

- 中国中药杂志, 2015, 40(4): 679-685.
- [10] 陈雪晴, 尤蓉蓉, 何丹丹, 等. 藏药印度獐牙菜化学成分研究[J]. 中草药, 2017, 48(24): 5112-5116.
- [11] Singh S K, Tripathi V J, Singh R H. A new pentacyclic triterpene acid from *Lantana indica*[J]. *J Nat Prod*, 1991, 54(3): 755-758.
- [12] 王瑞亭, 田福利, 许孟雷, 等. 蒙椴树叶化学成分的研究[J]. 内蒙古大学学报(自然科学版), 2010, 41(5): 536-539.
- [13] 陈柳生, 王如意, 周伟明. 五色梅三萜类化学成分的研究[J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(23): 1990-1993.
- [14] Yan P, Huang R M, Liu Y H. Steroids from the brown alga *Sargassum naozhouense*[J]. *Chem Nat Compd*, 2020, 14(3): 189-194.
- [15] Liu Y F, Yang X W, Wu B. Chemical constituents of the flower buds of *Tussilago farfara* [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2007, 16(4): 288-293.
- [16] 魏建国, 杨大松, 杨永平, 等. 草鞋木的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(11): 1789-1792.
- [17] 陶美华, 李乐军, 陈玉婵, 等. 海洋真菌 *Penicillium sclerotiorum* FS50 的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(10): 1593-1596.
- [18] 马新玥, 方圣涛, 赵业, 等. 海洋沉积物来源草酸青霉 T4-6 化学成分及其生物活性研究[J]. 化学与生物工程, 2018, 35(1): 17-22.
- [19] 李云海, 王晓丽, 卢小玲, 等. 极地真菌 *Geomyces* sp. 3-1 次级代谢产物的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(4): 590-594.
- [20] 刁鸿章, 陈文豪, 宋小平, 等. 鳄嘴花全草的化学成分研究[J]. 中药材, 2017, 40(5): 1101-1104.
- [21] 朱占军, 潘瑞乐, 斯建勇, 等. 锥叶柴胡化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(5): 833-835.
- [22] 郑丹丹, 阮静雅, 张颖, 等. 蛇床子中黄酮类化学成分的分离与结构鉴定[J]. 中国药物化学杂志, 2020, 30(9): 542-548.
- [23] 肖宗雨, 刘艳, 孙延平, 等. 柴胡地上部分黄酮类化学成分研究[J]. 中药材, 2020, 43(11): 2679-2683.
- [24] Kwon Y J. Use of saw palmetto (*Serenoa repens*) extract for benign prostatic hyperplasia[J]. *Food Sci Biotechnol*, 2019, 28(6): 1599-1606.
- [25] 周志远, 卢群, 刘洋, 等. 豆甾醇的研究及开发进展[J]. 中国当代医药, 2015, 22(24): 15-17.
- [26] 汪海峰, 刘沁源. 黄酮类化合物药理活性及其治疗效果研究新进展[J]. 西南国防医药, 2020, 30(6): 593-595.

尖海龙共附生真菌 *Talaromyces amestolkiae* 次生代谢产物的研究

雷力荣, 金梦莹, 郭大乐, 邓赞*
(成都中医药大学, 四川 成都 611137)

摘要: 目的 研究尖海龙共附生真菌 *Talaromyces amestolkiae* 的次生代谢产物。方法 *Talaromyces amestolkiae* 发酵物的甲醇提取物采用硅胶、Sephadex-LH-20、TLC、制备 HPLC 进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。结果 从中分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为 2, 4-bis (1, 1-dimethylethyl) benzeneethanol (1)、aspergillumarins A (2)、penicisocoumarins H (3)、2-(2-hydroxypropyl)-5-methyl-7-hydroxychromone (4)、6-demethylvermistatin (5)、penicimarin B (6)、penicimarin C (7)、8-hydroxy-6-methoxy-3-methylisocoumarin (8)、polygonolide (9)、灵芝嘌呤 (10)。结论 化合物 1 为新天然产物, 化合物 3~5、8~10 为首次从该菌中分离得到。

关键词: 尖海龙; 共附生真菌; *Talaromyces amestolkiae*; 次生代谢产物; 分离鉴定

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2023)12-3994-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.12.023

收稿日期: 2023-01-31

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81973460); 四川省重点研发项目(2021YFN0134)

作者简介: 雷力荣(1999—), 女, 硕士生, 从事中药化学研究。Tel: 13880720429, E-mail: llrllr1999@163.com

*通信作者: 邓赞(1975—), 男, 博士, 研究员, 从事中药化学、中药分析研究。Tel: 13208177492, E-mail: dengyun@cdutcm.edu.cn

Secondary metabolites from symbiotic fungi *Talaromyces amestolkiae* of *Syngnathus acus*

LEI Li-rong, JIN Meng-ying, GUO Da-le, DENG Yun*

(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT: AIM To study the secondary metabolites from symbiotic fungi *Talaromyces amestolkiae* of *Syngnathus acus* Linnaeus. **METHODS** The methanol extract from *Talaromyces amestolkiae* fermentation was isolated and purified by silica gel, Sephadex LH-20, TLC and preparative HPLC, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. **RESULTS** Ten compounds were isolated and identified as 2, 4-bis (1, 1-dimethylethyl) benzeneethanol (**1**), aspergillumarins A (**2**), penicisocoumarins H (**3**), 2- (2-hydroxypropyl) -5-methyl-7-hydroxychromone (**4**), 6-demethylvermistatin (**5**), penicimarins B (**6**), penicimarins C (**7**), 8-hydroxy-6-methoxy-3-methylisocoumarin (**8**), polygonolide (**9**), ganoderpurine (**10**). **CONCLUSION** Compound **1** is a new natural product. Compounds **3-5**, **8-10** are isolated from this fungi for the first time.

KEY WORDS: *Syngnathus acus* Linnaeus; symbiotic fungi; *Talaromyces amestolkiae*; secondary metabolites; isolation and identification

海洋中药是传统中药组成的一部分,其药性以寒、凉、平为主,药味以咸、甘为主,常归为肝经,以沉降为主。海洋中药多具有清热解毒、消肿止痛、软坚散结、化痰止咳的功效,还有补虚作用,包括滋阴补血、补气助阳^[1]。海洋共附生真菌与宿主共生互利,协同进化,对于维护宿主正常的生理功能有重要的作用。同时海洋资源丰富,特殊环境拥有特别的价值,能从中发现活性化合物。尖海龙是海龙的基原之一,具有温肾壮阳、散结消肿的功效,用于肾阳不足、阳痿遗精、癥瘕积聚、瘰疬痰核、跌扑损伤^[2]。*Talaromyces amestolkiae*属于真菌门子囊菌亚门不整子囊纲散囊目发菌科篮状菌属,其次生代谢产物研究较少,主要含有杂萜、聚酮、香豆素、吡喃酮、苯并呋喃等化合物,具有抗炎、抗菌等活性^[3-6]。课题组前期对尖海龙共附生真菌 *Talaromyces amestolkiae* 次生代谢产物进行研究,从中分离得到9个化合物^[7]。本研究继续深入,得到10个化合物,其中化合物**1**为新的天然产物,化合物**3~5**、**8~10**为首次从该菌中分离。

1 材料

Q Exactive UHMR 复合四极杆-轨道阱质谱仪(美国赛默飞世尔公司); Bruker Bruker-Ascend-700-MHz 核磁共振仪、Bruker Bruker-Ascend-600-MHz 核磁共振仪(德国 Bruker 公司); NP7000 半制备高效液相色谱仪、NU3000 紫外检测器(江苏汉邦科技股份有限公司); SL302N 电子天平(上

海民桥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 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(上海宝山顾村电光仪器厂); ChromCore PFP 色谱柱(10 mm×250 mm, 5 μm)[纳谱分析技术(苏州)有限公司]; Pack ODS-A 色谱柱(250 mm×10 mm, 5 μm, 日本 YMC 公司); MCI (75~150 μm, 日本三菱公司); Sephadex LH-20(美国 GE 公司); 柱层析硅胶(200~300目)、薄层层析硅胶板(5 cm×10 cm)(青岛海洋化工有限公司)。三氯甲烷、丙酮、石油醚、乙酸乙酯、甲醇(分析纯,成都市科隆化学品有限公司)。葡萄糖(成都市科隆化学品有限公司); 蛋白胨(北京奥博星生物技术有限责任公司); 酵母提取粉(北京奥博星生物技术有限责任公司); 磷酸二氢钠(北京索莱宝科技有限公司); 琼脂(上海盛思生化科技有限公司)。

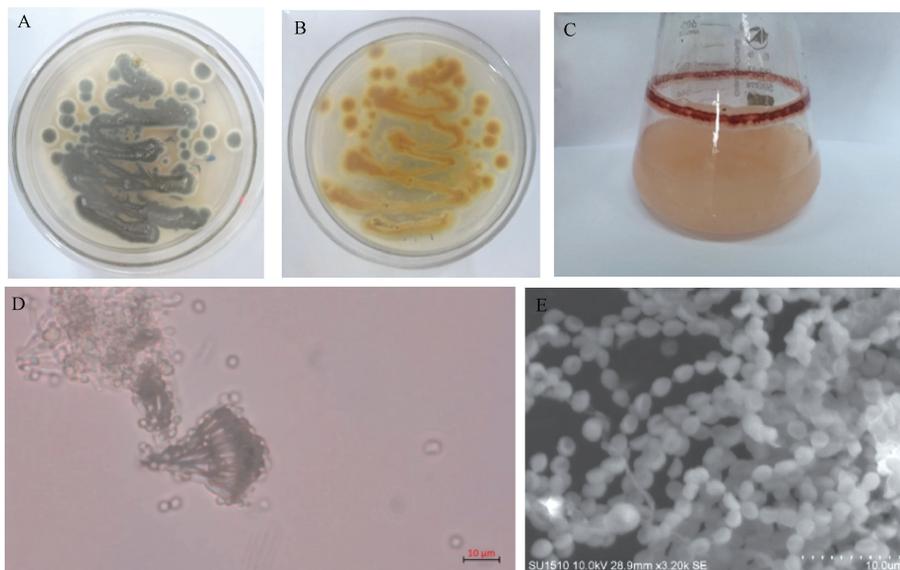
尖海龙于2018年9月采集于海南省陵水黎族自治县,由成都中医药大学王光志副教授鉴定为尖海龙 *Syngnathus acus* Linnaeus。

2 方法

2.1 菌种的获得 从尖海龙中分离得到一株内生菌,菌落一开始呈黄色,1周后慢慢变成灰绿色,在 M1 培养基(葡萄糖 10 g/L、蛋白胨 2 g/L、酵母提取粉 1 g/L、磷酸二氢钠 1 g/L、琼脂 15~20 g/L)培养1周后,菌落直径为1~2 cm,表面

粗糙,边界呈规则圆状,中间凸起,背部中间为黄色,周围为白色,无凸起^[8],见图1。*Talaromyces amestolkiae* 菌种由生工生物工程(上海)股份有限

公司鉴定完成(GenBank 登录号 DQ513513, 序列号 MH856395.1),现保存于成都中医药大学药学院生化制药实验室。



注: A~B 分别为 *Talaromyces amestolkiae* 接种至 M1 半固体培养基在 30 ℃ 培养 7 d 后培养基的正、反面; C 为 *Talaromyces amestolkiae* 接种至 M1 液体培养基在 30 ℃、120 r/min 培养 7 d; D~E 为孢子。

图 1 *Talaromyces amestolkiae* (CBS 365.48) 的形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of *Talaromyces amestolkiae* (CBS 365.48)

2.2 菌种的扩培 将获得的菌种接种 *Talaromyces amestolkiae* 接种于 M1 培养基中(250 mL 锥形瓶,每瓶 100 mL 培养基),30 ℃ 下 120 r/min 振荡培养得到发酵液,吸取 5 mL 至糙米固体培养基^[9](绿糙米 50 g、纯水 50 mL、5% 人造海水、蛋白胨 2 g)中,共 180 瓶,室温下静态发酵 30 d。

3 提取与分离

将发酵瓶中的发酵物用筷子搅拌疏松,加入甲醇没过发酵物,浸泡 1 d,取出发酵物置于烧杯中,超声处理 20 min,倒入带有开关阀门的铁桶中,盖上盖子,浸泡 2 d,收集滤液,取出发酵物放于烧杯中,加入甲醇,重复上述操作。将 2 次收集的滤液合并浓缩至流浸膏状态,加水活化,再加入等量乙酸乙酯,萃取 3 次,得到浸膏 65 g。浸膏(65 g)经硅胶柱,以石油醚-丙酮(100:0~1:9)梯度洗脱,TLC 检识合并,得到 Fr. 1~Fr. 27。Fr. 12 经 Sephadex LH-20 凝胶柱,以三氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,TLC 检识合并,得到 Fr. 12-1~Fr. 12-4。Fr. 12-1 经制备 HPLC 纯化,以 90% 甲醇洗脱,得到化合物 1 ($t_R = 12.5$ min, 3.42 mg)。Fr. 12-2 经制备 HPLC 纯化,以 60% 甲醇洗脱,得到化合物 2 ($t_R = 14.5$ min, 13.6 mg)。Fr. 20 经 Sephadex LH-20 凝胶柱,以三氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,TLC 检

识合并,得到 Fr. 20-1~Fr. 20-14。Fr. 20-5 经中压 C_{18} 柱,以甲醇-水(10:90~90:10)梯度洗脱,得到 Fr. 20-5-1~Fr. 20-5-8。Fr. 20-5-5 经制备 HPLC 纯化,以 43% 甲醇洗脱,得到化合物 3 ($t_R = 39.0$ min, 10.72 mg)。Fr. 20-6 经中压 MCI 柱,以甲醇-水(20:80~90:10)梯度洗脱,得到 Fr. 20-6-1~Fr. 20-6-14。Fr. 20-6-2 经制备 HPLC 纯化,以 13% 甲醇洗脱,得到化合物 4 ($t_R = 39.0$ min, 9.84 mg)。Fr. 20-6-5~Fr. 20-6-10 合并,经硅胶柱,得到 Fr. 20-6-5-1~Fr. 20-6-5-22。Fr. 20-6-5-7 经制备 HPLC 纯化,以甲醇洗脱,得到化合物 5 ($t_R = 15.9$ min, 1.8 mg)。Fr. 21 经 Sephadex LH-20 凝胶柱,以三氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,TLC 检识合并,得到 Fr. 21-1~Fr. 21-19。Fr. 21-5 经制备 HPLC 纯化,以 45% 甲醇洗脱,得到化合物 6 ($t_R = 21.0$ min, 1 mg)。Fr. 21-6 经中压 C_{18} 柱,以甲醇-水(70:30~90:10)梯度洗脱,得到 Fr. 21-6-1~Fr. 21-6-7。Fr. 21-6-1 与 Fr. 21-6-2 合并,经 Sephadex LH-20 凝胶柱,以甲醇洗脱,TLC 检识合并,得到 Fr. 21-6-1-1~Fr. 21-6-1-9。Fr. 21-6-1-3 经制备 HPLC 纯化,以 45% 甲醇洗脱,得到化合物 7 ($t_R = 20.0$ min, 11.11 mg)。Fr. 21-6-1-7 经制备 HPLC 纯化,以 50% 甲醇洗脱,得到化合物 8

($t_R = 17.0$ min, 1.18 mg)、**9** ($t_R = 26.0$ min, 1.11 mg)。Fr. 23 经 Sephdex LH-20 凝胶柱, 以三氯甲烷-甲醇 (1 : 1) 洗脱, TLC 检识合并, 得到 Fr. 23-1 ~ Fr. 23-19。Fr. 23-10 经制备 HPLC 纯化, 以 27% 甲醇洗脱, 得到化合物 **10** ($t_R = 27.0$ min, 8 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色固体。 $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, CD_3OD) δ : 7.48 (1H, s, H-3), 7.29 (1H, dd, $J = 8.5, 2.5$ Hz, H-5), 7.18 (1H, dd, $J = 8.5, 1.0$ Hz, H-6), 4.97 (1H, m, H-1'), 4.85 (1H, m, H-1'), 4.57 (1H, m, H-2'), 4.49 (1H, m, H-2'), 1.46 (9H, s, H-4'), 1.33 (9H, s, H-6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (175 MHz, CD_3OD) δ : 149.7 (C-4), 148.8 (C-2), 140.6 (C-1), 126.2 (C-6), 125.8 (C-3), 120.6 (C-5), 71.7 (C-2'), 38.1 (C-1'), 36.2 (C-3'), 35.9 (C-5'), 32.2 (C-4'), 31.2 (C-6')。以上数据与文献 [9] 报道基本一致, 故鉴定为 2, 4-bis (1, 1-dimethylethyl) benzeneethanol。

化合物 **2**: 棕色油状物, ESI-MS m/z : 249 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, CD_3OD) δ : 7.46 (1H, dd, $J = 8.4, 7.4$ Hz, H-6), 6.85 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 6.79 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-5), 4.62 (1H, m, H-3), 2.91 ~ 3.05 (2H, m, H-4), 2.60 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, H-3'), 2.17 (3H, s, H-5'), 1.83 (2H, m, H-1'), 1.75 (2H, m, H-2'); $^{13}\text{C-NMR}$ (175 MHz, CD_3OD) δ : 211.2 (C-4'), 171.3 (C-1), 163.1 (C-8), 141.4 (C-10), 137.3 (C-6), 119.2 (C-5), 116.6 (C-7), 109.3 (C-9), 81.0 (C-3), 43.5 (C-3'), 34.9 (C-4), 33.5 (C-1'), 29.7 (C-5'), 20.0 (C-2')。以上数据与文献 [10] 报道基本一致, 故鉴定为 aspergillumarins A。

化合物 **3**: 无色油状, HR-ESI-MS m/z : 267 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.56 (1H, dd, H-6), 7.06 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-5), 6.92 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 4.62 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-4), 4.43 (1H, m, H-3), 3.74 (1H, m, H-4'), 1.87 (2H, m, H-1'), 1.68 (2H, m, H-2'), 1.47 (2H, m, H-3'), 1.16 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-5'); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 170.2 (C-1), 162.9 (C-8), 144.2 (C-4a), 137.8 (C-6), 117.9 (C-5), 117.8 (C-

7), 108.0 (C-8a), 85.2 (C-3), 68.3 (C-4), 68.1 (C-4'), 39.8 (C-3'), 32.8 (C-1'), 23.5 (C-5'), 22.4 (C-2')。以上数据与文献 [11] 报道基本一致, 故鉴定为 peniciliisocoumarins H。

化合物 **4**: 棕色粉末, ESI-MS m/z : 233 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.61 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.59 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 6.02 (1H, s, H-3), 4.18 (1H, m, H-2), 2.67 (3H, s, $-\text{CH}_3$), 2.61 (2H, m, H-1), 1.24 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, $-\text{CH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 182.4 (C-4), 167.5 (C-2), 163.6 (C-7), 161.9 (C-9), 144.1 (C-5), 118.5 (C-3), 116.2 (C-10), 112.9 (C-6), 102.1 (C-8), 66.8 (C-2), 44.6 (C-1), 23.9 ($-\text{CH}_3$), 23.6 ($-\text{CH}_3$)。以上数据与文献 [12] 报道基本一致, 故鉴定为 2- (2-hydroxypropyl) -5-methyl-7-hydroxychromone。

化合物 **5**: 黄色固体, ESI-MS m/z : 314 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, CD_3OD) δ : 7.95 (1H, s, H-2'), 6.83 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-7), 6.76 (1H, dq, $J = 7.0, 15.4$ Hz, H-2''), 6.74 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-5), 6.30 (1H, s, H-3), 6.26 (1H, dq, $J = 1.4, 15.4$ Hz, H-1''), 6.20 (1H, s, H-5''), 3.81 (3H, s, H-8), 1.94 (3H, dd, $J = 7.0, 1.4$ Hz, H-3''); $^{13}\text{C-NMR}$ (175 MHz, CD_3OD) δ : 180.3 (C-4'), 172.8 (C-1), 165.2 (C-6'), 162.9 (C-6), 157.6 (C-2'), 157.0 (C-4), 138.6 (C-2''), 130.7 (C-7a), 127.3 (C-3a), 124.6 (C-3'), 124.3 (C-1''), 113.6 (C-5'), 106.2 (C-5), 103.4 (C-7), 76.4 (C-3), 56.7 (C-8), 19.0 (C-3'')。以上数据与文献 [13] 报道基本一致, 故鉴定为 6-demethylvermistatin。

化合物 **6**: 无色油状物, ESI-MS m/z : 265 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (700 MHz, CD_3OD) δ : 7.54 (1H, dd, $J = 8.5, 7.5$ Hz, H-6), 7.06 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7), 6.91 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-5), 4.44 (1H, m, H-3), 3.90 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.75 (1H, m, H-4'), 2.98 (1H, dd, $J = 16.8, 3.5$ Hz, H-4), 2.91 (1H, dd, $J = 16.1, 11.9$ Hz, H-4), 1.83 (1H, m, H-1'), 1.72 (1H, m, H-1'), 1.59 (2H, m, H-2'), 1.49 (2H, m, H-3'), 1.17 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-5'); $^{13}\text{C-NMR}$ (175 MHz, CD_3OD) δ : 165.2

(C-1), 162.2 (C-8), 143.6 (C-4a), 136.1 (C-6), 120.4 (C-5), 114.0 (C-8a), 111.9 (C-7), 79.5 (C-3), 68.1 (C-4'), 56.2 (-OCH₃), 39.6 (C-3'), 35.5 (C-1'), 34.7 (C-4), 23.3 (C-5'), 22.1 (C-2')。以上数据与文献 [14] 报道基本一致, 故鉴定为 penicimarin B。

化合物 7: 棕色油状, ESI-MS m/z : 281 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.13 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-6), 6.87 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5), 4.42 (1H, m, H-3), 3.96 (3H, s, -OCH₃), 3.82 (1H, m, H-4'), 2.86 (1H, dd, J = 15.9, 11.2 Hz, H-4), 2.81 (1H, dd, J = 16.0, 3.2 Hz, H-4), 1.86 (1H, m, H-1'), 1.70 (1H, m, H-1'), 1.60 (2H, m, H-2'), 1.50 (2H, m, H-3'), 1.20 (3H, d, J = 6.2 Hz, H-5'); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 162.8 (C-1), 149.0 (C-7), 148.6 (C-8), 132.2 (C-4a), 123.1 (C-5), 120.5 (C-6), 117.5 (C-8a), 78.8 (C-3), 68.0 (C-4'), 62.5 (-OCH₃), 39.0 (C-3'), 34.8 (C-1'), 33.7 (C-4), 23.7 (C-5'), 21.4 (C-2')。以上数据与文献 [14] 报道基本一致, 故鉴定为 penicimarin C。

化合物 8: 无色油状, ESI-MS m/z : 207 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.42 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-7), 6.28 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-5), 6.20 (1H, s, H-4), 3.86 (3H, s, 6-OCH₃), 2.17 (3H, d, J = 0.9 Hz, 3-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 167.6 (C-1), 165.5 (C-6), 162.8 (C-8), 156.5 (C-3), 144.4 (C-4a), 105.4 (C-4), 104.4 (C-8a), 101.9 (C-5), 100.2 (C-7), 56.7 (6-OCH₃), 19.6 (C-9)。以上数据与文献 [15] 报道基本一致, 故鉴定为 8-hydroxy-6-methoxy-3-methylisocoumarin。

化合物 9: 白色固体, HR-ESI-MS m/z : 221 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.48 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-5), 6.46 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-7), 3.88 (3H, s, -OCH₃), 2.24 (3H, s, H-9), 2.06 (3H, s, H-10); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 166.6 (C-1), 165.3 (C-6), 162.1 (C-8), 151.6 (C-3), 144.6 (C-4), 108.7 (C-4a), 102.0 (C-8a), 101.6 (C-5), 99.2 (C-7), 56.2 (-OCH₃), 17.1 (C-9), 12.7 (C-10)。以上数据与文献 [16] 报道基本一致,

故鉴定为 polygonolide。

化合物 10: 棕色油状, HR-ESI-MS m/z : 234 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.16 (1H, s, H-8), 8.15 (1H, s, H-2), 3.56 (2H, s, H- β), 1.96 (3H, s, H- δ), 1.82 (6H, s, H- β'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 208.5 (C- γ), 157.6 (C-6), 153.1 (C-2), 151.4 (C-4), 141.6 (C-8), 121.4 (C-5), 59.3 (C- α), 51.8 (C- β), 31.4 (C- δ), 28.2 (C- β')。以上数据与参考文献 [17] 报道基本一致, 故鉴定为灵芝嘌呤。

4 讨论

本研究对尖海龙共附生真菌 *Talaromyces amestolkiae* 固体发酵产物进行分离纯化, 共得到 10 个化合物。其中化合物 1 为新的天然产物, 化合物 2~4、6~9 为香豆素类, 区别在于取代基不同, 化合物 5 为聚酮类, 化合物 10 为含氮化合物。除化合物 2、6~7 外, 其余化合物均为首次从中分离得到。经查阅文献发现, 化合物 2 表现出 α -葡萄糖苷酶抑制作用, IC₅₀ 值为 38.1 μ mol/L^[6]。化合物 3 对 *Helicoverpa armigera* Hubner 初孵幼虫有生长抑制作用^[11]。化合物 5 对 PANC-1 细胞系具有一定的细胞毒性^[18]。化合物 6~7 对 *Candida albicans*、*Staphylococcus epidermidis*、*Bacillus subtilis*、*Escherichia coli* 有抑菌作用, MIC 值在 50~100 μ g/mL 之间^[19]。化合物 8 对 *Bacillus subtilis*、*Agrobacterium tumefaciens*、*Xanthomonas vesicatoria* 有一定的抑制作用, MIC 值分别为 25、75、25 μ g/mL^[20]。化合物 9 有一定的抗炎作用^[21]。本研究丰富了 *Talaromyces amestolkiae* 次生代谢产物的种类, 为其产生的活性物质研究提供参考, 也为开发海洋中药的次生代谢产物提供研究基础。

参考文献:

- [1] 李松梅. 藏在海里的中药秘宝[J]. 中医健康养生, 2021, 7(12): 76-78.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [3] Fu Y M, Li C H, Zhu J, et al. A new meroterpenoid from endophytic fungus *Talaromyces amestolkiae* CS-O-1 [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2020, 93: 104186.
- [4] El-Elimat T, Figueroa M, Raja H A, et al. Coumarins, dihydroisocoumarins, a dibenzo- α -pyrone, a meroterpenoid, and a merodrimane from *Talaromyces amestolkiae* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2021, 72: 153067.
- [5] Chen S H, Ding M, Liu W Y, et al. Anti-inflammatory meroterpenoids from the mangrove endophytic fungus

- Talaromyces amestolkiae* YX1 [J]. *Phytochemistry*, 2018, 146: 8-15.
- [6] Chen S H, Liu Y Y, Liu Z M, *et al.* Isocoumarins and benzofurans from the mangrove endophytic fungus *Talaromyces amestolkiae* possess α -glucosidase inhibitory and antibacterial activities[J]. *RSC Adv*, 2016, 6(31): 26412-26420.
- [7] 金梦莹, 陈金凤, 曹钰镁, 等. 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.
- [8] Lei L R, Gong L Q, Jin M Y, *et al.* Research advances in the structures and biological activities of secondary metabolites from *Talaromyces*[J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 984801.
- [9] 韦建华, 莫惠雯, 蒙秋艳, 等. 壮药龙脷叶化学成分研究(II)[J]. *中草药*, 2016, 47(20): 3560-3564.
- [10] Li S D, Wei M Y, Chen G Y, *et al.* Two new dihydroisocoumarins from the endophytic fungus *Aspergillus* sp. collected from the south China sea [J]. *Chem Nat Compd*, 2012, 48(3): 371-373.
- [11] Bai M, Zheng C J, Huang G L, *et al.* Bioactive meroterpenoids and isocoumarins from the mangrove-derived fungus *Penicillium* sp. TGM112 [J]. *J Nat Prod*, 2019, 82(5): 1155-1164.
- [12] Gao L, Xu X, Yang J. Chemical constituents of the roots of *Rheum officinale*[J]. *Chem Nat Compd*, 2013, 49(4): 603-605.
- [13] Xia X K, Liu F, She Z G, *et al.* ¹H and ¹³C-NMR assignments for 6-demethylvermistatin and two penicillide derivatives from the mangrove fungus *Guignardia* sp. (No. 4382) from the South China Sea [J]. *Magn Reson Chem*, 2008, 46(7): 693-696.
- [14] Qi J, Shao C L, Li Z Y, *et al.* Isocoumarin derivatives and benzofurans from a sponge-derived *Penicillium* sp. fungus [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(4): 571-579.
- [15] 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): 833-835.
- [16] Furuta T, Fukuyama Y, Asakawa Y. Polygonolide, an isocoumarin from polygonum hydropiper possessing anti-inflammatory activity [J]. *Phytochemistry*, 1986, 25(2): 517-520.
- [17] 余竞光, 陈若芸, 姚志熙, 等. 薄盖灵芝化学成分的研究IV. 灵芝碱甲、灵芝碱乙和灵芝嘌呤的化学结构[J]. *药学报*, 1990, 25(8): 612-616.
- [18] Liu W H, Zhao H, Li R Q, *et al.* Polyketides and meroterpenoids from *Neosartorya glabra* [J]. *Helv Chim Acta*, 2015, 98(4): 515-519.
- [19] Xu G B, Yang F Y, Wu X Y, *et al.* Two new dihydroisocoumarins with antimicrobial activities from the fungus *Penicillium* sp. XR046 collected from Xinren coal area [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(9): 1445-1451.
- [20] Lai D W, Li J, Zhao S J, *et al.* Chromone and isocoumarin derivatives from the endophytic fungus *Xylomelasma* sp. Samif07, and their antibacterial and antioxidant activities [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(22): 4616-4620.
- [21] Kim J W, Choi H G, Song J H, *et al.* Bioactive secondary metabolites from an endophytic fungus *Phoma* sp. PF2 derived from *Artemisia princeps* pamp [J]. *J Antibiot*, 2019, 72(3): 174-177.