

文章编号: 1674-5566(2019)05-0818-08

DOI:10.12024/jsou.20180502330

## 一株西沙海绵共附生真菌次生代谢产物

韩巧英<sup>1</sup>, 甘建红<sup>1</sup>, 来庆华<sup>1</sup>, 张璐<sup>1</sup>, 康永锋<sup>1,2,3</sup>

(1. 上海海洋大学 食品学院, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 食品科学与工程国家级实验教学示范中心, 上海 201306; 3. 农业农村部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室, 上海 201306)

**摘要:** 对采自西沙隋氏蒂壳海绵共附生真菌(*Penicillium chrysogenum*)次生代谢产物进行化学成分的研究, 以期发现结构特异的次生代谢产物。隋氏蒂壳海绵共附生真菌用真菌 2 号培养基进行发酵, 发酵后的菌体采用溶剂提取、萃取和现代色谱分离纯化手段, 包括正相硅胶柱色谱、ODS 柱色谱和 HPLC 分离制备, 运用现代核磁共振谱技术并结合高分辨质谱鉴定化合物的结构。结果显示: 通过对隋氏蒂壳海绵共附生真菌的菌体提取物进行分离制备, 最终分离得到 7 个单体化合物, 鉴定结果为 (1) Traumatic acid, (2) *N*-benzoyl-L-phenylalaninol, (3) *cyclo*-(Trp-Ser), (4) *cyclo*-(D-Pro-D-Leu), (5) *cyclo*-(Phe-Tyr), (6) (22*E*, 24*S*)-5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -epidioxy-24-methyl-cholesta-(6), 9(11), 22-trien-3 $\beta$ -ol, (7) 5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -epidioxy-23-methyl-(22*E*, 24*S*)-ergosta-6, 22-dien-3 $\beta$ -ol。其中化合物 1 是从自然界中首次分离得到, 化合物 2、3、4、5、6、7 是在该真菌内首次分离得到。

**关键词:** 海洋真菌; 次生代谢产物; 分离纯化; 结构解析

**中图分类号:** S 968.2      **文献标志码:** A

海洋来源的真菌是活性化合物的重要来源, 可用于新药的研发, 目前, 对海洋真菌次生代谢产物的研究与陆地来源真菌相比被探索的次数较少, 但从药物发现的角度, 海洋真菌次生代谢产物可能更具研究价值与开发前景。例如研究者从海洋真菌 *Cephalosporium acremonium* 次生代谢产物中得到了头孢菌素 C 这一临床常用的抗生素药物<sup>[1]</sup>。之后, 海洋真菌代谢产物的研究经历了大约 30 年的发展, 已经逐渐形成了系统的研究体系。自此以后, 从海洋真菌中分离得到的化合物的数量急剧增加<sup>[2]</sup>, 且仍保持上升的趋势。近年来大量来自海洋真菌的代谢产物被报道, 其结构新颖且生物活性广泛, 具有抗肿瘤<sup>[3]</sup>、抗菌<sup>[4]</sup>、抗病毒<sup>[5]</sup>等生物活性。据统计, 有超过 1 000 种海洋真菌的代谢产物被用于新药的开发<sup>[6]</sup>, 其中一些代谢产物具有抗癌开发的潜质<sup>[7]</sup>。值得一提的是, 目前已经进入临床 III 期试验的二酮派嗪类药物 NPI-2358 就来源于海洋真菌, 其主要用于治疗转移性的晚期非小细胞肺

癌<sup>[8]</sup>。

据统计, 近年来有大量的新化合物分离自海洋真菌次生代谢产物中, 这些真菌主要分离自红树林、海藻和海绵等, 占海洋真菌次生代谢产物的 56%, 其中近 20% 来源于海绵<sup>[1]</sup>。海绵真菌来源的化合物种类有生物碱、聚酮、甾体、萜类、大环内酯类、肽类等, 主要的生物学活性有细胞毒<sup>[9-10]</sup>、抗菌<sup>[11-14]</sup>、抗病毒<sup>[15]</sup>、抗疟原虫<sup>[16]</sup>和降解污染物<sup>[17]</sup>等生物功能。因此, 海绵来源真菌是海洋活性天然产物的重要来源之一<sup>[18]</sup>。

笔者对分离自隋氏蒂壳海绵共附生真菌(*Penicillium chrysogenum*)发酵产物进行化学成分的研究, 从中分离鉴定得到 1 个脂肪酸类化合物、1 个氨基酸类化合物、3 个环二肽类化合物和 2 个甾醇类化合物。

### 1 材料与方法

#### 1.1 仪器与试剂

Bruker AVANCE-600 核磁共振仪(瑞士

收稿日期: 2018-05-29      修回日期: 2019-01-29

基金项目: 上海市教委实验技术队伍建设项目(B1-5407-13-0000-7); 上海海洋大学公共化学课程群教学团队(B1-5003-15-000112)

作者简介: 韩巧英(1990—), 女, 硕士生, 研究方向为海洋天然产物。E-mail: 13122257162@163.com

通信作者: 康永锋, E-mail: yfkang@shou.edu.cn

Bruker 公司); Waters Q-Tof micro YA019 质谱仪 (美国 Waters 公司); Waters 高效液相色谱仪 (Waters 1525/1998); 旋转蒸发仪 (EYELA-1000 型); 层析硅胶 (200 ~ 300 目, 烟台江友硅胶开发有限公司); ODS 填料 (日本 YMC 公司); 色谱级甲醇、乙腈 (Cinc High Purity Solvents Co. Ltd.); 其他有机试剂均为分析纯 (中国医药集团上海化学试剂公司); 氘代试剂 (Cambridge Isotope Laboratories, Inc.); 显色剂为 12% (体积分数) 硫酸香草醛乙醇溶液。

## 1.2 样品来源及鉴定

海绵 (*T. swinhoei*) 样品于 2015 年 4 月采自中国南海西沙群岛, 种属名称由青岛海洋研究所李锦和研究员鉴定, 菌株 *Penicillium chrysogenum* (581F1) 由本课题组李蕾博士从海绵 *T. swinhoei* 中分离得到, 海绵及微生物标本存放于上海交通大学医学院附属仁济医院海洋药物重点实验室。

供试海绵共生菌株分离自西沙隋氏蒂壳海绵 *T. swinhoei*。将保存 4 °C 的菌株接种到平板上, 置于 30 °C 培养箱中培养 7 d, 待单菌落长出后, 将单菌落挑至另一平板培养基中进行纯化。

菌株 *P. chrysogenum* 一级种子培养液的获得: 将平板中培养的菌株 *P. chrysogenum* 转接至装有 30 mL 马铃薯葡萄糖肉汤 (PDB) 液体培养基的 100 mL 三角瓶中, 置于摇床上, 转速 180 r/min, 在 28 °C 的温度下培养 72 h。

二级种子培养液的获得: 取一级种子培养液 15 mL 分别加入到装有 150 mL PDB 培养基的 500 mL 三角瓶中摇床培养。

接种: 取二级种子培养液 60 mL 分别加入到装有 600 mL 真菌二号培养基 [甘露醇 20.0 g、味精 10.0 g、麦芽糖 20.0 g、CaCO<sub>3</sub> 10.0 g、酵母提取物 3.0 g、葡萄糖 10.0 g、玉米浆 1.0 g、MgSO<sub>4</sub> 0.3 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 g、人工海水 (ASW) 1 L] 的 2 000 mL 三角瓶中摇床培养。

发酵条件: 真菌二号培养基, 180 r/min 摇床培养 10 d, 温度 28 °C, 发酵体积为 30 L。

## 1.3 样品提取与纯化

对发酵后的菌体用乙酸乙酯萃取 3 次, 合并萃取液, 减压浓缩得到总浸膏 4.465 7 g, 将总浸膏进行正相硅胶减压柱色谱分离, 依次用不同浓度梯度的石油醚-乙酸乙酯系统进行洗脱 (100:1、50:1、20:1、10:1、5:1、2:1、1:1), 得到 A ~ J 共 10

个组分。D 组分 (0.973 2 g) 经中压 ODS 柱色谱 (10% ~ 100% 甲醇-水梯度洗脱 4 h) 得到 4 个亚组分, 记为 D1 ~ D4。D1 组分 (328.1 mg) 经正相硅胶柱色谱 (以石油醚: 丙酮 = 8:1 为流动相) 洗脱得到 3 个次级流分, 记为 D2A ~ D2C。D2A (18.3 mg) 经半制备型 HPLC [xBridge<sup>®</sup> Prep Phenyl (10 mm × 250 mm, 5 μm)] 纯化分离得到化合物 1 (90% 乙腈-水,  $t_R = 46$  min, 2.4 mg), 化合物 2 (95% 乙腈-水,  $t_R = 50$  min, 1.7 mg)。G 组分 (188.9 mg) 经正相硅胶柱色谱和半制备型 HPLC [xBridge<sup>®</sup> Prep Phenyl (10 mm × 250 mm, 5 μm)] 纯化分离得到化合物 3 (65% 乙腈-水,  $t_R = 40$  min, 1.9 mg), 化合物 4 (95% 乙腈-水,  $t_R = 48$  min, 1.8 mg), 化合物 5 (83% 乙腈-水,  $t_R = 50$  min, 3.2 mg)。H 组分 (81.5 mg) 经正相硅胶柱色谱和半制备型 HPLC [xBridge<sup>®</sup> Prep Phenyl (10 mm × 250 mm, 5 μm)] 纯化分离得到化合物 6 (95% 甲醇-水,  $t_R = 47$  min, 1.3 mg), 化合物 7 (95% 甲醇-水,  $t_R = 50$  min, 3.2 mg)。

## 2 结果

### 2.1 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末; ESI-MS  $m/z$  227 [M + H]<sup>+</sup>, 提示相对分子质量为 226, 结合 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 分析该化合物的分子式为 C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>, 不饱和度为 4; <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 谱中显示出 1 个活泼的羟基质子信号  $\delta_H$  1.45 (1H, s, 12-OH), 2 个双键质子信号  $\delta_H$  7.44 (1H, dd,  $J = 5.7, 1.5$  Hz, H-3) 和  $\delta_H$  6.11 (1H, dd,  $J = 5.7, 2.0$  Hz, H-2), 7 个亚甲基质子信号  $\delta_H$  2.35 (2H, td,  $J = 7.5, 2.9$ , H-11),  $\delta_H$  1.77 (1H, s, H-5a) 和  $\delta_H$  1.63 (1H, s, H-5b),  $\delta_H$  1.63 (2H, s, H-10),  $\delta_H$  1.45 (2H, s, H-6),  $\delta_H$  1.37-1.32 (2H, m, H-8, 9) 和  $\delta_H$  1.25 (2H, s, H-7)。<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 再结合 DEPT 谱确定有 12 个碳原子, 其中 2 个羰基碳信号  $\delta_C$  177.6 (C-12) 和  $\delta_C$  173.3 (C-1), 2 个烯炔次甲基碳信号  $\delta_C$  156.4 (C-3) 和  $\delta_C$  121.7 (C-2), 7 个亚甲基碳信号  $\delta_C$  33.7 (C-11),  $\delta_C$  33.3 (C-5),  $\delta_C$  29.2 (C-7),  $\delta_C$  29.1 (C-8),  $\delta_C$  29.0 (C-9),  $\delta_C$  25 (C-6) 和  $\delta_C$  24.7 (C-10)。最后根据化合物的核磁归属数据、分子式和不饱和度, 推测化合物的结构中包含 1 个环状结构, 1 个羟基, 2 个酮羰基, 可以

推断出化合物具有环状的脂肪酸类化合物的骨架。

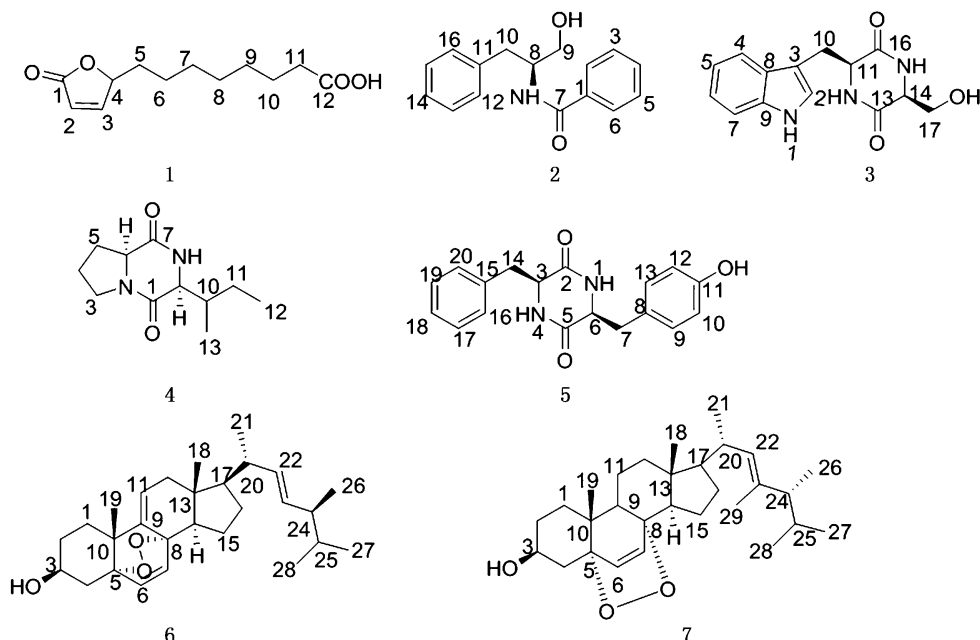


图 1 化合物 1~7 的结构式  
Fig. 1 Structures of compounds 1-7

通过 HMBC 谱可以看出 H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  7.44) 与 C-4, C-2 和 C-1 相关, H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  6.11) 与 C-4, C-3 和 C-1 相关, H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  5.03) 与 C-6, C-5, C-2 和 C-3, 以上可知 H-4 和 C-1 相关, 再结合碳谱上  $\delta_{\text{C}}$  83.5 (C-4) 的化学位移可以推断出化合物的结构中含有连氧的五元环。再通过 COSY 谱可以发现 H-3 与 H-4, H-5 与 H-4 相关, 可以得出 C-5 与五元环相连接, 又从 HMBC 谱中得出 H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  1.77 1.63) 与 C-3, C-4, C-6 相关, H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  1.45) 与 C-7, C-8, C-10 相关, H-8 ( $\delta_{\text{H}}$  1.37-1.32) 与 C-10 相关, H-9 ( $\delta_{\text{H}}$  1.37-1.32) 与 C-10 相关, H-10 ( $\delta_{\text{H}}$  1.63) 与 C-11, C-12, C-7 相关, H-11 ( $\delta_{\text{H}}$  2.35) 与 C-10, C-8, C-12 相关, 再结合 DEPT 谱得出 C-5 到 C-12 为脂肪酸链, 因此该化合物的平面结构式得以确定。其核磁归属数据如下:  $^1\text{H-NMR}$  (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 7.44 (1H, dd,  $J = 5.7, 1.5$  Hz, H-3), 6.11 (1H, dd,  $J = 5.7, 2.0$  Hz, H-2), 5.03 (1H, ddt,  $J = 7.2, 5.3, 1.7$  Hz, H-4), 2.35 (2H, td,  $J = 7.5, 2.9$ , H-11), 1.77 (1H, s, H-5a), 1.63 (1H, s, H-5b), 1.63 (2H, s, H-10), 1.45 (2H, s, H-6), 1.45 (1H, s, 12-OH), 1.37-1.32 (2H, m, H-8, 9), 1.25 (2H, s, H-7);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}}$ :

177.6 (C-12), 173.3 (C-1), 156.4 (C-3), 121.7 (C-2), 83.5 (C-4), 33.7 (C-11), 33.3 (C-5), 29.2 (C-7), 29.1 (C-8), 29.0 (C-9), 25 (C-6), 24.7 (C-10)。最后经 SciFinder 文献检索发现, 该化合物只在有机合成方面有相关报道<sup>[19]</sup>, 未在天然分子提取分离中有相关报道, 因此化合物 1 是从自然界中首次分离得到, 是新天然产物, 故该化合物为 Traumatic acid(1)。

化合物 2: 无色固体; ESI-MS  $m/z$  254  $[\text{M-H}]^-$ , 提示相对分子质量为 255, 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  分析该化合物的分子式为  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_2$ , 不饱和度为 9。  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 显示出 10 个芳香质子信号  $\delta_{\text{H}}$  7.67 (2H, m, H-2, 6),  $\delta_{\text{H}}$  7.49 (1H, m, H-4),  $\delta_{\text{H}}$  7.41 (2H, m, H-3, 5),  $\delta_{\text{H}}$  7.33 (2H, m, H-13, 15),  $\delta_{\text{H}}$  7.27 (2H, m, H-12, 16) 和  $\delta_{\text{H}}$  7.24 (1H, m, H-14), 1 个次甲基质子信号  $\delta_{\text{H}}$  4.38 (1H, m, H-8), 2 个亚甲基质子信号  $\delta_{\text{H}}$  3.81 (1H, dd,  $J = 11.1, 3.6$  Hz, H-10a),  $\delta_{\text{H}}$  3.76 (1H, dd,  $J = 11.1, 5.1$  Hz, H-10b),  $\delta_{\text{H}}$  3.01 (2H, m, H-9)。  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 再结合 DEPT 谱确定有 16 个碳原子, 包括 1 个酮羰基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  168.2 (C-7), 2 个芳香季碳信号  $\delta_{\text{C}}$  137.7 (C-11) 和

$\delta_c$ 134.4 (C-1), 10 个芳香次甲基碳信号  $\delta_c$ 131.8 (C-4),  $\delta_c$ 129.4 (C-12, 16),  $\delta_c$ 128.9 (C-13, 15),  $\delta_c$ 128.8 (C-3, 5),  $\delta_c$ 127.1 (C-2, 6) 和  $\delta_c$ 127.0 (C-14), 1 个次甲基碳信号  $\delta_c$ 53.8 (C-8) 和 2 个亚甲基碳信号  $\delta_c$ 64.6 (C-9) 和  $\delta_c$ 37.2 (C-10)。其核磁归属数据如下:  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_H$ : 7.67 (2H, m, H-2, 6), 7.49 (1H, m, H-4), 7.41 (2H, m, H-3, 5), 7.33 (2H, m, H-13, 15), 7.27 (2H, m, H-12, 16), 7.24 (1H, m, H-14), 4.38 (1H, m, H-8), 3.81 (1H, dd,  $J = 11.1, 3.6$  Hz, H-10a), 3.76 (1H, dd,  $J = 11.1, 5.1$  Hz, H-10b), 3.01 (2H, m, H-9);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_c$ : 168.2 (C-7), 137.7 (C-11), 134.4 (C-1), 131.8 (C-4), 129.4 (C-12, 16), 128.9 (C-13, 15), 128.8 (C-3, 5), 127.1 (C-2, 6), 127.0 (C-14), 64.6 (C-9), 53.8 (C-8), 37.2 (C-10)。最后通过进一步的结构解析再结合文献<sup>[20]</sup>报道, 故确定该化合物为 *N*-benzoyl-*L*-phenylalaninol(2)。

化合物 3: 淡黄色粉末; ESI-MS  $m/z$  274 [M + H]<sup>+</sup>, 提示相对分子质量为 273, 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  分析该化合物的分子式为  $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3$ , 不饱和度为 9。  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) 显示出 3 个氨基质子信号  $\delta_H$  9.26 (1H, br s, 1-NH),  $\delta_H$  7.39 (1H, m, 12-NH) 和  $\delta_H$  6.77 (1H, br s, 15-NH), 5 个烯烃质子信号  $\delta_H$  6.98 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-4),  $\delta_H$  6.81 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-7),  $\delta_H$  5.99 (1H, s, H-2),  $\delta_H$  5.97 (1H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-6) 和  $\delta_H$  5.25 (1H, t,  $J = 7.0$  Hz, H-5),  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) 再结合 DEPT 确定有 14 个碳原子, 其中 2 个酮羰基碳信号  $\delta_c$ 166.9 (C-13) 和  $\delta_c$ 164.2 (C-16), 3 个季碳信号  $\delta_c$ 134.9 (C-8),  $\delta_c$ 110.7 (C-3) 和  $\delta_c$ 108.1 (C-9), 5 个烯烃次甲基碳信号  $\delta_c$ 126.8 (C-2),  $\delta_c$ 123.7 (C-6),  $\delta_c$ 119.2 (C-5),  $\delta_c$ 117.6 (C-4) 和  $\delta_c$ 116.9 (C-7), 2 个次甲基碳信号  $\delta_c$ 56.9 (C-11) 和  $\delta_c$ 54.8 (C-14), 2 个亚甲基碳信号  $\delta_c$ 62.4 (C-17) 和  $\delta_c$ 28.9 (C-10)。其核磁归属数据如下:  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_H$ : 9.26 (1H, br s, 1-NH), 7.39 (1H, m, 12-NH), 6.77 (1H, br s, 15-NH), 6.98 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-4), 6.81 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-7), 5.99 (1H,

s, H-2), 5.97 (1H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-6), 5.25 (1H, t,  $J = 7.0$  Hz, H-5), 4.01 (1H, m, H-11), 3.98 (1H, m, H-14), 3.43 (1H, m, H-17a), 2.99 (1H, m, H-17b), 2.86 (1H, m, H-10a), 2.46 (1H, m, H-10b);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_c$ : 166.9 (C-13), 164.2 (C-16), 134.9 (C-8), 126.8 (C-2), 123.7 (C-6), 119.2 (C-5), 117.6 (C-4), 116.9 (C-7), 110.7 (C-3), 108.1 (C-9), 62.4 (C-17), 56.9 (C-11), 54.8 (C-14), 28.9 (C-10)。最后通过进一步的结构解析再结合文献<sup>[21]</sup>报道, 故确定该化合物为 *cyclo*-(Trp-Ser)(3)。

化合物 4: 白色粉末; ESI-MS  $m/z$  211 [M + H]<sup>+</sup>, 提示相对分子质量为 210, 结合  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  分析该化合物的分子式为  $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$ , 不饱和度为 4。  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 谱显示出 1 个氨基质子信号  $\delta_H$  5.74 (1H, br s, 8-NH), 2 个氨基端残基特征质子信号  $\delta_H$  4.12 (1H, t,  $J = 8.3$  Hz, H-6) 和  $\delta_H$  4.02 (1H, dd,  $J = 9.7, 3.8$  Hz, H-9), 2 个甲基质子信号  $\delta_H$  1.00 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-13) 和  $\delta_H$  0.96 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-12)。  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 再结合 DEPT 谱确定有 11 个碳原子, 包括 2 个酮羰基碳信号  $\delta_c$ 170.2 (C-1) 和  $\delta_c$ 166.3 (C-7), 3 个次甲基碳信号  $\delta_c$ 59.1 (C-6),  $\delta_c$ 53.5 (C-9) 和  $\delta_c$ 24.9 (C-10), 4 个亚甲基碳信号  $\delta_c$ 45.7 (C-3),  $\delta_c$ 38.8 (C-11),  $\delta_c$ 28.3 (C-5) 和  $\delta_c$ 22.8 (C-4) 以及 2 个甲基碳信号  $\delta_c$ 23.5 (C-12) 和  $\delta_c$ 21.3 (C-13)。其核磁归属数据如下:  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_H$ : 5.74 (1H, br s, 8-NH), 4.12 (1H, t,  $J = 8.3$  Hz, H-6), 4.02 (1H, dd,  $J = 9.7, 3.8$  Hz, H-9), 3.54 (1H, m, H-3a), 3.35 (1H, m, H-3b), 2.36 (1H, m, H-10), 2.13 (1H, m, H-5a), 2.08 (1H, m, H-5b), 2.03 (2H, m, H-4), 1.90 (1H, m, H-11a), 1.73 (1H, m, H-11b), 1.00 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-13), 0.96 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-12);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_c$ : 170.2 (C-1), 166.3 (C-7), 59.1 (C-6), 53.5 (C-9), 45.7 (C-3), 38.8 (C-11), 28.3 (C-5), 24.9 (C-10), 23.5 (C-12), 22.8 (C-4), 21.3 (C-13)。最后通过进一步的结构解析再结合文献<sup>[22]</sup>报道, 故确定该化合物为 *cyclo*-(D-Pro-D-Leu)

(4)。

化合物 5:淡黄色粉末;ESI-MS  $m/z$  311 [M + H]<sup>+</sup>,提示相对分子质量为 310,结合 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 分析该化合物的分子式为 C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>,不饱和度为 11。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 显示出 1 个羟基质子信号 δ<sub>H</sub> 9.97 (1H, s, 19-OH), 2 个活泼的氨基质子信号 δ<sub>H</sub> 8.01 (2H, t,  $J=2.7$  Hz, 1-NH, 4-NH), 9 个烯烃质子信号 δ<sub>H</sub> 7.67 (2H, t,  $J=7.1$  Hz, H-17, H-19), δ<sub>H</sub> 7.90 (1H, t,  $J=7.3$  Hz, H-18), δ<sub>H</sub> 7.28 (2H, d,  $J=7.0$  Hz, H-16, H-20), δ<sub>H</sub> 7.01 (2H, d,  $J=8.3$  Hz, H-9, H-13) 和 δ<sub>H</sub> 6.96 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-10, H-12), 两个氨基端残基特征质子信号 δ<sub>H</sub> 4.54 (1H, m, H-3) 和 δ<sub>H</sub> 4.38 (1H, m, H-6)。<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 再结合 DEPT 谱确定有 18 个碳原子,其中 2 个酮羰基碳信号 δ<sub>C</sub> 167.8 (C-2) 和 δ<sub>C</sub> 167.2 (C-5), 3 个季碳信号 δ<sub>C</sub> 156.9 (C-11), δ<sub>C</sub> 137.8 (C-15) 和 δ<sub>C</sub> 127.5 (C-8), 9 个次甲基信号 δ<sub>C</sub> 132.1 (C-9, C-13), δ<sub>C</sub> 130.7 (C-16, C-20), δ<sub>C</sub> 128.9 (C-17, C-19), δ<sub>C</sub> 127.3 (C-18) 和 δ<sub>C</sub> 115.9 (C-10, C-12), 2 个次甲基碳信号 δ<sub>C</sub> 56.4 (C-3) 和 δ<sub>C</sub> 56.2 (C-6), 2 个亚甲基碳信号 δ<sub>C</sub> 40.9 (C-7) 和 δ<sub>C</sub> 39.2 (C-14)。其核磁归属数据如下: <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub>: 9.97 (1H, s, 19-OH), 8.01 (2H, t,  $J=2.7$  Hz, 1-NH, 4-NH), 7.67 (2H, t,  $J=7.1$  Hz, H-17, H-19), 7.90 (1H, t,  $J=7.3$  Hz, H-18), 7.28 (2H, d,  $J=7.0$  Hz, H-16, H-20), 7.01 (2H, d,  $J=8.3$  Hz, H-9, H-13), 6.96 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, H-10, H-12), 4.54 (1H, m, H-3), 4.38 (1H, m, H-6), 3.12 (1H, dd,  $J=13.5, 4.3$ , H-7a), 2.78 (1H, d,  $J=6.6$  Hz, H-7b), 2.54 (2H, dd,  $J=13.7, 6.6$  Hz, H-14); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub>: 167.8 (C-2), 167.2 (C-5), 156.9 (C-11), 137.8 (C-15), 132.1 (C-9, C-13), 130.7 (C-16, C-20), 128.9 (C-17, C-19), 127.5 (C-8), 127.3 (C-18), 115.9 (C-10, C-12), 56.4 (C-3), 56.2 (C-6), 40.9 (C-7), 39.2 (C-14)。最后通过进一步的结构解析再结合文献<sup>[23]</sup>报道,故确定该化合物为 *cyclo*-(Phe-Tyr) (5)。

化合物 6:白色粉末;ESI-MS  $m/z$  425 [M-H]<sup>-</sup>,确定相对分子质量为 426,分析 <sup>1</sup>H-NMR 和

<sup>13</sup>C-NMR 分析该化合物的分子式为 C<sub>28</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub>,不饱和度为 8。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 谱显示出 5 个烯烃次甲基质子信号 δ<sub>H</sub> 6.58 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-7), δ<sub>H</sub> 6.27 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-6), δ<sub>H</sub> 5.41 (1H, dd,  $J=6.0, 1.9$  Hz, H-11), δ<sub>H</sub> 5.17 (1H, dd,  $J=15.2, 7.5$  Hz, H-23) 和 δ<sub>H</sub> 5.14 (1H, dd,  $J=15.2, 7.9$  Hz, H-22), 6 个甲基质子信号 δ<sub>H</sub> 1.07 (3H, s, H-19), δ<sub>H</sub> 0.97 (3H, d,  $J=6.6$  Hz, H-21), δ<sub>H</sub> 0.89 (3H, d,  $J=6.9$  Hz, H-28), δ<sub>H</sub> 0.82 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-27), δ<sub>H</sub> 0.80 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-26) 和 δ<sub>H</sub> 0.71 (3H, s, H-18)。<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 再结合 DEPT 谱确定有 28 个碳原子,包括 6 个烯烃碳信号 δ<sub>C</sub> 142.9 (C-9), δ<sub>C</sub> 135.3 (C-6, C-22), δ<sub>C</sub> 132.3 (C-23), δ<sub>C</sub> 130.6 (C-7) 和 δ<sub>C</sub> 119.7 (C-11), 2 个连氧的季碳信号 δ<sub>C</sub> 82.9 (C-5) 和 δ<sub>C</sub> 78.7 (C-8), 2 个季碳信号 δ<sub>C</sub> 45.3 (C-13) 和 δ<sub>C</sub> 37.9 (C-10), 6 个次甲基碳信号 δ<sub>C</sub> 66.5 (C-3), δ<sub>C</sub> 55.8 (C-17), δ<sub>C</sub> 47.9 (C-14), δ<sub>C</sub> 43.0 (C-24), δ<sub>C</sub> 39.9 (C-20) 和 δ<sub>C</sub> 33.2 (C-25), 6 个亚甲基碳信号 δ<sub>C</sub> 41.1 (C-12), δ<sub>C</sub> 35.8 (C-4), δ<sub>C</sub> 32.5 (C-1), δ<sub>C</sub> 30.3 (C-2), δ<sub>C</sub> 28.7 (C-16) 和 δ<sub>C</sub> 20.9 (C-15) 以及 6 个甲基碳信号 δ<sub>C</sub> 23.4 (C-19), δ<sub>C</sub> 20.5 (C-21), δ<sub>C</sub> 20.0 (C-27), δ<sub>C</sub> 19.5 (C-26), δ<sub>C</sub> 17.9 (C-28) 和 δ<sub>C</sub> 12.9 (C-18)。其核磁归属数据如下: <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub>: 6.58 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-7), 6.27 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-6), 5.44 (1H, dd,  $J=15.2, 7.9$  Hz, H-22), 5.41 (1H, dd,  $J=6.0, 1.9$  Hz, H-11), 5.17 (1H, dd,  $J=15.2, 7.5$  Hz, H-23), 5.14 (1H, dd,  $J=15.2, 7.9$  Hz, H-22), 1.07 (3H, s, H-19), 0.97 (3H, d,  $J=6.6$  Hz, H-21), 0.89 (3H, d,  $J=6.9$  Hz, H-28), 0.82 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-27), 0.80 (3H, d,  $J=6.8$  Hz, H-26), 0.71 (3H, s, H-18); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub>: 142.9 (C-9), 135.3 (C-6, C-22), 132.3 (C-23), 130.6 (C-7), 119.7 (C-11), 82.9 (C-5), 78.7 (C-8), 45.3 (C-13), 37.9 (C-10), 66.5 (C-3), 55.8 (C-17), 47.9 (C-14), 43.0 (C-24), 39.9 (C-20), 33.2 (C-25), 41.1 (C-12), 35.8 (C-4), 32.5 (C-1), 30.3 (C-2), 28.7 (C-16), 20.9 (C-15), 23.4 (C-19), 20.5 (C-21), 20.0 (C-27), 19.5 (C-

26), 17.9 (C-28), 12.9 (C-18)。最后通过进一步的结构解析再结合文献<sup>[24]</sup>报道,故确定该化合物为 (22*E*, 24*S*)-5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -epidioxy-24-methylcholesta-6,9(11),22-trien-3 $\beta$ -ol(6)。

化合物 7: 白色粉末; ESI-MS  $m/z$  441 [M-H]<sup>-</sup>, 确定相对分子质量为 442, 结合 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 分析该化合物的分子式为 C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub>, 不饱和度为 7。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 谱显示出 3 个烯烃次甲基质子信号  $\delta_{\text{H}}$  6.50 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-7),  $\delta_{\text{H}}$  6.24 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-6) 和  $\delta_{\text{H}}$  5.18 (1H, m, H-22), 7 个甲基质子信号  $\delta_{\text{H}}$  1.50 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz, H-29),  $\delta_{\text{H}}$  0.93 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz, H-21),  $\delta_{\text{H}}$  0.92 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz, H-19),  $\delta_{\text{H}}$  0.88 (3H, s, H-18),  $\delta_{\text{H}}$  0.84 (6H, t,  $J$  = 6.8 Hz, H-27, H-28) 和  $\delta_{\text{H}}$  0.78 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz, H-26)。<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 再结合 DEPT 谱确定有 29 个碳原子, 4 个烯烃碳信号  $\delta_{\text{C}}$  135.9 (C-23),  $\delta_{\text{C}}$  135.5 (C-6),  $\delta_{\text{C}}$  130.9 (C-7) 和  $\delta_{\text{C}}$  131.2 (C-22), 2 个连氧的季碳信号  $\delta_{\text{C}}$  82.3 (C-5) 和  $\delta_{\text{C}}$  79.6 (C-8), 2 个季碳信号  $\delta_{\text{C}}$  44.7 (C-13) 和  $\delta_{\text{C}}$  37.1 (C-10), 7 个次甲基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  66.5 (C-3),  $\delta_{\text{C}}$  57.1 (C-17),  $\delta_{\text{C}}$  51.8 (C-9),  $\delta_{\text{C}}$  51.3 (C-14),  $\delta_{\text{C}}$  50.3 (C-24),  $\delta_{\text{C}}$  34.2 (C-20) 和  $\delta_{\text{C}}$  30.9 (C-25), 7 个亚甲基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  39.5 (C-12),  $\delta_{\text{C}}$  37.1 (C-4),  $\delta_{\text{C}}$  34.8 (C-1),  $\delta_{\text{C}}$  30.3 (C-2),  $\delta_{\text{C}}$  28.1 (C-16),  $\delta_{\text{C}}$  23.6 (C-15) 和  $\delta_{\text{C}}$  20.7 (C-11) 以及 7 个甲基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  20.8 (C-28),  $\delta_{\text{C}}$  20.7 (C-27),  $\delta_{\text{C}}$  20.2 (C-21),  $\delta_{\text{C}}$  18.3 (C-19),  $\delta_{\text{C}}$  17.1 (C-26),  $\delta_{\text{C}}$  13.4 (C-18) 和  $\delta_{\text{C}}$  13.1 (C-29)。其核磁归属数据如下: <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 6.50 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-7), 6.24 (1H, d,  $J$  = 8.5 Hz, H-6), 5.18 (1H, m, H-22), 1.50 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz, H-29), 0.93 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz, H-21), 0.92 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz, H-19), 0.88 (3H, s, H-18), 0.84 (6H, t,  $J$  = 6.8 Hz, H-27, H-28), 0.78 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz, H-26); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{C}}$ : 135.9 (C-23), 135.5 (C-6), 130.9 (C-7), 131.2 (C-22), 82.3 (C-5), 79.6 (C-8), 44.7 (C-13), 37.1 (C-10), 66.5 (C-3), 57.1 (C-17), 51.8 (C-9), 51.3 (C-14), 50.3 (C-24), 34.2 (C-20), 30.9 (C-25), 39.5 (C-12), 37.1 (C-4), 34.8 (C-1), 30.3 (C-2),

28.1 (C-16), 23.6 (C-15), 20.7 (C-11), 20.8 (C-28), 20.7 (C-27), 20.2 (C-21), 18.3 (C-19), 17.1 (C-26), 13.4 (C-18), 13.1 (C-29)。最后通过进一步的结构解析再结合文献<sup>[25]</sup>报道, 故确定该化合物为 5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -epidioxy-23-methyl-(22*E*, 24*S*)-ergosta-6, 22-dien-3 $\beta$ -ol(7)。

### 3 讨论

对来自中国南海西沙群岛的隋氏蒂壳海绵共附生真菌 *P. chrysogenum* 的发酵产物进行了化学成分的研究, 通过采用正相硅胶柱色谱、反相 ODS 柱色谱和高效液相技术从中分离纯化了 7 个单体化合物, 再采用现代核磁波谱技术鉴定它们的结构, 其中包括 1 个脂肪酸类化合物(1)、1 个氨基酸类化合物(2)、3 个环二肽类化合物(3、4、5) 和 2 个甾醇类化合物(6、7), 其中化合物 1 是从自然界中首次分离得到, 化合物 2、3、4、5、6、7 是在该真菌 *Penicillium chrysogenum* 内首次分离得到。同时, 发现隋氏蒂壳海绵共附生真菌 *P. chrysogenum* 的发酵产物多为环二肽和甾醇类化合物, 这为以后研究此类海绵提供了依据, 也为以后海绵共附生真菌的研究提供了方向。

开发海绵共附生微生物的活性物质具有独特的优势: 通过发酵工艺优化, 解决开发海洋药物资源供给不足的问题和生态环境遭到破坏的困扰, 因为海洋药物的研究多局限于样品量的限制, 那么微生物次生代谢产物能突破资源限制; 也可以通过基因工程手段改造增加次生代谢产物的产量和优化其结构; 通过微生物生物反应器, 原料可取之不尽。对海绵共附生真菌次生代谢产物的研究不仅扩大了海洋天然产物的种类, 也增加了发现新颖化合物的概率。该研究也进一步表明了海绵共附生真菌次生代谢产物能为海洋药物的研发提供大量先导化合物, 具有药物开发的潜力, 也为今后充分利用海洋资源奠定了基础。

### 参考文献:

- [1] RATEB M E, EBEL R. Secondary metabolites of fungi from marine habitats [J]. *Natural Product Reports*, 2011, 28 (2): 290-344.
- [2] 丁立建. 三株海绵共附生真菌的次生代谢产物及其生物活性研究 [D]. 广州: 暨南大学, 2016.  
DING L J. Chemical and bioactivity studies of secondary

- metabolites from three marine sponge-associated Fungi [D]. Guangzhou: Jinan University, 2016.
- [3] DU L, ZHU T J, FANG Y C, et al. Aspergionide A, a novel anthraquinone derivative with naphtho[1,2,3-de]chromene-2,7-dione skeleton isolated from a marine-derived fungus *Aspergillus glaucus* [J]. *Tetrahedron*, 2007, 63(5): 1085-1088.
- [4] NIU S W, LIU D, PROKSCH P, et al. New polyphenols from a deep sea *Spiromastix* sp. fungus, and their antibacterial activities [J]. *Marine Drugs*, 2015, 13(4): 2526-2540.
- [5] NIU S W, SI LL, LIU D, et al. Spiromastilactones: a new class of influenza virus inhibitors from deep-sea fungus [J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, 108: 229-244.
- [6] GOMES N G M, LEFRANC F, KIJJOAA, et al. Can some marine-derived fungal metabolites become actual anticancer agents [J]. *Marine Drugs*, 2015, 13(6): 3950-3991.
- [7] BUGNI T S, IRELAND C M. Marine-derived fungi: a chemically and biologically diverse group of microorganisms [J]. *ChemInform*, 2004, 35(17): 143-163.
- [8] FU Z Y, HOU Y W, JI C P, et al. Design, synthesis and biological evaluation of anti-pancreatic cancer activity of plinabulin derivatives based on the co-crystal structure [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2018, 26(8): 2061-2072.
- [9] NUMATA A, AMAGATA T, MINOURA K, et al. Gymnastatins, novel cytotoxic metabolites produced by a fungal strain from a sponge [J]. *Tetrahedron Letters*, 1997, 38(32): 5675-5678.
- [10] SUN L L, SHAO C L, CHEN J F, et al. New bisabolane sesquiterpenoids from a marine-derived fungus *Aspergillus* sp. isolated from the sponge *Xestospongia testudinaria* [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2012, 22(3): 1326-1329.
- [11] SCOPEL M, ABRAHAM W R, HENRIQUES A T, et al. Dipeptide cis-cyclo (Leucyl-Tyrosyl) produced by sponge associated *Penicillium* sp. F37 inhibits biofilm formation of the pathogenic *Staphylococcus epidermidis* [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2013, 23(3): 624-626.
- [12] KONG X L, MA X H, XIE Y Y, et al. Aromatic polyketides from a sponge-derived fungus *Metarhiziumanisopliae* mxh-99 and their antitubercular activities [J]. *Archives of Pharmacological Research*, 2013, 36(6): 739-744.
- [13] SUBRAMANI R, KUMAR R, PRASAD P, et al. Cytotoxic and antibacterial substances against multi-drug resistant pathogens from marine sponge symbiont: citrinin, a secondary metabolite of *Penicillium* sp. [J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2013, 3(4): 291-296.
- [14] MEENUPRIYA J, THANGARAJ M. Isolation and molecular characterization of bioactive secondary metabolites from *Callyspongia* spp. associated fungi [J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2010, 3(9): 738-740.
- [15] PENG J X, JIAO J Y, LI J, et al. Pyronepolyene C-glucosides with NF- $\kappa$ B inhibitory and anti-influenza A viral (H1N1) activities from the sponge-associated fungus *Epicoecum* sp. JY40 [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2012, 22(9): 3188-3190.
- [16] ALMEIDA C, KEHRAUS S, PRUDÊNÇIO M, et al. Marilones A-C, phthalides from the sponge-derived fungus *Stachylidium* sp. [J]. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 2011, 7: 1636-1642.
- [17] KIRAN G S, HEMA T A, GANDHIMATHI R, et al. Optimization and production of a biosurfactant from the sponge-associated marine fungus *Aspergillus ustus* MSF3 [J]. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 2009, 73(2): 250-256.
- [18] BLUNT J W, COPP B R, MUNRO M H G, et al. Marine natural products [J]. *Natural Product Reports*, 2011, 28(2): 196-268.
- [19] GU X D, ZHANG W J, CHOI J, et al. An  $^1\text{O}_2$  route to  $\gamma$ -hydroxyalkenal phospholipids by vitamin E-induced fragmentation of hydroperoxydiene-derived endoperoxides [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2011, 24(7): 1080-1093.
- [20] 陈苓丽, 韩娜, 王艺纯, 等. 吉祥草化学成分的分与鉴定 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2011, 28(11): 875-878.
- CHEN L L, HAN N, WANG Y C, et al. The chemical constituents from whole plant of *Reineckia carnea* (Andr.) Kunth [J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University*, 2011, 28(11): 875-878.
- [21] KHIMIUK A Y, KORENNYKH A V, VAN LANGEN L M, et al. Penicillin acylase-catalyzed peptide synthesis in aqueous medium: a chemo-enzymatic route to stereoisomerically pure diketopiperazines [J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, 14(20): 3123-3128.
- [22] FDHILAF, VÁZQUEZ V, SÁNCHEZ J L, et al. dd-diketopiperazines: antibiotics active against *Vibrio anguillarum* isolated from marine bacteria associated with cultures of *Pecten maximus* [J]. *Journal of Natural Products*, 2003, 66(10): 1299-1301.
- [23] 黄忠京, 郭志勇, 杨瑞云, 等. 南海红树林内生真菌 ZZ42 中生物碱类代谢产物的研究 [J]. *中药材*, 2007, 30(8): 939-941.
- HUANG Z J, GUO Z Y, YANG R Y, et al. Alkaloid metabolites of mangrove endophytic fungus ZZ42 from the South China Sea [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2007, 30(8): 939-941.
- [24] IOANNOU E, ABDEL-RAZIK A F, ZERVOU M, et al.  $5\alpha$ ,  $8\alpha$ -Epidioxysterols from the gorgonian *Eunicella cavolini* and the ascidian *Trididemnum inarmatum*; isolation and evaluation of their antiproliferative activity [J]. *Steroids*, 2009, 74(1): 73-80.
- [25] XIN Z H, LI T, ZHU T J, et al. Isocoumarin derivatives from the sea squirt-derived fungus *Penicillium stoloniferum*

QY2-10 and the halotolerant fungus *Penicillium notatum* B-52

819.

[J]. Archives of Pharmacal Research, 2007, 30(7): 816-

## Secondary metabolites of sponge-derived fungus from Xisha

HAN Qiaoying<sup>1</sup>, GAN Jianhong<sup>1</sup>, LAI Qinghua<sup>1</sup>, ZHANG Lu<sup>1</sup>, KANG Yongfeng<sup>1,2,3</sup>

(1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. National Experimental Teaching Demonstration Center for Food Science and Engineering, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Aquatic Products on Storage and Preservation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** The secondary metabolites of strain *Penicillium chrysogenum*, an epiphytic fungus isolated from the Xisha sponge *T. swinhoei* were studied, in order to find structurally specific secondary metabolites. The fungus *Penicillium chrysogenum* was fermented with Fungus No. 2 medium, the mycelium was extracted and purified by modern chromatography method including repeated column chromatography on silica gel, ODS and semi-preparative HPLC. The structures of isolated compounds were identified with modern spectroscopic techniques combined with HRMS. The results showed that seven compounds were isolated from the mycelium of strain *Penicillium chrysogenum*, which was isolated from the sponge *T. swinhoei*. They were identified as Traumatic acid (1), *N*-benzoyl-*L*-phenylalaninol (2), *cyclo*-(Trp-Ser) (3), *cyclo*-(D-Pro-D-Leu) (4), *cyclo*-(Phe-Tyr) (5), (22*E*, 24*S*)-5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -epidioxy-24-methyl-cholesta-6, 9(11), 22-trien-3 $\beta$ -ol (6), 5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -epidioxy-23-methyl-(22*E*, 24*S*)-ergosta-6, 22-dien-3 $\beta$ -ol (7). Compound 1 was initially isolated from nature and compounds 2, 3, 4, 5, 6 and 7 were isolated from *Penicillium chrysogenum* for the first time.

**Key words:** marine fungus; secondary metabolites; isolation and purification; structure analysis