

## 马钱内生真菌 *Exserohilum rostratum* 次生代谢产物研究

易 诚, 曹海燕, 陈科良, 杨晨宇, 刘云宝\*

中国医学科学院 北京协和医学院 药物研究所 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050

**摘要:** 目的 对有毒植物马钱内生真菌 *Exserohilum rostratum* 的次生代谢产物进行研究。方法 通过硅胶柱色谱及反相 HPLC 等多种色谱分离方法进行分离纯化, 运用高分辨质谱、核磁共振波谱、红外、紫外及圆二色谱等分析方法对所分离的化合物进行结构鉴定。采用 Griess 法对化合物进行抗炎活性测试。结果 从有毒植物马钱内生真菌 *Exserohilum rostratum* 的发酵产物中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为 exserone A (1)、(3*R*,4*R*)-4,8-二羟基-3-[(*R*)-2-羟基戊基]-6,7-二甲氧基异色满-1-酮 (2)、(+)-monocerin (3)、11-hydroxymonocerin (4)、5-丁基-6-(羟甲基)-4-甲氧基-2*H*-吡喃酮 (5) 和 setophapyrone B (6)。结论 化合物 1 为新的聚酮类化合物, 命名为突蠕孢酮。化合物 3 具有潜在的抗炎活性。

**关键词:** 马钱; 内生真菌; 次生代谢产物; 抗炎; 突蠕孢酮; (+)-monocerin; 5-丁基-6-(羟甲基)-4-甲氧基-2*H*-吡喃酮

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)01-0035-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.01.005

## Investigation on secondary metabolites of endophytic fungus *Exserohilum rostratum* hosted in *Strychnos nux-vomica*

YI Cheng, CAO Hai-yan, CHEN Ke-liang, YANG Chen-yu, LIU Yun-bao

State Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

**Abstract: Objective** To study secondary metabolites of endophytic fungus *Exserohilum rostratum* hosted in *Strychnos nux-vomica*. **Methods** Separation and purification were carried out by various chromatographic separation methods such as silica gel column chromatography and HPLC. The structures of the isolated compounds were identified by HR-ESI-MS, NMR, IR, UV, and ECD. The compounds were tested for their anti-inflammatory activity by the Griess method. **Results** Six compounds, exserone A (1), (3*R*,4*R*)-4,8-dihydroxy-3-[(*R*)-2-hydroxypentyl]-6,7-dimethoxyisochroman-1-one (2), (+)-monocerin (3), 11-hydroxymonocerin (4), 5-butyl-6-(hydroxymethyl)-4-methoxy-2*H*-pyran-2-one (5) and setophapyrone B (6), were isolated from the fermentation products of endophytic fungus *E. rostratum*. **Conclusion** Compound 1 is a new polyketide and named exserone A. Compound 3 has potential anti-inflammatory activity.

**Key words:** *Strychnos nux-vomica* L.; endophytic fungus; secondary metabolites; anti-inflammation; exserone A; (+)-monocerin; 5-butyl-6-(hydroxymethyl)-4-methoxy-2*H*-pyran-2-one

植物内生真菌广泛存在于健康植物的各种组织和器官内部。在长期的与宿主植物协同进化过程中, 内生真菌会产生结构多样和生物活性良好的次生代谢产物<sup>[1-3]</sup>。马钱科植物马钱 *Strychnos nux-vomica* L. 是一种乔木植物, 全株均有毒性, 广泛分布于南亚及东南亚地区, 在我国云南、广东及海南等地有引

种栽培, 其种子马钱子为我国传统中药, 始载于《本草纲目》, 性寒味苦, 归肝、脾经, 具有通络止痛、散结消肿的功效。现代研究表明, 马钱种子、根皮、茎皮和叶中均含有吲哚类生物碱, 其中主要有毒成分是的宁和马钱子碱<sup>[4-6]</sup>。马钱植株体内特征性的活性成分, 为其内生真菌提供了独特的生长环境,

收稿日期: 2022-10-11

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (CIFMS-2022-I2M-JB-009)

作者简介: 易 诚, 中国医学科学院药物研究所硕士研究生。E-mail: yicheng@imm.ac.cn

\*通信作者: 刘云宝, 博士, 研究员, 研究方向为特殊生境微生物中新颖结构活性分子的发现及其形成机制研究。Tel: (010)83162679

E-mail: liuyunbao@imm.ac.cn

然而尚未有对其内生真菌次生代谢产物的报道。本研究针对新鲜马钱叶片进行内生真菌分离, 获得一株突脐蠕孢属真菌 *Exserohilum rostratum*。国内外研究者从该属真菌的次生代谢产物中发现了一系列具有抗菌活性的聚酮及生物碱类化合物<sup>[7-8]</sup>。本研究对该株真菌的次生代谢产物进行了系统研究, 从其 95% 乙醇提取物中分离鉴定了 6 个聚酮类化合物 (图 1), 分别鉴定为 exserone A (1)、(3*R*,4*R*)-4,8-二羟基-3-[(*R*)-2-羟基戊基]-6,7-二甲氧基异色满-1-酮 ((3*R*,4*R*)-4,8-dihydroxy-3-[(*R*)-2-hydroxypentyl]-6,7-dimethoxyisochroman-1-one, 2)、(+)-monocerin (3)、11-*hydroxy*monocerin (4)、5-丁基-6-(羟甲基)-4-甲氧基-2*H*-吡喃酮 [5-butyl-6-(hydroxymethyl)-4-methoxy-2*H*-pyran-2-one, 5] 和 setophapyrone B (6)。其中化合物 1 为新化合物, 命名为突脐蠕孢酮。

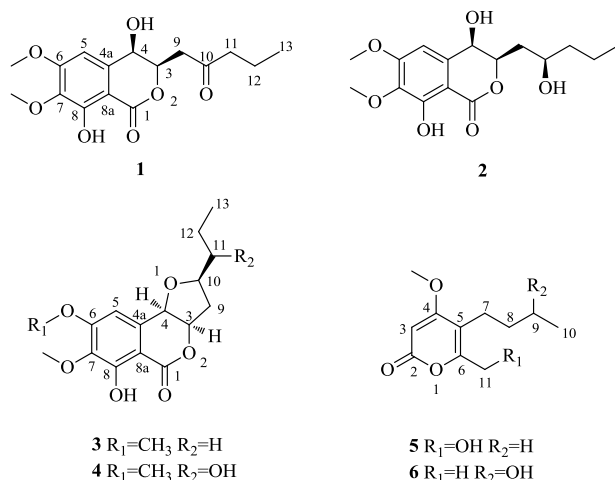


图 1 化合物 1~6 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—6

## 1 仪器与材料

安捷伦 6205 Q-TOF 高分辨质谱仪; Nicolet 5700 FT-IR 红外光谱仪; Rudolph Autopol V 旋光仪; JASCO J-810 圆二色谱仪; 安捷伦 DD2-500 或布鲁克 AVIIIHD-600 及 700 核磁共振光谱仪; 安捷伦 HP1100 型高效液相色谱仪; 岛津 LC-6AD 制备液相, SPD-20A 紫外检测器; OSB-2200 型旋转蒸发器 (日本 EYELA 公司); Sartorius GL124-1SCN 型万分之一电子分析天平 (北京赛多利斯仪器有限公司); YMC-Pack ODS-A 型 (250 mm×10 mm, 5 μm) 半制备柱; 大赛璐 CHIRAPAK AD-H 型 (250 mm×10 mm, 5 μm) 半制备柱; 硅胶 (200~300 目)、硅胶 GF<sub>254</sub> 预制板 (青岛海洋化工集团公司); 色谱甲醇、色谱乙腈 (Mreda 公司); 姜黄素 (上海麦克林生化

科技股份有限公司, 批号 c12811019); 其他试剂若无特别说明的均购于北京通广精细化工公司, 级别为分析纯。

## 2 方法

### 2.1 菌种来源

新鲜的马钱叶片采自广西省, 叶片经广西中医药大学韦松基教授鉴定为马钱科植物马钱 *S. nux-vomica* L., 样品标本 (S2506) 现保存于北京协和学院药物研究所植物标本室。

菌株 12-1-2 是从马钱 *S. nux-vomica* L. 健康叶片中分离获得的一株内生真菌。根据形态学特征以及 ITS 序列同源对比鉴定该菌株为突脐蠕孢属真菌 *E. rostratum*。该菌株现保存于中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所刘云宝课题组。

### 2.2 提取和分离

将菌种转接至 PDA 培养基中, 28 °C 下培养 5 d, 再将其接种于 PDB 培养基中于 28 °C 下培养、7 d 作为种子液。将其转接于 1 L 的三角烧瓶中 (每瓶中含 100 g 大米、100 mL 水; 高压蒸汽灭菌 15 min, 共 3 瓶), 置于室温下培养 30 d。室温下用 3 倍量 95% 乙醇对发酵好的菌丝体超声提取 3 次, 每次 30 min, 滤过后进行减压浓缩, 回收溶剂至无醇味, 共得到 20.1 g 浸膏。将所得浸膏用 5 倍量水分散, 经醋酸乙酯反复萃取 3 次, 得到醋酸乙酯部位粗膏 3.7 g。采用硅胶色谱柱对醋酸乙酯部位样品进行分离, 以二氯甲烷-甲醇 (200:1、150:1、100:1、75:1、50:1、25:1、15:1、10:1、5:1、2:1、1:1、0:1) 作为洗脱剂进行梯度洗脱得 12 个流分 (每个洗脱体积 1000 mL), 以薄层色谱进行检视, 合并流分得到 8 个不同极性组分 (Fr. 1~8)。Fr. 6 (930.3 mg) 经制备液相色谱 ( $C_{18}$  半制备柱, 流动相 45% 乙腈-55% 水) 纯化, 得到化合物 1 ( $t_R=17.6$  min, 1.5 mg) 和 2 ( $t_R=30.5$  min, 643.3 mg)。Fr. 7 (140.8 mg) 经制备液相色谱 ( $C_{18}$  半制备柱, 流动相 30% 乙腈-70% 水) 分离, 得到化合物 3 ( $t_R=21.2$ , 4.2 mg)。Fr. 8 (180.6 mg) 经制备液相色谱 ( $C_{18}$  半制备柱, 流动相 20% 乙腈-80% 水) 分离, 得到化合物 4 ( $t_R=53.4$  min, 1.3 mg)、5 ( $t_R=64.3$  min, 5.4 mg) 和 6 ( $t_R=74.4$  min, 10.4 mg)。

### 2.3 体外抗炎活性测试

根据文献报道方法<sup>[9]</sup>进行体外抗炎活性测试, 首先细胞按  $2 \times 10^5$ /孔接种于 96 孔板中, 每孔 100 μL, 贴壁 4 h 后, 加入 50 μL 的 10 μmol/L 的目标

化合物（对照孔或模型孔中加入等体积的培养基）孵育 2 h，再加入 50  $\mu\text{L}$  终质量浓度为 10 g/L 的脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）诱导（对照孔中加入等体积培养基）24 h，Griess 法测定上清中  $\text{NO}_2^-$  的含量，用以反映 NO 水平。姜黄素（终浓度为 200  $\mu\text{mol/L}$ ）作为阳性对照药物。

### 3 结果

#### 3.1 结构鉴定

化合物 **1**：淡黄色固体； $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -4.17$  ( $c$  0.12,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )；UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  (nm): 220.2 (4.218), 271.4 (3.836), 304.8 (3.446)；CD ( $c$   $\text{CH}_3\text{OH}$ ): 217.5 ( $\Delta\epsilon$  + 2.040 7), 271.0 ( $\Delta\epsilon$  -1.720 1)；IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3 362.3, 2 920.4, 1 715.1, 1 668.6, 1 278.06, 1 123.5。HR-ESI-MS  $m/z$ : 325.127 1  $[\text{M} + \text{H}]^+$ （计算值  $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{O}_7$ , 325.128 1）。 $^1\text{H-NMR}$  (700 MHz) 和  $^{13}\text{C-NMR}$  (175 MHz) 数据见表 1。

表 1 化合物 **1** 的  $^1\text{H-}$  及  $^{13}\text{C-NMR}$  数据 (700/175 MHz Methanol- $d_4$ )

Table 1  $^1\text{H-NMR}$  and  $^{13}\text{C-NMR}$  data of compound **1** (700/175 MHz Methanol- $d_4$ )

| 碳位                 | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{H}}$                                            |
|--------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------|
| 1                  | 170.4, C            |                                                                |
| 3                  | 79.4, CH            | 4.99 (ddd, $J = 7.7, 5.8, 2.2$ Hz)                             |
| 4                  | 66.6, CH            | 4.61 (d, $J = 2.2$ Hz)                                         |
| 4a                 | 139.0, C            |                                                                |
| 5                  | 104.5, CH           | 6.71 (s)                                                       |
| 6                  | 160.3, C            |                                                                |
| 7                  | 137.6, C            |                                                                |
| 8                  | 156.8, C            |                                                                |
| 8a                 | 102.9, C            |                                                                |
| 9                  | 43.7, $\text{CH}_2$ | 3.04 (dd, $J = 17.5, 5.9$ Hz)<br>3.13 (dd, $J = 17.5, 7.3$ Hz) |
| 10                 | 209.5, C            |                                                                |
| 11                 | 46.1, $\text{CH}_2$ | 2.55 (t, $J = 7.2$ Hz)                                         |
| 12                 | 18.0, $\text{CH}_2$ | 1.63 (m)                                                       |
| 13                 | 14.0, $\text{CH}_3$ | 0.95 (t, $J = 7.4$ Hz)                                         |
| 6-OCH <sub>3</sub> | 56.8, $\text{CH}_3$ | 3.95 (s)                                                       |
| 7-OCH <sub>3</sub> | 61.0, $\text{CH}_3$ | 3.80 (s)                                                       |

根据高分辨质谱，确定化合物 **1** 的分子式为  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_7$ ，含有 7 个不饱和度。化合物 **1** 的 IR 谱显示化合物 **1** 的结构中存在羟基 (3 362.3  $\text{cm}^{-1}$ )、羰基 (1 715.1  $\text{cm}^{-1}$ ) 和苯环 (1 668.6  $\text{cm}^{-1}$ )。  $^1\text{H-NMR}$

和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据显示化合物 **1** 含有 1 个酮羰基，1 个酯羰基，6 个芳香碳，2 个连氧次甲基，3 个亚甲基，2 个甲氧基，1 个甲基（表 1）； $^1\text{H-NMR}$  数据  $\delta_{\text{H}}$  6.71 (1H, s) 和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据  $\delta_{\text{C}}$  137.6, 104.5, 160.3, 139.0, 156.8, 102.9 表明化合物 **1** 中存在 1 个五取代的苯环；结合  $^{13}\text{C-NMR}$  和 HSQC 谱分析可知，碳谱中共有 16 个碳信号，包括 1 组五取代苯碳信号  $\delta_{\text{C}}$  160.3 (C-6), 156.8 (C-8), 139.0 (C-7), 137.6 (C-4a), 104.5 (C-5), 102.9 (C-8a)；1 个酯碳基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  170.4 (C-1)；1 个羰基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  209.5 (C-10)；1 个甲基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  14.0 (C-13)；3 个亚甲基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  43.7 (C-9), 46.1 (C-11), 18.0 (C-12)；2 个次甲基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  79.4 (C-3), 66.6 (C-4)。结合上述数据推断该化合物为 monocerin<sup>[11]</sup> 类衍生物；由  $^1\text{H-}^1\text{H}$  COSY 和 HSQC 图谱可推断结构中含有  $\alpha$  ( $\text{H}_2\text{-11}/\text{H}_2\text{-12}/\text{H}_3\text{-13}$ ) 和  $\beta$  ( $\text{H-4}/\text{H-3}/\text{H}_2\text{-9}$ ) 2 个自旋系统（图 2）；由 H-3 与 C-1/C-4/C-4a 以及 H-5 与 C-1 的 HMBC 相关信号推测结构中的吡喃酮环和苯环通过 C-4a 和 C-8a 联合。根据已鉴定的 2 个自旋系统  $\alpha$  和  $\beta$ ，以及  $\text{H}_2\text{-9}$ 、 $\text{H}_2\text{-11}$ 、 $\text{H}_2\text{-12}$  和 C-10 的 HMBC 信号，确定了 C-9/C-3 的结构片段；通过  $\text{H}_2\text{-9}$  和 C-3、C-4 的 HMBC 信号，确定 C-9/C-13 片段通过 C-3 与吡喃酮环连接；通过 6-OCH<sub>3</sub> 和 C-6、7-OCH<sub>3</sub> 和 C-7 的 HMBC 信号与 6-OCH<sub>3</sub> 和 H-5 的 NOE 效应分别确定了 2 个甲氧基的连接位置（图 3）。因此，化合物 **1** 的平面结构鉴定为 4,8-dihydroxy-6,7-dimethoxy-3-(2-oxopentyl) isochroman-1-one。通过 H-3 和 H-4 的偶合常数 ( $J = 2.2$  Hz) 可以确定 H-3 和 H-4 的相对构型为 *cis*<sup>[10]</sup>。化合物 **1** 的绝对构型通过计算 ECD 确定，将化合物 **1** 的其中一种构型 (3*R*,4*R*) 的计算 ECD 谱图与实验测得的 CD 谱图相比对，两者具有一致的 Cotton 效应（图 4）。因此，化合物 **1** 的结构确定为 (3*R*,4*R*)-4,8-二羟基-6,7-二甲氧基-3-(2-氧代戊基) 异色满-1-酮，命名为突蠕孢酮。

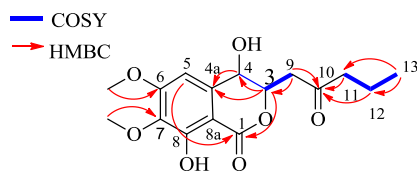


图 2 化合物 **1** 的主要  $^1\text{H-}^1\text{H}$  COSY 和 HMBC 相关信号  
Fig. 2 Key  $^1\text{H-}^1\text{H}$  COSY and HMBC correlations of compound **1**

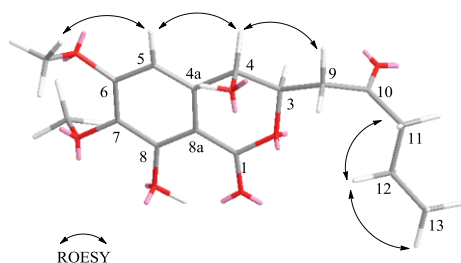


图 3 化合物 1 的主要 ROESY 相关信号

Fig. 3 Key ROESY correlations of compound 1

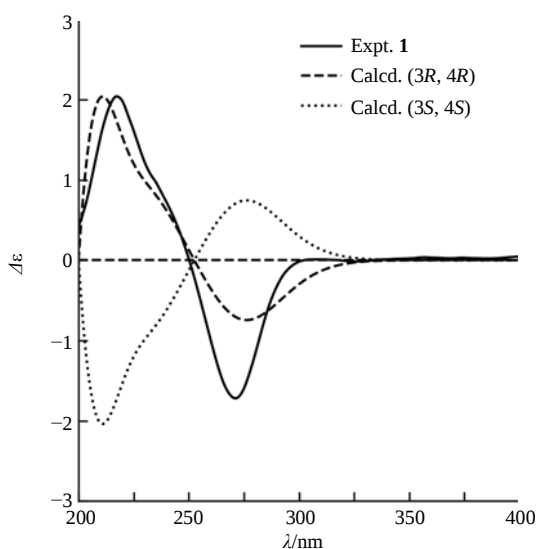


图 4 化合物 1 的实验 ECD 谱图及其计算 ECD 谱图

Fig. 4 Experimental ECD and calculated ECD spectra of compound 1

化合物 2: 无色油状物。 $[\alpha]_D^{20} -8.62$  ( $c$  0.25,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )。HR-ESI-MS  $m/z$  327.143 6  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (计算值  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{O}_7$ , 327.143 8)。 $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 11.05 (1H, s, 8-OH), 6.56 (1H, s, H-5), 4.73 (1H, ddd,  $J = 8.0, 5.4, 2.2$  Hz, H-3), 4.65 (1H, m, H-4), 3.97 (1H, m, H-10), 3.93 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 3.87 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.13 (1H, d,  $J = 6.0$  Hz, 4-OH), 2.59 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, 10-OH), 2.16 (1H, ddd,  $J = 14.6, 8.3, 1.9$  Hz, H-9 $\beta$ ), 1.86 (m, 1H, H-9 $\alpha$ ), 1.54 (2H, m, H-11), 1.47 (1H, m, H-12 $\beta$ ), 1.39 (1H, dddd,  $J = 15.7, 10.5, 7.3, 5.2$  Hz, H-12 $\alpha$ ), 0.95 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-13);  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 169.0 (C, C-1), 158.9 (C, C-8), 156.1 (C, C-6), 136.8 (C, C-7), 136.6 (C, C-4a), 102.9 (CH, C-5), 102.0 (C, C-8a), 79.6 (CH, C-3), 67.8 (CH, C-10), 67.0 (CH, C-4), 60.9 (CH<sub>3</sub>, 7-OCH<sub>3</sub>), 56.4 (CH<sub>3</sub>, 6-OCH<sub>3</sub>), 40.6 (CH<sub>2</sub>, C-9), 37.7

(CH<sub>2</sub>, C-11), 18.8 (CH<sub>2</sub>, C-12), 14.1 (CH<sub>3</sub>, C-13)。以上数据与文献报道数据基本一致<sup>[10]</sup>, 确定化合物 2 为 (3R,4R)-4,8-dihydroxy-3-[(R)-2-hydroxypentyl]-6,7-dimethoxyisochroman-1-one。

化合物 3: 无色油状物。 $[\alpha]_D^{20} +43.25$  ( $c$  0.25,  $\text{MeOH}$ )。HR-ESI-MS  $m/z$  309.132 2  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (计算值  $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{O}_6$ , 309.133 2)。 $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6.75 (1H, s, H-5), 5.05 (1H, m, H-3), 4.60 (1H, d,  $J = 2.9$  Hz, H-4), 4.10 (1H, ddt,  $J = 8.7, 7.2, 5.6$  Hz, H-10), 3.92 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 3.79 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>), 2.62 (1H, ddd,  $J = 14.6, 8.7, 6.0$  Hz, H-9 $\beta$ ), 2.01 (1H, ddd,  $J = 14.4, 5.6, 1.0$  Hz, H-9 $\alpha$ ), 1.55 (2H, m, H-11), 1.35 (2H, m, H-12), 0.89 (3H, t,  $J = 7.3$  Hz, H-13);  $^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 169.5 (C, C-1), 160.2 (C, C-6), 156.9 (C, C-8), 138.1 (C, C-7), 133.4 (C, C-4a), 106.1 (CH, C-5), 103.0 (C, C-8a), 83.1 (CH, C-3), 79.8 (CH, C-10), 75.7 (CH, C-4), 61.0 (CH<sub>3</sub>, 7-OCH<sub>3</sub>), 56.9 (CH<sub>3</sub>, 6-OCH<sub>3</sub>), 40.0 (CH<sub>2</sub>, C-9), 39.5 (CH<sub>2</sub>, C-11), 20.2 (CH<sub>2</sub>, C-12), 14.3 (CH<sub>3</sub>, C-13)。以上数据与文献数据基本一致<sup>[11]</sup>, 确定化合物 3 为 (+)-monocerin。

化合物 4: 无色油状物。 $[\alpha]_D^{20} +26.45$  ( $c$  0.05,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )。HR-ESI-MS  $m/z$  325.128 1  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (计算值  $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{O}_7$ , 325.128 1)。 $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 11.31 (1H, s, 8-OH), 6.62 (1H, s, H-5), 5.12 (1H, ddd,  $J = 6.0, 3.3, 1.7$  Hz, H-3), 4.62 (1H, d,  $J = 3.3$  Hz, H-4), 4.10 (1H, m, H-10), 3.98 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 3.93 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>), 3.74 (1H, dq,  $J = 8.0, 4.0$  Hz, H-11), 2.52 (2H, m, H-9), 1.80 (1H, d,  $J = 3.5$  Hz, 11-OH), 1.55 (1H, m, H-12 $\beta$ ), 1.45 (1H, ddq,  $J = 14.5, 8.6, 7.4$  Hz, H-12 $\alpha$ ), 1.01 (3H, t,  $J = 7.4$  Hz, H-13);  $^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 167.6 (C, C-1), 158.8 (C, C-6), 156.3 (C, C-8), 137.4 (C, C-7), 130.6 (C, C-4a), 104.3 (CH, C-5), 102.1 (C, C-8a), 81.5 (CH, C-3), 80.7 (CH, C-10), 74.6 (CH, C-4), 73.0 (CH, C-11), 60.8 (CH<sub>3</sub>, 7-OCH<sub>3</sub>), 56.3 (CH<sub>3</sub>, 6-OCH<sub>3</sub>), 33.8 (CH<sub>2</sub>, C-9), 26.0 (CH<sub>2</sub>, C-12), 10.1 (CH<sub>3</sub>, C-13)。以上数据与文献数据基本一致<sup>[12]</sup>, 确定化合物 4 为 exserolide E。

化合物 5: 棕色无定形粉末。HR-ESI-MS  $m/z$  213.112 1  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (计算值  $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{O}_4$ , 213.112 1)。 $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 5.63 (1H, s, H-3), 4.37 (2H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-11), 3.88 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>),

2.43 (2H, dd,  $J = 8.6, 6.9$  Hz, H-7), 1.42 (2H, m, H-8), 1.35 (2H, m, H-9), 0.92 (3H, t,  $J = 7.3$  Hz, H-10);  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 173.0 (C, C-4), 166.9 (C, C-2), 160.0 (C, C-6), 115.1 (C, C-5), 89.9 (CH, C-3), 59.2 ( $\text{CH}_2$ , C-11), 57.3 ( $\text{CH}_3$ , 4- $\text{OCH}_3$ ), 33.3 ( $\text{CH}_2$ , C-8), 24.2 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 23.6 ( $\text{CH}_2$ , C-9), 14.2 ( $\text{CH}_3$ , C-10)。以上数据与文献数据基本一致<sup>[13]</sup>, 确定化合物 **5** 为 5-butyl-6-(hydroxymethyl)-4-methoxy-2H-pyran-2-one。

化合物 **6**: 棕色无定形粉末。 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 2.28$  (c 0.05,  $\text{CH}_3\text{OH}$ )。经手性柱色谱分析, 确定化合物 **6** 为一对对映异构体。拆分后, 分别测得旋光值为: 9S-(+)-setosphapyrone B (5.4 mg):  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 7.2$  (c 0.05, MeOH); 9R-(-)-setosphapyrone B (3.9 mg):  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 9.6$  (c 0.05, MeOH)。HR-ESI-MS  $m/z$  213.112 0  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (计算值  $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{O}_4$ , 213.112 1)。 $^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 5.56 (1H, s, H-3), 3.87 (3H, s, 4- $\text{OCH}_3$ ), 3.70 (1H, ddd,  $J = 7.8, 6.2, 4.6$  Hz, H-9), 2.52 (1H, ddd,  $J = 13.9, 10.1, 5.6$  Hz, H-7 $\beta$ ), 2.40 (1H, ddd,  $J = 13.9, 10.0, 6.4$  Hz, H-7 $\alpha$ ), 2.26 (3H, s, H-11), 1.51 (2H, m, H-8), 1.17 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-10);  $^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 173.3 (C, C-4), 167.4 (C, C-2), 159.9 (C, C-6), 113.3 (C, C-5), 88.4 (CH, C-3), 68.0 (CH, C-9), 57.1 ( $\text{CH}_3$ , 4- $\text{OCH}_3$ ), 39.1 (C, C-8), 23.6 ( $\text{CH}_3$ , C-10), 21.6 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 17.1 ( $\text{CH}_3$ , C-11)。以上数据与文献数据比对基本一致<sup>[14]</sup>, 确定化合物 **6** 为 setosphapyrone B。

### 3.2 药理活性

对上述 6 个化合物进行体外抗炎活性测试, 显示化合物 **3** 在 10  $\mu\text{mol/L}$  的浓度下, 对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞的 NO 生成抑制率为 66.9%。其余各化合物均无显著抑制作用, 抑制率均低于 5%。

### 4 讨论

近年来, 植物内生真菌研究已成为天然产物领域的一大热点, 国内外研究者已从植物内生真菌中发现了一系列活性良好<sup>[15-17]</sup>、骨架新颖<sup>[18-19]</sup>的次生代谢产物。本研究综合利用多种分离技术从有毒植物马钱内生真菌 *E. rostratum* 中分离鉴定了 6 个聚酮类化合物, 其中 **1** 为新化合物。活性测定结果表明化合物 **3** 具有一定抗炎活性。以上研究结果在一定程度上丰富了植物内生真菌 *E. rostratum* 次生代谢产物的化学结构和活性的多样性。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] Strobel G, Daisy B, Castillo U, et al. Natural products from endophytic microorganisms [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67(2): 257-268.
- [2] Cao H Y, Yi C, Sun S F, et al. Anti-inflammatory dimeric tetrahydroxanthones from an endophytic *Muyocopron laterale* [J]. *J Nat Prod*, 2022, 85(1): 148-161.
- [3] Yang H X, Ai H L, Feng T, et al. Trichothecrotocins A-C, antiphytopathogenic agents from potato endophytic fungus *Trichothecium crotocinigenum* [J]. *Org Lett*, 2018, 20(24): 8069-8072.
- [4] 宝乐尔, 毕力格, 孟香花, 等. 马钱子研究进展 [J]. 中国民族医药杂志, 2021, 27(8): 41-45.
- [5] 吴小娟, 马凤森, 郑高利, 等. 马钱子喹啉类生物碱毒性研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2016, 32(6): 231-235.
- [6] 贾旋旋, 李文, 李俊松, 等. 马钱子的毒性研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(18): 2396-2399.
- [7] Sappapan R, Sommit D, Ngamrojanavanich N, et al. 11-Hydroxymonocerin from the plant endophytic fungus *Exserohilum rostratum* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(9): 1657-1659.
- [8] Tan R X, Jensen P R, Williams P G, et al. Isolation and structure assignments of rostratins A-D, cytotoxic disulfides produced by the marine-derived fungus *Exserohilum rostratum* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67(8): 1374-1382.
- [9] 李晓红, 齐云, 蔡润兰, 等. 芦荟大黄素对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 NO 生成及 iNOS 表达的影响 [J]. 中国药理学通报, 2010, 26(4): 488-492.
- [10] Zhang W, Krohn K, Draeger S, et al. Bioactive isocoumarins isolated from the endophytic fungus *Microdochium bolleyi* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(6): 1078-1081.
- [11] Ghosh A K, Lee D S. Enantioselective total synthesis of (+)-monocerin, a dihydroisocoumarin derivative with potent antimalarial properties [J]. *J Org Chem*, 2019, 84(10): 6191-6198.
- [12] Li R X, Chen S X, Niu S B, et al. Exserolides A-F, new isocoumarin derivatives from the plant endophytic fungus *Exserohilum* sp [J]. *Fitoterapia*, 2014, 96: 88-94.
- [13] Metwaly A M, Fronczek F R, Ma G Y, et al. Antileukemic  $\alpha$ -pyrone derivatives from the endophytic fungus *Alternaria phragmospora* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2014, 55(24): 3478-3481.
- [14] Pang X Y, Lin X P, Yang J, et al. Spiro-phthalides and isocoumarins isolated from the marine-sponge-derived fungus *Setosphaeria* sp. SCSIO41009 [J]. *J Nat Prod*, 2018, 81(8): 1860-1868.

- [15] Yin G P, Gong M, Xue G M, *et al.* Penispidins A-C, aromatic sesquiterpenoids from *Penicillium virgatum* and their inhibitory effects on hepatic lipid accumulation [J]. *J Nat Prod*, 2021, 84(10): 2623-2629.
- [16] Zhang W G, Lu X X, Huo L Q, *et al.* Sesquiterpenes and steroids from an endophytic *Eutypella scoparia* [J]. *J Nat Prod*, 2021, 84(6): 1715-1724.
- [17] Daley S K, Cordell G A. Biologically significant and recently isolated alkaloids from endophytic fungi [J]. *J Nat Prod*, 2021, 84(3): 871-897.
- [18] Song B, Li L Y, Shang H, *et al.* Trematosphones A and B, two unique dimeric structures from the desert plant endophytic fungus *Trematosphaeria terricola* [J]. *Org Lett*, 2019, 21(7): 2139-2142.
- [19] Yan B C, Wang W G, Hu D B, *et al.* Phomopchalasins A and B, two cytochalasans with polycyclic-fused skeletons from the endophytic fungus *Phomopsis sp. shj2* [J]. *Org Lett*, 2016, 18(5): 1108-1111.

[责任编辑 王文倩]