

# 深海冷泉草酸青霉 *Penicillium oxalicum* 13-37 的化学成分研究

刘雅萍<sup>1,2</sup>, 方圣涛<sup>1</sup>, 时振振<sup>1</sup>, 季乃云<sup>1</sup>

(1. 中国科学院烟台海岸带研究所, 山东 烟台 264003; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 为了丰富深海冷泉天然产物结构多样性, 本文对深海冷泉沉积物来源的草酸青霉 *Penicillium oxalicum* 13-37 的次生代谢产物进行了研究, 通过硅胶柱层析、反相硅胶柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱层析、制备薄层层析、半制备高效液相色谱方法, 从其发酵产物中分离得到 11 个单体化合物, 分别为 *seco-blennolide B* (**1**)、*blennolide B* (**2**)、*citreorosein* (**3**)、*emodine* (**4**)、*isorhodoptilometrin* (**5**)、*aloe-emodin* (**6**)、*2-acetylemodin* (**7**)、*11-O-acetylaloeemodin* (**8**)、*phaseolorin I* (**9**)、*penitholabene* (**10**) 和 *paecilomycine A* (**11**)。其中, 化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **10** 和 **11** 为首次从深海冷泉草酸青霉中分离得到的萜类化合物, 并首次对化合物 **10** 的单晶数据进行报道。此外, 活性测试结果表明, 化合物 **1** 对东海原甲藻和海洋卡盾藻、副溶血弧菌具有一定的抑制作用, 对卤虫表现出微弱的毒性。

**关键词:** 深海冷泉; 草酸青霉; 次生代谢产物; 化学成分; 生物活性

中图分类号: O629 文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2022)05-0115-07

DOI: 10.11759/hykx20210414002

深海是全球最大的独立生态系统, 蕴含着丰富的微生物资源<sup>[1-2]</sup>, 其独特极端的生存环境使得深海微生物具备与陆地和浅海微生物不同的代谢途径及遗传背景<sup>[3-5]</sup>。深海沉积物是深海微生物的重要来源, 近些年来, 科学家们从深海中分离培养出大量的微生物并对其次生代谢产物进行研究<sup>[6-8]</sup>。其中深海沉积物来源微生物次生代谢产物也愈发受到关注, 现已得到多种类型的化合物, 如酮类、甾体类、萜类、二酮哌嗪类、生物碱类、脂类、苯腙类、喹唑啉类和过氧化物等<sup>[9-12]</sup>, 但对深海冷泉沉积物来源微生物次生代谢产物研究较少。因此, 研究深海冷泉沉积物来源微生物的次生代谢产物, 是丰富海洋天然产物结构多样性的重要途径, 并且对于进一步开发利用深海资源具有重要意义。

根据前期对深海冷泉沉积物来源草酸青霉的研究<sup>[12]</sup>, 本文对其次生代谢产物进行进一步分离纯化, 得到了 11 个化合物(**1-11**), 包括 1 个 xanthone 酮类化合物及其开环衍生物(**1** 和 **2**)、7 个蒽醌类化合物(**3-9**)、2 个萜类化合物(**10** 和 **11**)。综合运用现代波谱技术包括核磁共振、质谱、红外光谱、X-射线单晶衍射及与参考文献数据对比等方法对其结构进行鉴定, 并对其中新化合物(**1**)的生物活性进行了测试。化合物 **1-11** 结构见图 1。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

供试卤虫(*Artemia salina*), 为实验室保存卵孵化。供试微藻: 赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*)、东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)和海洋卡盾藻(*Chattonella marina*), 为实验室培植继代微藻。供试菌株: 细菌包括柠檬假单胞菌(*Pseudoalteromonas citrea*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、鳗弧菌(*Vibrio anguillarum*)、哈氏弧菌(*V. harveyi*)和副溶血弧菌(*V. parahemolyticus*)和灿烂弧菌(*V. splendidus*), 真菌包括灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerium*)、西瓜枯萎病菌(*F. oxysporum* f. *niveum*)和芦笋茎枯病菌(*Phomopsis asparagi*), 为实验室保存菌株。

收稿日期: 2021-04-14; 修回日期: 2022-01-19

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC0310800); 泰山学者青年项目(tsqn201909164); 国家重大科技基础设施“科学”号海洋科学综合考察船(KEXUE2018G28)

[Foundation: National Key R&D Program of China, No. 2018YFC0310800; Taishan Scholar Project, No. tsqn201909164; the Research Vessel KEXUE of the National Major Science and Technology Infrastructure from the Chinese Academy of Sciences No. KEXUE2018G28]

作者简介: 刘雅萍(1995—), 女, 山东烟台人, 博士研究生, 主要从事海洋天然产物化学研究, 电话: 0535-2109225, E-mail: ypliu@yic.ac.cn; 季乃云(1980—), 通信作者, 研究员, 主要从事海洋天然产物化学研究, 电话: 0535-2109176, E-mail: nyji@yic.ac.cn

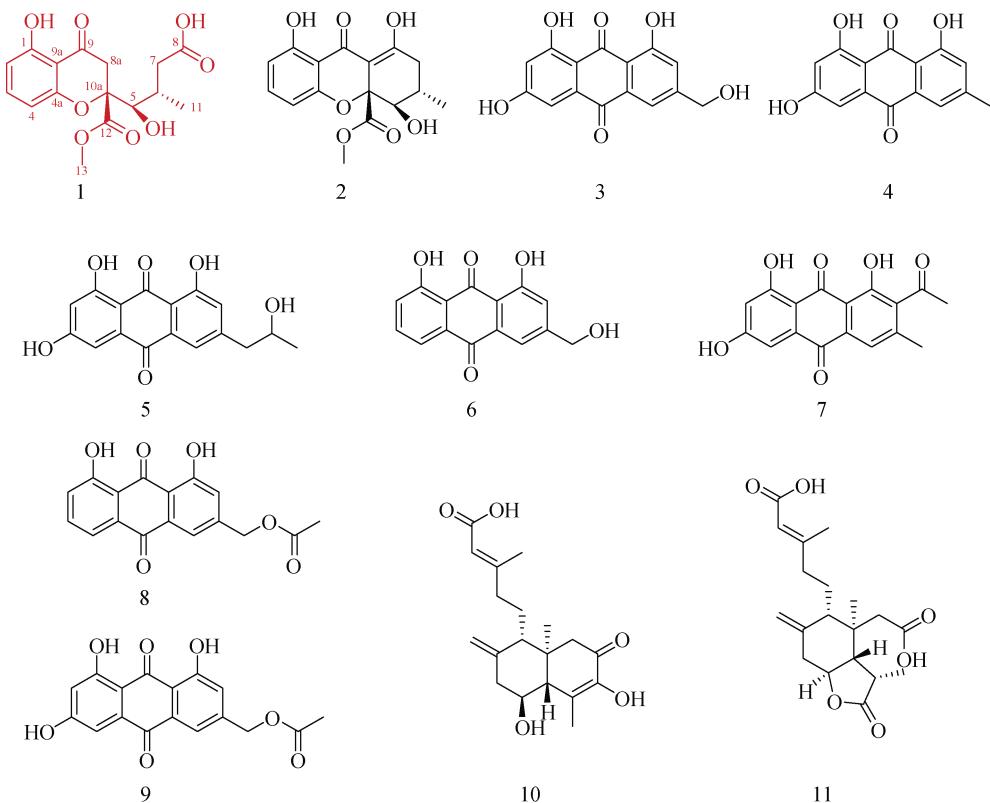


图 1 化合物 1-11 的结构  
Fig. 1 Structures of compounds 1-11

石油醚(分析纯)、乙酸乙酯(分析纯)、二氯甲烷(分析纯)、甲醇(分析纯)、乙腈(色谱纯), 上海国药集团化学试剂有限公司。

Bruker Avance III 500 型超导核磁共振波谱仪, Bruker 公司; 超高效液相色谱-质谱联用仪, Waters 公司; Nicolet iS50 红外光谱仪 Thermo Fisher Scientific 公司, Agilent 1260 型高效液相色谱系统 (Eclipspe SB-C<sub>18</sub> 色谱柱, 9.4 mm × 250 mm, 5 μm), Agilent 技术有限公司。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 菌株的分离与培养

菌株分离于南海深海冷泉沉积物, 经 ITS 基因测序, 鉴定该菌株为 *Penicillium oxalicum*, 菌种 (CGMCC No.19913) 保存在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心。

采用大米培养基将菌株进行批量发酵, 得到草酸青霉代谢产物粗提物 536 g<sup>[12]</sup>。

### 1.2.2 单体化合物的分离与纯化

将粗提物经硅胶柱层析, 依次用一定比例的石油醚-乙酸乙酯和二氯甲烷-甲醇进行梯度洗脱, 合并

相同或类似部分得到 8 个组分(1-8)<sup>[12]</sup>。

组分 4 (石油醚-乙酸乙酯, 2 : 1) 经反相硅胶柱层析(甲醇-水, 7 : 3), Sephadex LH-20 (甲醇) 凝胶柱层析和制备薄层层析得到化合物 8 (3.1 mg)。

组分 5 (石油醚-乙酸乙酯, 1 : 1) 经反相硅胶柱层析(甲醇-水, 17 : 3-9 : 1), 得到组分 5-1 (甲醇-水, 17 : 3) 和 5-2 (甲醇-水, 9 : 1), 5-1 经硅胶柱层析(石油醚-乙酸乙酯, 1 : 1) 和半制备高效液相色谱(乙腈-水, 3 : 2-7 : 3, 0.1% 冰醋酸) 得化合物 9 (4.8 mg) 和化合物 7 (2.1 mg); 5-2 经硅胶柱层析(石油醚-乙酸乙酯, 2 : 1) 得化合物 4 (36.7 mg)。

组分 6 (乙酸乙酯) 经反相硅胶柱层析(甲醇-水, 13 : 7-9 : 1), 得到组分 6-1 (甲醇-水, 13 : 7), 6-2 (甲醇-水, 7 : 3), 6-3 (甲醇-水, 3 : 1), 6-4 (甲醇-水, 9 : 1)。6-1 经 Sephadex LH-20 (甲醇) 凝胶柱层析再经过硅胶柱层析(二氯甲烷-甲醇, 30 : 1) 得到化合物 10 (13.2 mg); 6-2 经 Sephadex LH-20 (甲醇) 凝胶柱层析分别得化合物 11 (8.8 mg) 和化合物 3 (6.9 mg); 6-3 经 Sephadex LH-20 (甲醇) 凝胶柱层析、半制备高效液相色谱(乙腈-水, 1 : 4-2 : 3) 分别得化合物 1 (4.7 mg)

和化合物 **2** (5.6 mg); 6-4 经硅胶柱层析(石油醚-乙酸乙酯, 2 : 1-1 : 1), 分别得化合物 **5** (8.9 mg) 和化合物 **6** (22.0 mg)。

### 1.2.3 化合物结构鉴定

综合运用核磁共振、红外光谱、质谱、X-射线单晶衍射及与文献数据比较等方法, 对所得化合物进行结构鉴定和解析。

### 1.2.4 化合物生物活性测试

参照文献所用的实验方法, 测定新化合物对虫的毒性以及抗微藻、抗细菌、抗真菌活性<sup>[13-15]</sup>。

## 2 实验结果

### 2.1 化合物的结构鉴定

**化合物 1:** 白色粉末。 $[\alpha]_D^{28} -72$  (*c* 0.056, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\log \varepsilon$ ) 271 (3.6) nm; IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  3 476, 2 955, 1 732, 1 648, 1 628, 1 580, 1 462, 1 359, 1 290, 1 228, 1 049, 795  $\text{cm}^{-1}$ ; 高分辨质谱 HRESIMS (*m/z* [M + Na]<sup>+</sup> 361.090 7, 计算为: 361.089 4, 提示分子式为: C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>, 不饱和度为 8。<sup>1</sup>H NMR 谱 (DMSO-*d*<sub>6</sub>) 显示该化合物含有 3 个芳香区信号:  $\delta_H$  7.47 (1H, dd, *J* = 8.0, 7.1 Hz, H-3),  $\delta_H$  6.53 (1H, d, *J* = 7.1 Hz, H-2) 和  $\delta_H$  6.48 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-4), 2 个甲基信号:  $\delta_H$  3.60 (3H, s, H-13) 和  $\delta_H$  0.91 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-11)。进一步分析 <sup>13</sup>C NMR 和 DEPT NMR 谱(DMSO-*d*<sub>6</sub>), 发现该化合物分子中有 16 个碳原子, 分别为 7 个季碳信号:  $\delta_C$  196.7 (C-9, C),  $\delta_C$  172.5 (C-8, C),  $\delta_C$  170.4 (C-12, C),  $\delta_C$  160.8 (C-1, C),  $\delta_C$  159.7 (C-4a, C),  $\delta_C$  107.2 (C-9a, C),  $\delta_C$  87.5 (C-10a, C), 5 个次甲基信号:  $\delta_C$  107.7 (C-2, CH),  $\delta_C$  138.7 (C-3, CH),  $\delta_C$  109.2 (C-4, CH),  $\delta_C$  74.7 (C-5 CH) 和  $\delta_C$  30.9 (C-6, CH), 2 个亚甲基信号:  $\delta_C$  40.5 (C-8a, CH<sub>2</sub>) 和  $\delta_C$  39.5 (C-7, CH<sub>2</sub>) 及 2 个甲基信号:  $\delta_C$  52.9 (C-13, CH<sub>3</sub>) 和  $\delta_C$  13.9 (C-11, CH<sub>3</sub>)。化合物 **1** 在分离过程中可以由化合物 **2** 逐渐变化得到, 其核磁谱图也显示出与 blennolide B<sup>[16]</sup> 的相似之处, 通过仔细比较核磁数据, 发现化合物 **1** 与 blennolide B 的不同之处在于, blennolide B 化合物 C-8a 位的季碳消失, 变成一个亚甲基, 再根据化合物 **1** 的 C-8 处化学位移推测 C-8 位连接了一个羧基, 因此推测该化合物 **1** 在 C-8a 和 C-8 之间开环, 是 blennolide B 的开环衍生物。通过 HMBC 谱图中, H-7 与 C-8 的相关确定羧基与 C-7 相连, 结合 COSY 谱中 H-6 与 H-5、H-7 和 H-11 的相关, 将骨架由 C-5 扩展到 C-8, 再通过 COSY、HMBC 相关(图 2)推出化合物 **1** 的平面结构。化合物

**2** 的旋光度为  $[\alpha]_D^{20} +102$  (*c* 0.18, MeOH), 与 blennolide B 的文献报道基本一致, 确定化合物 **2** 的绝对构型为 5*R*, 6*S* 和 10*aR*, 因此, 确定该新化合物的绝对构型为 5*R*, 6*S* 和 10*aR*, 是一个新的 xanthone 酮类开环衍生物, 命名为 seco-blennolide B。核磁数据如下:  $\delta_H$  11.48 (1H, brs, OH-1), 7.47 (1H, dd, *J* = 8.0, 7.1 Hz, H-3), 6.53 (1H, d, *J* = 7.1 Hz, H-2), 6.48 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-4), 5.72 (1H, d, *J* = 6.3 Hz, OH-5), 3.84 (1H, dd, *J* = 6.3, 2.2 Hz, H-5), 3.60 (3H, s, H-13), 3.42 (1H, d, *J* = 17.1 Hz, H-8aa), 3.00 (1H, d, *J* = 17.1 Hz, H-8ab), 2.49 (1H, dd, *J* = 15.8, 7.0 Hz, H-7a), 2.28 (1H, dd, *J* = 15.8, 7.0 Hz, H-7b), 2.22 (2H, m, H-6), 0.91 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-11); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):  $\delta_C$  196.7 (C-9, C), 172.5 (C-8, C), 170.4 (C-12, C), 160.8 (C-1, C), 159.7 (C-4a, C), 107.7 (C-2, CH), 107.2 (C-9a, C), 138.7 (C-3, CH), 109.2 (C-4, CH), 87.5 (C-10a, C), 74.7 (C-5 CH), 52.9 (C-13, CH<sub>3</sub>), 40.5 (C-8a, CH<sub>2</sub>), 39.5 (C-7, CH<sub>2</sub>), 30.9 (C-6, CH), 13.9 (C-11, CH<sub>3</sub>)。

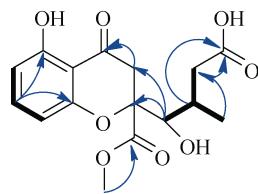


图 2 化合物 **1** 重要的 COSY 和 HMBC 相关  
Fig. 2 Key COSY and HMBC correlations of compound **1**

**化合物 2:** C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub>, 淡黄色无定型粉末。核磁波谱数据如下:  $\delta_H$  13.90 (1H, brs, OH-8), 11.29 (1H, s, OH-1), 7.43 (1H, t, *J* = 8.2 Hz, H-3), 6.54 (2H, dd, *J* = 8.2, 0.8 Hz, H-4), 6.47 (1H, dd, *J* = 8.2, 0.8 Hz, H-2), 5.95 (1H, d, *J* = 5.5 Hz, OH-5), 3.77 (1H, m, H-5), 3.56 (3H, s, H-13), 2.58 (1H, m, H-7b), 2.40 (2H, m, H-6), 2.28 (1H, m, H-7a), 1.01 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-11); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):  $\delta_C$  185.7 (C-9, C), 179.6 (C-8, C), 170.7 (C-12, C), 161.4 (C-1, C), 160.0 (C-4a, C), 138.4 (C-3, CH), 110.0 (C-2, CH), 108.2 (C-4, CH), 107.2 (C-9a, C), 102.2 (C-8a, C), 85.6 (C-10a, C), 75.8 (C-5, CH), 53.1 (C-13, CH<sub>3</sub>), 36.3 (C-7, CH<sub>2</sub>), 30.3 (C-6, CH), 18.2 (C-11, CH<sub>3</sub>)。经过文献检索与数据比对发现化合物 **2** 与文献报道的已知化合物 blennolide B<sup>[16]</sup> 波谱数据基本一致, 因此将化合物 **2** 鉴定为 blennolide B。

**化合物 3:** C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>, 橙黄色粉末状固体。<sup>1</sup>H NMR 数据(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):  $\delta_H$  12.07 (1H, s, OH-8), 12.04 (1H, s, OH-1), 7.61 (1H, s, H-5), 7.22 (1H, s, H-7), 7.10 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-4), 6.57 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2), 5.57 (1H, brs, OH-6), 4.60 (2H, s, H-11); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):  $\delta_C$  190.2 (C-9,

C), 181.8 (C-10, C), 166.1 (C-3, C), 164.9 (C-1, C), 161.9 (C-8, C), 153.3 (C-6, C), 135.6 (C-10a, C), 133.4 (C-4a, C), 121.2 (C-7, CH), 117.5 (C-5, CH), 114.5 (C-8a, C), 109.4 (C-4, CH), 109.3 (C-9a, C), 108.3 (C-2, CH), 62.5 (C-11, CH<sub>2</sub>)。经过文献检索与数据比对发现化合物**3**与文献报道的已知化合物citreorosein<sup>[17]</sup>数据基本一致,因此将化合物**3**鉴定为citreorosein。

**化合物4:** C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>, 黄色粉末状固体。核磁波谱数据如下: <sup>1</sup>H NMR 数据(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz): δ<sub>H</sub> 12.09 (1H, brs, 8-OH), 12.03 (1H, brs, OH-1), 7.49 (1H, d, *J*=1.2 Hz, H-5), 7.17 (1H, m, H-4), 7.12 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-7), 6.60 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-2), 2.42 (3H, s, H-11); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz): δ<sub>C</sub> 189.7 (C-9, C), 181.4 (C-10, C), 165.6 (C-1, C), 164.5 (C-3, C), 161.4 (C-8, C), 148.3 (C-6, C), 135.1 (C-4a, C), 132.9 (C-10a, C), 124.2 (C-7, CH), 120.5 (C-5, CH), 113.4 (C-8a, C), 109.0 (C-9a, C), 108.8 (C-4, CH), 108.0 (C-2, CH), 21.5 (C-11, CH<sub>3</sub>)。经过文献检索与数据比对发现化合物**4**与文献报道的已知化合物emodin<sup>[18]</sup>数据基本一致,因此将化合物**4**鉴定为emodin。

**化合物5:** C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>, 黄色粉末状固体。核磁波谱数据如下: <sup>1</sup>H NMR 数据(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz): δ<sub>H</sub> 12.11 (1H, s, OH-8), 12.02 (1H, s, OH-1), 11.39 (1H, s, OH-6), 7.55 (1H, s, H-2), 7.20 (1H, s, H-4), 7.14 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-5), 6.61 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-7), 4.69 (1H, m, H-2'), 3.91 (1H, m, OH-4), 2.73 (2H, m, H-1'), 1.11 (3H, d, *J*=6.1 Hz, H-3'); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz): δ<sub>C</sub> 190.3 (C-9, C), 182.0 (C-10, C), 166.0 (C-8, C), 164.9 (C-6, C), 161.6 (C-1, C), 150.6 (C-3, C), 135.7 (C-5a, C), 133.0 (C-10a, C), 125.3 (C-2, CH), 121.5 (C-4, CH), 114.1 (C-1a, C), 109.5 (C-9a, CH), 109.2 (C-5, C), 108.4 (C-7, CH), 67.0 (C-2', CH), 45.5 (C-1', CH<sub>2</sub>), 23.9 (C-3', CH<sub>3</sub>)。经文献比对,化合物**5**的核磁数据与isorhodoptilometrin<sup>[19]</sup>基本一致,因此将化合物**5**鉴定为isorhodoptilometrin。

**化合物6:** C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>, 黄色粉末状固体。核磁波谱数据如下: <sup>1</sup>H NMR 数据(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz): δ<sub>H</sub> 11.99 (1H, brs, OH-8), 11.93 (1H, brs, OH-1), 7.84 (1H, t, *J*=7.7 Hz, H-6), 7.74 (1H, d, *J*=7.5 Hz, H-5), 7.72 (1H, s, H-4), 7.40 (1H, d, *J*=8.3 Hz, H-7), 7.31 (1H, s, H-2), 4.66 (2H, s, H-11); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz): δ<sub>C</sub> 192.2 (C-9, C), 182.0 (C-10, C), 162.1 (C-3, C), 161.8 (C-1, C), 154.2 (C-8, C), 137.8 (C-6, CH), 133.9 (C-10a, C), 133.6 (C-4a, C), 124.9 (C-7, CH), 121.2 (C-5, CH), 119.8 (C-8a, C), 117.6 (C-4, CH), 116.4 (C-9a, C), 115.0 (C-2, CH), 62.5 (C-11, CH<sub>2</sub>)。经文献比对,化合物**6**的波谱数据与已知化合物aloe-emodin<sup>[20]</sup>的文献报道数据基本一致,因此将化

合物**6**鉴定为aloe-emodin。

**化合物7:** C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, 淡黄色粉末状固体。核磁数据如下: <sup>1</sup>H NMR 数据(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz): δ<sub>H</sub> 11.98 (1H, s, OH-1), 7.53 (1H, s, H-4), 7.10 (1H, s, H-5), 6.56 (1H, s, H-7), 2.55 (3H, s, H-12), 2.31 (3H, s, H-13); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz): δ<sub>C</sub> 203.6 (C-11, C), 189.4 (C-9, C), 181.6 (C-10, C), 165.1 (C-8, C), 158.2 (C-1, C), 143.7 (C-3, C), 136.5 (C-2, C), 135.5 (C-4a, C), 133.1 (C-10a, C), 121.5 (C-4, CH), 114.5 (C-9a, C), 110.2 (C-5, CH), 109.0 (C-8a, C), 109.0 (C-6, C), 108.5 (C-7, CH), 32.1 (C-12, CH<sub>3</sub>), 19.8 (C-13, CH<sub>3</sub>)。经文献检索对比,该化合物的核磁数据与2-acetylemodin<sup>[21]</sup>一致,因此将化合物**7**鉴定为2-acetylemodin。

**化合物8:** C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, 黄色粉末状固体。核磁波谱数据如下: <sup>1</sup>H NMR 数据(CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ<sub>H</sub> 12.08 (1H, s, OH-8), 12.05 (1H, s, OH-1), 7.80 (1H, d, *J*=7.8 Hz, H-5), 7.77 (1H, brs, H-4), 7.68 (1H, t, *J*=7.7 Hz, H-6), 7.29 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-7), 7.24 (1H, s, H-2), 5.14 (2H, s, H-11), 2.18 (3H, s, CH<sub>3</sub>CO); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz): δ<sub>C</sub> 192.3 (C-9, C), 181.1 (C-10, C), 170.2 (C-2', C=O), 162.4 (C-1, C), 162.1 (C-8, C), 146.4 (C-3, CH), 136.9 (C-6, C), 133.7 (C-10a, C), 133.4 (C-4a, C), 124.6 (C-7, CH), 122.3 (C-2, CH), 120.1 (C-5, CH), 118.4 (C-4, CH), 115.8 (C-8a, C), 115.2 (C-9a, C), 64.7 (C-11, CH<sub>2</sub>), 20.7 (C-1', CH<sub>3</sub>)。经文献对比,化合物**8**的核磁数据与11-*O*-acetylaloeemodin<sup>[22]</sup>基本一致,因此将该化合物鉴定为11-*O*-acetylaloeemodin。

**化合物9:** C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>, 淡黄色粉末状固体。核磁波谱数据如下: <sup>1</sup>H NMR 数据(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz): δ<sub>H</sub> 12.13 (1H, brs, OH-1), 12.13 (1H, brs, OH-9), 7.62 (1H, s, H-4), 7.30 (1H, s, H-2), 7.08 (1H, s, H-6), 6.51 (1H, s, H-8), 5.18 (2H, s, H-11), 2.15 (3H, s, CH<sub>3</sub>CO); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz): δ<sub>C</sub> 189.4 (C-10, C), 181.7 (C-5, C), 170.6 (C-12, C), 167.6 (C-7, C), 165.2 (C-9, C), 161.8 (C-1, C), 145.9 (C-3, C), 135.5 (C-5a, C), 133.8 (C-4a, C), 122.7 (C-2, CH), 118.2 (C-4, CH), 115.6 (C-10a, C), 110.3 (C-6, CH), 108.9 (C-9a, C), 108.4 (C-8, CH), 64.7 (C-11, CH<sub>2</sub>), 21.1 (C-13, CH<sub>3</sub>)。经文献对比,化合物**9**的核磁数据与phaseolorin I<sup>[23]</sup>基本一致,因此将该化合物鉴定为phaseolorin I。

**化合物10:** C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub>, 无色晶体; 核磁数据如下: <sup>1</sup>H NMR 数据(CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz): δ<sub>H</sub> 5.65 (1H, brs, H-14), 5.07 (1H, brs, H-17a), 4.72 (1H, brs, H-17b), 3.74 (1H, ddd, *J*=10.7, 10.5, 5.5 Hz, H-5), 2.77 (1H, dd, *J*=12.5, 5.5 Hz, H-7a), 2.63 (1H, d, *J*=16.8 Hz, H-1a), 2.59 (1H, dq, *J*=10.7, 1.9 Hz, H-5), 2.36 (1H, d, *J*=16.8 Hz, H-1b), 2.35 (1H, m, H-12a), 2.31 (1H, dd, *J*=12.5, 5.5 Hz, H-7b), 2.15 (3H, d, *J*=1.2 Hz, H-16),

2.10 (3H, d,  $J = 1.9$  Hz, H-18), 2.09 (1H, m, H-12b), 2.05 (1H, brd,  $J = 10.8$  Hz, H-9), 1.62 (1H, m, H-11), 0.71 (3H, s, H-19);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 MHz):  $\delta_{\text{C}}$  194.5 (C-2, C), 170.2 (C-15, C), 161.2 (C-13, C), 146.4 (C-3, C), 145.0 (C-8, C), 134.7 (C-4, C), 117.1 (C-15, CH), 110.0 (C-17, CH<sub>2</sub>), 70.2 (C-6, CH), 55.0 (C-5, CH), 53.0 (C-9, CH), 51.5 (C-1a, CH<sub>2</sub>), 48.8 (C-7, CH<sub>2</sub>), 45.0 (C-10, C), 40.3 (C-12, CH<sub>2</sub>), 23.0 (C-11, CH<sub>2</sub>), 18.8 (C-16, CH<sub>3</sub>), 15.3 (C-18, CH<sub>3</sub>), 14.0 (C-19, CH<sub>3</sub>)。 $^{13}\text{C}$  NMR 和 DEPT 谱( $\text{CD}_3\text{OD}$ )显示该化合物共 19 个碳原子，包括 3 个甲基信号，5 个亚甲基信号，4 个次甲基和 7 个季碳信号，结合  $^1\text{H}$  NMR 谱( $\text{CD}_3\text{OD}$ )信息，推断该化合物应为降二萜类化合物，其绝对构型通过单晶数据(CCDC 2024004)确定:  $M = 334.40$ ,  $a = 16.0357(3)$  Å,  $b = 16.0357(3)$  Å,  $c = 24.6841(5)$  Å,  $\alpha = 90^\circ$ ,  $\beta = 90^\circ$ ,  $\gamma = 120^\circ$ ,  $V = 5497.0(2)$  Å<sup>3</sup>,  $T = 100.2$  K, 该单晶属于  $P6_3$  空间群,  $Z = 12$ ,  $\mu(\text{Cu K}\alpha) = 0.708 \text{ mm}^{-1}$ , 测试衍射点数: 74578, 其中不相关衍射点数: 7259 ( $R_{\text{int}} = 0.0552$ )。最终得到  $R_I$ : 0.0302 ( $I > 2\sigma(I)$ ),  $wR(F^2)$ : 0.0842 ( $I > 2\sigma(I)$ ),  $R_I$ : 0.0303 (all data),  $wR(F^2)$ : 0.0844 (all data),  $F^2$  的 GOF 值: 1.061, Flack 常数: 0.02 (4), 单晶衍射图如下(图 3)。经文献对比，化合物 **10** 与化合物 penitholabene<sup>[24]</sup>结构一致，因此将其鉴定为 penitholabene。

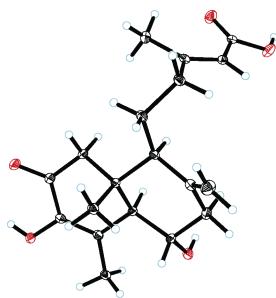


图 3 化合物 **10** 的单晶结构图

Fig. 3 X-ray crystallographic structure of compound **10**

化合物 **11**:  $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_6$ , 白色粉末状固体。核磁波谱数据如下:  $^1\text{H}$  NMR 数据( $\text{DMSO}-d_6$ , 500 MHz):  $\delta_{\text{H}}$  5.57 (1H, s, H-13), 5.19 (1H, s, H-16a), 4.84 (1H, s, H-16b), 4.38 (1H, m, H-8), 2.89 (1H, m, H-7a), 2.77 (1H, m, H-3), 2.48 (1H, d,  $J = 14.2$ , H-18a), 2.41 (1H, dd,  $J = 11.5, 7.2$  Hz, H-9), 2.35 (1H, d,  $J = 14.2$  Hz, H-18b), 2.18 (1H, m, H-11a), 2.16 (1H, m, H-7b), 2.09 (3H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-15), 2.01 (1H, m, H-5), 1.89 (1H, m, H-11b), 1.71 (1H, m, H-10a), 1.51 (1H, m, H-10b), 1.18 (3H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-17), 0.78 (3H, s, H-20);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 125 MHz):  $\delta_{\text{C}}$  179.3 (C-2, C), 172.9 (C-19, C), 167.9 (C-14, C), 159.4 (C-12, C), 142.6 (C-6, C), 116.4 (C-13, CH), 113.9 (C-16, CH<sub>2</sub>), 76.9 (C-8, CH), 52.8 (C-9, CH), 50.8 (C-5, CH), 42.6 (C-7,

CH<sub>2</sub>), 42.4 (C-18, CH<sub>2</sub>), 40.1 (C-4, C), 39.6 (C-11, CH<sub>2</sub>), 38.7 (C-3, CH), 22.7 (C-10, CH<sub>2</sub>), 18.9 (C-15, CH<sub>3</sub>), 17.8 (C-20, CH<sub>3</sub>), 12.2 (C-17, CH<sub>3</sub>)。经与文献对比，化合物 **11** 与化合物 paecilomycine A<sup>[25]</sup>核磁数据基本一致，因此将其鉴定为 paecilomycine A。

## 2.2 活性结果

新化合物(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )对卤虫的致死率为 11.9%，对东海原甲藻和海洋卡盾藻的抑制率分别为 85.3% 和 43.2%，该浓度下对赤潮异弯藻无明显的活性。新化合物(20  $\mu\text{g}/\text{片}$ )对副溶血弧菌的纸片抑菌圈直径为 9.3 mm，该浓度下对其他测试细菌、真菌无明显活性。

## 3 结论

本文从深海冷泉采集的沉积物样品中分离得到一株海洋真菌草酸青霉，对其进行批量发酵培养，所得粗提物利用硅胶柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱层析、反相硅胶柱层析、制备薄层层析和半制备高效液相色谱等分离手段得到 1 个新的单体化合物 *seco-blennolide B* (**1**)，其他化合物通过  $^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR 等方式鉴定为 *blennolide B* (**2**)、*citreorosein* (**3**)、*emodine* (**4**)、*aloe-emodin* (**5**)、*isorhodoptilometrin* (**6**)、*11-O-acetylaloeemodin* (**8**)、*phaseolorin I* (**9**)、*2-acetylemodin* (**7**)、*penitholabene* (**10**) 和 *paecilomycine A* (**11**)。化合物 **1** 为新的 xanthone 酮类开环衍生物，化合物 **10** 和 **11** 为首次从深海冷泉草酸青霉中分离到的已知萜类化合物。此外，本文首次获取化合物 **10** 的单晶结构，并对其单晶数据进行报道。活性测试结果表明，化合物 **1** 对海洋卡盾藻、东海原甲藻的生长具有一定的抑制作用，对卤虫表现出微弱的毒性，对副溶血弧菌表现出弱的抑制作用，对其他测试细菌和真菌、微藻无明显活性。

## 参考文献:

- [1] 王风平, 周悦恒, 张新旭, 等. 深海微生物多样性[J]. 生物多样性, 2013, 21(4): 445-455.  
WANG Fengping, ZHOU Yueheng, ZHANG Xinwu, et al. Biodiversity of deep-sea microorganisms[J]. Biodiversity Science, 2013, 21(4): 445-455.
- [2] 张宇, 肖湘. 深海微生物的研究与开发[J]. 生命科学, 2012, 24(9): 986-990.  
ZHANG Yu, XIAO Xiang. Research and development on deep sea microbiology[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2012, 24(9): 986-990.
- [3] 马新华, 郑卫敏, 周芳, 等. 2 株深海来源真菌次级代谢产物的研究[J]. 中国海洋药物, 2018, 37(5): 41-46.

- MA Xinhua, ZHENG Weimin, ZHOU Fang, et al. Studies on the secondary metabolites of two deep-sea-derived fungi[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2018, 37(5): 41-46.
- [4] 席峰, 郑天凌, 焦念志, 等. 深海微生物多样性形成机制浅析[J]. 地球科学进展, 2004, 19(1): 38-46.
- XI Feng, ZHENG Tianling, JIAO Nianzhi, et al. a preliminary analysis of mechanism of deep sea microorganisms diversity[J]. Advance in Earth Sciences, 2004, 19(1): 38-46.
- [5] 蔡松岩, 何建林, 白锴凯, 等. 深海真菌次级代谢产物及其生物活性研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2020, 47(12): 1033-1046.
- CAI Songyan, HE Jianlin, BAI Kaikai, et al. Secondary metabolites of deep-sea fungi and their biological activities: research advances[J]. International Journal of Pharmaceutical Research, 2020, 47(12): 1033-1046.
- [6] 曾奇, 仲伟茂, 向瑶, 等. 南海深海沉积物中 52 株真菌的初步分离鉴定及其代谢产物活性[J]. 微生物学通报, 2018, 45(9): 1904-1915.
- ZENG Qi, ZHONG Weimao, XIANG Yao, et al. Isolation, identification and evaluation of 52 fungi from the deep-sea sediments of South China Sea[J]. Microbiology China, 2018, 45(9): 1904-1915.
- [7] 曾奇, 仲伟茂, 王发左. 深海来源真菌次级代谢产物研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(3): 501-514.
- ZENG Qi, ZHONG Weimao, WANG Fazuo. Secondary metabolites isolated from deep-sea-derived fungi[J]. Natural Product Research and Development, 2018, 30(3): 501-514.
- [8] 李梦瀛, 闫培生, 高秀君, 等. 深海真菌多样性及其代谢产物生物活性的研究进展[J]. 生物技术进展, 2015, 5(3): 170-175.
- LI Mengying, YAN Peisheng, GAO Xiujun, et al. Progress on diversity and secondary metabolites biological activity of deep-sea fungi[J]. Current Biotechnology, 2015, 5(3): 170-175.
- [9] WANG Y N, MENG L H, WANG B G. Progress in research on bioactive secondary metabolites from deep-sea derived microorganisms[J]. Marine Drugs, 2020, 18(12): 614.
- [10] CHI L P, LI X M, WAN Y P, et al. Ophiobolin sesterpenoids and farnesylated phthalide derivatives from the deep sea cold-seep-derived fungus *Aspergillus insuetus* SD-512[J]. Journal of Natural Products, 2020, 83(12): 3652-3660.
- [11] LV F Y, LI X M, CHI L P, et al. A new acyclic peroxide from *Aspergillus nidulans* SD-531, a fungus obtained from deep-sea sediment of cold spring in the South China Sea[J]. Journal of Oceanology and Limnology, 2020, 38(4): 1225-1232.
- [12] LIU Y P, FANG S T, SHI Z Z, et al. Phenylhydrazone and quinazoline derivatives from the cold-seep-derived fungus *Penicillium oxalicum*[J]. Marine Drugs, 2021, 19(1): 9.
- [13] SHI Z Z, FANG S T, MIAO F P, et al. Trichocarotins A-H and trichocadinin A, nine sesquiterpenes from the marine-alga-epiphytic fungus *Trichoderma virens*[J]. Bioorganic Chemistry, 2018, 81: 319-325.
- [14] SONG Y P, SHI Z Z, YIN X L, et al. Tricholumin A, a highly transformed ergosterol derivative from the alga-endophytic fungus *Trichoderma asperellum*[J]. Organic Letters, 2018: 6306-6309.
- [15] SHI Z Z, LIU X H, LI X N, et al. Antifungal and antimicroalgal trichothecene sesquiterpenes from the marine algicolous fungus *Trichoderma brevicompactum* A-DL-9-2[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(52): 15440-15448.
- [16] QIN T, JOHNSON R P, PORCO J A. Vinylogous addition of siloxyfurans to benzopyryliums: a concise approach to the tetrahydroxanthone natural products[J]. Journal of the American Chemical society, 2011, 133(6): 1714-1717.
- [17] MONDAL A, SAHA N, RAJPUT A , et al. Chemoenzymatic reduction of citreorosein and its implications on aloe-emodin and rugulosin C (bio)synthesis[J]. Organic & Biomolecular Chemistry, 2019, 17: 8711-8715.
- [18] 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.
- [19] ZHANG Y H, HOU X M, YU M L, et al. Secondary metabolites and their bioactivities from the gorgonian-derived fungus *Aspergillus versicolor*[J]. Chemistry of Natural Compounds, 2019, 55(2): 327-330.
- [20] SHI D H, HUANG W, LI C, et al. Design, synthesis and molecular modeling of aloe-emodin derivatives as potent xanthine oxidase inhibitors[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2014, 75: 289-296.
- [21] CAMERON D W, GROSSLEY M J, FEUTRILL G I, et al. Chemistry of the Coccoidea. V. Synthesis of 2-acetylemodin and of deoxyerythrolaccin[J]. Cheminform, 1978, 31: 1363-1370.
- [22] 付文卫, 谭昌恒, 孟祥雪, 等. 美味猕猴桃根中化学成分的分离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志, 2010, 20(2): 116-118.
- FU Wenwei, TAN Changheng, MENG Xiangxue, et al. Isolation and identification of the chemical constituents from root of *Actinidia deliciosa*[J]. Chinese Journal of Medicinal Chemistry, 2010, 20(2): 116-118.
- [23] NIU Z, CHEN Y, GUO H, et al. Cytotoxic polyketides

- from a deep-sea sediment derived fungus *Diaporthe phaseolorum* FS431[J]. *Molecules*, 2019, 24(17): 3062.
- [24] LI Y L, LIU W, HAN S Y, et al. Penitholabene, a rare 19-nor labdane-type diterpenoid from the deep-sea- derived fungus *Penicillium thomii* YPGA3[J]. *Fitoterapia*, 2020, 146: 104691.
- [25] ZHOU K, ZHAO X L, HAN L P, et al. Paecilomycines A and B, novel diterpenoids, isolated from insect-pathogenic fungi *Paecilomyces* sp. ACCC 37762[J]. *Helvetica Chimica Acta*, 2015, 98(5): 642-649.

## Chemical constituents of *Penicillium oxalicum* 13-37 from cold-seep sediments

LIU Ya-ping<sup>1, 2</sup>, FANG Sheng-tao<sup>1</sup>, SHI Zhen-zhen<sup>1</sup>, JI Nai-yun<sup>1</sup>

(1. Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Received:** Apr. 14, 2021

**Key words:** cold seep; *Penicillium oxalicum*; secondary metabolite; chemical constituent; bioactivity

**Abstract:** To enrich the structural diversity of natural products from a deep-sea cold seep, the secondary metabolites of *Penicillium oxalicum* 13–37, a fungus derived from cold-seep sediments, were investigated. Eleven compounds were obtained using silica gel column chromatography, reversed-phase silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 gel column chromatography, preparative thin-layer chromatography, and semi-preparative high-performance liquid chromatography. They were identified as *seco*-blennolide B (**1**), blennolide B (**2**), citreorosein (**3**), emodine (**4**), isorhodoptilometrin (**5**), aloe-emodin (**6**), 2-acetylemodin (**7**), 11-*O*-acetylaloeemodin (**8**), phaseolorin I (**9**), penitholabene (**10**), and paecilomycine A (**11**). Among them, **1** is a novel compound. Compounds **10** and **11** are known terpenoids isolated from cold seep-derived *Penicillium oxalicum* for the first time, and the single-crystal data of compound **10** are reported for the first time. Additionally, the activities of the new compound were tested. The results revealed that the new compound has inhibitory effects on the growth of *Prorocentrum donghaiense*, *Chattonella marina*, and *Vibrio parahaemolyticus*. Furthermore, compound **1** weakly inhibited *Artemia salina*.

(本文编辑: 丛培秀)