

羊栖菜共附生真菌 *Aspergillus* sp. GXIMD 02045 的次级代谢产物研究

孔维琦, 金鑫, 刘永宏, 高程海, 陈显强

广西海洋药物重点实验室, 广西中医药大学海洋药物研究院, 广西 南宁 530200

摘要: 本文对羊栖菜(*Sargassum fusiforme*)共附生真菌 *Aspergillus* sp. GXIMD 02045 的次级代谢产物进行研究, 运用多种色谱技术分离该菌株代谢产物, 基于质谱、核磁共振波谱和旋光等数据结合文献数据比对鉴定化合物结构, 并测定抑菌活性。从海洋真菌 *Aspergillus* sp. GXIMD 02045 中分离并鉴定了 15 个化合物, 分别是(3*S*)-6-羟基-8-甲氧基-3, 5-二甲基异色满 (1)、(3*S*)-6-羟基-8-甲氧基-3-甲基异色满 (2)、(3*S*, 4*R*)-4, 6-二羟基-8-甲氧基-3, 5-二甲基异色满 (3)、(1*S*, 3*R*)-3, 7-二甲基-1, 8-二羟基-6-甲基异色满 (4)、(5*S*)-6-羟基-7-甲氧基-3, 5-二甲基异色满-1-酮 (5)、anserinone A (6)、anserinone B (7)、(+)-formylanserinone B (8)、对羟基苯乙酸 (9)、对羟基苯乙酸甲酯 (10)、Waal A (11)、(5*S*)-7-甲氧基-2, 5-二甲基-2, 3-二氢苯并呋喃-6-醇 (12)、6-甲基-2-乙酰基-3, 5-二羟基苯乙酸甲酯 (13)、4-羟基-3, 6-二甲基-2-吡喃酮 (14)和反式阿魏酸 (15)。其中化合物 6—8 对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌有抑制活性, 最小抑菌浓度为 3.91~7.81 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。化合物 6—8 和 11 对枯草芽孢杆菌有抑制活性, 最小抑菌浓度为 7.81~15.62 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。化合物 4、6—8、10 和 11 对铜绿假单胞菌有抑制活性, 最小抑菌浓度为 1.95~125.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。本研究为羊栖菜及其共附生真菌的开发研究提供了理论基础。

关键词: 羊栖菜; 曲霉属真菌; 次级代谢产物; 抑菌活性

中图分类号: O629 文献标识码: A 文章编号: 1009-5470(2025)01-0154-08

Studies on secondary metabolites of *Sargassum fusiforme* derived fungus *Aspergillus* sp. GXIMD 02045

KONG Weiqi, JIN Xin, LIU Yonghong, GAO Chenghai, CHEN Xianqiang

Guangxi Key Laboratory of Marine Drugs, Institute of Marine Drugs, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

Abstract: To explore the diversity of secondary metabolites of fungus *Aspergillus* sp. GXIMD 02045 from *Sargassum fusiforme*, the secondary metabolites were separated with various chromatographic techniques. Chemical structures were identified using mass spectroscopy, nuclear magnetic resonance spectroscopy, and optical rotation data with comparison of literature reported ones. 15 compounds were isolated from *Aspergillus* sp. GXIMD 02045, and identified as (3*S*)-6-hydroxy-8-methoxy-3, 5-dimethylisochroman (1), (3*S*)-6-hydroxy-8-methoxy-3-methylisochroman (2), (3*S*, 4*R*)-6-hydroxy-8-methoxy-3, 5-dimethylisochroman (3), (1*S*, 3*R*)-3, 7-dimethyl-1, 8-dihydroxy-6-methoxyisochroman (4), (5*S*)-6-hydroxy-7-methoxy-3, 5-dimethylisochroman-1-one (5), anserinone A (6), anserinone B (7), (+)-formylanserinone B (8), 4-hydroxyphenylacetic acid (9), *p*-hydroxyphenylacetic acid methyl ester (10), Waal A (11), (5*S*)-7-methoxy-2, 5-dimethyl-2, 3-dihydrobenzofuran-6-ol (12), 6-

收稿日期: 2024-02-07; 修订日期: 2024-02-24。孙翠慈编辑

基金项目: 国家自然科学基金(U20A20101); 广西自然科学基金(2020GXNSFGA297002); 广西八桂学者专项经费(05019055); 广西中医药大学高层次人才培育创新团队(2022A007)

作者简介: 孔维琦(1997—), 男, 黑龙江省哈尔滨市人, 硕士研究生。email: 13376088720@163.com

通信作者: 陈显强。email: xianqiangchen@yeah.net

Received date: 2024-02-07; Revised date: 2024-02-24. Editor: SUN Cuici

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (U20A20101); Guangxi Natural Science Foundation of Guangxi Province (2020GXNSFGA297002); Special Fund for Bagui Scholars of Guangxi (05019055); GuiPai Traditional Chinese Medicine Inheritance and Innovation Team Project of Guangxi University of Chinese Medicine (2022A007)

Corresponding author: CHEN Xianqiang. email: xianqiangchen@yeah.net

methylcurvulinic acid methyl ester (13), 4-hydroxy-3, 6-dimethyl-2-pyrone (14), *trans*-ferulic acid (15). Antibacterial activity of secondary metabolites from *A. sp.* GXIMD02045 was tested, which showed that compounds 6–8 displayed inhibitory activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, and the minimum inhibitory concentration (MIC) values were ranging from 3.91 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ to 7.81 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Compounds 6–8 and 11 showed inhibitory activity against *Bacillus subtilis*, and the MIC values were ranging from 7.81 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ to 15.62 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Compounds 4, 6–8, 10 and 11 showed inhibitory activity against *Pseudomona aeruginosa*, and the MIC values were ranging from 1.95 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ to 125.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. This study provides a theoretical basis for the research on development and utilization of mangrove *Sargassum fusiforme* and its symbiotic fungus.

Key words: *Sargassum fusiforme*; *Aspergillus* fungus; secondary metabolites; antibacterial activity

真菌作为海洋微生物的重要类群, 富含多种结构新颖、活性显著的次级代谢产物, 其中部分化合物结构为新型药物的研发提供了重要支撑 (Xu et al, 2018), 随着对海洋来源微生物样品采集能力的提高以及化合物分离纯化、结构解析技术的进步, 研究人员发掘出越来越多的新颖化学结构 (Li et al, 2015), 具有巨大的药物研究潜力 (Nicoletti et al, 2016)。

羊栖菜 (*Sargassum fusiforme*) 是一种马尾藻科马尾藻属海藻, 在我国南方沿海大量养殖 (何维彬 等, 2023)。海藻共附生真菌会参与宿主自身的生理活动, 通过具有独特生物活性的次级代谢产物来帮助宿主抵御外部侵害 (叶禹秀 等, 2022), 这些化合物的结构类型包括萜类、生物碱、多肽、聚酮和复杂脂肪酸酯等 (冯婷 等, 2024)。近二十年来, 基于羊栖菜来源曲霉属 (*Aspergillus*) 真菌次级代谢产物的报道, 主要涉及异色满类化合物和降二萜类化合物。这些报道指出异色满类化合物对胃癌细胞 (NUGC-3)、宫颈癌细胞 (HeLa-S3) 和人早幼粒白血病细胞 (HL-60) 表现出选择性细胞毒性, 降二萜类化合物对部分海洋浮游动物 (*Artemia salina*) 和海洋浮游植物 (*Chattonella marina*、*Heterosigma akashiwo* 和 *Alexandrium* sp.) 具有生物毒性 (Ogawa et al, 2004; Miao et al, 2014)。课题组此前从涠洲岛海边红树林采集的羊栖菜中分离得到一株真菌, 通过对其 DNA 的提取、Intertek Testing Services (ITS) 序列的扩增和数据库 (GenBank database) 对比, 鉴定为曲霉属真菌, 命名为 *Aspergillus* sp. GXIMD 02045。为探索该菌株次级代谢产物的多样性, 先利用单菌多次级代谢产物 (one-strain-many-compounds, OSMAC) 策略, 发现该菌株在大米培养基中发酵获得的代谢产物较为丰富, 所以选择大米培养基进行大规模发酵。采用各种色谱技术分离该菌株的次级代谢产物, 利用质谱、核磁共振波谱等技术鉴定代谢产物的结构, 从其发酵产物中获得化合物 15 个 (结构见图 1), 主要为异色满类 (1—5)、对苯醌类 (6—8)、对羟基苯乙酸及其甲酯 (9、10)、呋喃类 (11)、香豆酮类 (12)、邻羧基苯乙酸

类 (13)、吡喃酮类 (14) 和肉桂酸类 (15) 化合物。这些化合物此前均有文献报道发现, 但生物活性研究多以它们的细胞毒性为主, 文献中较少提及它们的抑菌活性。本实验先利用滤纸片琼脂法对所有化合物进行抑菌活性粗筛, 再使用改良肉汤稀释法测定粗筛结果有活性的化合物对耐甲氧西林金黄葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 和铜绿假单胞菌 (*Pseudomona aeruginosa*) 的抑菌活性, 确定化合物对上述致病菌的最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC)。结果显示多个化合物对三种致病菌都具有一定的抑菌活性。实验结果扩充了对海藻共附生真菌的次级代谢产物的认知, 为海藻共附生真菌来源的次级代谢产物在抑制细菌领域的药物开发利用提供一定的科学依据, 推进对海洋真菌天然产物的深度研发。

1 材料与方法

1.1 仪器与主要试剂

Avance III HD 500M 超导核磁共振波谱仪 (Bruker 公司); Waters Xevo G2-S 型高分辨 ESI 质谱 (Waters 公司); MCP 100/150 旋光仪 (安东帕公司); LC-2030C 3D Plus 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); Sepacore 型中压制备色谱仪 (瑞士 Buchi 公司); EYELAN-1300D 型旋转蒸发仪 (东京理化器械株式会社); SHZ-CB 型循环水真空泵 (巩义市予华仪器有限公司); KQ-250DB 型超声仪 (巩义市予华仪器有限公司); Victor Nivo 多功能酶标仪 (珀金埃尔默); 培养箱 (上海精宏实验设备有限公司); 100~200 目硅胶、200~300 目硅胶和薄层硅胶板均购于烟台江友硅胶开发有限公司; 反相硅胶购于 YMC 公司; 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 购于 GE 公司; 甲醇、二氯甲烷、氯仿、乙酸乙酯、二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 等分析纯试剂均购于广东光华科技股份有限公司。

1.2 指示菌

耐甲氧西林金黄葡萄球菌 (methicillin-resistant

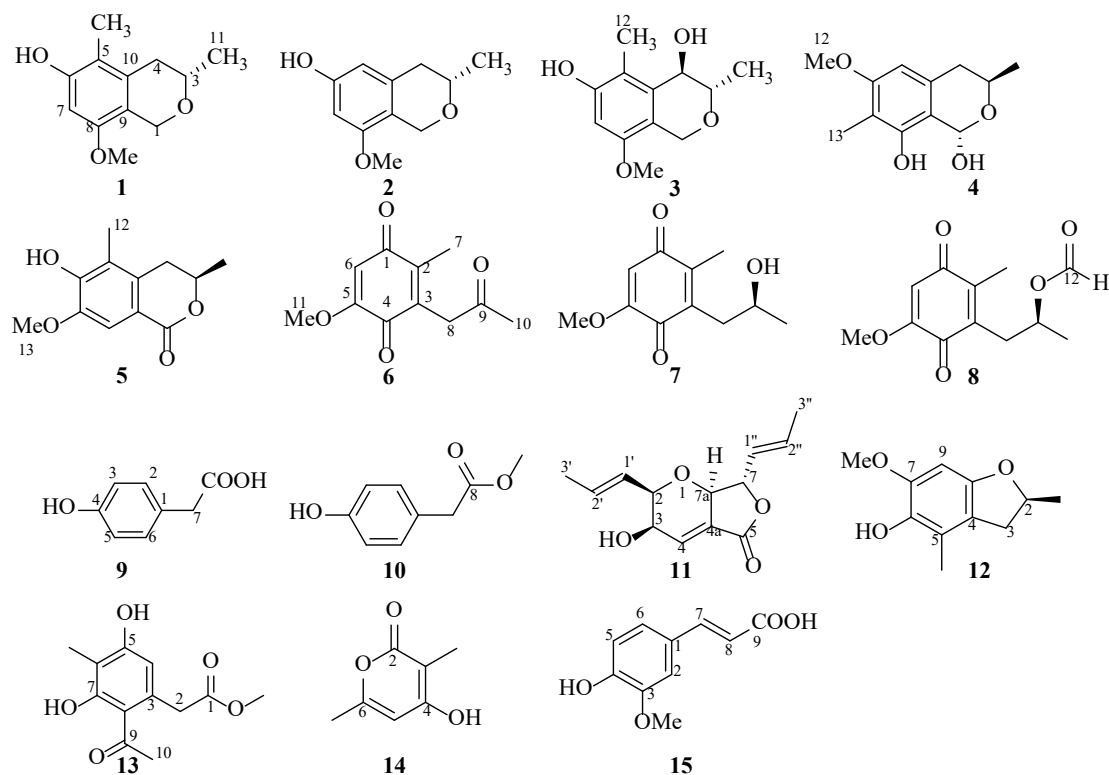


图1 化合物1—15的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—15

Staphylococcus aureus ATCC 43300)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis* ATCC 6051) 和铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145), 菌种由广西中医药大学海洋药物研究院保藏。

1.3 实验所用培养基与菌株分离鉴定

菌种活化培养基为 MB 固体培养基(麦芽提取物 15g、海盐 30g、蒸馏水 1L 和 15~20g 琼脂), 不加琼脂则为液体培养基。微生物分离所用培养基包括 MB 固体培养基(额外添加氨基苄西林和氯霉素各 100mg)、察氏培养基和孟加拉红琼脂培养基。抑菌活性测试所用培养基为 LB 固体培养基(胰蛋白胨 10g、NaCl 10g、酵母提取粉 5g、琼脂 13g、蒸馏水 1L, 调整 pH 为 7.2~7.4), 不加琼脂为液体培养基。真菌扩大发酵所用培养基为大米培养基(每 1L 的锥形瓶加入大米 110g、海盐 2g 和蒸馏水 110mL, 在高压灭菌锅中 121℃灭菌 30min 后冷却)。

菌株分离自广西涠洲岛来源的羊栖菜, 分离操作方法参考本团队前期报道(夏辰曦等, 2023), 记录菌落数及菌落的形态特征。取新鲜菌体, 液氮研磨, 遵照 DNA 提取试剂盒的说明书, 按操作要求来提取真菌基因组。鉴定方法参考本团队前期报道(罗志宏等, 2023), 采用真菌通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')进行

PCR 扩增。扩增样品经琼脂糖凝胶电泳验证后, 委托生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序分析, 在 GenBank 数据库上提交测序结果, 与已知菌株进行 BLAST 序列相似性比对, 确定与其相似程度高的种属信息, 初步将其鉴定为曲霉属, ITS 序列相似度为 96.58%, 编号为 GXIMD 02045。

1.4 方法

1.4.1 真菌的发酵以及发酵产物的提取分离

将保存于 4℃的菌株接种到事前准备好的 MB 固体培养基, 置于 28℃下培养 5d 活化。参照本团队之前的报道(邢楠楠等, 2023)取适量的孢子接种至 MB 液体培养基中, 在 25℃, 180r·min⁻¹ 条件下振荡培养 4d, 即获得种子液。将种子液接种到大米固体培养基上, 每瓶接种 10mL, 共 100 瓶, 在 28℃下静置培养 30d。发酵结束后, 捣碎大米, 将其浸泡在等体积乙酸乙酯中, 超声提取代谢产物重复 3 次, 合并萃取液。使用旋转蒸发仪减压浓缩得到乙酸乙酯部位浸膏 250g, 浸膏经正相硅胶(200~300 目)柱层析, 使用二氯甲烷-甲醇(100: 0~0: 100, 体积比)来进行梯度洗脱, 根据薄层色谱板的显示结果进行合并, 得到 4 个组分(Fr.1—Fr.4)。

Fr.1(56.8g)经中压制备 ODS 色谱柱分离, 甲醇-水(上海宸乔生物科技有限公司中压玻璃柱 TX36310, 36mm×310mm, 30: 70~70: 30, 体积比)梯度洗脱得到

Fr.1.1、Fr.1.2 组分。Fr.1.1(12.8g)运用 HPLC 制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 20mm×250mm, 乙腈-水体积比 45: 55, 流速为 6mL·min⁻¹, λ 为 210nm 和 254nm)得到化合物 **1** (*t_R*=21.04min, 142.8mg)。Fr.1.2(10.3g)运用 HPLC 制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 20mm×250mm, 乙腈-水 45: 55(体积比), 流速为 6mL·min⁻¹, λ 为 210nm 和 254nm)得到化合物 **2** (*t_R*=18.96min, 83.2mg)。

Fr.2(52.2g)经中压制备 ODS 色谱柱分离, 甲醇-水(上海宸乔生物科技有限公司中压玻璃柱 TX36310, 36mm×310mm, 30: 70~70: 30, 体积比)梯度洗脱得到组分 Fr.2.1—Fr.2.3。Fr.2.1(4.3g)经正相硅胶(200 目~300 目)柱层析, 石油醚-乙酸乙酯(50: 50, 体积比)等度洗脱后再 HPLC 制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 10mm×250mm, 乙腈-水体积比 10: 90, 流速为 3mL·min⁻¹, λ 为 210nm 和 272nm)得到化合物 **14** (*t_R*=11.62min, 25.8mg)。Fr.2.2(3.2g)经凝胶柱纯化后得到组分 Fr.2.2A、Fr.2.2B、Fr.2.2C 和 Fr.2.2D。Fr.2.2A(0.8g)经过 HPLC 制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 20mm×250mm, 乙腈-水体积比 22: 78, 流速为 6mL·min⁻¹, λ 为 210nm 和 254nm)得到化合物 **3** (*t_R*=14.54min, 92.8mg)。Fr.2.2B(1.2g)经过 HPLC 制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 10mm×250mm, 乙腈-水 32: 68, 体积比, 流速为 3mL·min⁻¹, λ 为 200nm 和 230nm)得到化合物 **12** (*t_R*=19.20min, 14.5mg)。Fr.2.2C(0.5g)经过 HPLC 制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 10mm×250mm, 乙腈-水体积比 20: 80, 流速为 3mL·min⁻¹, λ 为 205nm 和 230nm)得到化合物 **6** (*t_R*=15.48min, 14.3mg)。Fr.2.2D (0.4g)经过 HPLC 制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 20mm×250mm, 乙腈-水体积比 22: 78, 流速为 6mL·min⁻¹, λ 为 205nm 和 254nm)得到化合物 **7** (*t_R*=14.51min, 75.7mg)。Fr.2.3(10.5g)经正相硅胶(200~300 目)柱层析, 石油醚-乙酸乙酯(20: 80~80: 20, 体积比)梯度洗脱得到组分 Fr.2.3A 和 Fr.2.3B。Fr.2.3A(6.8g)经反相色谱柱分离, 甲醇-水体积比 (40: 60~85: 15)梯度洗脱得到组分 Fr.2.3A1 和 Fr.2.3A2。Fr.2.3A1(3.2g)经过 HPLC 制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 20mm×250mm, 乙腈-水体积比 33: 67, 流速为 3mL·min⁻¹, λ 为 210nm 和 254nm)得到化合物 **8** (*t_R*=19.65min, 8.7mg)。Fr.2.3A2(2.2g)经过 HPLC 制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 10mm×250mm, 乙腈-水体积比 33: 67, 流速为 3mL·min⁻¹, λ 为 210nm 和 254nm)得到化合物 **4** (*t_R*=15.27min, 27.2mg)。Fr.2.3B(3.2g)经过 HPLC

制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 20mm×250mm, 乙腈-水体积比 33: 67, 流速为 6mL·min⁻¹, λ 为 210nm 和 254nm)得到化合物 **5** (*t_R*=16.49min, 70.5mg)。

Fr.3(56.5g)经中压制备 ODS 色谱柱分离, 甲醇-水(上海宸乔生物科技有限公司中压玻璃柱 TX36310, 36mm×310mm, 20: 80~70: 30, 体积比)梯度洗脱得到组分 Fr.3.1—Fr.3.2。Fr.3.1(20.6g)经过 HPLC 制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 10mm×250mm, 乙腈-水体积比 13: 87, 流速为 3mL·min⁻¹, λ 为 210nm 和 254nm)得到化合物 **9** (*t_R*=12.07min, 41.1mg)。Fr.3.2(18.2g)经过 HPLC 制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 10mm×250mm, 乙腈-水体积比 20: 80, 流速为 3mL·min⁻¹, λ 为 200nm 和 254nm)得到化合物 **10** (*t_R*=16.52min, 11.4mg)。

Fr.4(52.3g)经中压制备 ODS 色谱柱分离, 甲醇-水(上海宸乔生物科技有限公司中压玻璃柱 TX36310, 36mm×310mm, 20: 80~70: 30, 体积比)梯度洗脱得到组分 Fr.4.1—Fr.4.2。Fr.4.1(17.9g)经过 HPLC 制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 10mm×250mm, 乙腈-水体积比 13: 87, 流速为 3mL·min⁻¹, λ 为 200nm 和 230nm)得到化合物 **13** (*t_R*=18.37min, 8.3mg)。Fr.4.2(2.9g)经凝胶柱纯化后得到组分 Fr.4.2A 和 Fr.4.2B。Fr.4.2A(1.2g)经过 HPLC 制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 20mm×250mm, 乙腈-水体积比 28: 72, 流速为 6mL·min⁻¹, λ 为 210nm 和 254nm)得到化合物 **11** (*t_R*=20.08min, 28.0mg)。Fr.4.2B(1.4g)经过 HPLC 制备(YMC COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 20mm×250mm, 乙腈-水体积比 28: 72, 流速为 6mL·min⁻¹, λ 为 210nm 和 254nm)得到化合物 **15** (*t_R*=14.40min, 18.5mg)。

1.4.2 共附生真菌的次级代谢产物的抑菌活性测试

测定所有单体化合物对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和铜绿假单胞菌的抑菌活性, 预先采用滤纸片琼脂扩散法对单体化合物(每片滤纸片含有 125μg 化合物)进行抑菌活性初步筛选, 针对有明显抑菌圈(抑菌圈直径> 8mm)的活性化合物, 采用改良肉汤稀释法测定分离得到化合物的 MIC 值, 将待测化合物配成浓度为 5mg·mL⁻¹的 DMSO 溶液, 阳性对照药选择环丙沙星, 配成浓度为 1mg·mL⁻¹的 DMSO 溶液, 操作方法参考本团队前期报道(夏晨曦等, 2023), 配置好的 96 孔板放入 37℃恒温培养箱培养 24h, 观察试验结果, 以孔内澄清对应最小质量浓度为抑制致病菌的 MIC 值。

2 试验结果

2.1 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, 分子式为 C₁₂H₁₆O₃,

HRESIMS m/z 209.1188 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{12}H_{17}O_3$, 209.1178), $[\alpha]_{20}^{D+40.2^\circ}$ (c 0.1, MeOH). 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 6.30 (s, 1H, H-7), 4.64 (d, J = 14.8 Hz, 1H, H-1), 4.39 (d, J = 14.9 Hz, 1H, H-1), 3.65 (s, 3H, H-8-OCH₃), 3.61 (m, 1H, H-3), 2.56 (dd, J = 16.6, 2.3 Hz, 1H, H-4), 2.24 (dd, J = 16.6, 10.7 Hz, 1H, H-4), 1.91 (s, 3H, H-10), 1.24 (d, J = 6.1 Hz, 3H, H-9); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 153.9 (C-6), 153.1 (C-8), 133.7 (C-10), 113.2 (C-9), 112.8 (C-5), 96.0 (C-7), 70.0 (C-3), 63.8 (C-1), 54.9 (8-OCH₃), 33.6 (C-4), 21.7 (C-9), 10.1 (C-10)。以上数据与文献报道(Orfali et al, 2015)基本一致, 故鉴定为(3*S*)-6-羟基-8-甲氧基-3, 5-二甲基异色满。

化合物 2: 白色粉末, 分子式为 $C_{11}H_{14}O_3$, HRESIMS m/z 195.1017 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{11}H_{15}O_3$, 195.1021), $[\alpha]_{20}^{D+43.1^\circ}$ (c 0.1, MeOH)。 1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_H : 6.20 (d, J = 2.1 Hz, 1H, H-7), 6.11 (d, J = 2.0 Hz, 1H, H-5), 4.74 (d, J = 14.9 Hz, 1H, H-1), 4.46 (d, J = 14.9 Hz, 1H, H-1), 3.69 (s, 3H, H-8-OCH₃), 3.64 (m, 1H, H-3), 2.50 (dd, J = 16.2, 3.9 Hz, 1H, H-4), 2.46 (dd, J = 8.3, 7.9 Hz, 1H, H-4), 1.24 (d, J = 6.2 Hz, 3H, H-11); ^{13}C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_C : 157.8 (C-6), 157.6 (C-8), 136.3 (C-10), 114.8 (C-9), 107.6 (C-5), 97.2 (C-7), 71.8 (C-3), 65.5 (C-1), 55.4 (8-OCH₃), 36.7 (C-4), 21.7 (C-11)。以上数据与文献报道(Orfali et al, 2015)基本一致, 故鉴定为(3*S*)-6-羟基-8-甲氧基-3-甲基异色满。

化合物 3: 白色粉末, 分子式为 $C_{12}H_{16}O_4$, HRESIMS m/z 247.0940 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{12}H_{16}O_4Na$, 247.0946), $[\alpha]_{20}^{D+41.5^\circ}$ (c 0.1, MeOH)。 1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_H : 6.37 (s, 1H, H-7), 4.63 (d, J = 15.2 Hz, 1H, H-1), 4.52 (d, J = 15.2 Hz, 1H, H-1), 4.33 (d, J = 5.2 Hz, 1H, H-4), 3.78 (qd, J = 6.5, 3.2 Hz, 1H, H-3), 3.71 (s, 3H, H-8-OCH₃), 2.18 (s, 3H, H-12), 1.25 (d, J = 6.5 Hz, 3H, H-11); ^{13}C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_C : 155.9 (C-6), 154.5 (C-8), 135.4 (C-10), 116.8 (C-5), 115.8 (C-9), 98.5 (C-7), 77.0 (C-3), 69.1 (C-4), 62.3 (C-1), 55.6 (8-OCH₃), 17.2 (C-11), 11.2 (C-12)。以上数据与文献报道(Orfali et al, 2015)基本一致, 故鉴定为(3*S*, 4*R*)-4, 6-二羟基-8-甲氧基-3, 5-二甲基异色满。

化合物 4: 白色粉末, 分子式为 $C_{12}H_{16}O_4$, HRESIMS m/z 207.1106 $[M+H-H_2O]^+$ (calcd for

$C_{12}H_{15}O_3$, 207.1099), $[\alpha]_{20}^{D-18.5^\circ}$ (c 0.1, MeOH)。 1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_H : 6.31 (s, 1H, H-5), 5.46 (s, 1H, H-1), 4.27 (m, 1H, H-3), 3.73 (s, 3H, H-6-OCH₃), 2.64 (dd, J = 16.8, 3.3 Hz, 1H, H-4), 2.25 (dd, J = 16.8, 11.5 Hz, 1H, H-4), 1.98 (s, 3H, H-13), 1.33 (d, J = 6.2 Hz, 3H, H-11); ^{13}C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_C : 157.0 (C-8), 157.0 (C-6), 136.0 (C-9), 114.8 (C-10), 114.2 (C-7), 97.4 (C-5), 97.1 (C-1), 63.8 (C-3), 55.8 (6-OCH₃), 34.6 (C-4), 21.7 (C-11), 10.2 (C-13)。以上数据与文献报道(Quang et al, 2018)基本一致, 故鉴定为(1*S*, 3*R*)-3, 7-二甲基-1, 8-二羟基-6-甲基异色满。

化合物 5: 白色粉末, 分子式为 $C_{12}H_{14}O_4$, HRESIMS m/z 245.0882 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{12}H_{14}O_4Na$, 245.0892), $[\alpha]_{20}^{D+171.1^\circ}$ (c 0.1, MeOH)。 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 10.38 (s, 1H, 6-OH), 6.46 (s, 1H, H-8), 4.35 (dq, J = 12.4, 6.2, 2.8 Hz, 1H, H-3), 3.71 (s, 3H, H-7-OCH₃), 2.92 (dd, J = 16.5, 2.8 Hz, 1H, H-4), 2.53 (dd, J = 14.0, 9.0 Hz, 1H, H-4), 1.97 (s, 3H, H-10), 1.34 (d, J = 6.2 Hz, 3H, H-9); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 161.8 (C-1), 160.7 (C-6), 160.5 (C-7), 142.0 (C-5), 112.6 (C-10), 104.8 (C-9), 97.8 (C-8), 72.4 (C-3), 55.4 (7-OCH₃), 32.8 (C-4), 20.5 (C-11), 10.6 (C-12)。以上数据与文献报道(Zhang et al, 2023)基本一致, 故鉴定为(*S*)-6-羟基-7-甲氧基-3, 5-二甲基异色满-1-酮。

化合物 6: 黄色粉末, 分子式为 $C_{11}H_{12}O_4$, HRESIMS m/z 209.0730 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{11}H_{13}O_4$, 209.0814)。 1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_H : 6.03 (s, 1H, H-6), 3.81 (s, 3H, H-5-OCH₃), 3.74 (d, J = 10.9 Hz, 2H, H-8), 2.26 (s, 3H, H-10), 1.95 (s, 3H, H-7); ^{13}C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_C : 206.4 (C-9), 188.5 (C-1), 182.9 (C-4), 156.0 (C-5), 145.0 (C-2), 137.9 (C-3), 108.3 (C-6), 56.9 (5-OCH₃), 41.6 (C-8), 30.0 (C-10), 12.6 (C-7)。以上数据与文献报道(Wang et al, 1997)基本一致, 故鉴定为 anserinone A。

化合物 7: 黄色粉末, 分子式为 $C_{11}H_{14}O_4$, HRESIMS m/z 211.0894 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{11}H_{15}O_4$, 211.0970), $[\alpha]_{20}^{D+45.2^\circ}$ (c 0.1, MeOH)。 1H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_H : 5.86 (d, J = 18.3 Hz, 1H, H-6), 4.02 (m, 1H, H-9), 3.75 (s, 3H, H-5-OCH₃), 2.63 (d, J = 6.4 Hz, 2H, H-8), 2.03 (s, 3H, H-7), 1.28 (m, 3H, H-10); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ_C : 187.8 (C-1), 183.1 (C-4), 158.5 (C-5), 143.7 (C-2), 139.9 (C-3), 107.5 (C-6),

67.7 (C-9), 56.5 (5-OCH₃), 36.2 (C-8), 24.1 (C-10), 13.1 (C-7)。以上数据与文献报道(Smetanina et al, 2017)基本一致, 故鉴定为 anserinone B。

化合物 8: 黄色粉末, 分子式为 C₁₂H₁₄O₅, HRESIMS m/z 261.0850 [M+Na]⁺ (calcd for C₁₂H₁₄O₅Na, 261.0841), [α]20 D+20.0° (c 0.1, MeOH)。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 7.99 (s, 1H, H-12), 6.00 (s, 1H, H-6), 5.25 (m, 1H, H-9), 3.81 (s, 3H, H-5-OCH₃), 2.85 (dd, J = 13.5, 4.9 Hz, 1H, H-8), 2.80 (dd, J = 13.5, 8.5 Hz, 1H, H-8), 2.07 (s, 3H, H-7), 1.32 (d, J = 6.3 Hz, 3H, H-10); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 188.7 (C-1), 183.2 (C-4), 162.4 (C-12), 160.0 (C-5), 144.7 (C-2), 139.6 (C-3), 108.2 (C-6), 70.8 (C-9), 56.8 (5-OCH₃), 33.8 (C-8), 20.7 (C-10), 12.8 (C-7)。以上数据与文献报道(Smetanina et al, 2016)基本一致, 故鉴定为(+)-formylanserinone B。

化合物 9: 白色粉末, 分子式为 C₈H₈O₃, HRESIMS m/z 165.0460 [M+Na]⁺ (calcd for C₈H₈O₃Na, 165.0473)。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 7.13 (m, 2H, H-2, H-6), 6.79 (m, 2H, H-3, H-5), 3.48 (s, 2H, H-7); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 176.3 (C-8), 157.3 (C-4), 131.3 (C-2, C-6), 126.8 (C-1), 116.2 (C-3, C-5), 41.1 (C-7)。以上数据与文献报道(王艳颖 等, 2011)基本一致, 故鉴定为对羟基苯乙酸。

化合物 10: 透明油状物, 分子式为 C₉H₁₀O₃, HRESIMS m/z 165.1750 [M-H]⁻ (calcd for C₉H₉O₄, 165.1760)。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 7.07 (d, J = 8.5 Hz, 2H, H-3, H-5), 6.75 (m, 2H, H-2, H-6), 3.66 (s, 3H, H-9), 3.58 (m, 2H, H-7); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 174.6 (C-8), 157.6 (C-4), 131.3 (CH₂, C-3, C-5), 126.3 (C-1), 116.2 (CH, C-2, C-6), 52.4 (CH₃, C-9), 40.9 (CH₂, C-7)。以上数据与文献报道(刘媛媛 等, 2022)基本一致, 故鉴定为对羟基苯乙酸甲酯。

化合物 11: 黄色油状物, 分子式为 C₁₃H₁₆O₄, HRESIMS m/z 237.1050 [M+H]⁺ (calcd for C₁₃H₁₇O₄, 237.1127), [α]20 D-156.1° (c 0.1, MeOH)。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 6.77 (dd, J = 3.8, 2.4 Hz, 1H, H-4), 6.02 (dq, J = 15.4, 6.5 Hz, 1H, H-1'), 5.85 (dq, J = 15.3, 6.5 Hz, 1H, H-2'), 5.71 (ddq, J = 15.4, 7.5, 1.6 Hz, 1H, H-2''), 5.64 (ddq, J = 15.4, 7.5, 1.6 Hz, 1H, H-1'), 4.59 (dd, J = 7.7, 7.5 Hz, 1H, H-7a), 4.44 (m, 1H, H-7), 4.41 (ddd, J = 7.7, 2.4, 2.4 Hz, 1H, H-3), 4.05 (bd, 2H, H-2), 1.81 (d, J = 6.5 Hz, 3H, H-3'), 1.75 (d, J = 6.5 Hz, 3H, H-3''); ¹³C

NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 168.8 (C-5), 135.2 (C-4), 134.6 (C-2''), 133.7 (C-2'), 130.8 (C-4a), 128.2 (C-1'), 127.8 (C-1''), 84.7 (C-2), 81.3 (C-7), 79.4 (C-7a), 64.9 (C-3), 18.2 (C-3''), 18.0 (C-3')。以上数据与文献报道(Nozawa et al, 2000)基本一致, 故鉴定为 Waol A。

化合物 12: 白色粉末, 分子式为 C₁₁H₁₄O₃, HRESIMS m/z 195.0973 [M+H]⁺ (calcd for C₁₁H₁₅O₃, 195.0976), [α]20 D-16.5° (c 0.1, MeOH)。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 6.28 (s, 1H, H-8), 4.89 (m, 1H, H-2), 3.74 (s, 3H, H-7-OCH₃), 3.19 (dd, J = 15.3, 8.6 Hz, 1H, H-3), 2.67 (dd, J = 15.3, 7.7 Hz, 1H, H-3), 2.01 (s, 3H, H-11), 1.40 (d, J = 6.2 Hz, 3H, H-1); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 150.1 (C-6), 142.9 (C-7), 141.6 (C-9), 129.1 (C-5), 114.1 (C-4), 101.2 (C-8), 81.1 (C-2), 56.7 (7-OCH₃), 37.9 (C-3), 22.0 (C-1), 12.2 (C-5)。以上数据与文献报道(Dramae et al, 2022)基本一致, 故鉴定为(S)-7-甲氧基-2, 5-二甲基-2, 3-二氢苯并呋喃-6-醇。

化合物 13: 白色固体, 分子式为 C₁₂H₁₄O₅, HRESIMS m/z 237.0750 [M-H]⁻ (calcd for C₁₂H₁₃O₅, 237.0763)。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 6.26 (s, 1H, H-4), 3.77 (s, 2H, H-2), 3.67 (s, 3H, 1-OCH₃), 2.56 (m, 3H, H-10), 2.04 (s, 3H, H-11); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 206.1 (C-9), 173.9 (C-1), 161.3 (C-7), 160.6 (C-5), 134.4 (C-3), 118.9 (C-8), 112.3 (C-4), 111.9 (C-6), 52.5 (1-OCH₃), 41.2 (C-2), 32.2 (C-10), 8.2 (C-11)。以上数据与文献报道(Smetanina et al, 2017)基本一致, 故鉴定为 6-甲基-2-乙酰基-3, 5-二羟基苯乙酸甲酯。

化合物 14: 淡黄色粉末, 分子式为 C₇H₈O₃, HRESIMS m/z 141.0548 [M+H]⁺ (calcd for C₇H₉O₃, 141.0552)。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 6.01 (s, 1H, H-5), 2.21 (s, 3H, H-7), 1.86 (s, 3H, H-1); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 169.1 (C-2), 168.0 (C-4), 161.4 (C-6), 101.5 (C-5), 98.7 (C-3), 19.5 (C-7), 8.2 (C-1)。以上数据与文献报道(Smetanina et al, 2017)基本一致, 故鉴定为 4-羟基-3, 6-二甲基-2-吡喃酮。

化合物 15: 白色粉末, 分子式为 C₁₀H₁₀O₄, HRESIMS m/z 193.0508 [M-H]⁻ (calcd for C₁₀H₉O₄, 193.0501)。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 7.59 (d, J = 15.9 Hz, 1H, H-7), 7.18 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H-2), 7.06 (dd, J = 8.2, 1.9 Hz, 1H, H-6), 6.81 (d, J = 8.2 Hz, 1H, H-5), 6.32 (d, J = 15.9 Hz, 1H, H-8), 3.89 (s, 3H, 3-OCH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 171.2 (C-9),

150.5 (C-3), 149.4 (C-4), 146.8 (C-7), 127.8 (C-1), 124.0 (C-6), 116.4 (C-5), 116.1 (C-8), 111.6 (C-2), 56.4 (3-OCH₃)。以上数据与文献报道(黄正 等, 2017)基本一致, 故鉴定为反式阿魏酸。

2.2 抗菌活性测试结果

抑菌结果发现化合物 6—8 对耐甲氧西林金黄葡萄球菌有抑制活性, 具体详细结果可见表 1, 其 MIC

表 1 化合物对致病菌的最小抑菌浓度(MIC, 单位 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
Tab. 1 MIC of the compounds against pathogenic bacteria

化合物	MIC-耐甲氧西林金黄葡萄球菌	MIC-枯草芽孢杆菌	MIC-铜绿假单胞菌
4	—	—	62.50
6	7.81	15.62	3.91
7	3.91	15.62	3.91
8	7.81	7.81	3.91
10	—	—	125.00
11	—	7.81	1.95
阳性药(环丙沙星)	0.78	0.05	0.10

注: “—”表示未能测出抑菌效果

3 结果和讨论

本文实验从羊栖菜共附生真菌 *Aspergillus* sp. GXIMD 02045 中分离得到 15 个化合物, 化合物 1—15 均首次从涠洲岛来源的羊栖菜共附生曲霉属真菌中报道。

化合物 1—5 的结构类似, 都是以苯并二氢异吡喃为母核的异色满类化合物, 母核中氧原子的间位和邻位碳均不连有羰基氧原子, 导致结构上与香豆素和色原酮类似但有差异。多年前有报道, 从羊栖菜来源的曲霉属真菌代谢物中发现这类化合物(Ogawa et al, 2004), 本研究首次报道化合物 4 对铜绿假单胞菌的抑菌活性。初步构效关系分析发现 4 的 1 位羟基有助于对铜绿假单胞菌的抑菌活性。化合物 6—8 的母核相同, 是一类能抑制真菌和细菌生长的对苯醌类化合物, 8 为 7 的 9 位羟基被取代得到的甲酸酯, 据文献报道其对小鼠艾氏腹水癌细胞(Ehrlich ascite carcinoma)和人乳腺癌高转移细胞(MDA-MB435)有细胞毒性(Gautschi et al, 2004; Smetanina et al, 2016), 本研究首次报道该化合物对于耐甲氧西林金黄葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和铜绿假单胞菌的抑菌活性。初步构效关系

值分别为 7.81、3.91 和 $7.81\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 阳性药的 MIC 值为 $0.78\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。化合物 6—8 和 11 对枯草芽孢杆菌有抑制活性, 其 MIC 值分别为 15.62、15.62、7.81 和 $7.81\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 阳性药的 MIC 值为 $0.05\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。化合物 4、6—8、10 和 11 对铜绿假单胞菌有抑制活性, 其 MIC 值分别为 62.50、3.91、3.91、3.91、125.00 和 $1.95\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 阳性药的 MIC 值为 $0.10\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

分析发现 8 的 9 位羟基被取代可能导致对枯草芽孢杆菌的抑菌活性加强。化合物 10 为对羟基苯乙酸甲酯, 初步构效关系分析发现 10 的结构类似于防腐剂尼泊金酯类, 推测结构上的相似可能是其对铜绿假单胞菌具有一定抑菌活性的原因。化合物 11 为咪喃类化合物, 文献报道其具有细胞毒活性(El-Elimat et al, 2013), 对金黄色葡萄球菌无明显抑菌活性(Hammerschmidt et al, 2014), 本研究首次报道该化合物对枯草芽孢杆菌和铜绿假单胞菌的抑菌活性。该化合物的抑菌活性相关研究报道较少, 有待进一步实验探究其对多种致病菌的抑菌活性。

耐甲氧西林金黄葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和铜绿假单胞菌是常见医源性感染菌, 通常与严重医院交叉感染发生有关。对这些致病菌具有抑菌效果的次级代谢产物在医药领域有一定的潜在应用价值。目前, 目前在羊栖菜来源的共附生曲霉属真菌次级代谢产物领域, 缺少对抑菌活性成分的研究(Ogawa et al, 2004; Miao et al, 2014), 本研究结果可为充分开发羊栖菜及其共附生真菌的次级代谢产物提供理论基础, 为涠洲岛来源的生物活性成分挖掘提供科学依据。

参考文献 References

冯婷, 孙建, 王玉妃, 等, 2024. 北部湾海洋真菌 *Aspergillus fumigatus* DL-p0m-g2 的化学成分及药理活性研究[J]. 热带海洋学报, 43(1): 154–166. FENG TING, SUN JIAN, WANG YUFEI, et al, 2024. Study on the chemical constituents and pharmacological activity of the marine-derived fungus *Aspergillus fumigatus* DL-p0m-g2 in the Beibu Gulf[J]. Journal of Tropical Oceanography, 43(1): 154–166 (in Chinese with English abstract).

何维彬, 高亮, 艾玉廷, 等, 2023. 羊栖菜化学成分及药理活性研究进展[J]. 中草药, 54(7): 2327–2337. HE WEIBIN, GAO LIANG, AI YUTING, et al, 2023. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Sargassum fusiforme*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 54(7): 2327–2337 (in Chinese with English abstract).

- 黄正, 霍会霞, 任易, 等, 2017. 大花益母草的化学成分研究[J]. 中草药, 48(9): 1724–1729. HUANG ZHENG, HUO HUIXIA, REN YI, et al, 2017. Chemical constituents from aerial parts of *Leonurus macranthus*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 48(9): 1724–1729 (in Chinese with English abstract).
- 刘媛媛, 闫芳, 章滕玥, 等, 2022. 荚果蕨植物内生真菌 *Penicillium* sp. SYP-F-7610 的抑菌活性次级代谢产物研究[J]. 中国抗生素杂志, 47(5): 501–506. LIU YUANYUAN, YAN FANG, ZHANG MENG YUE, et al, 2022. Study on antibacterial secondary metabolites from the endophytic fungus *Penicillium* sp. SYP-F-7610 isolated from *Matteuccia struthiopteris*[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 47(5): 501–506 (in Chinese with English abstract).
- 罗志宏, 钟雯雯, 刘昕明, 等, 2023. 隐板裸刺蛇尾共附生真菌的分离鉴定及其代谢产物的抑菌活性研究[J]. 广西科学, 30(3): 485–493. LUO ZHIHONG, ZHONG WENWEN, LIU XINMING, et al, 2023. Isolation and identification of symbiotic or epiphytic fungi from *Gymnolophus obscura* and study on the antibacterial activity of their metabolites[J]. Guangxi Sciences, 30(3): 485–493 (in Chinese with English abstract).
- 王艳颖, 罗都强, 师宝忠, 等, 2011. 番石榴叶内生真菌 *Pestalotiopsis zonata* 次级代谢产物的研究[J]. 中成药, 33(5): 857–859 (in Chinese).
- 夏晨曦, 刘昕明, 彭亮, 等, 2023. 热浪岛珊瑚礁泥砂真菌多样性及真菌 *Cladosporium* sp. GXIMD02067 天然产物分离与鉴定[J]. 微生物学通报, 50(11): 4784–4795. XIA CHENXI, LIU XINMING, PENG LIANG, et al, 2023. Fungal diversity in coral reef sand of Redang Island and separation and identification of the natural products from *Cladosporium* sp. GXIMD02067[J]. Microbiology China, 50(11): 4784–4795 (in Chinese with English abstract).
- 邢楠楠, 任润馨, 唐振洲, 等, 2023. 涠洲岛海洋沉积物来源真菌 *Aspergillus* sp. GXIMD02003 的代谢产物研究[J]. 热带海洋学报, 42(5): 154–160. XING NANNAN, REN RUNXIN, TANG ZHENZHOU, et al, 2023. Study on the secondary metabolites of fungus *Aspergillus* sp. GXIMD02003 derived from marine sediment in the Weizhou island[J]. Journal of Tropical Oceanography, 42(5): 154–160 (in Chinese with English abstract).
- 叶禹秀, 罗小卫, 杨斌, 等, 2022. 南海礁栖海藻共附生真菌 *Pestalotiopsis neglecta* SCSIO41403 次级代谢产物研究[J]. 热带海洋学报, 41(3): 186–190. YE YUXIU, LUO XIAOWEI, YANG BIN, et al, 2022. Study on the secondary metabolites of reef habitat algae-derived fungus *Pestalotiopsis neglecta* SCSIO41403 from the South China Sea[J]. Journal of Tropical Oceanography, 41(3): 186–190 (in Chinese with English abstract).
- DRAMAE A, INTARAUDOM C, BUNBAMRUNG N, et al, 2022. Antimicrobial tanzawaic acid derivatives from the endophytic *Penicillium citrinum* BCC71086[J]. Tetrahedron, 106–107: 132645.
- EL-ELIMAT T, FIGUEROA M, RAJA H A, et al, 2013. Waol A, *trans*-dihydrowaol A, and *cis*-dihydrowaol A: polyketide-derived γ -lactones from a *Volutella* species[J]. Tetrahedron Letters, 54(32): 4300–4302.
- GAUTSCHI J T, AMAGATA T, AMAGATA A, et al, 2004. Expanding the strategies in natural product studies of marine-derived fungi: A chemical investigation of *Penicillium* obtained from deep water sediment[J]. Journal of Natural Products, 67(9): 362–367.
- HAMMERSCHMIDT L, DEBBAB A, NGOC T D, et al, 2014. Polyketides from the mangrove-derived endophytic fungus *Acremonium strictum*[J]. Tetrahedron Letters, 55(24): 3463–3468.
- LI KE, CHUNG-DAVIDSON Y W, BUSSY U, et al, 2015. Recent advances and applications of experimental technologies in marine natural product research[J]. Marine Drugs, 13(5): 2694–2713.
- MIAO FENGPING, LIANG XIAORUI, LIU XIANGHONG, et al, 2014. Asperwentins A-C, norditerpenes from a cryptic pathway in an algicolous strain of *Aspergillus wentii*[J]. Journal of Natural Products, 77(2): 429–432.
- NICOLETTI R, TRINCONE A, 2016. Bioactive compounds produced by strains of *Penicillium* and *Talaromyces* of marine origin[J]. Marine Drugs, 14(2): 37.
- NOZAWA O, OKAZAKI T, MORIMOTO S, et al, 2000. Waol B, a new trihydrofuran derivative with cytotoxic activity, isolated from *Myceliophthora lutea*[J]. The Journal of Antibiotics, 53(11): 1296–1300.
- OGAWA A, MURAKAMI C, KAMISUKI S, et al, 2004. Pseudodeflectusin, a novel isochroman derivative from *Aspergillus pseudodeflectus* a parasite of the sea weed, *Sargassum fusiform*, as a selective human cancer cytotoxin[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 14(13): 3539–3543.
- ORFALI R S, ALY A H, EBRAHIM W, et al, 2015. Isochroman and isocoumarin derivatives from hypersaline lake sediment-derived fungus *Penicillium* sp. [J]. Phytochemistry Letters, 13: 234–238.
- QUANG T H, NHIEM N X, TAI B H, et al, 2018. Secondary metabolites from the marine-derived fungus *Paraconiothyrium* sp. VK-13[J]. Vietnam Journal of Chemistry, 56(4): 434–439.
- SMETANINA O F, YURCHENKO A N, IVANETS E V, et al, 2016. Metabolites of the marine fungus *Penicillium citrinum* associated with a brown alga *Padina* sp.[J]. Chemistry of Natural Compounds, 52(1): 111–112.
- SMETANINA O F, YURCHENKO A N, IVANETS E V, et al, 2017. Aromatic metabolites of marine fungus *Penicillium* sp. KMM 4672 associated with a brown alga *Padina* sp. [J]. Chemistry of Natural Compounds, 53(3): 600–602.
- WANG HUIJUAN, GLOER K B, GLOER J B, et al, 1997. Anserinones A and B: new antifungal and antibacterial benzoquinones from the coprophilous fungus *Podospira anserina*[J]. Journal of Natural Products, 60(6): 629–631.
- XU JIANLIN, LIU HONGXIN, CHEN YUCHAN, et al, 2018. Highly substituted benzophenone aldehydes and eremophilane derivatives from the deep-sea derived fungus *Phomopsis lithocarpus* FS508[J]. Marine Drugs, 16(9): 329.
- ZHANG LIJUAN, YANG MINGFEI, MA JIAN, et al, 2023. Neogrisphenol A, a potential ovarian cancer inhibitor from a new record fungus *Neohelicosporium griseum*[J]. Metabolites, 13(3): 435.