

## ◆海洋生态◆

红树老鼠簕来源内生青霉 *Penicillium* sp. GXIMD 03101 的次级代谢产物研究<sup>\*</sup>谭玉莹<sup>1</sup>,曹广萍<sup>2</sup>,黄炯丽<sup>1</sup>,李秋庭<sup>1</sup>,唐振洲<sup>2</sup>,刘永宏<sup>2</sup>,高程海<sup>2</sup>,白 猛<sup>2\*\*</sup>

(1. 广西大学轻工与食品工程学院,广西南宁 530004;2. 广西中医药大学海洋药物研究院,广西南宁 530200)

**摘要:**为了研究红树老鼠簕 *Acanthus ilicifolius* L. 来源内生青霉 *Penicillium* sp. GXIMD 03101 的次级代谢产物,采用硅胶柱层析、凝胶柱层析及半制备高效液相色谱对大米发酵产物进行分离纯化,利用核磁共振方法鉴定化合物的结构,并对化合物**1-4**进行抗胰腺癌活性筛选。结果显示,从内生青霉 *Penicillium* sp. GXIMD 03101 中分离鉴定出 13 个化合物,分别为 (+)-rugulosin A (**1**)、(+)-rugulosin B (**2**)、1,1',3,3',5,5'-hexahydroxy-7,7'-dimethyl[2,2'-bianthracene]-9,9',10,10'-tetraone (**3**)、questin (**4**)、emodin (**5**)、questinol (**6**)、uridine (**7**)、2'-deoxythymidine (**8**)、5'-O-acetyl uridine (**9**)、ergosta-5,7,22-triene-3 $\beta$ -ol (**10**)、(3R)-6-hydroxymellein (**11**)、6-hydroxy-8-methoxy-3,4-dimethylisocoumarin (**12**) 和 indole-3-acetic acid (**13**)。其中,化合物**1**对胰腺癌细胞表现出较好的细胞毒活性,其浓度为 10  $\mu$ mol/L 时对胰腺癌细胞的抑制率为 75.6%。以上结果为进一步研究开发红树内生青霉来源的天然抗胰腺癌药物提供了物质基础。

**关键词:**红树老鼠簕 内生真菌 *Penicillium* sp. 次级代谢产物 抗胰腺癌活性

中图分类号:R284 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2022)05-0839-07

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20221116.003

红树植物生长于热带和亚热带地区海岸潮间带,给红树微生物提供了特殊的宿主环境<sup>[1]</sup>,致使红树微生物次级代谢产物的结构类型和生物活性具有多样性。近年来,从红树来源内生青霉中发现了许多结构新颖的活性次级代谢产物,如具有抗肿瘤活性的二氧哌嗪类生物碱 penicisulfuranols A - C<sup>[2]</sup>,具有抗癌活性的混源萜类化合物 penicianstinoids C - E<sup>[3]</sup>,具

有  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性的倍半萜类化合物 penicieudesmol F<sup>[4]</sup>、喹诺酮类生物碱(±)-oxypenicicolines A<sup>[5]</sup>和异香豆素类化合物(R)-2-chloro-3-(8-hydroxy-6-methoxy-1-oxo-1H-isochroman-3-yl)propyl acetate<sup>[6]</sup>,以及具有抗炎活性的三烯类化合物 pinophols C - D<sup>[7]</sup>等。以上研究表明从红树内生青霉中挖掘活性次级代谢产物作为药物

收稿日期:2021-12-27

修回日期:2022-02-10

<sup>\*</sup> 广西自然科学基金项目(2021GXNSFBA220072,2020GXNSFGA297002),广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2021KY0318),广西中医药大学 2020 年博士科研启动基金项目(2020BS024)和广西中医药大学八桂学者项目(05019055)资助。

## 【作者简介】

谭玉莹(1997-),女,在读硕士研究生,主要从事海洋天然药物化学研究。

## 【\*\*通信作者】

白 猛(1990-),男,助理研究员,主要从事海洋天然药物化学研究,E-mail:XXBai2014@163.com。

## 【引用本文】

谭玉莹,曹广萍,黄炯丽,等.红树老鼠簕来源内生青霉 *Penicillium* sp. GXIMD 03101 的次级代谢产物研究[J]. 广西科学,2022,29(5):839-845.  
TAN Y Y, CAO G P, HUANG J L, et al. Studies on Secondary Metabolites of Endophytic Fungus *Penicillium* sp. GXIMD 03101 from Mangrove *Acanthus ilicifolius* L. [J]. Guangxi Sciences, 2022, 29(5): 839-845.

的先导化合物具有很大潜力,是海洋天然活性产物的重要研究方向之一。本文对一株红树老鼠簕 *Acanthus ilicifolius* L. 来源的内生青霉 *Penicillium* sp. GXIMD 03101 的次级代谢产物进行研究,采用多种现代分离方法获取其中的化合物,并对化合物进行抗胰腺癌活性筛选,为进一步研究开发红树内生青霉来源的天然抗胰腺癌药物提供物质基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 主要仪器与试剂

SHIMADZU LC-2030C 高效液相色谱仪(日本岛津公司),Bruker AV-400 MHz 超导核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司),JNM-ECZ600R 超导核磁共振仪(日本电子株式会社),EYELA N-1300D 旋转蒸发仪(日本东京理化有限公司),普利塞斯 EP225SM-DR 电子天平(瑞士普利塞斯公司),WFH-2038 暗箱式紫外分析仪(杭州齐威仪器有限公司),300-400 目正相硅胶、HSGF254 薄层层析硅胶板(烟台江友硅胶开发有限公司),十八烷基硅烷键合硅胶(上海麦克林生化科技股份有限公司),Sephadex LH-20(上海麦克林生化科技股份有限公司),石油醚、乙酸乙酯、甲醇(分析纯,上海泰坦科技股份有限公司),甲醇(色谱纯,上海星可高纯溶剂有限公司)。

#### 1.1.2 菌株来源

内生青霉 *Penicillium* sp. GXIMD 03101 分离自红树植物老鼠簕 *Acanthus ilicifolius* L. 的根部,老鼠簕根样品于 2020 年 7 月采自广西山口红树林生态自然保护区。菌种存放于广西中医药大学海洋药物研究院,为青霉属 *Penicillium* sp. 菌株,GenBank 号为 MZ971181。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 菌种的发酵培养

在超净台内用灭菌后的接种环从接有 *Penicillium* sp. GXIMD 03101 单一菌落的马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基中挑取菌株,转接至 3 瓶已灭菌的马铃薯葡萄糖水(PDB)液体培养基中。将 PDB 液体培养基置于 37℃、180 r/min 的摇床中振荡培养 3 d 获得种子液。将 4 mL 种子液转接至装有已灭菌 80 g 大米培养基的 1 L 三角瓶中,共 150 瓶,室温条件下培养 30 d。

#### 1.2.2 化合物提取与分离

用 40 L 的乙酸乙酯萃取发酵后的 12 kg 大米培养基,重复萃取 3 次,每次间隔 5 d,合并浓缩萃取液,得到浸膏 150 g。采用硅胶柱层析、凝胶柱层析及半制备高效液相色谱对浸膏进行分离纯化,并利用核磁共振方法鉴定化合物的结构。

#### 1.2.3 抗胰腺癌细胞活性测定方法

由于其他化合物的质量相对比较少,且纯度不足,因此参考文献[8]的方法对部分化合物进行抗胰腺癌细胞活性测定。选用胰腺癌细胞(SW1990)为试验对象,阳性对照为氟尿嘧啶。将对数生长期的肿瘤细胞加到 96 孔细胞培养板(每孔 200  $\mu$ L),置于 37℃ 培养箱中,在 5% CO<sub>2</sub> 的条件下培养 24 h。每孔分别加入 10  $\mu$ L 稀释的、不同浓度(5 个梯度)的单体化合物,并以正常细胞为空白对照,培养 48 h。每孔再加入 10  $\mu$ L 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)溶液,继续培养 4 h。离心,去掉上清液,每孔加入 100  $\mu$ L 二甲基亚砷(DMSO),振荡 15 min,使晶体完全溶解。用酶标仪测定每孔在 570 nm 处的吸光度(OD 值),计算抑制率(IR), $IR(\%) = [(OD_{\text{对照}} - OD_{\text{样品}}) / OD_{\text{对照}}] \times 100\%$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 化合物的提取与分离结果

40 L 的乙酸乙酯萃取大米发酵产物后所得的浸膏经过减压正相硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯:甲醇 = 100:0:0-0:100:0-0:0:100)得到 10 个组分(Fr. 1-Fr. 10)。

Fr. 5 (8 g) 经过常压正相硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯:甲醇 = 100:0:0-0:100:0-0:0:100)得到 9 个组分(Fr. 5-1-Fr. 5-9),其中 Fr. 5-3 为化合物**11**(40.6 mg)。Fr. 5-2 (50 mg) 经过 Sephadex LH-20 凝胶柱层析(纯甲醇)、半制备高效液相色谱(甲醇:水 = 90:10)纯化得到化合物**5**(2.0 mg, 9.7 min)。Fr. 5-4 (100 mg) 经过中压反相硅胶柱层析(甲醇:水 = 10:90-100:0)、半制备高效液相色谱(甲醇:水 = 90:10)纯化得到化合物**4**(7.7 mg, 14.0 min)。Fr. 5-6 经过半制备高效液相色谱(甲醇:水 = 95:5)纯化得到化合物**10**(4.6 mg, 5.6 min)、化合物**12**(5.1 mg, 12.8 min)和化合物**13**(4.8 mg, 15.7 min)。Fr. 5-8 (4 g) 经过中压正相硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯:甲醇 = 50:50:0-0:100:0-0:0:100)、中压反相硅胶

柱层析(甲醇:水=10:90-100:0)、半制备高效液相色谱(甲醇:水=70:30)纯化得到化合物**6**(3.6 mg, 10.1 min)。

Fr. 8 (6 g) 经过常压正相硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯:甲醇=50:50:0-0:100:0-0:0:100)得到7个组分(Fr. 8-1-Fr. 8-7)。Fr. 8-3 (2 g) 经过中压反相硅胶柱层析(甲醇:水=10:90-100:0)得到9个组分(Fr. 8-3-1-Fr. 8-3-9)。Fr. 8-3-5 经过半制备高效液相色谱(甲醇:水=65:35)纯化得到化合物**2**(31.2 mg, 21.7 min)。Fr. 8-3-7 经过半制备高效液相色谱(甲醇:水=83:17)纯化得到化合物**1**(37.8 mg, 23.6 min)。Fr. 8-4 (1.5 g) 经过中压反相硅胶柱层析(甲醇:水=10:90-100:0)、半制备高效液相色谱(甲醇:水=15:85)纯化得到化合物**9**(13.5 mg, 14.0 min)。Fr. 8-6 (1 g) 经过中压反相硅胶柱层析(甲醇:水=10:90-100:0)、半制备高效液相色谱(甲醇:水=5:95)纯化得到化合物**7**(9.2 mg, 9.0 min)和化合物**8**(8.8 mg, 17.0 min)。

Fr. 10 (2 g) 经过中压正相硅胶柱层析(二氯甲烷:甲醇=100:0-0:100)得到8个组分(Fr. 10-1-Fr. 10-8)。Fr. 10-2 经过半制备高效液相色谱(甲醇:水=90:10)纯化得到化合物**3**(3.6 mg, 17.7 min)。

## 2.2 化合物的结构

从红树老鼠筋内生青霉 *Penicillium* sp. GX-IMD 03101 中分离出13个化合物, 它们的结构如图1所示。

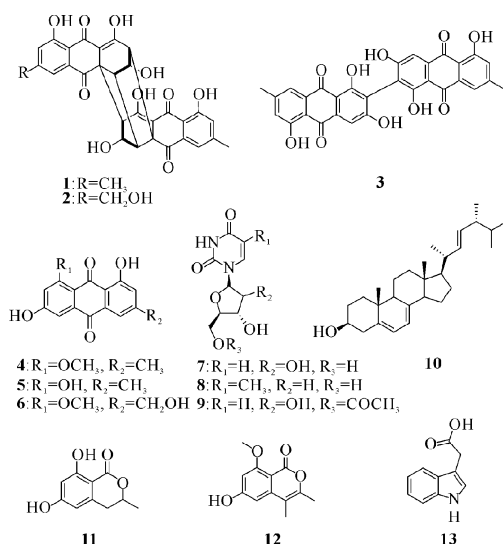


图1 化合物**1**-**13**的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds **1**-**13**

## 2.3 化合物的波谱数据

化合物**1**: 黄色粉末, 熔点为 293°C, <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, *J* in Hz) δ<sub>H</sub>: 11.45 (s, 5-OH), 7.46 (s, H-8), 7.19 (s, H-6), 5.45 (d, *J* = 4.0 Hz, 2-OH), 4.39 (s, H-2), 3.37 (s, H-1), 2.78 (d, *J* = 4.0 Hz, H-3), 2.42 (s, H-11); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ<sub>C</sub>: 194.0 (C, C-9), 185.9 (C, C-10), 180.6 (C, C-4), 160.1 (C, C-5), 147.5 (C, C-7), 132.0 (C, C-8a), 124.0 (CH, C-6), 120.4 (CH, C-8), 114.2 (C, C-10a), 106.1 (C, C-4a), 68.5 (CH, C-2), 58.3 (CH, C-3), 55.6 (C, C-9a), 47.7 (CH, C-1), 21.4 (CH<sub>3</sub>, C-11)。将以上数据与文献[9]数据进行对比, 确定化合物**1**为(+)-rugulosin A。

化合物**2**: 黄色粉末, 熔点为 292°C, <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, *J* in Hz) δ<sub>H</sub>: 14.78 (br s, 4-OH), 11.52 (d, *J* = 12.0 Hz, 5, 5'-OH), 7.59 (s, H-8), 7.46 (s, H-8'), 7.29 (s, H-6), 7.19 (s, H-6, 6'), 5.50 (d, *J* = 36.0 Hz, 2, 2'-OH), 4.62 (s, H-11), 4.40 (s, H-2, 2'), 3.38 (s, H-1, 1'), 2.78 (t, *J* = 4.0 Hz, H-3, 3'), 2.43 (s, H-11'); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ<sub>C</sub>: 194.1 (C, C-9), 194.0 (C, C-9'), 186.7 (C, C-4), 185.9 (C, C-4'), 180.6 (C, C-10), 179.9 (C, C-10'), 160.2 (C, C-5, 5'), 152.0 (C, C-7), 147.5 (C, C-7'), 132.0 (C, C-8a, 8'a), 124.0 (CH, C-6'), 120.7 (CH, C-6), 120.4 (CH, C-8'), 117.0 (CH, C-8), 114.9 (C, C-10a), 114.2 (C, C-10'a), 106.1 (C, C-4a), 106.1 (C, C-4'a), 68.5 (CH, C-2, 2'), 62.0 (CH<sub>2</sub>, C-11), 58.5 (CH, C-3), 58.4 (CH, C-3'), 55.6 (C, C-9a), 55.6 (C, C-9'a), 47.8 (CH, C-1, 1'), 21.4 (CH<sub>3</sub>, C-11')。将以上数据与文献[10]数据进行对比, 确定化合物**2**为(+)-rugulosin B。

化合物**3**: 橙红色粉末, 熔点为 270°C, <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, *J* in Hz) δ<sub>H</sub>: 12.78 (s, 1-OH), 12.04 (s, 5-OH), 7.27 (s, H-8), 7.14 (s, H-6), 6.69 (s, H-4), 2.32 (s, H-11); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ<sub>C</sub>: 189.4 (C, C-10), 182.0 (C, C-9), 164.6 (C, C-3), 164.3 (C, C-1), 161.0 (C, C-5), 148.1 (C, C-7), 133.2 (C, C-8a), 131.2 (C, C-4a), 123.7 (C, C-2), 123.5 (CH, C-6), 120.4 (CH, C-8), 113.1 (C, C-10a), 108.7 (C, C-9a), 107.1 (CH, C-4), 21.4 (CH<sub>3</sub>, C-11)。将以上数据与文献[11]数据进行对比, 确定化合物**3**为 1, 1', 3, 3', 5, 5'-hexa-

hydroxy-7, 7'-dimethyl[2, 2'-bianthracene]-9, 9', 10, 10'-tetraone。

化合物**4**: 橙红色粉末, 熔点为 203°C,  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $J$  in Hz)  $\delta_{\text{H}}$ : 7.40 (d,  $J$  = 1.2 Hz, H-4), 7.16 (d,  $J$  = 2.0 Hz, H-5), 7.10 (s, H-2), 6.79 (d,  $J$  = 2.0 Hz, H-7), 3.88 (s, H-12), 2.37 (s, H-11);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 186.0 (C, C-9), 182.4 (C, C-10), 165.3 (C, C-8), 163.5 (C, C-1), 161.7 (C, C-6), 146.4 (C, C-3), 136.7 (C, C-4a), 132.0 (C, C-10a), 124.1 (CH, C-2), 119.0 (CH, C-4), 114.4 (C, C-9a), 112.1 (C, C-8a), 107.4 (CH, C-5), 105.0 (CH, C-7), 56.2 (CH<sub>3</sub>, C-12), 21.3 (CH<sub>3</sub>, C-11)。将以上数据与文献[12]数据进行对比, 确定化合物**4**为 questin。

化合物**5**: 橙红色粉末, 熔点为 255°C,  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $J$  in Hz)  $\delta_{\text{H}}$ : 7.52 (s, H-4), 7.19 (s, H-2), 7.12 (s, H-5), 6.58 (s, H-7), 2.42 (s, H-11);  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 189.6 (C, C-9), 181.5 (C, C-10), 164.5 (C, C-8), 166.0 (C, C-6), 161.4 (C, C-1), 148.1 (C, C-3), 135.1 (C, C-10a), 132.9 (C, C-4a), 124.1 (CH, C-2), 120.4 (CH, C-4), 113.6 (C, C-9a), 108.9 (C, C-8a), 108.6 (CH, C-5), 107.9 (CH, C-7), 21.5 (CH<sub>3</sub>, C-11)。将以上数据与文献[13]数据进行对比, 确定化合物**5**为 emodin。

化合物**6**: 黄色粉末, 熔点为 200°C,  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $J$  in Hz)  $\delta_{\text{H}}$ : 7.55 (d,  $J$  = 0.8 Hz, H-4), 7.17 (d,  $J$  = 0.8 Hz, H-2), 6.65 (d,  $J$  = 1.6 Hz, H-5), 4.56 (s, H-11), 3.86 (s, H-12);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 185.3 (C, C-9), 182.5 (C, C-10), 164.5 (C, C-6), 163.9 (C, C-8), 161.8 (C, C-1), 150.6 (C, C-3), 136.7 (C, C-4a), 132.2 (C, C-10a), 120.8 (CH, C-2), 115.5 (CH, C-4), 115.4 (C, C-9a), 112.7 (C, C-8a), 108.5 (CH, C-5), 105.2 (CH, C-7), 62.1 (CH<sub>3</sub>, C-11), 56.0 (CH<sub>3</sub>, C-12)。将以上数据与文献[12]数据进行对比, 确定化合物**6**为 questinol。

化合物**7**: 无色粉末, 熔点为 165°C,  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $J$  in Hz)  $\delta_{\text{H}}$ : 8.01 (d,  $J$  = 8.0 Hz, H-6), 5.90 (d,  $J$  = 4.0 Hz, H-1'), 5.70 (d,  $J$  = 8.0 Hz, H-5), 4.16 (m, H-2', 3'), 4.00 (m, H-4'), 3.83 (d,  $J$  = 2.8, 12.4 Hz, H-5' b), 3.73 (d,  $J$  = 3.2, 12.4 Hz, H-5' a);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

$\delta_{\text{C}}$ : 166.1 (C, C-4), 152.4 (C, C-2), 142.7 (CH, C-6), 102.6 (CH, C-5), 90.7 (CH, C-1'), 86.3 (CH, C-4'), 75.7 (CH, C-3'), 71.3 (CH, C-2'), 62.2 (CH<sub>2</sub>, C-5')。将以上数据与文献[14]数据进行对比, 确定化合物**7**为 uridine。

化合物**8**: 无色晶体, 熔点为 192°C,  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD,  $J$  in Hz)  $\delta_{\text{H}}$ : 7.81 (d,  $J$  = 1.2 Hz, H-6), 6.27 (t,  $J$  = 6.8 Hz, H-1'), 4.39 (m, H-3'), 3.90 (dd,  $J$  = 3.2, 6.8 Hz, H-4'), 3.75 (m, H-5'), 2.22 (m, H-2'), 1.87 (d,  $J$  = 1.2 Hz, H-7);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{C}}$ : 166.4 (C, C-4), 152.2 (C, C-2), 138.1 (CH, C-6), 111.5 (C, C-5), 86.2 (CH, C-1'), 88.8 (CH, C-4'), 72.2 (CH, C-3'), 41.1 (CH<sub>2</sub>, C-2'), 62.2 (CH<sub>2</sub>, C-5'), 12.4 (CH<sub>3</sub>, C-7)。将以上数据与文献[15]数据进行对比, 确定化合物**8**为 2'-deoxythymidine。

化合物**9**: 无色粉末, 熔点为 202°C,  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $J$  in Hz)  $\delta_{\text{H}}$ : 7.62 (d,  $J$  = 8.0 Hz, H-6), 5.74 (d,  $J$  = 4.8 Hz, H-1'), 5.67 (d,  $J$  = 8.0 Hz, H-5), 4.23 (dd,  $J$  = 3.2, 12 Hz, H-5' b), 4.15 (dd,  $J$  = 5.6, 12 Hz, H-5' a), 4.07 (t,  $J$  = 4.8 Hz, H-4'), 3.98 (m, H-2'), 3.93 (t,  $J$  = 5.2 Hz, H-3');  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 170.3 (C, C-1''), 163.1 (C, C-4), 150.6 (C, C-2), 140.8 (CH, C-6), 102.1 (CH, C-5), 88.7 (CH, C-1'), 81.1 (CH, C-4'), 72.7 (CH, C-2'), 69.8 (CH, C-3'), 63.8 (CH<sub>2</sub>, C-5'), 20.1 (CH<sub>3</sub>, C-2'')。将以上数据与文献[16]数据进行对比, 确定化合物**9**为 5'-O-acetyl uridine。

化合物**10**: 白色粉末, 熔点为 156°C,  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $J$  in Hz)  $\delta_{\text{H}}$ : 5.51 (m, H-6), 5.33 (m, H-7), 5.26 (m, H-23), 5.18 (m, H-22), 3.57 (m, H-3), 2.40 (m, H-4a), 2.21 (m, H-4b), 1.18 (s, H-21), 0.94 (s, H-19), 0.92 (s, H-28), 0.84 (s, H-27), 0.83 (s, H-26), 0.62 (s, H-18);  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{C}}$ : 141.4 (C, C-8), 139.7 (C, C-5), 135.6 (CH, C-22), 132.0 (CH, C-23), 119.7 (CH, C-6), 116.4 (CH, C-7), 70.5 (CH, C-3), 55.8 (CH, C-17), 54.6 (CH, C-14), 46.3 (CH, C-9), 42.8 (CH, C-24), 42.8 (C, C-13), 40.7 (CH<sub>2</sub>, C-4), 40.5 (CH, C-20), 39.1 (CH<sub>2</sub>, C-12), 38.4 (CH<sub>2</sub>, C-1), 37.1 (C, C-10), 33.1 (CH, C-25), 31.9 (CH<sub>2</sub>, C-2), 28.3 (CH<sub>2</sub>, C-16), 23.1 (CH<sub>2</sub>, C-15), 21.2



(CH<sub>2</sub>, C-11), 21.2 (CH<sub>3</sub>, C-21), 20.0 (CH<sub>3</sub>, C-27), 19.7 (CH<sub>3</sub>, C-26), 17.7 (CH<sub>3</sub>, C-28), 16.3 (CH<sub>3</sub>, C-19), 12.1 (CH<sub>3</sub>, C-18)。将以上数据与文献[17]数据进行对比, 确定化合物**10**为 ergosta-5, 7, 22-triene-3 $\beta$ -ol。

化合物**11**: 黄色油状, <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, *J* in Hz)  $\delta$ <sub>H</sub>: 11.12 (s, 8-OH), 10.63 (br s, 6-OH), 6.23 (d, *J* = 1.2 Hz, H-5), 6.18 (d, *J* = 2.4 Hz, H-7), 4.68 (m, H-3), 2.91 (dd, *J* = 3.0, 16.8 Hz, H-4a), 2.80 (dd, *J* = 11.4, 16.8 Hz, H-4b), 1.38 (d, *J* = 6.6 Hz, H-11); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ <sub>C</sub>: 169.4 (C, C-1), 164.4 (C, C-6), 163.4 (C, C-8), 142.2 (C, C-10), 107.8 (CH, C-5), 100.1 (CH, C-7), 100.8 (C, C-9), 75.3 (CH, C-3), 33.7 (CH<sub>2</sub>, C-4), 20.3 (CH<sub>3</sub>, C-11)。将以上数据与文献[18]数据进行对比, 确定化合物**11**为 (3*R*)-6-hydroxymellein。

化合物**12**: 黄色油状, <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, *J* in Hz)  $\delta$ <sub>H</sub>: 6.44 (d, *J* = 1.6 Hz, H-7), 6.38 (d, *J* = 2.0 Hz, H-5), 3.79 (s, H-11), 2.18 (s, H-9), 1.98 (s, H-10); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ <sub>C</sub>: 164.4 (C, C-6), 163.4 (C, C-8), 157.5 (C, C-1), 150.2 (C, C-3), 142.5 (C, C-4a), 106.2 (C, C-4), 100.8 (C, C-8a), 100.3 (CH, C-5), 98.6 (CH, C-

7), 55.7 (CH<sub>3</sub>, C-11), 17.0 (CH<sub>3</sub>, C-9), 12.4 (CH<sub>3</sub>, C-10)。将以上数据与文献[19]数据进行对比, 确定化合物**12**为 6-hydroxy-8-methoxy-3,4-dimethylisocoumarin。

化合物**13**: 白色粉末, 熔点为 167°C, <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, *J* in Hz)  $\delta$ <sub>H</sub>: 10.89 (s, H-1), 7.49 (d, *J* = 7.8 Hz, H-4), 7.34 (d, *J* = 8.4 Hz, H-7), 7.22 (d, *J* = 1.8 Hz, H-2), 7.08 (t, *J* = 7.8 Hz, H-6), 6.97 (t, *J* = 7.2 Hz, H-5), 3.62 (s, H-10); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ <sub>C</sub>: 174.5 (C, C-11), 137.4 (C, C-8), 128.5 (C, C-9), 125.2 (CH, C-2), 122.2 (CH, C-6), 119.8 (CH, C-5), 119.6 (CH, C-4), 112.6 (CH, C-7), 109.0 (C, C-3), 32.4 (CH<sub>2</sub>, C-10)。将以上数据与文献[20]数据进行对比, 确定化合物**13**为 indole-3-acetic acid。

#### 2.4 抗胰腺癌细胞活性

对化合物**1-4**进行抗胰腺癌细胞活性测定。如表1所示, 化合物**1**对胰腺癌细胞显示出较好的细胞毒活性, 浓度为 10  $\mu$ mol/L 时, 对胰腺癌细胞的抑制率为 75.6%。不同浓度下化合物**2-4**对胰腺癌细胞的抑制率为 1.3% - 56.0%。阳性对照氟尿嘧啶浓度为 5  $\mu$ mol/L 时, 对胰腺癌细胞的抑制率为 78.4%。

表1 部分化合物对胰腺癌细胞的抑制活性

Table 1 Inhibitory activity of some compounds on pancreatic cancer cells

化合物浓度 ( $\mu$ mol/L) Concentration of compound ( $\mu$ mol/L)	抑制率 (%) Inhibition ratio (%)				
	化合物 <b>1</b> Compound <b>1</b>	化合物 <b>2</b> Compound <b>2</b>	化合物 <b>3</b> Compound <b>3</b>	化合物 <b>4</b> Compound <b>4</b>	氟尿嘧啶 Fluorouracil
2.5	71.4	NA	NA	NA	-
5.0	73.9	NA	NA	14.2	78.4
10.0	75.6	26.6	NA	17.7	-
20.0	74.4	36.4	NA	35.8	-
40.0	73.7	35.6	14.1	56.0	-

Note: "NA" means inhibitive activity less than 10%; "-" means inhibitive activity less than 78%

### 3 结论

本文对一株红树老鼠筋来源的内生真菌 *Penicillium* sp. GXIMD 03101 的次级代谢产物进行研究, 采用多种现代分离方法获得了 13 个化合物, 经鉴定分别为 6 个萜醌类化合物 (**1-6**), 3 个核苷类化合物 (**7-9**), 1 个甾醇类化合物 (**10**), 2 个异香豆素类化合物 (**11, 12**), 以及 1 个生物碱类化合物 (**13**)。其

中, 化合物**1**对胰腺癌细胞显示出较好的细胞毒活性, 浓度为 10  $\mu$ mol/L 时对胰腺癌细胞的抑制率为 75.6%。

#### 参考文献

- [1] 曾尾女, 黄国雷, 王斌, 等. 红树来源青霉菌属真菌次级代谢产物与生物活性 (2007-2020) [J]. 有机化学, 2021, 41(11): 4255-4278.
- [2] ZHU M L, ZHANG X M, FENG H M, et al. Penicisul-

- furans A - F, alkaloids from the mangrove endophytic fungus *Penicillium janthinellum* HDN13-309 [J]. Journal of Natural Products, 2017, 80(1): 71-75.
- [3] BAI M, ZHENG C J, CHEN G Y. Austins-type meroterpenoids from a mangrove-derived *Penicillium* sp. [J]. Journal of Natural Products, 2021, 84(8): 2104-2110.
- [4] CHEN H Q, QIU L M, WANG P, et al. Three new eudesmane-type sesquiterpenoids from the mangrove-derived endophytic fungus *Penicillium* sp. J-54 [J]. Phytochemistry Letters, 2019, 33: 36-38.
- [5] CHEN C M, CHEN W H, PANG X Y, et al. Pyrrolyl 4-quinolone alkaloids from the mangrove endophytic fungus *Penicillium steckii* SCSIO 41025: Chiral resolution, configurational assignment, and enzyme inhibitory activities [J]. Phytochemistry, 2021, 186: 112730.
- [6] QIU P, CAI R L, LI L, et al. Three new isocoumarin derivatives from the mangrove endophytic fungus *Penicillium* sp. YYSJ-3 [J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2020, 18(4): 256-260.
- [7] LUO Z W, TANG M M, ZHOU X M, et al. Five new triene derivatives from the fungus *Penicillium herquei* JX4 [J]. Chemistry & Biodiversity, 2021, 18(5): e2100027.
- [8] SUN L Y, WANG J, WANG Y F, et al. Cytotoxic and antiviral tetramic acid derivatives from the deep-sea-derived fungus *Trichobotrys effuse* DFFSCS021 [J]. Tetrahedron, 2015, 71(49): 9328-9332.
- [9] AGUSTA A, OHASHI K, SHIBUYA H, et al. Bisanthraquinone metabolites produced by the endophytic fungus *Diaporthe* sp. [J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 2006, 54(4): 579-582.
- [10] YAMAZAKI H, KOYAMA N, ÔMURA S, et al. New rugulosins, anti-MRSA antibiotics, produced by *Penicillium radicum* FKI-3765-2 [J]. Organic Letters, 2010, 12(7): 1572-1575.
- [11] CHEN T, YU C G, YANG B L. Structure elucidation and NMR assignments for two new quinones from fructus rhodomyrti of *Rhodomyrtus tomentosa* [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2011, 47(4): 524-526.
- [12] SAID G, HOU X M, LIU X, et al. Antimicrobial and cytotoxic activities of secondary metabolites from the soft coral derived fungus *Aspergillus* sp. [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2019, 55(3): 531-533.
- [13] LU Y H, WANG Z T, XU L S, et al. Three anthraquinones isolated from *Aster tataricus* L. f [J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2003, 12(2): 112-113.
- [14] MA Y T, QIAO L R, SHI W Q, et al. Metabolites produced by an endophyte *Alternaria alternata* isolated from *Maytenus hookeri* [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2010, 46(3): 504-506.
- [15] 吴旭东, 梅文莉, 邵长伦, 等. 中国南海蜂海绵 *Haliclona cymaeformis* 的化学成分研究 [J]. 中国海洋药物杂志, 2011, 30(5): 12-17.
- [16] JIA Y L, GUAN F F, MA J, et al. Pestalotioid A, a new antiviral phthalide derivative from a soft coral-derived fungus *Pestalotiopsis* sp. [J]. Natural Product Sciences, 2015, 21(4): 227-230.
- [17] 张起辉, 田黎, 闫政清, 等. 海洋真菌 *Nigrospora sphaerica* 中化学成分的研究 [J]. 中国药理学杂志, 2014, 49(1): 26-29.
- [18] HAN N, YANG A M, MA S Y, et al. Chemical constituents and antioxidant and antibacterial activity of a fungal endophyte isolated from *Plantago asiatica* [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2020, 56(5): 918-919.
- [19] CHEN S H, LIU Y Y, LIU Z M, et al. Isocoumarins and benzofurans from the mangrove endophytic fungus *Talaromyces amestolkiae* possess  $\alpha$ -glucosidase inhibitory and antibacterial activities [J]. RSC Advances, 2016, 6(31): 26412-26420.
- [20] ELSAYED Y, REFAAT J, ABDELMOHSEN U R, et al. Rhodozepinone, a new antitrypanosomal azepino-indole alkaloid from the marine sponge-derived bacterium *Rhodococcus* sp. UA13 [J]. Medicinal Chemistry Research, 2017, 26(11): 2751-2760.

## Studies on Secondary Metabolites of Endophytic Fungus *Penicillium* sp. GXIMD 03101 from Mangrove *Acanthus ilicifolius* L.

TAN Yuying<sup>1</sup>, CAO Guangping<sup>2</sup>, HUANG Jiongli<sup>1</sup>, LI Qiuting<sup>1</sup>, TANG Zhenzhou<sup>2</sup>,  
LIU Yonghong<sup>2</sup>, GAO Chenghai<sup>2</sup>, BAI Meng<sup>2\*\*</sup>

(1. College of Light Industry and Food Engineering, Guangxi University, Nanning, Guangxi, 530004, China; 2. Institute of Marine Drugs, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530200, China)

**Abstract:** In order to investigate the secondary metabolites of an endophytic fungus *Penicillium* sp. GXIMD 03101 from mangrove *Acanthus ilicifolius* L., the rice fermentation products were isolated and purified by silica gel column chromatography, gel column chromatography and semi-preparative High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The structures of the compounds were identified by Nuclear Magnetic Resonance (NMR). And compounds **1** – **4** were screened for anti-pancreatic cancer activity. The results showed that 13 compounds were isolated and identified from *Penicillium* sp. GXIMD 03101, which were (+)-rugulosin A (**1**), (+)-rugulosin B (**2**), 1,1',3,3',5,5'-hexahydroxy-7,7'-dimethyl[2,2'-bianthracene]-9,9',10,10'-tetraone (**3**), questin (**4**), emodin (**5**), questinol (**6**), uridine (**7**), 2'-deoxythymidine (**8**), 5'-O-acetyl uridine (**9**), ergosta-5,7,22-triene-3- $\beta$ -ol (**10**), (3*R*)-6-hydroxymellein (**11**), 6-hydroxy-8-methoxy-3,4-dimethylisocoumarin (**12**) and indole-3-acetic acid (**13**). Among them, compound **1** showed good cytotoxic activity against pancreatic cancer cells, and the inhibition rate was 75.6% at the concentration of 10  $\mu$ mol/L. The above results provide a material basis for further research and development of natural anti-pancreatic cancer drugs derived from mangrove endophytic *Penicillium*.

**Key words:** *Acanthus ilicifolius* L.; endophytic fungus; *Penicillium* sp.; secondary metabolites; anti-pancreatic cancer activity

责任编辑:米慧芝



微信公众号投稿更便捷

联系电话:0771-2503923

邮箱:gxkx@gxas.cn

投稿系统网址: <http://gxkx.ijournal.cn/gxkx/ch>