

# 1株药用红树内生真菌 *Talaromyces flavus* TGGP34 次级代谢产物及其活性研究

蔡瑾<sup>#</sup>, 王林祥<sup>#</sup>, 张子怡, 李姗姗, 陈敏静, 罗运展, 郑彩娟<sup>\*</sup>

(海南师范大学热带药用资源化学教育部重点实验室, 化学与化工学院, 海南海口 571158)

**摘要:** 目的 研究1株药用红树老鼠簕 (*Acanthus ilicifolius* L.) 来源内生真菌篮状菌属的 *Talaromyces flavus* TGGP34 的次级代谢产物及其抗菌活性。方法 利用正相硅胶柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱层析、半制备高效液相色谱 (HPLC) 等色谱分离方法, 对 TGGP34 发酵产物的乙酸乙酯粗浸膏进行系统分离纯化; 利用核磁共振波谱 (NMR)、质谱 (MS) 等方法并结合文献报道数据确定化合物结构, 并对其抗菌活性进行测定。结果 从内生真菌 *T. flavus* TGGP34 中分离得到9个化合物, 包括4个甾醇类化合物  $\beta$ -sitosterol (1)、24-methylcholesta-7,22-diene-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (2)、3 $\beta$ ,15 $\beta$ -dihydroxyl-(22*E*,24*R*)-ergosta-5,8(14),22-trien-7-one (3)、ganodermaside B (4), 3个内酯类化合物 dehydroisopenicillide (5)、penicillide (6)、purpactin A (7), 2个二酮哌嗪类化合物 cyclo-(*S*-Pro-*R*-Val)(8) 和 cyclo-(*L*-Pro-*L*-Leu)(9), 其中化合物3对3株致病菌金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) 和白色念珠菌 (*Candida albicans*) 表现出明显的抑制活性, 其 MIC 值分别为 12.5、12.5 和 6.25  $\mu$ g/mL。结论 化合物1~4为首次从篮状菌属 (*Talaromyces* sp.) 中分离得到; 化合物3具有显著的抗菌活性, 具有重要的研究和潜在开发价值。

**关键词:** 内生真菌; *Talaromyces flavus*; 次级代谢产物; 抗菌活性

中图分类号: R931.77

文献标志码: A

文章编号: 1002-3461(2021)06-037-07

## Study on the secondary metabolites and bioactivities of a medicinal mangrove endophytic fungus *Talaromyces flavus* TGGP34

CAI Jin<sup>#</sup>, WANG Lin-xiang<sup>#</sup>, ZHANG Zi-yi, LI Shan-shan, CHEN Min-jing,

LUO Yun-zhan, ZHENG Cai-juan<sup>\*</sup>

(Key Laboratory of Tropical Medicinal Resource Chemistry of Ministry of Education, College of Chemistry and Chemical Engineering, Hainan Normal University, Haikou 571158, China)

**Abstract: Objective** To study the secondary metabolites and biological activities of the endophytic fungus *Talaromyces flavus* TGGP34 derived from *Acanthus ilicifolius* L. **Methods** The isolated compounds were separated by normal phase silica gel, Sephadex LH-20, semi-preparative HPLC column chromatography, thin layer chromatography and so on. And their structures were identified by 1D NMR, MS, other spectral analysis methods and comparison with literature data. They were also tested for their antibacterial activity. **Results** Nine known compounds were isolated from the endophytic fungus *T. flavus* TGGP34, including four sterols  $\beta$ -sitosterol (1), 24-methylcholesta-7,22-diene-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (2), 3 $\beta$ ,15 $\beta$ -dihydroxyl-(22*E*,24*R*)-ergosta-5,8(14), 22-trien-7-one (3), ganodermaside B (4), three lactones dehydroisopenicillide (5), penicillide (6),

基金项目: 海南省重点研发计划项目 (ZDYF2019183); 海南省自然科学基金项目 (218MS045) 资助

<sup>#</sup> 共同第一作者简介: 蔡瑾 (1997-), 女, 硕士研究生; 王林祥 (1998-), 男, 本科生。

<sup>\*</sup> 通讯作者: 郑彩娟, 女, 教授, 博士生导师。Tel: 0898-65889422; E-mail: caijuan2002@ouc.edu.cn

收稿日期: 2021-02-22

purpactin A (7), and two diketopiperazines cyclo-(*S*-Pro-*R*-Val) (8) and cyclo(*L*-Pro-*L*-Leu) (9). Compound 3 showed antibacterial activity against three pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Candida albicans*, with the MIC values of 12.5, 12.5 and 6.25 $\mu$ g/mL, respectively. **Conclusion** Compounds 1~4 were isolated from the genus *Talaromyces* sp. for the first time, and compound 3 showed significant antibacterial activity, and had important research and potential development value.

**Key words:** endophytic fungus; *Talaromyces flavus*; secondary metabolites; antibacterial activity

红树植物生长于高盐、强光照等特殊环境, 且其根部易遭受海水周期性浸淹呈现出缺氧状态, 使其体内的内生真菌拥有独特的遗传背景和代谢途径, 从而能够产生结构新颖和生物活性显著的化学成分。因此, 从红树植物内生真菌中分离的活性化合物具有极大的药用价值和潜在开发价值<sup>[1-4]</sup>。篮状菌属 (*Talaromyces* sp.) 内生真菌可以代谢出结构新颖且生物活性优良的次级代谢产物, 如具有抗乙型副伤寒杆菌 (*Bacterium paratyphosum* B) 抑制活性的新型呋喃二萜 pinophicin A 和新的多烯醇型类化合物 pinophol A<sup>[5]</sup>、具有抗伪狂犬病病毒 (*Pseudorabies virus*) 的多环混源萜类化合物 talaromyolides E~K<sup>[6]</sup>、具

有抗炎活性的新型环戊酮类化合物 talarocyclopenta A 和新型衣康酸类化合物 talarocyclopentas B~C 等<sup>[7]</sup>。为从 *Talaromyces* 属中分离获得更多生物活性的次级代谢产物, 本研究从 1 株来源于药用红树老鼠簕 (*Acanthus ilicifolius* L.) 的内生真菌 *Talaromyces flavus* TGGP34 中分离得到 9 个化合物 (1~9), 结构分别鉴定为:  $\beta$ -sitosterol (1)、24-methylcholesta-7,22-diene-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (2)、3 $\beta$ ,15 $\beta$ -dihydroxyl-(22*E*,24*R*)-ergosta-5,8(14),22-trien-7-one (3)、ganodermaside B (4)、dehydroisopenicillide (5)、penicillide (6)、purpactin A (7)、cyclo-(*S*-Pro-*R*-Val) (8) 和 cyclo-(*L*-Pro-*L*-Leu) (9)。化合物 1~9 的结构见图 1。

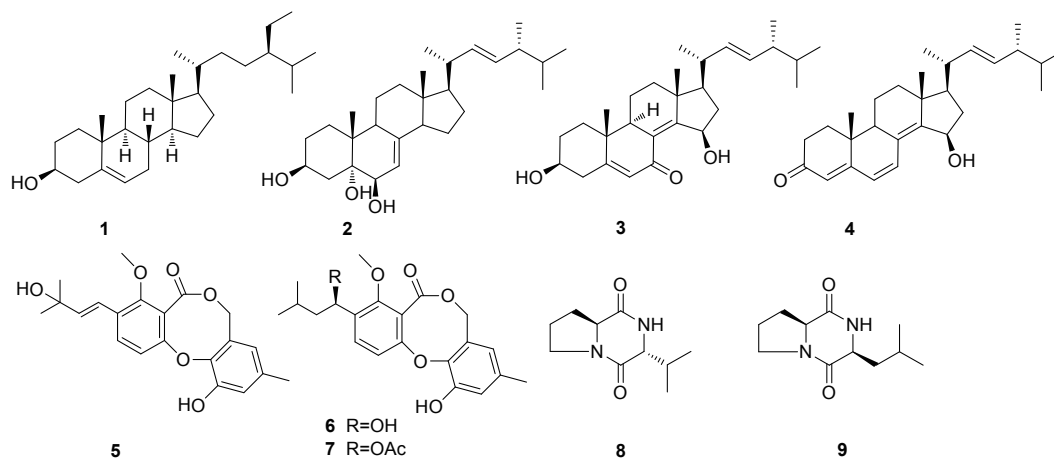


图 1 化合物 1~9 的化学结构

Fig.1 Structures of compounds 1~9

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

G6300-液质联用仪, Agilent 1100 分析型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); Bruker AV-400 MHz 超导核磁共振仪 (瑞士 Bruker 公司); EYELAN-100 旋转蒸发仪 (日本东京理化有限公司); 紫外线分析暗箱 (武汉药科新技术开发有限公司); 恒温水浴锅 B-220 (上海亚荣生化仪器厂);

恒温摇床 OLB-100C (山东欧莱博智能制造有限公司); 全波长多功能酶标仪 (美国 Bio Tek 公司); PCR 仪 PowerCycle (德国耶拿分析仪器股份公司); 伯乐 BIO-RADXR 凝胶成像分析系统 (美国伯乐公司); 超声波细胞破碎仪 JY-1000Y (上海乔跃电子有限公司); 超净工作台 (苏州市苏净公司); Sephadex LH-20 凝胶柱 (Amersham Biosciences 公司); 薄层色谱硅胶 GF254 和柱色谱硅胶 (青岛海

洋化工厂)。

环丙沙星(批号:85721-33-1,北京百灵威科技有限公司);实验操作过程中所使用的甲醇、乙酸乙酯、石油醚、氯仿、二甲基亚砜(批号:108-95-2)等常规化学试剂(广州西陇化工股份有限公司)。

## 1.2 菌株的分离与筛选

### 1.2.1 菌株来源

药用红树老鼠簕(*Acanthus ilicifolius* L.)采自海南东寨港国家级自然保护区,经海南省林业科学研究院高级工程师钟才荣鉴定,从药用红树老鼠簕的根部位分离、鉴定、筛选出1株拟名为TGGP34的菌株;并通过18S rRNA扩增和ITS测序,根据真菌的形态特征和分子生物学方法鉴定该真菌;该序列数据已提交给GenBank,登录号为OL862279,该菌株被鉴定为*Talaromyces flavus*。菌种现保存于海南师范大学化学与化工学院热带药用资源化学教育部重点实验室(PDA培养基,4℃保存)。

### 1.2.2 菌株的培养

菌株*T. flavus* TGGP34经过活化后,分别接种到2瓶马铃薯液体培养基(100 mL/500 mL)中以获得种子培养液,28℃恒温摇床上震荡培养72 h。然后将总共200 mL种子培养液转移到总数为20瓶固体大米培养基中(每个1 L锥形瓶中含有40 mL大米和50 mL海水),28℃静置培养30 d。

### 1.3 提取与分离

将大米发酵物用搅拌机打碎,用乙酸乙酯进行萃取4次,收集4次总萃取液用旋转蒸发仪减压浓缩,得到总质量为9.46 g的初始浸膏。随后将浸膏进行正相硅胶柱梯度洗脱(100~200目),用石油醚-EtOAc(体积比,梯度100:0→0:100)和EtOAc-MeOH(体积比,梯度100:0→0:100)分成7个组分(Fr.A~G)。Fr.B(1.5 g)通过正相硅胶柱进行柱层析洗脱(200~300目),使用石油醚-EtOAc梯度洗脱进行分离(体积比9:0→2:8),通过TLC分析为9个组分(Fr.B1~B9)。Fr. B6(0.8 g)进行Sephadex LH-20凝胶柱层析(体积比,石油醚-CHCl<sub>3</sub>-MeOH,2:1:1),然后进行半制备HPLC分析制备,得到化合物1(10.4 mg)、2(7.3 mg)和4(8.7 mg)。Fr.D(2.1 g)经Sepha-

dex LH-20凝胶柱洗脱(CHCl<sub>3</sub>-MeOH,体积比1:1),得到5个组分(Fr.D1~D5)。Fr.D3(1.3 g)使用正相硅胶(200~300目)梯度洗脱(石油醚-EtOAc体积比8:1→0:1),再进一步通过半制备型HPLC纯化,得到化合物3(8.5 mg)和5(11.7 mg)。组分Fr.E(1.1 g)用正相硅胶柱(200~300目)梯度洗脱(石油醚-EtOAc,体积比,梯度5:1→0:1),得到3个组分(Fr.E1~E3)。Fr.E2(0.5 g)进行Sephadex LH-20凝胶柱洗脱和半制备HPLC分析制备,得到化合物6(11.4 mg)、7(10.2 mg)、8(9.7 mg)和9(10.5 mg)。

### 1.4 抗菌活性测试

采用96孔板微量稀释法,对化合物1~9进行8种致病菌株的抗菌活性筛选,具体实验方法参考文献[8]。致病菌株分别为:金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、白色葡萄球菌(*Staphylococcus albus*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)、溶藻弧菌(*V. alginolyticus*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*),以环丙沙星为阳性对照,二甲基亚砜(DMSO)为阴性对照,使用酶标仪测试630 nm波长处的吸光度,获得化合物的最小抑菌浓度(MIC)<sup>[9]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 化合物结构鉴定结果

化合物1:白色粉末状。阳离子ESI-MS在*m/z* 415.4处给出准分子离子峰[M+H]<sup>+</sup>,推测相对分子质量为414.0,结合<sup>1</sup>H和<sup>13</sup>C NMR波谱数据,推断其分子式为C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O,不饱和度为5。核磁共振波谱数据:<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>H</sub> 0.75(3H, s, H-18), 0.82(3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-27), 0.84(3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-26), 0.91(3H, t, *J* = 7.4 Hz, H-29), 0.93(3H, d, *J* = 6.7 Hz, H-21), 0.99(3H, s, H-19), 1.14(1H, m, H-24), 1.23(1H, m, H-8), 1.24(1H, m, H-9), 1.26(1H, m, H-14), 1.27(2H, m, H-1), 1.31(2H, m, H-28), 1.34(2H, m, H-2), 1.35(2H, m, H-11), 1.37(1H, m, H-20), 1.38(2H, m, H-12), 1.72(2H, m,

H-15), 1.73 (2H, m, H-16), 1.75 (2H, m, H-23), 1.76 (2H, m, H-22), 1.77 (2H, m, H-7), 1.78 (1H, m, H-17), 2.15 (2H, m, H-4), 2.17 (1H, m, H-25), 3.55 (1H, m, H-3), 5.36 (1H, m, H-6);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{C}}$  140.9 (C, C-5), 121.8 (CH, C-6), 71.9 (CH, C-3), 57.9 (CH, C-17), 56.2 (CH, C-14), 50.3 (CH, C-9), 46.0 (CH, C-24), 42.4 (C, C-13), 42.1 ( $\text{CH}_2$ , C-4), 39.9 ( $\text{CH}_2$ , C-12), 37.4 ( $\text{CH}_2$ , C-1), 36.3 (C, C-10), 35.7 (CH, C-20), 34.1 ( $\text{CH}_2$ , C-22), 32.0 (CH, C-8), 31.9 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 31.8 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 29.8 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 29.3 (CH, C-25), 28.4 ( $\text{CH}_2$ , C-16), 24.4 ( $\text{CH}_2$ , C-23), 23.2 ( $\text{CH}_2$ , C-15), 21.2 ( $\text{CH}_2$ , C-28), 20.2 ( $\text{CH}_3$ , C-18), 19.9 ( $\text{CH}_2$ , C-11), 19.5 ( $\text{CH}_3$ , C-26), 19.1 ( $\text{CH}_3$ , C-19), 18.9 ( $\text{CH}_3$ , C-27), 12.1 ( $\text{CH}_3$ , C-21), 12.0 ( $\text{CH}_3$ , C-29)。根据其  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 数据并与文献[10]数据比对, 确定化合物 **1** 为  $\beta$ -sitosterol。

化合物 **2**: 白色粉末状。阳离子 ESI-MS 在  $m/z$  431.4 处给出准分子离子峰  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 推测相对分子质量为 430.0, 结合  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 波谱数据, 推断其分子式为  $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_3$ , 不饱和度为 6。核磁波谱数据:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta_{\text{H}}$  0.67 (3H, s, H-18), 0.82 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-27), 0.85 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-26), 0.96 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-28), 1.05 (3H, d,  $J=6.7$  Hz, H-21), 1.25 (1H, m, H-14), 1.26 (2H, m, H-1), 1.28 (1H, m, H-16 $\alpha$ ), 1.36 (2H, m, H-2), 1.41 (2H, m, H-12), 1.39 (1H, m, H-25), 1.54 (3H, s, H-19), 1.68 (2H, m, H-11), 1.73 (1H, m, H-16 $\beta$ ), 1.74 (2H, m, H-15), 1.79 (1H, m, H-17), 1.86 (1H, m, H-24), 2.14 (1H, m, H-20), 2.55 (1H, m, H-9), 3.01 (1H, m, H-4), 4.22 (1H, dd,  $J=15.5, 6.3$  Hz, H-22), 4.83 (1H, m, H-3), 5.07 (1H, br d,  $J=15.5$  Hz, H-23), 5.73 (1H, m, H-7);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta_{\text{C}}$  139.6 (C, C-8), 135.3 (C, C-22), 131.3 (C, C-23), 119.4 (CH, C-7), 74.4 (C, C-5), 72.1 (CH, C-6), 65.9 (CH, C-3), 55.3 (CH, C-17), 54.1 (CH, C-14), 42.9 (CH, C-9), 42.2 (CH, C-13), 41.9 (CH, C-24), 40.2 ( $\text{CH}_2$ , C-4), 38.9 (CH, C-20), 36.6 ( $\text{CH}_2$ , C-12), 32.4 (C, C-10),

32.1 ( $\text{CH}_2$ , C-1), 31.1 (CH, C-25), 27.6 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 22.5 ( $\text{CH}_2$ , C-16), 21.3 ( $\text{CH}_2$ , C-15), 20.9 ( $\text{CH}_2$ , C-11), 20.4 ( $\text{CH}_3$ , C-18), 19.7 ( $\text{CH}_3$ , C-21), 19.4 ( $\text{CH}_3$ , C-27), 17.6 ( $\text{CH}_3$ , C-26), 17.2 ( $\text{CH}_3$ , C-19), 12.0 ( $\text{CH}_3$ , C-28)。根据其  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 并与文献[11]数据比对, 确定化合物 **2** 为 24-methylcholesta-7,22-diene-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol。

化合物 **3**: 白色粉末状。阳离子 ESI-MS 在  $m/z$  449.2 处给出准分子离子峰  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 推测相对分子质量为 426.0, 结合  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 波谱数据, 推断其分子式为  $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{O}_3$ , 不饱和度为 8。核磁波谱数据:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}}$  0.83 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-26), 0.84 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-27), 0.93 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-28), 0.94 (3H, s, H-18), 1.07 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-21), 1.09 (3H, s, H-19), 1.36 (1H, m, H-1 $\alpha$ ), 1.43 (1H, m, H-12 $\alpha$ ), 1.45 (1H, m, H-25), 1.61 (1H, m, H-2 $\alpha$ ), 1.75 (1H, m, H-16 $\alpha$ ), 1.76 (2H, m, H-11), 1.78 (1H, m, H-17), 1.87 (1H, m, H-24), 1.89 (1H, m, H-16 $\beta$ ), 1.93 (1H, m, H-1 $\beta$ ), 1.98 (1H, m, H-2 $\beta$ ), 2.06 (2H, m, H-12 $\beta$ ), 2.15 (1H, m, H-20), 2.44 (2H, dd,  $J=13.6, 12.2$  Hz, H-4), 2.54 (1H, dd,  $J=10.1, 8.3$  Hz, H-9), 3.75 (1H, m, H-3), 4.70 (1H, d,  $J=5.5$  Hz, H-15), 5.24 (1H, dd,  $J=15.1, 7.9$  Hz, H-22), 5.26 (1H, dd,  $J=15.1, 7.9$  Hz, H-23), 5.88 (1H, s, H-6), 5.68 (1H, s, 15-OH);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{C}}$  190.4 (C, C-7), 168.7 (C, C-14), 168.4 (C, C-5), 134.7 (CH, C-22), 133.2 (CH, C-23), 127.8 (C, C-8), 126.3 (CH, C-6), 70.8 (CH, C-15), 70.0 (CH, C-3), 51.3 (CH, C-17), 47.3 (CH, C-9), 44.9 (C, C-13), 43.1 (CH, C-24), 41.7 ( $\text{CH}_2$ , C-4), 39.7 (C, C-10), 38.5 (CH, C-20), 35.9 ( $\text{CH}_2$ , C-16), 35.5 ( $\text{CH}_2$ , C-12), 35.3 ( $\text{CH}_2$ , C-1), 33.2 (CH, C-25), 31.2 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 21.7 ( $\text{CH}_3$ , C-21), 20.1 ( $\text{CH}_3$ , C-27), 19.9 ( $\text{CH}_3$ , C-26), 19.8 ( $\text{CH}_3$ , C-18), 19.4 ( $\text{CH}_2$ , C-11), 19.0 ( $\text{CH}_3$ , C-19), 17.7 ( $\text{CH}_3$ , C-28)。根据其  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 数据并与文献[12]数据比对, 确定化合物 **3** 为 3 $\beta$ ,15 $\beta$ -dihydroxyl-(22 $E$ ,24 $R$ )-ergosta-5,8(14),22-trien-7-one。

化合物 **4**: 淡黄色粉末状。阳离子 ESI-MS 在

$m/z$  409.2 处给出准分子离子峰  $[M + H]^+$ , 推测相对分子质量为 408.0, 结合  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 波谱数据, 推断其分子式为  $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{O}_2$ , 不饱和度为 9。核磁波谱数据:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}}$  0.84 (3H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-27), 0.85 (3H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-26), 0.93 (3H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-28), 1.04 (1H, d,  $J = 6.5$  Hz, H-21), 1.06 (3H, m, H-19), 1.12 (3H, s, H-18), 1.24 (1H, m, H-17), 1.26 (1H, m, H-12b), 1.45 (1H, m, H-25), 1.49 (1H, m, H-16 $\beta$ ), 1.61 (1H, m, H-11 $\alpha$ ), 1.83 (1H, m, H-11 $\beta$ ), 1.84 (1H, m, H-1 $\beta$ ), 1.86 (1H, m, H-24), 2.03 (1H, m, H-1 $\alpha$ ), 2.04 (1H, m, H-12), 2.23 (1H, m, H-20), 2.31 (1H, m, H-16 $\alpha$ ), 4.85 (1H, m, H-15), 2.49 (1H, m, H-2 $\beta$ ), 5.01 (1H, dd,  $J = 15.0, 7.5$  Hz, H-23), 5.25 (1H, dd,  $J = 15.0, 8.0$  Hz, H-22), 5.74 (1H, s, H-4), 6.15 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-7), 6.82 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-6);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{C}}$  199.6 (C, C-3), 163.6 (C, C-5), 155.5 (C, C-14), 134.6 (CH, C-22), 133.0 (CH, C-23), 132.4 (CH, C-7), 129.1 (C, C-8), 126.8 (CH, C-6), 124.0 (CH, C-4), 69.2 (CH, C-15), 53.8 (CH, C-17), 43.1 (CH, C-24), 39.4 (CH, C-20), 39.1 ( $\text{CH}_2$ , C-16), 36.9 ( $\text{CH}_2$ , C-12), 34.2 ( $\text{CH}_2$ , C-1), 34.1 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 33.1 (CH, C-25), 21.3 ( $\text{CH}_3$ , C-21), 20.3 ( $\text{CH}_3$ , C-18), 20.1 ( $\text{CH}_3$ , C-27), 19.8 ( $\text{CH}_3$ , C-26), 19.1 ( $\text{CH}_2$ , C-11), 17.8 ( $\text{CH}_3$ , C-28), 16.8 ( $\text{CH}_3$ , C-19)。根据其  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 并与文献[13]数据比对, 确定化合物 4 为 ganodermaside B。

化合物 5: 白色粉末状。阳离子 ESI-MS 在  $m/z$  371.1 处给出准分子离子峰  $[M + H]^+$ , 推测相对分子质量为 370.0, 结合  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 波谱数据, 推断其分子式为  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_6$ , 不饱和度为 11。核磁波谱数据:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}}$  1.42 (6H, s, H-4'/H-5'), 1.54 (1H, br s, OH-3'), 2.23 (3H, s, Me-9), 3.90 (3H, s, OMe-4), 5.04 (2H, br s, H-7), 6.07 (1H, br s, OH-11), 6.34 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-8), 6.35 (1H, d,  $J = 15.7$  Hz, H-2'), 6.79 (1H, d,  $J = 15.7$  Hz, H-1'), 6.82 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-10), 6.83 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-1), 7.56 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-2);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{C}}$  166.9 (C, C-5), 155.3 (C, C-4), 151.2 (C, C-12a),

147.4 (C, C-11), 141.4 (C, C-11a), 140.8 (C, C-2'), 135.2 (C, C-9), 130.9 (C, C-3), 130.1 (C, C-2), 125.9 (C, C-7a), 121.4 (C, C-4a), 121.2 (CH, C-8), 119.7 (C, C-1'), 118.0 (CH, C-1), 117.6 (CH, C-10), 71.3 (C, C-3'), 69.1 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 63.1 ( $\text{CH}_3$ , 4-OMe), 30.1 ( $\text{CH}_3$ , C-5'), 29.9 ( $\text{CH}_3$ , C-4'), 21.0 ( $\text{CH}_3$ , 9-Me)。根据其  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 数据并与文献[14]数据比对, 确定化合物 5 为 dehydroisopenicillide。

化合物 6: 白色粉末状。阴离子 ESI-MS 在  $m/z$  371.2 处给出准分子离子峰  $[M - H]^-$ , 推测相对分子质量为 372.0, 结合  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 波谱数据, 推断其相对分子式为  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_6$ , 不饱和度为 10。核磁波谱数据:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}}$  0.95 (3H, d,  $J = 6.4$  Hz, H-4'), 0.97 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, H-5'), 1.43 (1H, ddd,  $J = 13.8, 9.0, 4.5$  Hz, H-2 $\alpha$ ), 1.63 (1H, m, H-3'), 1.64 (1H, ddd,  $J = 13.8, 9.0, 5.0$  Hz, H-2 $\beta$ ), 2.34 (3H, s, H-9'), 3.96 (3H, s, 4-OMe), 5.04 (1H, m, H-1'), 5.51 (2H, m, H-7), 6.32 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-8), 6.69 (1H, br s, 11-OH), 6.84 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-1), 6.86 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-10), 7.53 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{C}}$  167.8 (C, C-5), 154.5 (C, C-4), 151.4 (C, C-12a), 147.6 (C, C-11), 141.5 (C, C-11a), 137.1 (C, C-3), 135.2 (C, C-9), 131.2 (CH, C-2), 125.9 (C, C-7a), 120.9 (C, C-4a), 120.5 (CH, C-8), 117.9 (CH, C-10), 117.8 (CH, C-1), 69.2 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 66.8 (CH, C-1'), 62.8 ( $\text{CH}_3$ , 4-OMe), 47.7 ( $\text{CH}_2$ , C-2'), 25.1 (CH, C-3'), 23.5 ( $\text{CH}_3$ , C-5'), 21.9 ( $\text{CH}_3$ , C-4'), 20.9 ( $\text{CH}_3$ , C-9')。根据其  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 并与文献[15]数据比对, 确定化合物 6 为 penicillide。

化合物 7: 白色粉末状。阳离子 ESI-MS 在  $m/z$  415.1 处给出准分子离子峰  $[M + H]^+$ , 推测相对分子质量为 414.0, 结合  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 波谱数据, 推断其分子式为  $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_7$ , 不饱和度为 11。核磁波谱数据:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}}$  0.96 (3H, d,  $J = 6.4$  Hz, H-4'), 0.96 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz, H-5'), 1.47 (1H, ddd,  $J = 14.0, 8.5, 4.6$  Hz, H-2' $\alpha$ ), 1.63 (1H, m, H-3'), 1.76 (1H, ddd,  $J = 14.0, 9.5, 5.2$  Hz, H-2' $\beta$ ), 2.05 (3H, s, 1'-OAc), 2.24 (3H, s, H-9'), 4.03 (3H, s, 4-OMe), 5.51 (2H, m, H-7),

6.14 (1H, dd,  $J=9.5, 4.6$  Hz, H-1'), 6.16 (1H, s, 11-OH), 6.47 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-8), 6.85 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-1), 6.86 (1H, d,  $J=1.8$  Hz, H-10), 7.46 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-2);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{C}}$  170.4 (C, 1'-OAc), 167.2 (C, C-5), 154.8 (C, C-4), 151.7 (C, C-12a), 147.5 (C, C-11), 141.5 (C, C-11a), 135.3 (C, C-3), 134.4 (C, C-9), 130.8 (CH, C-2), 126.0 (C, C-7a), 121.0 (C, C-4a), 120.9 (CH, C-8), 117.8 (CH, C-10), 117.7 (CH, C-1), 69.1 (CH<sub>2</sub>, C-7), 68.8 (CH, C-1'), 62.8 (CH<sub>3</sub>, 4-OMe), 45.5 (CH<sub>2</sub>, C-2'), 25.1 (CH, C-3'), 23.2 (CH<sub>3</sub>, C-5'), 22.0 (CH<sub>3</sub>, C-4'), 21.3 (CH<sub>3</sub>, 1'-OAc), 21.0 (CH<sub>3</sub>, C-9')。根据其  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 并与文献 [15] 数据比对, 确定化合物 7 为 purpactin A。

化合物 8: 白色晶体状。阴离子 ESI-MS 在  $m/z$  198.3 处给出准分子离子峰 [M - H]<sup>-</sup>, 推测相对分子质量为 197.2, 结合  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 波谱数据, 推断其分子式为  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$ , 不饱和度为 4。核磁波谱数据:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}}$  0.92 (3H, d,  $J=5.8$  Hz, H-11), 1.04 (3H, d,  $J=5.8$  Hz, H-10-Me), 1.92 (2H, m, H-4), 2.30 (2H, m, H-5), 2.68 (2H, m, H-10), 3.52 (2H, m, H-3), 3.93 (1H, br s, H-9), 4.10 (1H, m, H-6);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{C}}$  170.1 (C, C-1), 165.1 (C, C-7), 60.6 (CH, C-9), 58.9 (CH, C-6), 45.3 (CH<sub>2</sub>, C-3), 28.7 (CH, C-5), 24.2 (CH, C-10), 22.5 (CH<sub>2</sub>, C-4), 16.1 (CH<sub>3</sub>, C-11), 12.2 (CH<sub>3</sub>, C-10-Me)。根据其  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 并与文献 [16] 数据比对, 确定化合物 8 为 cyclo- (*S*-Pro-*R*-Val)。

化合物 9: 白色粉末状固体。阳离子 ESI-MS 在  $m/z$  233.2 处给出准分子离子峰 [M + Na]<sup>+</sup>, 推测相对分子质量为 210.0, 结合  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 波谱数据, 推断其分子式为  $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$ , 不饱和度为 4。核磁波谱数据:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{H}}$  0.92 (3H, d,  $J=5.8$  Hz, H-13), 0.95 (3H, d,  $J=5.9$  Hz, H-12), 1.92 (1H, m, H-4 $\alpha$ ), 1.96 (1H, m, H-5), 1.99 (1H, m, H-4 $\beta$ ), 2.18 (3H, m, H-11), 2.20 (1H, m, H-10 $\alpha$ ), 2.86 (2H, m, H-10 $\beta$ ), 3.60 (2H, m, H-3), 4.04 (1H, br s, H-9), 4.18 (1H, m, H-6);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta_{\text{C}}$  170.3 (C, C-1),

166.3 (C, C-7), 59.1 (CH, C-9), 53.5 (CH, C-6), 45.6 (CH<sub>2</sub>, C-3), 38.4 (CH<sub>2</sub>, C-10), 28.2 (CH<sub>2</sub>, C-5), 24.7 (CH<sub>3</sub>, C-11), 23.4 (C, CH<sub>2</sub>-4), 22.8 (CH<sub>3</sub>, C-13), 21.3 (CH<sub>3</sub>, C-12)。根据其  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 并与文献 [17] 数据比对, 确定化合物 9 为 cyclo- (*L*-Pro-*L*-Leu)。

## 2.2 化合物的生物活性测试结果

对化合物 1~9 进行抗菌活性测试, 结果表明化合物 3 对 3 株致病菌金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*)、表皮葡萄球菌 (*S. epidermidis*) 和白色念珠菌 (*C. Albicans*) 表现出一定的抑制活性, 其 MIC 值分别为 12.5, 12.5 和 6.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (阳性对照环丙沙星 MIC 值为 0.84  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 其余 8 个化合物在 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时均无明显抗菌活性。

## 3 结论

本文运用多种色谱分离技术和波谱鉴定技术, 从 1 株老鼠簕 (*A. ilicifolius* L.) 来源内生蓝状菌属真菌 *T. flavus* TGGP34 中分离鉴定了 9 个化合物, 包括 4 个甾醇类化合物 (1~4)、3 个内酯类化合物 (5~7)、2 个二酮哌嗪类化合物 (8~9)。抗菌活性筛选发现了 1 个具有抗菌活性的化合物, 为抗菌药物的研发提供了科学依据。

## 参考文献

- [1] CARROLL A R, COPP B R, DAVIS R A, et al. Marine natural products[J]. Nat Prod Rep, 2020, 37(2): 175-223.
- [2] CARROLL A R, COPP B R, DAVIS R A, et al. Marine natural products[J]. Nat Prod Rep, 2019, 36(1): 122-173.
- [3] ANCHEEVA E, DALETOS G, PROLSCH P. Lead compounds from mangrove-associated microorganisms[J]. Mar Drugs, 2018, 16(9): 319.
- [4] RATEB M E, EBEL R. Secondary metabolites of fungi from marine habitats[J]. Nat Prod Rep, 2011, 28(2): 290-344.
- [5] ZHAO W T, SHI X, XIAN P J, et al. A new fusicoccane diterpene and a new polyene from the plant endophytic fungus *Talaromyces pinophilus* and their antimicrobial activities[J]. Nat Prod Res, 2021, 35(1): 124-130.
- [6] CAO X, SHI Y T, WU S H, et al. Polycyclic meroterpenoids, *talaromycolides* E-K for antiviral activity against pseudorabies virus from the endophytic fungus *Talaromyces purpleogenus*[J]. Tetrahedron, 2020, 76 (30): 13134.
- [7] CAI J, ZHOU X M, YANG X, et al. Three new bioactive natural products from the fungus *Talaromyces assiutensis* JTY2[J]. Bioorg

- Chem, 2020, 94: 103362.
- [8] PIEREC C G, UPPULURI P, TEISTAN A R, et al. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing[J]. Nat Protoc, 2008, 3(9): 1494-1515.
- [9] 朱孝臣, 梅荣清, 黄国雷, 等. 1 株红树内生真菌 *Phomopsis* sp. MGF222 次级代谢产物及其活性研究 [J]. 中国海洋药物, 2020, 39(4): 31-36.
- [10] RASHED K, CIRIC A, CLIA J G, et al. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Alnus rugosa* L. aerial parts and identification of the bioactive components[J]. Ind Crop Prod, 2014, 59: 189-196.
- [11] LEE H S, HWANG I H, KIM J A, et al. Isolation of protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory constituents from the Sclerotia of *Polyporus umbellatus* Fries[J]. Bull Korean Chem Soc, 2011, 32(2): 697-700.
- [12] WANG F Z, FANG Y C, ZHANG M, et al. Six new ergosterols from the marine-derived fungus *Rhizopus* sp.[J]. Steroids, 2008, 73(1): 19-26.
- [13] WENG Y F, XIANG L, MATSUURA A, et al. Ganodermasides A and B, two novel anti-aging ergosterols from spores of a medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* on yeast via UTH1 gene[J]. Bioor Med Chem, 2010, 18(3): 999-1002.
- [14] SUZUKI K, NOZAWA K, UDAGAWA S I, et al. Penicillide and dehydroisopenicillide from *Talaromyces derxii*[J]. Phytochemistry, 1991, 30(6): 2096-2098.
- [15] KOMAI S I, HOSOE T, ITABASHI T, et al. New penicillide derivatives isolated from *Penicillium simplicissimum*[J]. J Nat Med, 2006, 60(3): 185-190.
- [16] ADAMCZESKI M, REED A R, CREWS P. New and known diketopiperazines from the caribbean sponge, calyx cf. podatypa[J]. J Nat prod, 1995, 58(2): 201-208.
- [17] ZHAO P J, WANG H X, LI G H, et al. Secondary metabolites from endophytic *Streptomyces* sp. Lz531[J]. Chem Biodivers, 2007, 4(5): 899-904.