

## 红树植物桐花树内生真菌

### *Talaromyces amestolkiae* 30的次生代谢产物\*

刘洪亮<sup>1</sup>, 赵飞<sup>1</sup>, 唐凤婷<sup>1</sup>, 李锦俊<sup>1</sup>, 张轩<sup>1</sup>, 杜志云<sup>1</sup>, 黄华容<sup>1</sup>, 余志刚<sup>2</sup>

1. 广东工业大学生物医药学院, 广东 广州 510006  
2. 中山大学化学学院, 广东 广州 510006

**摘要:** 对红树植物桐花树内生真菌 *Talaromyces amestolkiae* 30 的次级代谢产物进行了研究。采用大米固体发酵培养, 色谱分离技术纯化单体, ESIMS 和 NMR 等波谱数据分析, 鉴定了 12 个异香豆素单体化合物: aspergillumarin A (1)、aspergillumarin B (2)、5,6-dihydroxy-3-(4-hydroxypentyl)-isochroman-1-one (3)、mucorisocoumarin A (4)、peniisocoumarin H (5)、peniisocoumarin E (6)、dichlorodiaportin (7)、mucorisocoumarin C (8)、peniisocoumarin G (9)、talumarin A (10)、5,6,8-trihydroxy-4-(1'-hydroxyethyl)-isocoumarin (11) 和 sescandelin (12), 其中化合物 4、6、7 首次从篮状属真菌中分离得到。二倍稀释法抑菌活性测试显示, 化合物 4、6、7 有抑制金黄色葡萄球菌作用; MTT 法测试细胞毒活性, 表明化合物 7 对前列腺癌 PC-3 细胞和 VCaP 细胞有细胞毒活性。

**关键词:** 红树林真菌; 篮状菌; 次级代谢产物; 异香豆素类

中图分类号: O629.9 文献标志码: A 文章编号: 2097-0137(2024)02-0160-08

### The metabolites from mangrove endophytic fungus *Talaromyces amestolkiae* 30

LIU Hongliang<sup>1</sup>, ZHAO Fei<sup>1</sup>, TANG Fengting<sup>1</sup>, LI Jinjun<sup>1</sup>,  
ZHANG Xuan<sup>1</sup>, DU Zhiyun<sup>1</sup>, HUANG Huarong<sup>1</sup>, SHE Zhigang<sup>2</sup>

1. School of Biomedicine, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China  
2. School of Chemistry, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China

**Abstract:** The metabolites of the endophytic fungus *Talaromyces amestolkiae* 30 from the mangrove plant *Aegiceras corniculatum* (L.) Blanco were investigated. The fungus was cultured in rice medium, the monomeric compounds were isolated and purified by the chromatographic technique, and the structures of the compounds were identified by analysis of spectroscopy such as ESIMS and NMR. Twelve known analogues of isocoumarins (1-12) were isolated and identified as aspergillumarin A (1), aspergillumarin B (2), 5,6-dihydroxy-3-(4-hydroxypentyl)-isochroman-1-one (3), mucorisocoumarin A (4), peniisocoumarin H (5), peniisocoumarin E (6), dichlorodiaportin (7), mucorisocoumarin C (8), peniisocoumarin G (9), talumarin A (10), 5,6,8-trihydroxy-4-(1'-hydroxyethyl)-isocoumarin (11) and sescandelin (12). Among them, compounds 4, 6 and 7 were obtained from the genus *Talaromyces* for the first time. The antibacterial activities of these compounds were tested in vitro using the twofold dilution method. Compounds 4, 6, and 7 showed inhibitory activity against *Staphylococcus aureus*. The cytotoxic activity was tested by the MTT assay. Compound 7 showed cytotoxicity against prostate cancer PC-3

\* 收稿日期: 2023-10-14 录用日期: 2023-11-30 网络首发日期: 2024-01-08  
基金项目: 广东省海洋经济发展(海洋六大产业)专项资金(粤自然资合[2021]48号)  
作者简介: 刘洪亮(1996年生), 男; 研究方向: 制药工程; E-mail: 2112112017@mail2.gdut.edu.cn  
通信作者: 黄华容(1978年生), 女; 研究方向: 天然药物化学; E-mail: hrhuang@gdut.edu.cn

cells and VCaP cells.

**Key words:** mangrove fungus; *Talaromyces amestolkiae*; secondary metabolites; isocoumarin

异香豆素是一类重要的天然产物, 广泛存在于自然界中, 其种类繁多 (Saddiqa et al., 2017; Reveglia et al., 2020; Shabir et al., 2021; Aierken et al., 2023)。最新研究发现其衍生物具有明显的抗癌、抗菌、抗氧化、抑制蛋白酶和除草等生理和生物活性 (Saeed, 2016; Shyamal et al., 2022)。红树林生态系统具有盐胁迫、高矿物组成、强还原性、频繁的潮汐等特征。特殊生境使得红树林真菌能够代谢具有良好生物活性、结构新颖的功能分子

(魏美燕等, 2010; 梅荣清等, 2019; 权云帆等, 2019; Cai et al., 2022; Guo et al., 2023)。为寻找有抗肿瘤、抑菌活性的异香豆素类化合物, 课题组研究了红树林植物桐花树 *Aegiceras corniculatum* (L.) Blanco 内生真菌 *Talaromyces amestolkiae* 30 的次级代谢产物, 分离鉴定了 12 个异香豆素化合物 (图 1), 并测试了其抑菌和抗肿瘤活性, 期望发掘具有相应价值的先导化合物。

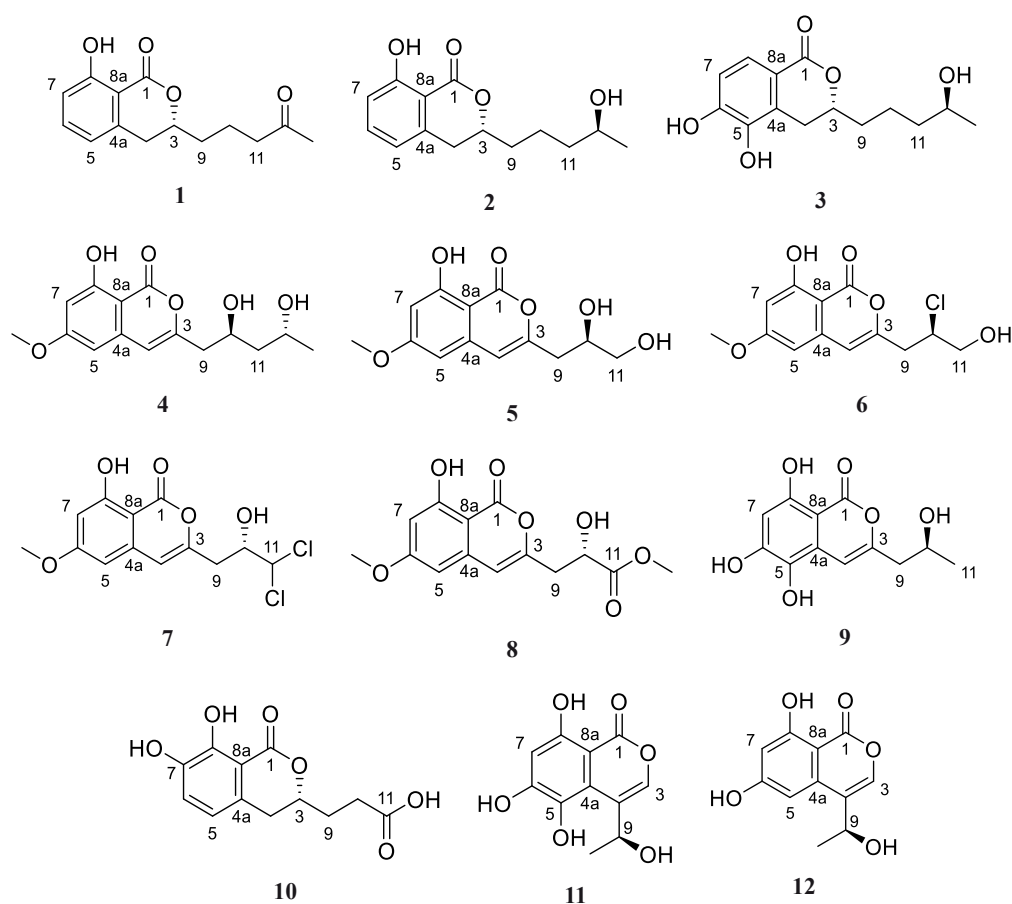


图 1 化合物 1~12 的结构

Fig. 1 The structures of compounds 1-12

## 1 实验部分

### 1.1 仪器、试剂及材料

Bruker-Advance 400 MHz 核磁共振波谱仪, 日本 Shimadzu 公司 LC-6AD 半制备型高效液相色谱仪, Thermo, Rockford, LTQ Qorbitrap 高分辨质谱仪, LCQ 型低分辨质谱仪, BUCHI 熔点仪

M-565, 英国 B+S ADP440+旋光仪, 色谱柱 (YMC-Pack ODS-A, 10 mm×250 mm, 5 μm), ODS-A-HG 反相填料 (YMC), 葡聚糖凝胶 LH-20 (Pharmacia Co. Ltd, Sandwich, UK), 柱层析硅胶 (200~300 目) (青岛海洋化工公司), HPLC 色谱级甲醇 (欧普森), HPLC 色谱级乙腈 (欧普森), 其他试剂则为分析纯。

真菌 *Talaromyces amestolkiae* 30 分离于红树植物桐花树 *Aegiceras corniculatum* (L.) Blanco 树叶(中山大学余志刚教授提供), 通过 PCR 技术扩增该真菌核糖体 ITS 基因区段(GenBank 号 OP776815)与 NCBI 数据库菌株对比(相似度 99%)。该菌株 30 目前保存在广东工业大学海洋药物研究实验室。大肠杆菌(*Escherichia coli* ATCC 25922), 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis* CMCC 63501), 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* ATCC 29213) 引自并保藏于广东工业大学海洋药物研究实验室。

## 1.2 菌种培养发酵

采用肖泽恩等(2022)相似方法培养菌液后, 将菌液加入已高压灭菌的大米培养基中(550 mL 带盖圆口瓶, 每瓶加入大米 25 g,  $w = 30\%$  人工海水 50 mL), 室温静置发酵 30 d, 共发酵 65 瓶。

## 1.3 提取与分离

发酵物用 MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 提取 3 次, 再用乙酸乙酯萃取 3 次, 浓缩乙酸乙酯得浸膏 20.2 g。浸膏采用硅胶柱层析[10 cm×60 cm, 200~300 目,  $V(\text{EtOAc}):V(\text{PE})=1:9, 3:7, 1:1, 7:3, 1:0$ ]分段为 5 个部分 Fr.1~5。

组份 Fr.2 (3.1 g) 继续经硅胶柱层析(6 cm×70 cm, 300~400 目), EtOAc-PE 溶剂梯度洗脱, 结合 TLC 板分析合并为 4 个组份 Fr.2-1~Fr.2-4; 其中 Fr.2-2(50.9 mg) 再经 Sephadex LH-20 凝胶色谱分离[1.5 cm×80 cm,  $V(\text{MeOH}):V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$ ], 纯化得到化合物 **1** (3.3 mg) 和 **2** (2.5 mg)。Fr.2-3 (0.220 g) 采用反相硅胶柱层析分离[2.0 cm×60 cm, ODS-A-HG,  $V(\text{MeOH}):V(\text{H}_2\text{O}) = 6:4$ ], TLC 板分析合并为 Fr.2-3-1~Fr.2-3-3; 选择 Fr.2-3-3(38.0 mg) 继续经 ODS 柱层析分离[1.0 cm×60 cm, ODS-A-HG,  $V(\text{MeOH}):V(\text{H}_2\text{O}) = 7:3$ ], 得到化合物 **6** (3.6 mg)。Fr.2-4(0.920 g) 经二次高效液相色谱制备分离得到 2 个化合物, 第一次 HPLC 色谱分离[C<sub>18</sub> 柱, YMC 10 mm×250 mm, 5 μm,  $V(\text{MeOH}):V(\text{H}_2\text{O}) = 7.5:2.5, 2.5 \text{ mL/min}$ ] 得到化合物 **7** (6.9 mg,  $t_{\text{R}} = 12.5 \text{ min}$ ), 后将甲醇洗脱部分物质浓缩, 再经 HPLC 色谱二次制备[C<sub>18</sub> 柱, YMC 10 mm×250 mm, 5 μm,  $V(\text{MeOH}):V(\text{H}_2\text{O}) = 8:2, 2.3 \text{ mL/min}$ ], 得到化合物 **8** (2.2 mg,  $t_{\text{R}} = 20.2 \text{ min}$ )。

组份 Fr.3 (3.9 g) 经硅胶柱层析梯度洗脱(6.5 cm×70 cm, 300~400 目, EtOAc-PE), 得 Fr.3-1~Fr.3-4。Fr.3-2(203.2 mg) 经反相硅胶柱色谱[3.0 cm×60 cm, ODS-A-HG,  $V(\text{MeOH}):V(\text{H}_2\text{O}) = 3:7, 1:1,$

7:3], 分离得到化合物 **3** (22.9 mg) 和 **9** (3.4 mg); Fr.3-3(350.0 mg) 经 HPLC 色谱制备[C<sub>18</sub> 柱, YMC 10 mm×250 mm, 5 μm, 2.0 mL/min, 0~35 min,  $V(\text{MeOH}):V(\text{H}_2\text{O}) = 5.5:4.5$ ], 得到化合物 **5** (2.1 mg,  $t_{\text{R}} = 17 \text{ min}$ ) 和 **11** (6.3 mg,  $t_{\text{R}} = 13 \text{ min}$ )。Fr.3-4(467.2 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱分离[2.5 cm×80 cm,  $V(\text{MeOH}):V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1$ ], 得到化合物 **4** (26.1 mg) 和 **12** (6.3 mg)。

组份 Fr.4 (3.0 g) 经反相硅胶柱色谱[5.0 cm×60 cm, ODS-A-HG,  $V(\text{MeOH}):V(\text{H}_2\text{O}) = 3:7, 1:1, 7:3, 1:0$ ], 分析后合并为 Fr.4-1~Fr.4-4。Fr.4-3 (925.6 mg) 继续经硅胶柱层析梯度分离(3 cm×70 cm, 300~400 目, EtOAc-PE 溶剂), 为 Fr.4-3-1~Fr.4-3-5; 选择 Fr.4-3-2(60.7 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱分离[1.0 cm×80 cm,  $V(\text{MeOH}):V(\text{H}_2\text{O}) = 2:1$ ], 得到化合物 **10** (3.2 mg)。

## 1.4 活性测试

1) 抑菌活性: 采用二倍稀释法(Wang et al., 2015), 测定化合物 **1**~**12** 体外对大肠杆菌(*Escherichia coli*), 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*), 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) 的最低抑菌浓度(MIC, minimal inhibitory concentration)(表 1)。化合物终质量浓度依次为 512、256、128、64、32、16、8、4、2、1 μg/mL, 加入到 96 孔板中, 在每个孔中加入一定质量浓度的测试菌, 37 °C 恒温培养 24 h 后, 肉眼观察培养液的混浊情况, 培养液澄清的最小样品质量浓度为最小抑菌质量浓度, 即 MIC。实验结果表明, 化合物 **4**、**6**、**7** 对金黄色葡萄球菌具有抑制作用, 其 MIC 值均为 16 μg/mL。

2) 细胞毒活性: 采用 MTT 法(Mosmann, 1983), 测定化合物 **1**~**12** 对前列腺癌 VCaP 和 PC-3 细胞株的细胞毒活性(表 2), 阳性对照为多西他赛。二倍稀释法使得化合物终浓度为 40、20、10、5、2.5、1.25 μmol/L, 平行 3 个复孔, 加药培养 72 h 后, 测其吸光度, 平行 3 次实验。

$$I = [(1 - A_{\text{样品}}) / A_{\text{对照}}] \times 100\%$$

其中  $I$  为细胞增殖抑制率,  $A_{\text{样品}}$  为实验组在酶标仪 490 nm 波长下的吸光度值,  $A_{\text{对照}}$  为对照组在 490 nm 波长下的吸光度值。采用 GraphPad 8.0 软件作统计处理, 数据以均数表示化合物对前列腺癌细胞增殖抑制的 IC<sub>50</sub> 值。最终实验结果显示化合物 **7** 对 VCaP 和 PC-3 细胞具有增殖抑制作用, IC<sub>50</sub> 值分别为 20.35 和 12.37 μmol/L。

表1 化合物1~12对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌抗菌活性

Table 1 Antibacterial activity of compounds 1 to 12 against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*

化合物	MIC/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )		
	大肠杆菌 ATCC 25922	金黄色葡萄球菌 ATCC 29213	枯草芽孢杆菌 CMCC 63501
1	>512	64	>512
2	>512	64	>512
3	>512	>512	>512
4	32	16	>512
5	>512	>512	>512
6	>512	16	64
7	16	16	>512
8	>512	>512	>512
9	>512	>512	>512
10	>512	>512	>512
11	>512	>512	>512
12	>512	>512	>512

表2 化合物1~12对前列腺癌VCaP和PC-3细胞株的细胞毒活性

Table 2 Cytotoxic activity of compounds 1 to 12 against prostate cancer VCaP and PC-3 cell lines

化合物	IC <sub>50</sub> /( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	
	VCaP	PC-3
1	>40	>40
2	>40	>40
3	>40	>40
4	>40	>40
5	>40	>40
6	>40	>40
7	20.35	12.37
8	>40	>40
9	>40	>40
10	>40	>40
11	>40	>40
12	>40	>40
Docetaxel	5.72 nmol·L <sup>-1</sup>	4.69 nmol·L <sup>-1</sup>

### 1.5 化合物波谱数据

化合物1: C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>, 无色油状, ESIMS  $m/z$  247 [M-H]<sup>-</sup>,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  -30.6° ( $c$  0.65, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{H}}$  10.98 (s, 1H, OH-8), 7.40 (t,

8.0 Hz, 1H, H-6), 6.88 (d, 8.0 Hz, 1H, H-7), 6.69 (d, 8.0 Hz, 1H, H-5), 4.57 (m, 1H, H-3), 2.16 (s, 3H, H-13), 1.80 (m, 2H, H-9), 1.76 (m, 2H, H-10), 2.54 (t, 8.0 Hz, 2H, H-11), 2.94 (d, 4.0 Hz, 2H, H-4); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{C}}$  208.2 (C-12, C), 169.8 (C-1, C), 162.2 (C-8, C), 139.3 (C-4a, C), 136.2 (C-6, CH), 118.0 (C-5, CH), 116.2 (C-7, CH), 108.4 (C-8a, C), 79.4 (C-3, CH), 42.8 (C-11, CH<sub>2</sub>), 34.0 (C-9, CH<sub>2</sub>), 32.8 (C-4, CH<sub>2</sub>), 29.9 (C-13, CH<sub>3</sub>), 19.0 (C-10, CH<sub>2</sub>)。

化合物2: C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>, 无色油状, ESIMS  $m/z$  249 [M-H]<sup>-</sup>,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  -38.7° ( $c$  0.60, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$  10.94 (s, 1H, OH-8), 7.50 (t, 8.0 Hz, 1H, H-6), 6.85 (d, 8.0 Hz, 1H, H-7), 6.82 (d, 8.0 Hz, 1H, H-5), 4.66 (m, 1H, H-3), 3.60 (m, 1H, H-12), 2.96 (d, 4.0 Hz, 2H, H-4), 1.76 (m, 2H, H-10), 1.47 (m, 2H, H-9), 1.37 (m, 2H, H-11), 1.06 (d, 6.0 Hz, 3H, H-13); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{C}}$  169.8 (C-1, C), 161.4 (C-8, C), 140.9 (C-4a, C), 136.7 (C-6, CH), 118.8 (C-5, CH), 115.8 (C-7, CH), 108.9 (C-8a, C), 80.0 (C-3, CH), 66.1 (C-12, CH), 39.1 (C-11, CH<sub>2</sub>), 34.6 (C-10, CH<sub>2</sub>), 32.4 (C-4, CH<sub>2</sub>), 24.2 (C-13, CH<sub>3</sub>), 21.2 (C-9, CH<sub>2</sub>)。

化合物3: C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>, 白色粉末, ESIMS  $m/z$  265 [M-H]<sup>-</sup>,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  -76.4° ( $c$  0.44, MeOH),  $\theta_{\text{mp}}$  174.0~174.5 °C; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$  7.00 (d, 9.2 Hz, 1H, H-7), 6.58 (d, 9.2 Hz, 1H, H-8), 4.50 (m, 1H, H-3), 3.64 (m, 1H, H-12), 3.08 (dd, 17.6 Hz, 3.6 Hz, 1H, H-4), 2.56 (dd, 17.2 Hz, 12.0 Hz, 1H, H-4), 1.63~1.82 (m, 2H, H-9), 1.54 (m, 2H, H-10), 1.40 (m, 2H, H-11), 1.02 (d, 6.4 Hz, 3H, H-13); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{C}}$  169.9 (C-1, C), 155.3 (C-6, C), 145.4 (C-5, C), 124.7 (C-4a, C), 123.8 (C-7, CH), 115.2 (C-8, CH), 108.4 (C-8a, C), 79.6 (C-3, CH), 66.4 (C-12, CH), 38.9 (C-11, CH<sub>2</sub>), 34.8 (C-9, CH<sub>2</sub>), 26.5 (C-4, CH<sub>2</sub>), 23.2 (C-13, CH<sub>3</sub>), 21.1 (C-10, CH<sub>2</sub>)。

化合物4: C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>, 白色粉末, ESIMS  $m/z$  293 [M-H]<sup>-</sup>,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  -28.9° ( $c$  0.54, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$  6.58 (d, 2.0 Hz, 1H, H-5), 6.51 (s, 1H, H-4), 6.50 (d, 2.0 Hz, 1H, H-7), 4.71 (d, 5.6 Hz, 1H, OH-10), 4.36 (d, 5.2 Hz, 1H, OH-12), 4.03 (m, 1H, H-10), 3.85 (s, 3H, MeO), 3.85 (m, 1H, H-12), 2.58 (dd, 14.4 Hz, 4.8 Hz, 1H, H-9), 2.48 (dd,

14.0 Hz, 8.0 Hz, 1H, H-9), 1.42(m, 2H, H-11), 1.07(d, 6.4 Hz, 3H, H-13);  $^{13}\text{C}$  NMR(100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  166.9(C-6, C), 166.1(C-1, C), 162.9(C-8, C), 156.2(C-3, C), 140.1(C-4a, C), 105.9(C-4, C), 101.5(C-5, CH), 100.7(C-7, CH), 99.9(C-8a, C), 65.4(C-10, CH), 63.1(C-12, CH), 56.4(MeO, CH<sub>3</sub>), 46.8(C-11, CH<sub>2</sub>), 42.3(C-9, CH<sub>2</sub>), 25.0(C-13, CH<sub>3</sub>)。

化合物 5: C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>, 白色固体, ESIMS  $m/z$  265 [M-H]<sup>-</sup>,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  -28.6°(c 0.15, MeOH);  $^1\text{H}$  NMR(400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  11.01(s, 1H, OH-8), 6.58(d, 2.4 Hz, 1H, H-7), 6.54(s, 1H, H-4), 6.50(d, 2.4 Hz, 1H, H-5), 4.84(d, 5.2 Hz, 1H, OH-10), 4.68(t, 5.6 Hz, 1H, OH-11), 3.85(s, 3H, OCH<sub>3</sub>-6), 3.80(m, 1H, H-10), 3.29~3.44(m, 2H, H-11), 2.73(dd, 3.6 Hz, 14.4 Hz, 1H, H-9), 2.41(dd, 8.8 Hz, 14.8 Hz, 1H, H-9);  $^{13}\text{C}$  NMR(100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  167.0(C-1, C), 166.1(C-6, C), 163.0(C-8, C), 156.3(C-3, C), 140.1(C-4a, C), 106.0(C-4, CH), 101.5(C-5, CH), 100.7(C-7, CH), 99.8(C-8a, C), 69.5(C-10, CH), 65.9(C-11, CH<sub>2</sub>), 56.4(OCH<sub>3</sub>-6, CH<sub>3</sub>), 38.2(C-9, CH<sub>2</sub>)。

化合物 6: C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>ClO<sub>3</sub>, 白色固体, ESIMS  $m/z$  283 [M-H]<sup>-</sup>, 283:285 离子峰强度之比约为 3:1,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  +86.5°(c 0.66, MeOH),  $\theta_{\text{mp}}$  110 °C;  $^1\text{H}$  NMR(400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  10.95(s, 1H, OH-8), 6.47(s, 1H, H-4), 6.46(d, 2.4 Hz, 1H, H-7), 6.36(d, 2.4 Hz, 1H, H-5), 4.31(t, 6.4, 1H, OH-11), 4.24(m, 1H, H-10), 3.79(s, 3H, OCH<sub>3</sub>-6), 3.70(m, 2H, H-11), 3.12(d, 15.6 Hz, 1H, H-9), 2.71(dd, 14.8 Hz, 10.0 Hz, 1H, H-9);  $^{13}\text{C}$  NMR(100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  167.2(C-6, C), 165.9(C-1, C), 163.5(C-8, C), 153.9(C-3, C), 139.4(C-4a, C), 106.3(C-4, CH), 101.4(C-5, CH), 100.4(C-7, C), 99.7(C-8a, C), 65.7(C-11, CH<sub>2</sub>), 59.6(C-10, CH), 55.4(OCH<sub>3</sub>-6, CH<sub>3</sub>), 38.2(C-9, CH<sub>2</sub>)。

化合物 7: C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 白色固体, EIMS  $m/z$  318 [M]<sup>+</sup>, 318:320:322 离子峰强度之比约为 9:6:1,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  +34.2°(c 1.02, MeOH);  $^1\text{H}$  NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{H}}$  10.97(s, 1H, OH-8), 6.48(d, 2.4 Hz, 1H, H-5), 6.35(d, 2.4 Hz, 1H, H-4), 6.34(s, 1H, H-7), 5.90(d, 3.6 Hz, 1H, H-11), 4.42(m, 1H, H-10), 3.87(s, 3H, OCH<sub>3</sub>-6), 3.00(dd, 14.8 Hz, 3.6 Hz, 1H, H-9), 2.78(dd, 14.8 Hz, 8.8 Hz, 1H, H-9);  $^{13}\text{C}$  NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{C}}$  167.0(C-7, C), 166.0

(C-1, C), 163.7(C-8, C), 152.4(C-3, C), 138.7(C-4a, C), 107.0(C-4, CH), 101.8(C-5, CH), 100.8(C-7, CH), 100.0(C-8a, C), 75.5(C-11, CH), 73.4(C-10, CH), 55.7(OCH<sub>3</sub>-6, CH<sub>3</sub>), 36.5(C-9, CH<sub>2</sub>)。

化合物 8: C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>, 白色粉末, ESIMS  $m/z$  295 [M+H]<sup>+</sup>,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  +10.0°(c 0.50, MeOH);  $^1\text{H}$  NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{H}}$  6.48(d, 2.0 Hz, 1H, H-5), 6.34(d, 2.0 Hz, 1H, H-4), 6.32(s, 1H, H-7), 4.57(q, 4.0 Hz, 1H, H-10), 3.86(s, 3H, OCH<sub>3</sub>-12), 3.87(s, 3H, OCH<sub>3</sub>-6), 3.00(dd, 14.8 Hz, 4.0 Hz, 1H, H-9), 2.82(dd, 14.8 Hz, 6.8 Hz, 1H, H-9);  $^{13}\text{C}$  NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{C}}$  174.1(C-11, C), 166.9(C-6, C), 165.9(C-1, C), 163.7(C-8, C), 152.3(C-3, C), 138.8(C-4a, C), 107.0(C-4, CH), 101.7(C-5, CH), 100.7(C-7, CH), 100.1(C-8a, C), 67.8(C-10, CH), 55.7(OCH<sub>3</sub>-6, CH<sub>3</sub>), 53.1(OCH<sub>3</sub>-12, CH<sub>3</sub>), 38.3(C-9, CH<sub>2</sub>)。

化合物 9: C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, 白色粉末, ESIMS  $m/z$  251 [M-H]<sup>-</sup>,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  +74.2°(c 0.76, MeOH),  $\theta_{\text{mp}}$  206~207 °C;  $^1\text{H}$  NMR(400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  6.62(s, 1H, H-4), 6.40(s, 1H, H-7), 4.00(m, 1H, H-10), 2.60(m, 2H, H-9), 1.15(d, 6.0 Hz, 3H, H-11);  $^{13}\text{C}$  NMR(100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  166.4(C-1, C), 156.0(C-8, C), 154.7(C-6, C), 154.7(C-3, C), 131.8(C-5, C), 125.5(C-4a, C), 101.9(C-7, CH), 100.9(C-4, CH), 97.2(C-8a, C), 65.5(C-10, CH), 43.2(C-9, CH<sub>2</sub>), 23.8(C-11, CH<sub>3</sub>)。

化合物 10: C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, 白色粉末, ESIMS  $m/z$  251 [M-H]<sup>-</sup>,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  -44.2°(c 0.54, MeOH),  $\theta_{\text{mp}}$  179~180 °C;  $^1\text{H}$  NMR(400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  12.82(s, 1H, OH-11), 12.20(s, 1H, OH-8), 9.31(s, 1H, OH-7), 7.02(d, 8.0 Hz, 1H, H-6), 6.64(d, 8.0 Hz, 1H, H-5), 4.62(m, 1H, H-3), 2.94(dd, 16.0 Hz, 8.0 Hz, 1H, H-4), 2.84(dd, 16.0 Hz, 4.0 Hz, 1H, H-4), 2.42(m, 2H, H-10), 1.96(m, 2H, H-9);  $^{13}\text{C}$  NMR(100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  174.3(C-11, C), 170.1(C-1, C), 150.4(C-8, C), 144.9(C-7, C), 129.6(C-4a, C), 122.1(C-6, CH), 118.0(C-5, CH), 108.9(C-8a, C), 79.8(C-3, CH), 31.7(C-4, CH<sub>2</sub>), 29.8(C-9, CH<sub>2</sub>), 29.6(C-10, CH<sub>2</sub>)。

化合物 11: C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>, 白色粉末, ESIMS  $m/z$  237 [M-H]<sup>-</sup>,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  -16.0°(c 0.07, acetone),  $\theta_{\text{mp}}$  152~155 °C;  $^1\text{H}$  NMR(400 MHz, acetone- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  11.34(s, 1H, OH-8), 8.48(bs, 1H, OH-9), 7.23(s, 1H, H-3),

6.44(s, 1H, H-7), 4.91(q, 6.8 Hz, 1H, H-9), 1.42(d, 6.4 Hz, 3H, H-10);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, acetone- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  166.3 (C-1, C), 158.7 (C-8, C), 156.0 (C-6, C), 140.1 (C-3, CH), 132.2 (C-5, C), 119.7 (C-4a, C), 119.6 (C-4, C), 102.7 (C-7, CH), 97.9 (C-8a, C), 67.2 (C-9, CH), 22.2 (C-10,  $\text{CH}_3$ )。

化合物 **12**:  $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_5$ , 白色固体, ESIMS  $m/z$  221  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $\theta_{\text{mp}}$  192 °C,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  -33° ( $c$  1.0, MeOH);  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, acetone- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  11.34 (s, 1H, OH-9), 8.48 (bs, 1H, OH-8), 7.30 (s, 1H, H-3), 6.62 (d, 1.2 Hz, 1H, H-5), 6.33 (d, 1.2 Hz, 1H, H-7), 4.83 (q, 6.4 Hz, 1H, H-9), 1.38 (d, 6.4 Hz, 3H, H-10);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, acetone- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  165.9 (C-1, C), 165.3 (C-6, C), 164.3 (C-8, C), 141.6 (C-3, CH), 122.4 (C-4, C), 137.9 (C-4a, C), 101.9 (C-7, CH), 101.4 (C-5, CH), 99.6 (C-8a, C), 63.9 (C-9, CH), 22.8 (C-10,  $\text{CH}_3$ )。

## 2 结果与讨论

化合物 **1**: ESIMS 显示准分子离子峰  $m/z$  为 247  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 结合  $^1\text{H}$  NMR 和  $^{13}\text{C}$  NMR 核磁共振波谱数据分析, 推测其分子式为  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_4$ , 不饱和度  $\Omega$  为 7。  $^1\text{H}$  NMR 谱显示有 3 个相邻苯环氢信号,  $\delta_{\text{H}}$  6.88 (d, 8.0 Hz, H-7)、6.69 (d, 8.0 Hz, H-5)、7.40 (t, 8.0 Hz, H-6); 1 个连氧氢信号  $\delta_{\text{H}}$  4.57 (m, 1H, H-3), 4 个亚甲基氢信号  $\delta_{\text{H}}$  2.94 (dd, 8.0, 4.0 Hz, 2H, H-4)、2.54 (t, 8.0 Hz, 2H, H-11)、1.76~1.84 (m, 4H); 1 个甲基氢信号  $\delta_{\text{H}}$  2.16 (s,  $\text{CH}_3$ -13), 和 1 个活泼氢信号  $\delta_{\text{H}}$  10.98 (s, OH)。  $^{13}\text{C}$  NMR 谱图, 显示共有 14 个碳信号, 包括 1 个酮羰基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  208.2, 1 个酯羰基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  162.2, 6 个苯环骨架碳信号  $\delta_{\text{C}}$  139.3、136.2、122.0、118.0、116.2、108.4; 1 个连氧碳信号  $\delta_{\text{C}}$  79.4, 4 个亚甲基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  42.8、34.0、32.8、19.0; 和 1 个甲基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  29.9; 化合物 **1** 具有二氢异香豆素特征骨架。据此与 Li et al. (2012) 报道的波谱数据和比旋光度对比基本一致, 鉴定为 aspergillumarin A。

化合物 **2**: 化合物 **2** 和化合物 **1** 的核磁谱图非常相似, 表明 **2** 为类似的二氢异香豆素骨架特征。  $^{13}\text{C}$  NMR 谱中, 前者比后者少 1 个  $\delta_{\text{C}}$  208.2 的脂肪酮羰基碳信号, 多 1 个与氧相连  $\delta_{\text{C}}$  66.1 的次甲基碳信号。与 Li et al. (2012) 波谱和比旋光度对比基本一致, 鉴定为 aspergillumarin B。

化合物 **3**: 波谱数据与 **1**、**2** 类似, 但 **3** 的  $^{13}\text{C}$  NMR 谱中  $\delta_{\text{C}}$  115.2 (C-8)、155.3 (C-6)、145.4

(C-5) 的碳信号与 **2** 中  $\delta_{\text{C}}$  161.4 (C-8)、136.7 (C-6)、118.8 (C-5) 的碳信号有显著不同; 在 **3** 的  $^1\text{H}$  NMR 中低场区没有活泼氢信号, 表明 **3** 中苯环上羟基的位置发生改变。与 Chen et al. (2016) 报道的比旋光度及波谱数据对比基本一致, 鉴定为 5, 6-dihydroxy-3-(4-hydroxy-pentyl)-isochroman-1-one。

化合物 **4**: 与化合物 **2** 的  $^{13}\text{C}$  NMR 谱比较, 化合物 **4** 多了 2 个  $\delta_{\text{C}}$  156.2 (C-3) 和  $\delta_{\text{C}}$  105.9 (C-4) 的  $\text{sp}^2$  杂化碳信号, 表明 **4** 为异香豆素结构骨架; 另外 **4** 还多 1 个  $\delta_{\text{C}}$  65.4 连氧次甲基碳信号和 1 个  $\delta_{\text{C}}$  56.4 连氧甲基碳信号。与 Feng et al. (2014) 报道的波谱和比旋光度对比基本一致, 鉴定为 mucorisocoumarin A。

化合物 **5**:  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  -28.6° ( $c$  0.15, MeOH), 波谱数据与化合物 **4** 非常相似, 与 **4** 的  $^{13}\text{C}$  NMR 谱比较, **5** 中少了 1 个甲基和次甲基碳信号, 多了 1 个  $\delta_{\text{C}}$  65.9 (C-11) 的亚甲基碳信号; 结合 ESIMS  $m/z$  265  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 与 Larsen et al. (1999) 和 Cai et al. (2018) 的波谱数据及比旋光度对比, **5** 与 Cai et al. (2018) 报道基本一致, 因此鉴定为 peniisocoumarin H。

化合物 **6**: 化合物 **6** 的核磁谱图与 **5** 非常相似, 明显不同的是化合物 **6** 的  $^{13}\text{C}$  NMR 谱中  $\delta_{\text{C}}$  59.6 (C-10) 次甲基碳信号比 **5** 的  $\delta_{\text{C}}$  69.5 (C-10) 的化学位移明显向低场迁移,  $^1\text{H}$  NMR 谱中化合物 **6** 的  $\delta_{\text{H}}$  4.28 (m, H-10) 比 **5** 的  $\delta_{\text{H}}$  3.80 (m, H-10) 化学位移也向低场移动, 表明化合物 **5** 结构中的 C-10 上的 H 被强吸电子基团取代。ESIMS 质谱中发现  $m/z$  283  $[\text{M}-1]^-$ : 285  $[\text{M}+1]^-$  离子峰强度之比约为 3:1, 推测 **6** 的结构中含有一个氯原子; 进一步与 Cai et al. (2018) 的波谱和比旋光度对比基本一致, **6** 鉴定为 peniisocoumarin E。

化合物 **7**: EIMS  $m/z$  318  $[\text{M}]^+$ 。化合物 **7** 与 **5** 的  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 谱相似度非常高;  $^{13}\text{C}$  NMR 谱中最大的不同处为 **7** 的  $\delta_{\text{C}}$  75.5 (C-11, CH) 碳信号明显向低场迁移, **5** 的  $\delta_{\text{C}}$  65.9 (C-11,  $\text{CH}_2$ ),  $^1\text{H}$  NMR 谱图化合物 **7** 中的次甲基 H-11 化学位移为  $\delta_{\text{H}}$  5.90 (d, 3.6 Hz), 化合物 **5** 的亚甲基 H-12 氢信号  $\delta_{\text{H}}$  3.29~3.44 (m, 2H, H-11); 氢信号也向低场迁移, 推测化合物 **7** 结构中的 C-11 上连有 2 个强吸电子基团; EIMS 谱图显示 318  $[\text{M}]^+$ : 320  $[\text{M}+2]^+$ : 322  $[\text{M}+4]^+$  离子峰强度之比约为 9:6:1, 推测结构中含有 2 个氯原子; 进一步与 Larsen et al. (1999) 的波谱数据

及比旋光度对比一致, **7** 鉴定为 dichlorodiaportin。

化合物 **8**: 化合物 **8** 的核磁波谱和化合物 **7** 非常类似;  $^{13}\text{C}$  NMR 中, 比化合物 **7** 多了 1 个酯羰基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  174.1 和 1 个甲氧基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  53.1, 少 1 个亚甲基碳信号;  $^1\text{H}$  NMR 中, 比化合物 **7** 少 1 个与氯连接的次甲基氢信号, 多 1 个连氧的甲氧氢信号  $\delta_{\text{H}}$  3.86(s, 12-OCH<sub>3</sub>); 与 Feng et al. (2014) 的波谱数据和比旋光度进一步比较, 基本一致, **8** 结构鉴定为 mucorisocoumarin C。

化合物 **9**: **9** 的核磁波谱和 **5** 比较, **9** 的  $^1\text{H}$  NMR 谱图中多了 1 个  $\delta_{\text{H}}$  1.15(d, 6.0 Hz, H-11) 脂肪甲基氢信号, 少了 1 个苯环氢信号和 1 个连氧的甲基氢信号; **9** 的  $^{13}\text{C}$  NMR 谱中苯环骨架多 1 个  $\delta_{\text{C}}$  131.8 (C-5) 季碳信号, 少 1 个  $\delta_{\text{C}}$  101.5 (C-5, CH) 碳信号。进一步与 Cai et al. (2018) 的波谱数据和比旋光度比较一致, **9** 鉴定为 peniisocoumarin G。

化合物 **10**: 化合物 **10** 与化合物 **1** 的核磁谱图相似, 为二氢异香豆素结构。 $^{13}\text{C}$  NMR 谱中 **10** 与化合物 **1** 多了 1 个  $\delta_{\text{C}}$  174.3 羧基羰基碳信号和 1 个  $\delta_{\text{C}}$  144.9 的苯环上季碳信号, 少了 1 个羰基碳信号, 1 个甲基碳和 1 个亚甲基碳信号;  $^1\text{H}$  NMR 显示 **10** 多了 1 个苯环上活泼羟基氢信号 9.31(s, OH) 和羧基羟基氢信号 12.82(brs, OH), 侧链上少了 1 个甲基和 1 个亚甲基氢信号。与 Küppers et al. (2017) 核磁波谱数据和比旋光度对比基本一致, 化合物 **10** 鉴定为 talumarin A。

化合物 **11**: 化合物 **11** 与化合物 **9** 的核磁谱图非常类似, 但 **11** 的  $^{13}\text{C}$  NMR 谱  $\delta_{\text{C}}$  140.1 (C-3)、119.6 (C-4) 的信号与 **9** 的  $\delta_{\text{C}}$  154.7 (C-3)、100.9 (C-4) 有显著不同, 以及少 1 个亚甲基碳信号; **11** 的  $^1\text{H}$  NMR 谱中  $\delta_{\text{H}}$  7.23(s, 1H, H-3) 的烯双键氢信号向低场迁移; 进一步与 Findlay et al. (2003) 波谱数据、比旋光度和熔点数据比较一致, **11** 鉴定为 5,6,8-trihydroxy-4-(1'-hydroxyethyl)-isocoumarin。

化合物 **12**: 化合物 **12** 和 **11** 的核磁数据非常相

似, **12** 的  $^{13}\text{C}$  NMR 谱  $\delta_{\text{C}}$  101.4 (C-5, CH) 信号与 **11** 的  $\delta_{\text{C}}$  132.2 (C-5, C) 有显著差别;  $^1\text{H}$  NMR 谱中 **12** 比 **11** 多 1 个  $\delta_{\text{H}}$  6.62(d, 1.2 Hz, H-5) 苯环氢信号。与 Kimura et al. (1990)、Kimura et al. (1994) 和李春远等 (2010) 报道的核磁波谱对比数据基本一致, **12** 鉴定为 sescandelin。

从红树植物桐花树内生真菌 *Talaromyces amestolkiae* 30 中分离得到了上述 12 个化合物, 其中化合物 mucorisocoumarin A (**4**)、peniisocoumarin E (**6**) 和 dichlorodiaportin (**7**) 为首次从篮状菌次级代谢产物中得到的异香豆素化合物。已有研究表明化合物 **9** 对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶及 MptpB 具有抑制作用, IC<sub>50</sub> 分别为 40.5 及 20.7  $\mu\text{mol/L}$  (Cai et al., 2018); 化合物 **8** 对斑马鱼胚胎具有发育毒性 (Feng et al., 2014); 化合物 **11** 具有较强的抗氧化活性 (钟晋谦等, 2021); 化合物 **12** 能显著抑制内皮细胞在 Matrigel 上形成毛细血管网络 (Lee et al., 2001)。本研究进一步发现化合物 **7** 有抑制人前列腺癌 PC-3 细胞和 VCaP 细胞增殖作用, 其 IC<sub>50</sub> 值分别为 12.37 和 20.35  $\mu\text{mol/L}$ ; 化合物 **4**、**6**、**7** 对金黄色葡萄球菌有抑制活性, 其 MIC 均为 16  $\mu\text{g/mL}$ 。初步分析其构效关系发现, 结构中 3、4 位为双键时其化合物的抑菌活性增强; 苯环 6 位上有甲氧基取代时, 化合物抑菌活性也相应增强; 初步推测香豆素母核结构的脂溶性增强, 可能提高其对细菌细胞膜的穿透性, 抑制细菌生长。结构侧链上有氯取代的抑菌活性明显增强, 初步推测可能由于氯原子易与细菌细胞壁蛋白末端的 D-Ala-D-Ala 结合, 使其化合物对细菌细胞壁的穿透性增加, 导致细菌生长抑制。异香豆素类化合物因其具有多样生物活性, 且其毒性小的特点一直受到天然药物研究者的关注。随着构效关系的深入分析及生物活性的机制研究, 非常值得挖掘红树林内生真菌中抑菌、细胞毒等活性异香豆素类物质, 以期获得新的药物先导化合物。

## 参考文献:

- 李春远, 余志刚, 林永成, 等, 2010. 红树林内生真菌 K38 和 E33 混合发酵代谢产物研究 [J]. 中山大学学报(自然科学版), 49(6): 136-138+144.
- 梅荣清, 黄国雷, 王斌, 等, 2019. 一株红树来源真菌 *Penicillium citrinum* HL-5126 中两个新异香豆素化合物(英文) [J]. 有机化学, 39(5): 1479-1482.
- 权云帆, 王佩, 王昊, 等, 2019. 红树林来源真菌 *Xylaria* sp.

- HNWSW-2 异香豆素类次级代谢产物及其生物活性的研究 [J]. 热带作物学报, 40(8): 1611-1617.
- 魏美燕, 胡谷平, 郑彩娟, 等, 2010. 中国南海红树林内生真菌 *Microsphaeropsis* sp. 二氢异香豆素类化合物研究 [J]. 中山大学学报(自然科学版), 49(2): 68-71.
- 肖泽恩, 林少娥, 余志刚, 等, 2022. 海南红树林内生真菌 *Aspergillus* sp. HNY16-5C 的含氮类次级代谢产物 [J].

- 中山大学学报(自然科学版)(中英文),61(4):65-69.
- 钟晋谦,陈玉婵,陈闪冲,等,2021. 深海真菌 *Neorousoella* sp. 固体发酵物中次生代谢产物及其生物活性研究[J]. 天然产物研究与开发,33(7):1165-1171.
- AIERKEN K, LI J, XU N, et al, 2023. Chemical constituents of *Rumex dentatus* L. and their antimicrobial and anti-inflammatory activities [J]. *Phytochemistry*, 205: 113509.
- CAI J, ZHU X C, ZENG W N, et al, 2022. Talaromarins A-F: Six new isocoumarins from mangrove-derived fungus *Talaromyces flavus* TGGP35 [J]. *Mar Drugs*, 20(6): 361.
- CAI R, WU Y, CHEN S, et al, 2018. Peniisocoumarins A-J: Isocoumarins from *Penicillium commune* QQF-3, an endophytic fungus of the mangrove plant *Kandelia candel* [J]. *J Nat Prod*, 81(6): 1376-1383.
- CHEN S, LIU Y, LIU Z, et al, 2016. Isocoumarins and benzofurans from the mangrove endophytic fungus *Talaromyces amestolkiae* possess  $\alpha$ -glucosidase inhibitory and antibacterial activities [J]. *RSC Adv*, 6(31): 26412-26420.
- FENG C C, CHEN G D, ZHAO Y Q, et al, 2014. New isocoumarins from a cold-adapted fungal strain *Mucor* sp. and their developmental toxicity to zebrafish embryos [J]. *Chem Biodivers*, 11(7): 1099-1108.
- FINDLAY J A, LI G, MILLER J D, et al, 2003. Insect toxins from spruce endophytes [J]. *Can J Chem*, 81(4): 284-292.
- GUO Z, CHEN B, CHEN D, et al, 2023. New isocoumarin and pyrone derivatives from the Chinese mangrove plant *Rhizophora* mangle-associated fungus *Phomopsis* sp. DHS-11 [J]. *Molecules*, 28(9): 3756.
- KIMURA Y, NAKADOI M, SHIMADA A, et al, 1994. Biosyntheses of sescandelin and sescandelin B: New isocoumarin compounds produced by the fungus, *Sesquicillium candelabrum* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 58(8): 1525-1526.
- KIMURA Y, NAKAJIMA H, HAMASAKI T, 1990. Sescandelin, a new root promoting substance produced by the fungus, *Sesquicillium candelabrum* [J]. *Agric Biol Chem*, 54(9): 2477-2479.
- KÜPPERS L, EBRAHIM W, EL-NEKETI M, et al, 2017. Lactones from the sponge-derived fungus *Talaromyces rugulosus* [J]. *Mar Drugs*, 15(11): 359.
- LARSEN T O, BREINHOLT J, 1999. Dichlorodiaportin, diaportinol, and diaportinic acid: Three novel isocoumarins from *Penicillium nalgiovense* [J]. *J Nat Prod*, 62(8): 1182-1184.
- LEE J H, PARK Y J, KIM H S, et al, 2001. Anti-angiogenic activities of novel isocoumarins, AGI-7 and sescandelin [J]. *J Antibiot*, 54(5): 463-466.
- LI S, WEI M, CHEN G, et al, 2012. Two new dihydroisocoumarins from the endophytic fungus *Aspergillus* sp. collected from the South China Sea [J]. *Chem Nat Compd*, 48: 371-373.
- MOSMANN T, 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. *J Immunol Methods*, 65(1/2): 55-63.
- REVEGLIA P, MASI M, EVIDENTE A, 2020. Melleins-intriguing natural compounds [J]. *Biomolecules*, 10(5): 772.
- SADDIQA A, ÇAKMAK O, USMAN M, 2017. Isocoumarins and 3,4-dihydroisocoumarins, amazing natural products: A review [J]. *Turk J Chem*, 41(2): 153-178.
- SAEED A, 2016. Isocoumarins, miraculous natural products blessed with diverse pharmacological activities [J]. *Eur J Med Chem*, 116: 290-317.
- SHABIR G, SAEED A, EL-SEEDI H R, 2021. Natural isocoumarins: Structural styles and biological activities, the revelations carry on... [J]. *Phytochemistry*, 181: 112568.
- SHYAMLAL B R K, MATHUR M, YADAV D K, et al, 2022. Discovery of natural product inspired 3-phenyl-1h-isochromen-1-ones as highly potent antioxidant and antiplatelet agents: Design, synthesis, biological evaluation, SAR and in silico studies [J]. *Curr Pharm Des*, 28(10): 829-840.
- WANG J, DING W, WANG R, et al, 2015. Identification and bioactivity of compounds from the mangrove endophytic fungus *Alternaria* sp [J]. *Mar Drugs*, 13(7): 4492-4504.