6-methoxy-3-methylisocoumarin。

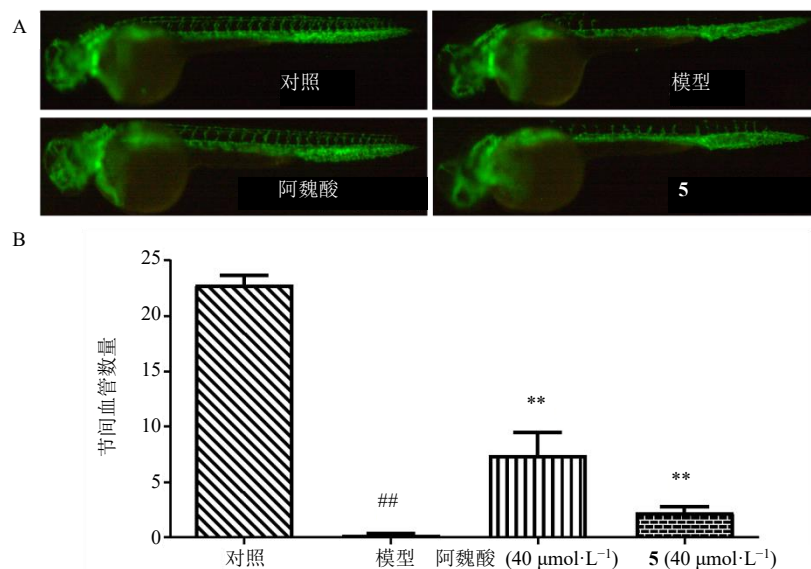
化合物 **10**: 棕色油状物, ESI-MS m/z : 127.0 [M+H]⁺, 分子式为 C₆H₆O₃, ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.89 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-5), 6.84 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-4), 2.53 (3H, s, H-2'); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 199.5 (C, C-3), 164.0 (CH, C-5), 132.1 (C, C-1), 130.2 (CH, C-1'), 116.2 (CH, C-4), 26.3 (CH₃, C-2')。以上数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **10** 为 isomaltol。

3.2 活性测试结果

基于 PTK787 诱导的斑马鱼血管损伤模型对化

合物进行促血管生成活性评价。如图 4 所示, 对照组斑马鱼的节间血管条数表现为正常, 模型组斑马鱼节间血管的条数明显减少, 与模型组相比, 阳性药组血

管条数显著增加, 显示斑马鱼血管损伤模型构建成功。化合物 5 浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 时, 斑马鱼的节间血管条数显著增加, 因此该化合物具有促血管生成活性。



A-斑马鱼节间血管荧光显微图像; B-节间血管条数统计结果; 与对照组相比: ## P <0.01; 与模型组相比: ** P <0.01。

A-fluorescence microscopy of intersegmental vessels in zebrafish; B-number of intersegmental vessels in zebrafish; ## P <0.01 vs control group; ** P <0.01 vs model group.

图 4 斑马鱼促血管生成活性结果

Fig. 4 Influence of compounds on intersegmental vessels in zebrafish

4 讨论

本研究以涠洲岛来源海洋真菌 *Penicillium* sp. MDW-627 为研究对象, 选定大米培养基作为规模发酵条件, 分离鉴定了 10 个单体化合物, 包括 1 个新的嗜氮酮类化合物(1)以及 9 个已知化合物(2~10)。活性测试结果显示, 在 40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下, 化合物 5 能显著促进斑马鱼体节间血管的生长。本研究不仅丰富了海洋青霉属天然产物结构多样性, 同时为开发新型高效低毒的促血管生成药物提供了化合物库。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王庆琳, 陈水浩, 陈冬妮, 等. 中国南海海洋真菌资源及其活性次级代谢产物研究评述 [J]. 生物资源, 2020, 42(5): 505-514.
- [2] 吴泽宏, 马民, 陈建良. 海洋真菌活性次级代谢产物研究进展 [J]. 广东药科大学学报, 2017, 33(5): 687-699.
- [3] Blunt J W, Carroll A R, Copp B R, et al. Marine natural products [J]. *Nat Prod Rep*, 2018, 35(1): 8-53.
- [4] Jia Q, Du Y Q, Wang C, et al. Azaphilones from the marine sponge-derived fungus *Penicillium sclerotiorum*

OUCMDZ-3839 [J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(5): 260.

- [5] 徐新亚, 杨宏, 宁小清, 等. 北部湾海洋微生物物种多样性与化学多样性研究进展 [J]. 广西科学, 2020, 27(5): 433-450.
- [6] Gao J M, Yang S X, Qin J C. Azaphilones: Chemistry and biology [J]. *Chem Rev*, 2013, 113(7): 4755-4811.
- [7] Osmanova N, Schultze W, Ayoub N. Azaphilones: A class of fungal metabolites with diverse biological activities [J]. *Phytochem Rev*, 2010, 9(2): 315-342.
- [8] Feng T, Wu R X, Wang Y F, et al. Proangiogenic azaphilones from the marine-derived fungus *Neopestalotiopsis* sp. HN-1-6 [J]. *Mar Drugs*, 2024, 22(6): 241.
- [9] 王聪, 杜为胜, 杨朝龙, 等. 涠洲岛火山口真菌的分离及次级代谢产物鉴定 [J]. 菌物学报, 2023, 42(2): 553-561.
- [10] Wang C, Xu H, Wang J J, et al. Isocoumarins from *Spegazzinia* sp. MDCW-573 with antibacterial and proangiogenic activities [J]. *J Nat Prod*, 2025, 88(3): 757-767.
- [11] Yang W C, Yuan J, Tan Q, et al. Peniazaphilones A: I, produced by co-culturing of mangrove endophytic fungi, *Penicillium sclerotiorum* THSH-4 and *Penicillium*

- sclerotiorum* ZJHJJ-18 [J]. *Chin J Chem*, 2021, 39(12): 3404-3412.
- [12] Wang H C, Ke T Y, Ko Y C, *et al.* Anti-inflammatory azaphilones from the edible *Alga*-derived fungus *Penicillium sclerotiorum* [J]. *Mar Drugs*, 2021, 19(10): 529.
- [13] 肖碧红, 余志刚, 雷晓凌, 等. 南海沿海海藻内生真菌 ZJ27 次级代谢产物研究 [J]. *中药材*, 2011, 34(4): 544-546.
- [14] Chen S R, Wang S W, Chen C Y, *et al.* Additional azaphilones from the marine algae-derived fungus *Penicillium sclerotiorum* with anti-angiogenic activity [J]. *B Chem Soc Jap*, 2023, 96(1): 1-7.
- [15] Gu B B, Wu Y, Tang J, *et al.* Azaphilone and isocoumarin derivatives from the sponge-derived fungus *Eupenicillium* sp. 6A-9 [J]. *Tetrahedron Lett*, 2018, 59(36): 3345-3348.
- [16] Cadelis M M, Li S A, van de Pas S J, *et al.* Antimicrobial natural products from plant pathogenic fungi [J]. *Molecules*, 2023, 28(3): 1142.
- [17] Lin X, Huang Y J, Fang M J, *et al.* Cytotoxic and antimicrobial metabolites from marine lignicolous fungi, *Diaporthe* sp [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2005, 251(1): 53-58.
- [18] Feng L X, Zhang B Y, Zhu H J, *et al.* Bioactive metabolites from *Talaromyces purpureogenus*, an endophytic fungus from *Panax notoginseng* [J]. *Chem Nat Compd*, 2020, 56(5): 974-976.
- [19] Jeon W K, Lee J H, Kim H K, *et al.* Anti-platelet effects of bioactive compounds isolated from the bark of *Rhus verniciflua* stokes [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 106(1): 62-69.

[责任编辑 王文倩]