

冬虫夏草内生菌 *Penicillium crustosum* 的化学成分研究

巨凤, 罗凡, 冯丹, 郭大乐, 任波\*, 邓赞\*

成都中医药大学药学院 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室-  
学部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137

**摘要:**对来源于冬虫夏草中分离得到的内生菌 *Penicillium crustosum* 的次级代谢产物和抑菌活性进行研究。采用硅胶柱色谱、MCI 柱色谱和半制备 HPLC 等色谱技术对其进行分离纯化, 通过 NMR 结合质谱进行化学成分鉴定。分离并鉴定 16 个化合物, 分别为: Ac-L-Leu-L-Pro-OCH<sub>3</sub> (**1**)、(*E*)-3-benzylidene-4-methyl-3,4-dihydro-1*H*-benzo[e][1,4]diazepine-2,5-dione (**2**)、(*Z*)-3-benzylidene-4-methyl-3,4-dihydro-1*H*-benzo[e][1,4]diazepine-2,5-dione (**3**)、cyclophenin (**4**)、(3*S*)-1,4-benzodiazepine-2,5-diones (**5**)、*O*-acetyl- $\beta$ -paxitriol (**6**)、roquefortine C (**7**)、isoroquefortine C (**8**)、aflaquinolone G (**9**)、3-hydroxy-4-phenylquinolin-2(1*H*)-one (**10**)、viridicatol (**11**)、cyclo(Pro-Leu) (**12**)、*N*-苯甲基氨基甲酸 (**13**)、(5*S*,6*R*,7*S*,8*R*)-5-amino-(2*Z*,4*Z*)-1,2,3-trihydroxybuta-2,4-dienyloxy-pentane-6,7,8,9-tetraol (**14**)、2',4'-二羟基-3',5'-二甲基苯乙酮 (**15**)、conidiogenone B (**16**)。分离得到化合物主要为苯二氮卓类、吲哚二萜类和喹诺酮类生物碱。其中化合物 **1** 和 **2** 为新的天然产物, 化合物 **1**~**4**、**6**、**9**、**12**~**14** 和 **16** 为首次从该真菌中分离得到。

**关键词:** *Penicillium crustosum*; 化学成分; 冬虫夏草; 内生菌

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)7-1147-09

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.7.009

## Study on the chemical constituents of *Penicillium crustosum*, an endophytic fungus from *Ophiocordyceps sinensis*

JU Feng, LUO Fan, FENG Dan, GUO Da-le, REN Bo\*, DENG Yun\*

Sichuan Provincial Key Laboratory of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medical Resources;  
Ministry of State Key Laboratory Breeding Base, School of Pharmacy, Chengdu University  
of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

**Abstract:** To investigate the compounds produced by the endophytic fungus *Penicillium crustosum* from *Ophiocordyceps sinensis* and their antibacterial activities, 16 compounds were isolated and purified by reversed-phase silica gel column chromatography, MCI column chromatography, preparative HPLC, and other methods. Their structures were elucidated on the basis of NMR and MS spectroscopic evidences. The compounds were identified as Ac-L-Leu-L-Pro-OCH<sub>3</sub> (**1**), (*E*)-3-benzylidene-4-methyl-3,4-dihydro-1*H*-benzo[e][1,4]diazepine-2,5-dione (**2**), (*Z*)-3-benzylidene-4-methyl-3,4-dihydro-1*H*-benzo[e][1,4]diazepine-2,5-dione (**3**), cyclophenin (**4**), (3*S*)-1,4-benzodiazepine-2,5-diones (**5**), *O*-acetyl- $\beta$ -paxitriol (**6**), roquefortine C (**7**), isoroquefortine C (**8**), aflaquinolone G (**9**), 3-hydroxy-4-phenylquinolin-2(1*H*)-one (**10**), viridicatol (**11**), cyclo(Pro-Leu) (**12**), *N*-(phenylmethyl) carbamic acid (**13**), (5*S*,6*R*,7*S*,8*R*)-5-amino-(2*Z*,4*Z*)-1,2,3-trihydroxybuta-2,4-dienyloxy-pentane-6,7,8,9-tetraol (**14**), 2',4'-dihydroxy-3',5'-dimethylacetophenone (**15**), and conidiogenone B (**16**). The compounds isolated are mainly benzodiazepines, indole diterpenes and quinolone alkaloids. Compounds **1** and **2** were isolated as new natural products, and compounds **1**~**4**, **6**, **9**, **12**~**14** and **16** were isolated from this strain for the first time.

**Key words:** *Penicillium crustosum*; chemical constituents; *Ophiocordyceps sinensis*; endophytic fungus

收稿日期: 2020-11-12 接受日期: 2021-03-17

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81373961); 四川省科技厅省青年科技创新研究团队专项(2016TD0006); 中国博士后科学基金(2017M622985); 四川省教育厅科研项目(18ZA0191)

\* 通信作者 E-mail: renbo@cdutcm.edu.cn, dengyun@cdutcm.edu

冬虫夏草 (*Ophiocordyceps sinensis*) 是线形虫草属 (*Ophiocordyceps*) 真菌冬虫夏草菌的子座与其寄主蝙蝠蛾科昆虫的幼虫尸体的复合体<sup>[1]</sup>, 是分布在青藏高原高寒地区的特殊物种<sup>[2]</sup>。性平, 味甘, 归肺、肾经, 具有化痰止血, 补肺益肾等功效<sup>[3]</sup>。由于冬虫夏草独特的疗效使市场需求量增加, 天然虫草被过度采挖, 资源日益严峻, 引起了人们的广泛关注。而中药内生菌通过长期的协同进化, 可产生与宿主植物相同或相似的活性物质<sup>[4]</sup>, 如已有研究报道从冬虫夏草中分离的中国被毛孢的菌丝体被研制成百令胶囊、蝙蝠蛾拟青霉的发酵菌丝体被开发为金水宝胶囊、蝙蝠蛾被毛孢被开发为至灵胶囊等<sup>[5]</sup>, 因此冬虫夏草中的内生菌具有很大的研究潜力。

*Penicillium crustosum* 为半知菌亚门半知菌纲壳霉目杯霉科 (Discellaceae) 青霉属 (*Penicillium*) 真菌。文献查阅 *P. crustosum* 次生代谢产物的研究集中在液体发酵, 分离得到了一系列涵盖硫代二酮哌嗪类、苯二氮卓类、吡啶二萜类、喹啉类等类型的生物碱类化合物以及具有 clavatol 单元和  $\gamma$ -丁内酯单元的新颖结构的聚酮类化合物<sup>[6-7]</sup>。He 等<sup>[8]</sup>从 *P. crustosum* 次级代谢产物中分离得到了 3 个新的硫代二酮哌嗪和 2 个类似物, 这两个化合物分别在  $>8 \mu\text{M}$  和  $>16 \mu\text{M}$  的剂量下能促进尼罗红处理的斑马鱼的胃肠动力, 进一步用阿托品做干扰表明化合物可能通过作用于胆碱能神经系统从而发挥功效; Liu 等<sup>[9]</sup>从 *P. crustosum* 中分离得到一个新的多烯化合物、一个新的二酮哌嗪以及 3 个已知化合物, 新的二酮哌嗪 fusaperazine F 对 K562 细胞 (人慢性髓系白血病细胞) 具有细胞毒作用,  $\text{IC}_{50}$  值为  $12.7 \mu\text{M}$ ; Feng 等<sup>[10]</sup>从其液体发酵产物中分离得到了一对新

的对映异构体及一个类似物和一个新的聚酮类化合物, 其类似物对 MV4-11 (人髓性单核细胞白血病细胞) 细胞有轻微的抑制作用,  $\text{IC}_{50}$  值为  $36.23 \mu\text{M}$ 。而对 *P. crustosum* 的大米固体发酵产物研究较少, 为进一步丰富 *Penicillium crustosum* 代谢产物的化学信息和比较不同发酵方式对其次生代谢产物的影响, 合理开发冬虫夏草的资源, 本文利用多种色谱分离技术和现代波谱技术, 采用大米固体发酵对虫草内生菌 *Penicillium crustosum* 进行培养并对其代谢产物进行化学成分研究。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器与试剂

Finnigan-LCQDECA 质谱仪 (美国赛默飞世尔公司); Bruker Ascend 400 核磁共振仪 (TMS 为内标, 德国布鲁克公司); 中压层析柱 (利穗科技 (苏州) 有限公司); NP7000 型制备型高效液相色谱仪 (江苏汉邦仪器有限公司); Axioscope 5 生物显微镜 (德国蔡司公司); 柱层析硅胶 (300 ~ 400 目); 薄层层析硅胶板 ( $5 \times 10 \text{ cm}$ , G) (青岛海洋化工厂); HPLC 柱 (Pack ODS-A,  $5 \mu\text{m}$ ,  $250 \times 10 \text{ mm}$ ) (日本 YMC 株式会社)。三氯甲烷、丙酮、石油醚、乙酸乙酯、甲醇 (成都科龙化工试剂厂, 均为分析纯)。

### 1.2 菌种来源

新鲜中药材采集于甘肃省夏河县, 由成都中医药大学蒋桂华教授鉴定为冬虫夏草 (*Ophiocordyceps sinensis*)。从新鲜的冬虫夏草中分离得到一株内生真菌 (编号: DCXC-20160503-XHX-20160908-2-1-1), 菌株在 PDA 平板上菌落前期为白色, 然后变为灰绿色, 分生孢子梗较短, 从菌丝垂直生出, 分生孢子球形, 直径  $3.5 \sim 5.0 \mu\text{m}$ , 光滑 (见图 1)。再测得其 ITS 基因和 TUB2 基因得到的 18 S rRNA 基因序



图 1 *P. crustosum* 菌株形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of *P. crustosum* strain

注: A: 菌落; B: 菌丝体; C: 分生孢子。Note: A: Colony; B: Mycelia; C: Conidia.

表 1 引物序列表

Table 1 The list of primer sequences

基因名称 Gene name	引物 Primer	序列(5'-3') Sequence (5'-3')
ITS	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCCG
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC
TUB2	TUB2-F	TGCTTTCTGTAAGTGCCGA
	TUB2-R	TGCCCCAGTTGTTACCAGC

列提交到 NCBI 的 GenBank 基因库,经 BLAST 比对,相似度分别为 100% (NO. MK285663) 和 99.49% (NO. MN418444.1) 鉴定为 *Penicillium crustosum*。具体引物见表 1。药材样品和 *P. crustosum* 菌种现保存于成都中医药大学药学院生化制药实验室。

### 1.3 培养基

实验所用的培养基配方如下:PDA 培养基:去皮土豆 200 g/L,葡萄糖 20 g/L,琼脂 15-20 g/L。液体培养基:葡萄糖 20 g/L,可溶性淀粉 8 g/L,蛋白胨 5 g/L,酵母膏 2 g/L,氯化钠 2 g/L,碳酸钙 2 g/L,硫酸镁 0.5 g/L,磷酸氢二钾 0.5 g/L,pH 自然。大米固体培养基:大米 40 g/瓶,蛋白胨 2 g/瓶,自来水 40 mL。

## 2 实验方法

### 2.1 大米固体发酵

菌种活化传代,将在 PDA 培养基上纯化得到的 *P. crustosum* 菌株接种至液体培养基中,于摇床培养 4 天(28 °C,200 rpm),得到种子液,再将其转至灭菌后的 300 瓶发酵瓶中,瓶内装有大米固体培养基,室温下静置培养 40 天。

### 2.2 发酵产物的提取与分离

发酵完毕后,得到的发酵产物甲醇超声提取三次,减压浓缩得到浸膏,再用乙酸乙酯萃取,三次后合并萃取液并浓缩得到乙酸乙酯部位浸膏 224.0 g。将其经正相硅胶柱层析,采用的洗脱体系为石油醚-丙酮(10:0→1:1),收集洗脱液,TLC 分析指导,合并得组分 A(20.0 g)、B(5.5 g)、C(0.9 g)、D(29.4 g)、E(22.6 g)、F(43.5 g)、G(8.7 g)、H(2.1 g)。

组分 C 经葡聚糖凝胶柱层析,由三氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,HPLC 分析合并得 5 个亚组分 C1、C2、C3、C4、C5。C2 经 HPLC 制备,甲醇-水(60:40)洗脱得到化合物 13(9.2 mg)。

组分 D 经 MCI 柱层析,由甲醇-水(30:70→100:0)洗脱,HPLC 分析合并得到 20 个亚组分 D1、D2、

D3~D20。D13 经甲醇重结晶得到化合物 4(6.1 mg)。D15 经 HPLC 制备,甲醇-水(50:50)洗脱得到化合物 2(1.3 mg)、化合物 3(2.6 mg)、化合物 5(20.0 mg)。D20 经 HPLC 制备,甲醇-水(70:30)洗脱得到化合物 6(4.6 mg)。

组分 E 经 MCI 柱层析,由甲醇-水(30:70→100:0)洗脱,HPLC 分析合并得到 29 个亚组分 E1、E2、E3~E29。E11 经葡聚糖凝胶柱层析,由三氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,HPLC 分析合并得到组分 E11-1、E11-2、E11-3、E11-4、E11-5。E11-5 经 HPLC 制备,甲醇-0.05% 乙酸水(38:72)洗脱得到化合物 9(4.2 mg)。

组分 F 经正相硅胶柱层析,由三氯甲烷-甲醇(100:0→0:100)洗脱,薄层分析指导,得到 6 个亚组分 F1、F2、F3~F6。F1 经 HPLC 制备,甲醇-水(85:15)洗脱得到化合物 16(3.2 mg)。F3 经 MCI 柱层析,由甲醇-水(20:80→100:0)洗脱,HPLC 分析合并得到组分 F3-1、F3-2、F3-3~F3-12。F3-3 经葡聚糖凝胶柱层析,由三氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,得到化合物 10(4.2 mg)。

组分 G 经 MCI 柱层析,由甲醇-水(10:90→100:0)洗脱,HPLC 分析合并得到 8 个亚组分 G1、G2、G3~G8。G1 经反相 C8 柱层析,由甲醇-水(5:95→100:0)洗脱,得到组分 G1-1、G1-2、G1-3~G1-7。G1-2 经 HPLC 制备,甲醇-水(15:85)洗脱得到化合物 14(5.0 mg)。G1-3 经 HPLC 制备,甲醇-水(15:85)洗脱得到化合物 11(2.3 mg)、化合物 12(3.1 mg)。G2 经甲醇重结晶,得到化合物 15(20.0 mg)。G8 经葡聚糖凝胶柱层析,由三氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,HPLC 分析合并得到组分 G8-1、G8-2、G8-3~G8-5。G8-4 经 HPLC 制备,甲醇-水(60:40)洗脱得到化合物 1(11.0 mg)、化合物 7(3.2 mg)、化合物 8(6.7 mg)。

### 2.3 化合物的抑菌活性测试(滤纸片法)

对化合物 **1**~**16** 进行抑菌活性测试。测试细菌菌株为:革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis* ATCC 25952)、革兰氏阴性菌大肠杆菌(*Escherichia coli* ATCC 9372)。测试真菌菌株为:香蕉炭疽病菌(*Colletotrichum musae* ACCC 31244)、马铃薯炭疽病菌(*Colletotrichum coccodes* ACCC 36067)。采用的方法是药敏片扩散法。抑制细菌试验中,硫酸链霉素和甲醇分别作为阳性对照组和阴性对照组;抑制真菌试验中,放线菌酮和甲醇、无菌水分别作为阳性对照组和阴性对照组。

将细菌菌株在 LB 培养皿中 37 °C 下培养 24 h 进行活化,活化后加入无菌水配置成  $1.0 \times 10^6$  CFU/mL 的菌液,吸取 1 mL 菌液涂布到 LB 培养皿中;将真菌菌株在 PDA 培养皿中 28 °C 下培养 48 h 进行活化,活化后加入无菌水配置成  $1.0 \times 10^6$  CFU/mL 的菌液,吸取 1 mL 菌液涂布到 PDA 培养皿中。硫酸链霉素和化合物用甲醇配置为 400  $\mu$ g/mL 的溶液,放线菌酮用无菌水配置为 400  $\mu$ g/mL 的溶液备用。每个药敏片加 6  $\mu$ L 样品,待溶剂挥干后,放置在培养皿中。细菌培养皿在 37 °C 中生长 12 h 后测量抑菌圈直径,真菌培养皿在 28 °C 中生长 48 h 后测量抑菌圈直径。每组实验平行 3 次求得平均值。

## 3 实验结果

### 3.1 结构鉴定

**化合物 1** 黄色油状(CHCl<sub>3</sub>);ESI-MS: $m/z$  307 [M + Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ :0.95(3H, d,  $J$  = 6.7 Hz, H-11), 0.99(3H, d,  $J$  = 6.5 Hz, H-10), 1.56~1.51(2H, m, H-8), 1.71(1H, ddt,  $J$  = 14.9, 13.1, 6.6 Hz, H-9), 1.97(3H, s, H-13), 2.03~1.98(2H, m, H-4), 2.09~2.03(2H, m, H-4), 2.24~2.19(2H, m, H-3), 3.62(2H, ddd,  $J$  = 9.7, 7.4, 5.8 Hz, H-5), 3.72(3H, s, H-14), 3.83(2H, dt,  $J$  = 9.8, 6.9 Hz, H-5), 4.49(1H, dd,  $J$  = 8.4, 4.8 Hz, H-2), 4.82(2H, td,  $J$  = 8.9, 5.2 Hz, H-7), 6.29(1H, d,  $J$  = 8.3 Hz, -NH); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ :22.1(C-11), 23.3(C-13), 23.5(C-10), 24.8(C-9), 25.0(C-4), 29.2(C-3), 42.0(C-8), 47.0(C-5), 49.1(C-7), 52.4(C-14), 58.9(C-2), 170.1(C-12), 171.7(C-6), 172.5(C-1)。查阅文献<sup>[11]</sup>显示,该化合物与合成产物 Ac-Leu-Pro-OCH<sub>3</sub> 的波谱数据基本一致,该化合物的结构得以确定

(图 2)。

**化合物 2** 黄色粉末(CHCl<sub>3</sub>);ESI-MS: $m/z$  279 [M + Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ :3.51(3H, s, H-17), 6.72(1H, s, H-10), 6.97(1H, d,  $J$  = 8.0 Hz, H-9), 7.26(1H, m, H-7), 7.31~7.29(3H, m, H-12, 14, 16), 7.40~7.38(2H, m, H-13, 15), 7.43(1H, td,  $J$  = 7.4, 1.5 Hz, H-8), 7.95(1H, d,  $J$  = 7.6 Hz, H-6), 8.36(1H, s, H-1); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ :37.9(C-17), 120.8(C-9), 125.6(C-7), 127.1(C-5b), 128.8(C-13, 15), 129.0(C-12, 16), 129.6(C-14), 131.8(C-6), 132.3(C-11), 132.5(C-8), 133.1(C-3), 133.3(C-10), 134.4(C-9b), 166.5(C-5), 167.9(C-2)。以上核磁数据与文献<sup>[12]</sup>报道的核磁数据基本一致,故确定该化合物为(*E*)-3-benzylidene-4-methyl-3,4-dihydro-1*H*-benzo[e][1,4]diazepine-2,5-dione。

**化合物 3** 黄色粉末(CHCl<sub>3</sub>);ESI-MS: $m/z$  279 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ :3.19(3H, s, H-17), 6.94(1H, d,  $J$  = 8.0 Hz, H-9), 6.95(1H, s, H-10), 7.29~7.26(1H, m, H-7), 7.40~7.34(5H, m, H-12~16), 7.47(1H, td,  $J$  = 7.9, 1.5 Hz, H-8), 7.62(1H, s, 1-NH), 8.02(1H, dd,  $J$  = 7.9, 1.4 Hz, H-6); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ :36.2(C-17), 120.4(C-9a), 125.5(C-7), 125.8(C-5b), 129.2(C-12, 14, 16), 129.6(C-13, 15), 130.0(C-11), 131.7(C-6, 10), 132.9(C-8), 133.6(C-3), 135.6(C-9b), 166.3(C-5a), 171.2(C-2)。以上核磁数据与文献<sup>[12]</sup>报道的核磁数据基本一致,故确定该化合物为(*Z*)-3-benzylidene-4-methyl-3,4-dihydro-1*H*-benzo[e][1,4]diazepine-2,5-dione。

**化合物 4** 无色晶体(MeOH);ESI-MS: $m/z$  295 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ :3.24(3H, s, H-17), 4.02(1H, s, H-10), 6.65(2H, d,  $J$  = 6.3 Hz, H-12, 16), 7.09(1H, m, H-14), 7.15(1H, m, H-9), 7.22(2H, d,  $J$  = 7.6 Hz, H-13, 15), 7.28(1H, m, H-6), 7.39(1H, m, H-8), 7.51(1H, m, H-7), 8.60(1H, s, H-1); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ :31.6(C-17), 65.0(C-10), 70.4(C-3), 120.8(C-9a), 125.7(C-7), 126.2(C-13, 15), 128.4(C-12, C-16), 129.4(C-14), 130.3(C-11), 131.9(C-8), 132.8(C-6), 134.0(C-9b), 166.0(C-5), 167.5(C-2)。以上核磁数据与文献<sup>[13,14]</sup>报道的核磁数据基本一致,故确定该化合物为 cyclopenin。

**化合物 5** 无色粉末 (MeOH); ESI-MS:  $m/z$  281  $[M+H]^+$ ;  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 2.84 (1H, dd,  $J = 13.6, 6.0$  Hz, H-10a, A-type), 2.71 (1H, m, H-10a, B-type), 3.14 (3H, s, H-17, A-type), 2.91 (3H, s, H-17, B-type), 3.49 (1H, dd,  $J = 12.0, 6.0$  Hz, H-10, A-type), 3.21 (1H, dd,  $J = 14.4, 6.4$  Hz, H-10, B-type), 4.35 (1H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-3, A-type), 4.26 (1H, dd,  $J = 10.4, 6.2$  Hz, H-3, B-type), 7.01 (2H, m, H-13, 15, A-type), 7.01 (2H, m, H-13, 15, B-type), 7.06 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-9, A-type), 6.96 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-9, B-type), 7.25 ~ 7.17 (3H, m, H-12, 14, 16, A-type, B-type), 7.30 (2H, dd,  $J = 18.6, 4.6$  Hz, H-7, A-type, B-type), 7.51 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-8, A-type), 7.44 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz, H-8, B-type), 8.10 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-6, A-type), 7.95 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-6, B-type), 9.48 (1H, s, H-1, A-type), 9.16 (1H, s, H-1, B-type);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 34.7 (C-10, A-type), 32.3 (C-10, B-type), 39.8 (C-17, A-type), 29.4 (C-17, B-type), 68.6 (C-3, A-type), 56.4 (C-3, B-type), 120.9 (C-9, A-type), 120.3 (C-9, B-type), 125.4 (C-7, A-type), 125.0 (C-7, B-type), 127.4 (C-5a, A-type), 127.0 (C-5a, B-type), 128.9 (C-14, A-type), 128.8 (C-14, B-type), 129.0 (C-12, 16, A-type), 129.0 (C-12, 16, B-type), 129.1 (C-13, 15, A-type), 129.1 (C-13, 15, B-type), 131.9 (C-6, A-type), 131.5 (C-6, B-type), 132.8 (C-8, A-type), 132.5 (C-8, B-type), 135.7 (C-9a, A-type), 134.8 (C-9a, B-type), 136.5 (C-11, A-type), 135.7 (C-11, B-type), 168.6 (C-5, A-type), 166.1 (C-5, B-type), 171.8 (C-2, A-type), 170.3 (C-2, B-type)。该化合物由于 N-4 的构型 (孤对电子) 上下翻转, 导致七元环出现构象不同的异构体, 对比核磁数据与文献<sup>[14]</sup>报道的核磁数据基本一致, 故确定该化合物为 (3*S*)-1, 4-benzodiazepine-2, 5-diones。

**化合物 6** 无色针晶 (MeOH); ESI-MS:  $m/z$  480  $[M+H]^+$ ;  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.01 (3H, s, 12c- $CH_3$ ), 1.26 (3H, s, H-2'), 1.29 (3H, s, H-3'), 1.32 (3H, s, 12b- $CH_3$ ), 1.43 (1H, dd,  $J = 12.4, 3.9$  Hz, H-13b), 1.62 ~ 1.56 (1H, m, H-5b), 1.76 ~ 1.71 (1H, m, H-6b), 1.96 ~ 1.90 (1H, m, H-14b), 2.05 ~ 2.01 (2H, m, H-5a, 6a), 2.08 (3H, s, 3-COO $CH_3$ ), 2.30 ~ 2.22 (1H, m, H-14a), 2.44 (1H, dd,  $J =$

13.0, 11.0 Hz, H-7b), 2.71 (1H, d,  $J = 5.9$  Hz, H-7a), 2.74 (1H, d,  $J = 6.1$  Hz, H-6a), 2.88 ~ 2.79 (1H, m, H-13a), 3.34 (2H, m, H-2, 1'), 4.68 ~ 4.61 (1H, m, H-14a), 5.24 (1H, dt,  $J = 5.8, 1.8$  Hz, H-3), 5.75 (1H, dd,  $J = 5.8, 1.4$  Hz, H-4), 7.07 (2H, dd,  $J = 5.7, 2.6$  Hz, H-9, 10), 7.32 ~ 7.28 (1H, m, H-11), 7.32 ~ 7.28 (1H, m, H-11), 7.45 ~ 7.42 (1H, m, H-8), 7.78 (1H, s, H-12);  $^{13}C$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 16.4 (12b- $CH_3$ ), 20.1 (12c- $CH_3$ ), 21.0 (C-6), 21.5 (COO $CH_3$ ), 26.1 (C-2'), 26.5 (C-3'), 27.5 (C-7), 28.3 (C-13), 28.4 (C-14), 34.8 (C-5), 43.1 (C-12c), 49.8 (C-6a), 50.9 (C-12b), 65.6 (C-3), 71.8 (C-1'), 74.1 (C-14a), 77.9 (C-4b), 81.2 (C-2), 111.6 (C-11), 114.8 (C-4), 117.5 (C-7a), 118.6 (C-8), 119.6 (C-9), 120.6 (C-10), 125.3 (C-7b), 139.8 (C-11a), 150.4 (C-4a), 152.4 (C-12a), 170.9 (3-COO $CH_3$ )。以上核磁数据与文献<sup>[15]</sup>报道的核磁数据基本一致, 故确定该化合物为 *O*-acetyl- $\beta$ -paxitriol。

**化合物 7** 黄色油状 ( $CHCl_3$ ); ESI-MS:  $m/z$  388  $[M-H]^-$ ;  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.04 (3H, s, H-21), 1.16 (3H, s, H-22), 2.48 (1H, t,  $J = 11.9$  Hz, H-11), 2.61 (1H, dd,  $J = 12.4, 6.0$  Hz, H-11), 4.07 (1H, dd,  $J = 11.3, 5.9$  Hz, H-11a), 5.10 (1H, s, H-6), 5.10 (1H, d,  $J = 9.7$  Hz, H-20), 5.15 (1H, d,  $J = 10.5$  Hz, H-20), 5.65 (1H, s, H-5a), 5.99 (1H, dd,  $J = 17.3, 10.8$  Hz, H-19), 6.33 (1H, s, H-12), 6.61 (1H,  $J = 7.8$  Hz, H-7), 6.78 (1H, t,  $J = 7.3$  Hz, H-8), 7.11 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz, H-8), 7.19 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-10), 7.30 (1H, s, H-15), 7.74 (1H, s, H-17), 9.25 (1H, s, H-2), 9.25 (1H, s, H-16);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 22.6 (C-21), 23.0 (C-22), 36.9 (C-11), 41.0 (C-18), 59.0 (C-11a), 61.7 (C-10b), 78.6 (C-5a), 109.2 (C-12), 111.3 (C-7), 114.7 (C-20), 119.3 (C-9), 122.0 (C-3), 125.3 (C-10), 125.6 (C-13), 128.7 (C-10a), 129.3 (C-8), 134.9 (C-17), 136.8 (C-15), 143.5 (C-19), 150.0 (C-6a), 159.5 (C-4), 167.0 (C-1)。以上核磁数据与文献<sup>[16]</sup>报道的核磁数据基本一致, 故鉴定此化合物为 roquefortine C。

**化合物 8** 黄色油状 ( $CHCl_3$ ); ESI-MS:  $m/z$  388  $[M-H]^-$ ;  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 1.04 (3H, s, H-21), 1.15 (3H, s, H-22), 2.48 (1H, t,  $J = 11.9$

H<sub>z</sub>, H-11), 2.61 (1H, dd,  $J = 12.2, 5.8$  Hz, H-11), 4.12 (1H, dd,  $J = 11.5, 5.8$  Hz, H-11a), 4.95 (1H, s, H-6), 5.09 (1H, d,  $J = 17.0$  Hz, H-20), 5.13 (1H, d,  $J = 9.7$  Hz, H-20), 5.66 (1H, s, H-5a), 5.99 (1H, dd,  $J = 17.3, 10.8$  Hz, H-19), 6.58 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-7), 6.71 (1H, s, H-12), 6.74 (1H, dd,  $J = 13.2, 5.9$  Hz, H-8), 7.09 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz, H-9), 7.16 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-10), 7.18 (1H, s, H-17), 7.68 (1H, s, H-15), 9.69 (1H, s, H-16), 11.61 (1H, s, H-2); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 22.6 (C-21), 23.1 (C-22), 37.4 (C-11), 41.1 (C-18), 59.3 (C-11a), 61.8 (C-10b), 78.2 (C-5a), 105.0 (C-12), 109.1 (C-7), 114.7 (C-20), 117.2 (C-17), 119.0 (C-9), 125.4 (C-10), 126.9 (C-3), 129.0 (C-10a), 129.1 (C-8), 135.2 (C-15), 137.7 (C-13), 143.7 (C-19), 150.5 (C-6a), 158.6 (C-4), 165.6 (C-1)。以上核磁数据与文献<sup>[17]</sup>报道的核磁数据基本一致,故鉴定此化合物为 isoroquefortine C。

**化合物 9** 白色粉末 (MeOH); ESI-MS  $m/z$ : 278 [M + Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 4.59 (1H, s, H-3), 6.96 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz, H-9), 7.11 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-7), 7.22 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz, H-13, 14, 15), 7.32 ~ 7.27 (1H, m, H-8), 7.35 (2H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-12, 16), 7.56 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-6); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 76.6 (C-3), 78.3 (C-4), 116.9 (C-9), 124.9 (C-7), 127.6 (C-6), 128.6 (C-13, 14, 15), 128.7 (C-12, 16), 130.1 (C-8), 132.4 (C-5), 136.6 (C-10), 141.4 (C-11), 172.6 (C-2)。以上核磁数据与文献<sup>[18]</sup>报道的核磁数据基本一致,故确定该化合物为 aflaquinolone G。

**化合物 10** 白色粉末 (MeOH); ESI-MS:  $m/z$  260 [M + Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.07 (2H, dt,  $J = 14.9, 7.8$  Hz, H-6, 7), 7.34 (4H, m, H-8, 9, 12, 16), 7.44 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-14), 7.51 (2H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-13, 15), 9.21 (1H, s, 3-OH), 12.23 (1H, s, 1-NH); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 115.2 (C-9), 120.9 (C-5), 122.1 (C-7), 123.9 (C-4), 124.3 (C-6), 126.4 (C-8), 127.6 (C-14), 128.3 (C-13, C-15), 129.8 (C-12, C-16), 133.2 (C-3), 133.7 (C-11), 142.4 (C-10), 158.3 (C-2)。以上核磁数据与文献<sup>[19]</sup>报道的核磁数据基本一致,故鉴定此化合物为 3-hydroxy-4-phenylquinolin-2(1H)-one。

**化合物 11** 白色粉末 (MeOH); ESI-MS:  $m/z$  254 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 6.72 (1H, d,  $J = 5.1$  Hz, H-16), 6.73 (1H, d,  $J = 4.8$  Hz, H-15), 6.83 (1H, dd,  $J = 5.1, 4.2$  Hz, H-14), 7.09 ~ 7.05 (1H, m, H-6), 7.11 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-7), 7.29 (1H, s, H-12), 7.32 (1H, m, H-5), 7.34 (1H, d,  $J = 7.1$  Hz, H-8), 9.12 (1H, s, 13-OH), 9.51 (1H, s, 1-NH), 12.19 (1H, s, 3-OH); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 114.6 (C-14), 115.2 (C-8), 116.7 (C-16), 120.4 (C-15), 120.9 (C-10), 122.1 (C-6), 124.1 (C-11), 124.5 (C-7), 126.4 (C-5), 129.4 (C-12), 133.1 (C-9), 134.9 (C-4), 142.2 (C-3), 157.3 (C-13), 158.3 (C-2)。以上核磁数据与文献<sup>[20]</sup>报道的核磁数据基本一致,故鉴定此化合物为 viridicatol。

**化合物 12** 白色粉末 (MeOH); ESI-MS:  $m/z$  299 [M + Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 1.44 (1H, ddd,  $J = 12.9, 11.8, 4.7$  Hz, H-5b), 2.12 (1H, dd,  $J = 13.0, 5.8$  Hz, H-5a), 3.12 (1H, d,  $J = 5.0$  Hz, H-10), 3.78 (2H, m, H-3), 4.34 (1H, t,  $J = 4.7$  Hz, H-6), 4.41 (1H, ddd,  $J = 11.7, 5.9, 1.8$  Hz, H-9), 4.47 ~ 4.44 (1H, m, H-4), 6.78 ~ 6.74 (2H, m, H-12, 16), 7.12 ~ 7.08 (2H, m, H-12, 15); <sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 37.5 (C-10), 38.9 (C-5), 55.3 (C-3), 57.8 (C-9), 58.3 (C-6), 68.5 (C-4), 116.2 (C-13, 15), 127.7 (C-11), 132.1 (C-12, 16), 157.7 (C-14), 167.1 (C-7), 171.1 (C-1)。以上核磁数据与文献<sup>[21]</sup>报道核磁数据基本一致,故确定该化合物为环(络氨酸-脯氨酸)。

**化合物 13** 黄色粉末 (MeOH); ESI-MS:  $m/z$  152 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 3.63 (2H, s, H-7), 7.34 ~ 7.25 (5H, m, H-2 ~ 6), 8.31 (1H, br s, -NH); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 41.3 (C-7), 127.5 (C-4), 128.8 (C-3, 5), 129.5 (C-2, 6), 133.5 (C-1), 178.0 (C-8)。以上核磁数据与文献<sup>[22]</sup>报道的核磁数据基本一致,故确定该化合物为 N-苯甲基氨基甲酸。

**化合物 14** 无色油状 (MeOH); ESI-MS:  $m/z$  290 [M + Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 3.81 (1H, dd,  $J = 12.5, 2.7$  Hz, H-9b), 3.95 (1H, dd,  $J = 12.5, 2.5$  Hz, H-9a), 4.23 (1H, m, H-8), 4.39 (1H, dd,  $J = 5.1, 2.6$  Hz, H-7), 4.82 ~ 4.77 (1H, m, H-6), 6.03 (1H, d,  $J = 6.4$  Hz, H-5), 8.24 (1H,

s, H-1), 8.36 (1H, s, H-4);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 63.5 (C-9), 72.7 (C-7), 75.5 (C-6), 88.2 (C-8), 91.3 (C-5), 142.0 (C-4), 150.1 (C-3), 153.5 (C-1), 157.6 (C-2)。以上核磁数据与文献<sup>[23]</sup>报道的核磁数据基本一致,故鉴定此化合物为(5*S*,6*R*,7*S*,8*R*)-5-amino-(2*Z*,4*Z*)-1,2,3-trihydroxybuta-2,4-dienyloxy-pentane-6,7,8,9-tetraol。

**化合物 15** 无色针晶(MeOH); ESI-MS:  $m/z$  181  $[\text{M} + \text{H}]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 2.11 (3H, s, 3'- $\text{CH}_3$ ), 2.22 (3H, s, 5'- $\text{CH}_3$ ), 2.56 (3H, s, H-1), 7.48 (1H, s, H-6'), 12.88 (1H, s, 2'-OH);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.9 (3'- $\text{CH}_3$ ), 16.3 (5'- $\text{CH}_3$ ), 26.2 (C-1), 111.8 (C-1'), 113.8 (C-3'), 117.2 (C-5'), 131.2 (C-6'), 162.0 (C-2'), 162.3 (C-4'), 204.4 (C-2)。以上核磁数据与文献<sup>[24]</sup>报道的核磁数据基本一致,故鉴定此化合物为2',4'-二羟基-3',5'-二甲基苯乙酮。

**化合物 16** 黄色油状物(MeOH); ESI-MS:  $m/z$  288  $[\text{M} + \text{H}]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 0.96

(3H, s, H-19), 1.05 (3H, s, H-20), 1.16 ~ 1.19 (1H, m, H-7b), 1.18 (3H, s, H-17), 1.20 (3H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-16), 1.28 (3H, s, H-18), 1.39 (1H, d,  $J = 5.3$  Hz, H-15), 1.52 ~ 1.47 (1H, m, H-13b), 1.59 ~ 1.54 (1H, m, H-13a), 1.60 ~ 1.54 (1H, m, H-7a), 1.66 ~ 1.62 (2H, m, H-10b, 12b), 1.69 ~ 1.66 (2H, m, H-8b, 12a), 1.98 (1H, d,  $J = 14.6$  Hz, H-10a), 2.09 (1H, dd,  $J = 11.5, 5.9$  Hz, H-8), 2.71 ~ 2.64 (1H, m, H-4), 2.25 (1H, dd,  $J = 9.3, 5.3$  Hz, H-6), 5.97 (1H, d,  $J = 10.0$  Hz, H-2), 6.94 (1H, dd,  $J = 10.0, 5.9$  Hz, H-3);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 18.9 (C-16), 21.1 (C-17), 27.3 (C-19), 32.7 (C-18), 34.5 (C-7), 37.7 (C-4), 39.0 (C-12), 39.2 (C-8), 40.9 (C-13), 42.9 (C-14), 48.1 (C-10), 52.4 (C-11), 56.2 (C-6), 57.6 (C-9), 59.1 (C-5), 73.8 (C-15), 127.6 (C-2), 154.6 (C-3), 206.2 (C-1)。以上核磁数据与文献<sup>[25]</sup>报道的核磁数据基本一致,故鉴定此化合物为 conidiogenone B。

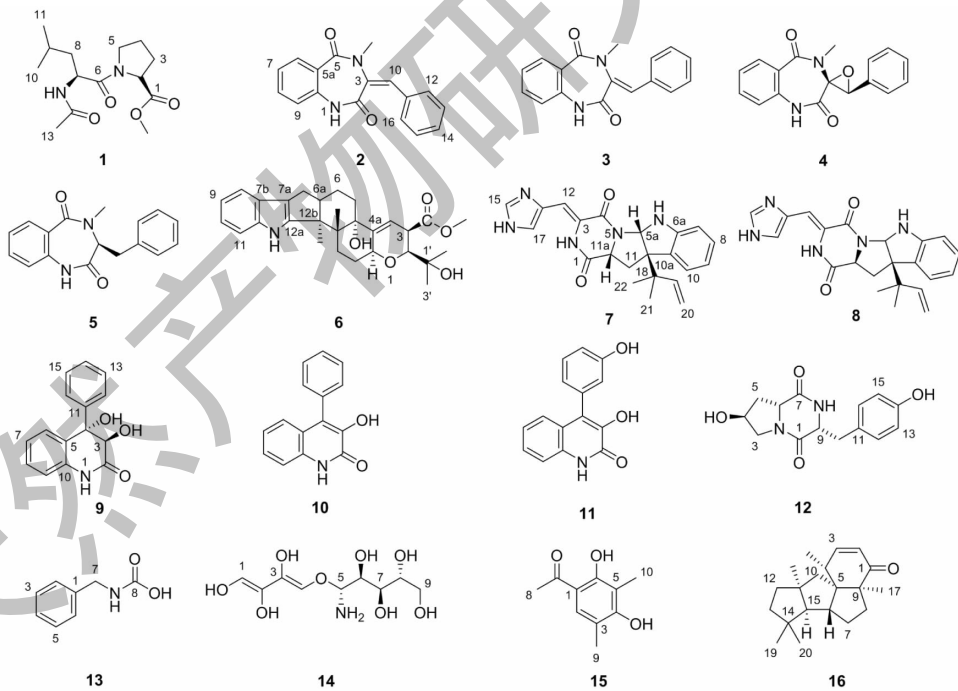


图 2 化合物 1 ~ 16 的化学结构

Fig. 2 Chemical structure of compounds 1-16

### 3.2 抑菌测试结果

抑菌测试结果显示,从虫草内生菌分离得到的化合物 1 ~ 16 对测试的菌株均无明显抑制圈,没有明显的活性。

### 4 讨论

本文从冬虫夏草内生菌 *P. crustosum* 的大米固体发酵物中分离得到了 16 个化合物,主要为苯二氮卓类、吲哚二萜类和喹诺酮类生物碱,其中化合物 1

和 2 是新的天然产物, 化合物 **1** ~ **4**、**6**、**9**、**12** ~ **14** 和 **16** 为首次从该真菌中分离得到。与课题组前期得到的结果类似<sup>[26]</sup>。已有报道表明生物碱类具有广泛药理活性, 如抗肿瘤、消炎镇痛等, 本文对分离得到的化合物进行了初步的抑菌测试但均没有明显的抑制活性, 推测是试验菌株的选择类型较少或者是该类化合物具有其他的生物活性。文献表明化合物 **4** 对流感神经氨酸酶有很强的抑制作用, IC<sub>50</sub> 值为 5.02 μM<sup>[27]</sup>; 化合物 **7** 对 *Balanus amphitrite*、*Bugula neritina* 有抑制作用, 具防污抗菌活性, EC<sub>50</sub> 分别为 6.2、2.1 μg/mL<sup>[28]</sup>。这提示我们可以从其他角度来探讨此类化合物的生物活性, 为后续实验的开展提供参考。

*Penicillium crustosum* 的液体培养和大米固体培养的代谢产物类型差异较大, 液体培养产物中含有较多硫代二酮哌嗪类的化合物, 研究报道这些化合物因为二硫键的存在而具有较强的毒性, 而大米固体发酵物中的生物碱都不具有硫原子, 可能是因为培养基中没有加入相关的元素。因此在进行中药内生菌的次生代谢产物研究时, 可以通过改变培养方式从而得到结构新颖的生物活性化合物。

#### 参考文献

- Sung GH, Hywel-Jones NL, Sung JM, et al. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi [J]. *Stud Mycol*, 2007, 57: 5-59.
- Qiu XH, Cao L, Han RC. The progress, issues and perspectives in the research of *Ophiocordyceps sinensis* [J]. *J Environ Entomol*, 2016, 38(1): 1-23.
- Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 119.
- Che YS. Discovery of new bioactive natural products from fungi of unique ecological niches [J]. *J Int Pharm Res* (国际药学研究杂志), 2011, 38(1): 12-27.
- Zhang Y, Li E, Wang C, et al. *Ophiocordyceps sinensis*, the flagship fungus of China: terminology, life strategy and ecology [J]. *Mycology*, 2012, 3(1): 2-10.
- Nath NTA. Detection and production of Gallic acid from novel fungal strain-*Penicillium crustosum* AN3 KJ820682 [J]. *Curr Trends Bio Pharm*, 2017, 11(1): 60-66.
- Moldes-Anaya A, Rundberget T, Fæste CK, et al. A neurotoxicity of *Penicillium crustosum*, secondary metabolites: tremorogenic activity of orally administered penitrem A and thomit-

- rem A and E in mice [J]. *Toxicol*, 2012, 60: 1428-1435.
- He X, Yang J, Qiu L, et al. Thiodiketopiperazines produced by *Penicillium crustosum* and their activities to promote gastrointestinal motility [J]. *Molecules*, 2019, 24(2): 299.
- Liu CC, Zhang ZZ, Feng YY, et al. Secondary metabolites from Antarctic marine-derived fungus *Penicillium crustosum* HDN153086 [J]. *Nat Prod Res*, 2019, 33: 414-419.
- Feng D, Tan L, Qiu L, et al. Three new polyketides produced by *Penicillium crustosum*, a mycoparasitic fungus from *Ophiocordyceps sinensis* [J]. *Phytochem Lett*, 2020, 36: 150-155.
- Kim MH, Lai JH, Hangauer DG. Tetrapeptide tyrosine kinase inhibitors. Enantioselective synthesis of *p*-hydroxymethyl-*L*-phenylalanine, incorporation into a tetrapeptide, and subsequent elaboration into *p*-(*R*, *S*-hydroxyphosphonomethyl)-*L*-phenylalanine [J]. *Int J Pept Protein Res*, 1994, 44: 457-465.
- Martin PK, Rapoport H, Smith HW, et al. Synthesis of cyclo-penin and isocyclo-penin [J]. *J Org Chem*, 1969, 34: 1359-1363.
- Liu JL, Lou YK, Hu ZY, et al. Purifications and structure elucidations of cyclo-penol and cyclo-penin [J]. *J Xiamen Univ: Nat Sci* (厦门大学学报: 自科版), 2012, 51: 386-390.
- Xin ZH, Fang YC, Zhu TJ, et al. Antitumor components from sponge-derived fungus *Penicillium auratiogriseum* Sp-19 [J]. *Chin J Mar Drug* (中国海洋药物), 2006, 25(6): 1-6.
- Itabashi T, Hosoe T, Wakana D, et al. A new indoloditerpene derivative, penijanthine A, isolated from *Penicillium janthinellum* [J]. *J Nat Med*, 2009, 63(1): 96-99.
- Scott PM, Polonsky J, Merrien MA. Configuration of the 3,12 double bond of roquefortine [J]. *J Agr Food Chem*, 1979, 27: 201-202.
- Tang HY, Zhang Q, Li H, et al. Antimicrobial and allelopathic metabolites produced by *Penicillium brasilianum* [J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29: 345-348.
- Neff SA, Lee SU, Asami Y, et al. Aflaquinolones A-G: secondary metabolites from marine and fungicolous isolates of *Aspergillus spp* [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75: 464-472.
- Rudolf OE, Rouchal M, LyäKa A, et al. Pinacol Rearrangement of 3,4-dihydro-3,4-dihydroxyquinolin-2(1H)-ones: an alternative pathway to viridicatin alkaloids and their analogs [J]. *Helv Chim Acta*, 2013, 96: 1905-1917.
- Yurchenko AN, Smetanina OF, Kalinovsky AI, et al. A new meroterpenoid from the marine fungus *Aspergillus versicolor* (Vuill.) Tirab [J]. *Russ Chem Bull*, 2010, 59(4): 852-856.
- Mitova M, Tommonaro G, Hentschel U, et al. Exocellular cyclic dipeptides from a *Ruegeria* strain associated with cell



- cultures of *Suberites domuncula* [J]. Mar Biotechnol (NY), 2004, 6(1):95-103.
- 22 Zheng YL, Zou K, Cheng F. Secondary metabolites from *Xylariaceae* sp of *Spiroboles bungii* endophytic fungus [J]. J East China Nor Univ; Nat Sci (华中师范大学学报: 自科版), 2015, 49:392-396.
- 23 Ma QG, Xu K, Sang ZP, et al. Alkenes with antioxidative activities from *Murraya koenigii* (L.) Spreng [J]. J Cheminformatics, 2016, 47:799-803.
- 24 Qiu L, He X, Feng D, et al. Study on the chemical constituents of one endophytic fungus isolated from *Cordyceps sinensis* [J]. Chin J Appl Environ Biol (应用与环境生物学报), 2018, 24:1290-1294.
- 25 Du L, Li DH, Zhu TJ, et al. New alkaloids and diterpenes from a deep ocean sediment derived fungus *Penicillium* sp [J]. Tetrahedron, 2009, 65:1033-1039.
- 26 Feng D, Ling LQ, Bin DZ, et al. Chemical constituents in endophytic fungus *Penicillium crustosum* from *Cordyceps* [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2019, 41:1863-1867.
- 27 Liu SZ, He FM, Bin YL, et al. Bioactive compounds derived from the marine-derived fungus MCCC3A00951 and their influenza neuraminidase inhibition activity *in vitro* and *in silico* [J]. Nat Prod Res, 2020, DOI: 10.1080/14786419.2020.1817015.
- 28 He F, Han Z, Peng J, et al. Antifouling indole alkaloids from two marine derived fungi [J]. Nat Prod Commun, 2013, 8:329-332.

## 白杨素作为 DGK $\alpha$ /FAK 相互作用的新型抑制剂 可抑制食管鳞状细胞癌的恶性转移

食管鳞状细胞癌(ESCC)是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一,在中国发病率较高。尽管铂类或其他细胞毒性药物化疗的最新进展对 ESCC 患者的治疗效果产生了一定的改善,但由于对 ESCC 细胞复杂的分子机制了解有限,缺乏更有效的治疗方法,5 年的总体存活率仍然很低。粘着斑激酶(Focal adhesion kinase, FAK)是由 PTK2 编码的胞浆非受体酪氨酸激酶,在多种肿瘤中表达失调,与临床预后不良相关,尤其是在 ESCC。FAK 促进 ESCC 细胞的增殖、存活、侵袭和干细胞化,抑制 FAK 活性对 ESCC 细胞产生有益的作用。蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)是蛋白质高亲和力结合的必要条件,有助于探索肿瘤治疗中的特异性抑制剂。

来自北京大学肿瘤医院与研究所的詹启敏团队对一种来自蓝花西番莲的天然黄酮类化合物--白杨素进行了研究,发现其对 ESCC 细胞的恶性进展有极好的抑制作用。在前期研究发现,致癌蛋白双酰甘油激酶  $\alpha$  (DGK $\alpha$ )与 FAK FERM 结构域相互作用,构建 DGK $\alpha$ /FAK 复合物,并诱导 ESCC 细胞 5 中 FAK Tyr397 位点的磷酸化。因此,证明 DGK $\alpha$ /FAK 复合物是否可作为药物性质的 PPI 对 ESCC 治疗药物的开发具有重要意义。在本研究中,该团队发现白杨素在体内外均能显著阻断 DGK $\alpha$ /FAK 信号转导体,抑制 FAK 信号转导通路和 ESCC 细胞的恶性进程,而对正常细胞无毒性作用。分子验证特别表明, DGK $\alpha$  催化域的 Asp435 位点参与了白杨素介导的 DGK $\alpha$ /FAK 复合物组装的抑制。该研究首次将 DGK $\alpha$ /FAK 复合物作为白杨素的靶点,深入了解了白杨素抗癌作用的分子机制,为天然产物衍生的 FAK 相关蛋白复合物小分子抑制剂的开发提供了新的方向。

胡乃华编译自: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7838054/>

原文标题: Chrysin serves as a novel inhibitor of DGK  $\alpha$ /FAK interaction to suppress the malignancy of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC)