

石菖蒲内生真菌灰黄青霉 Z005 次级代谢产物的研究

赵松峰, 张 晓, 袁永亮, 张晓坚*

郑州大学第一附属医院药学部, 河南 郑州 450052

摘 要:目的 研究药用植物石菖蒲内生真菌灰黄青霉 *Penicillium griseofulvum* Z005 的次级代谢产物。方法 利用包括硅胶、ODS、Sephadex LH-20、半制备 HPLC 等色谱方法, 对目标菌株的大米固体发酵提取物进行系统的分离纯化, 并结合理化常数与现代的谱学方法进行化合物的结构鉴定。结果 从石菖蒲内生真菌灰黄青霉 Z005 固体发酵产物中分离鉴定了 1 个新化合物和 12 个已知化合物。分别为灰黄青霉呋喃醇 A (1)、chaetominine (2)、dehydrocyclopeptide (3)、1-methylcyclopentenin (4)、4-(2-羟基丁炔氧基) 苯甲酸 (5)、penipratynolene (6)、hypofuran B (7)、lobechine (8)、4-(2-甲酰基-5-甲氧基甲基-1*H*-吡咯-1-基) 丁酸 (9)、2-呋喃甲醇-(5'→11)-1,3-环戊二烯-[5,4-*c*]-1*H*-邻二氮杂萘 (10)、*N*-乙酰色胺 (11)、1*H*-吲哚-3-基甲基氨基甲酸甲酯 (12) 和顺式阿魏酸甲酯 (13)。结论 灰黄青霉 Z005 为首次从石菖蒲健康组织中分离获得, 化合物 1 为新的苯并呋喃类化合物, 命名为灰黄青霉呋喃醇 A (penicifuranol A); 化合物 2~10 和 12~13 均为首次从该种真菌中分离得到。

关键词: 石菖蒲; 内生真菌; *Penicillium griseofulvum* Z005; 次级代谢产物; 灰黄青霉呋喃醇 A

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)10-3054-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.10.002

Secondary metabolites of *Acorus tatarinowii* endophytic fungus *Penicillium griseofulvum* Z005

ZHAO Song-feng, ZHANG Xiao, YUAN Yong-liang, ZHANG Xiao-jian

Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Abstract: Objective To study the secondary metabolites of an endophytic fungus *Penicillium griseofulvum* Z005 isolated from the medicinal plant *Acorus tatarinowii*. **Methods** Various column chromatography methods, including silica gel, ODS, Sephadex LH 20, and semipreparative HPLC were applied to isolate and purify compounds from the solid rice fermentation extract of *P. griseofulvum* Z005, and their chemical structures were elucidated by physical chemical constants and modern spectroscopy techniques. **Results** One new compound and 12 known compounds were isolated and identified from the solid fermentation products of endophytic fungus *P. griseofulvum* Z005, and their structures were identified as penicifuranol A (1), chaetominine (2), dehydrocyclopeptide (3), 1-methylcyclopentenin (4), 4-(2-hydroxybutynoxy)benzoic acid (5), penipratynolene (6), hypofuran B (7), lobechine (8), 4-(2-formyl-5-methoxymethyl-1*H*-pyrrole-1-yl)butanoic acid (9), 2-furanmethanol-(5'→11)-1,3-cyclopentadiene-[5,4-*c*]-1*H*-cinnoline (10), *N*-acetyltryptamine (11), methyl 1*H*-indol-3-ylmethylcarbamate (12), and methyl (*Z*)-ferulic acid ester (13), respectively. **Conclusion** The endophytic fungus *P. griseofulvum* Z005 was firstly gained from the healthy tissue of *A. tatarinowii*, and compound 1 was a new benzofuran compound, and compounds 2—10 and 12—13 are isolated from fungus *P. griseofulvum* Z005 for the first time.

Key words: *Acorus tatarinowii* Schott; endophytic fungus; *Penicillium griseofulvum* Z005; secondary metabolites; penicifuranol A

植物内生菌 (endophyte) 是一定阶段或全部阶段生活于健康植物的组织和器官内部的真菌或细菌。几千年来, 由于科技水平的局限, 对药用植物

的研究主要集中在化学成分、药理作用、不良反应、功效、性状、产地等宏观因素上, 而忽略了植物内环境这个微生态系统。自从人们发现了植物内生菌

收稿日期: 2023-03-02

基金项目: 河南省科技厅科技攻关项目 (172102310430)

作者简介: 赵松峰, 男, 博士, 研究方向为药物化学。E-mail: zhaosongfeng0821@126.com

*通信作者: 张晓坚, 男, 主任药师, 研究方向为天然药物化学。Tel: (0371)66969642 E-mail: Zhxj0524@sina.com

以来,开辟了从微生物、植物内环境等微观视角重新审视影响药用植物品质的因素^[1]。内生菌与植物长期互利共生,可影响植物众多的生理活动和代谢过程,一方面分泌植物激素、生长因子等信号分子,促进植物的生长发育,另一方面可调控植物活性次级代谢产物的含量积累和新结构的产生^[2]。尽管药用植物次级代谢产物具有广阔的药理活性和重要的生物功能,但天然产量低,无法满足人们日益增长的医药需求。通过挖掘药用植物内生真菌的化学结构多样性,并探究与宿主之间的化学成分关联,对于开发新的药用微生物资源具有重要的现实意义^[3]。

石菖蒲 *Acorus tatarinowii* Schott 为天南星科 (Araceae) 菖蒲属 *Acorus* L. 多年生草本植物,主要分布于我国长江以南各省区;其干燥根茎可入药,始载于《神农本草经》,味辛性温,既能芳香化湿、理气活血,也具有醒神益智、化痰开窍等功效^[4]。本课题组前期对药用植物石菖蒲的化学物质基础进行了研究^[5],为了进一步挖掘其内生真菌的化学多样性并探究其与宿主的生态关联性,本实验对分离自药用植物石菖蒲的新鲜根茎的一株内生真菌 (*Penicillium griseofulvum* Z005) 的大米固体发酵物的化学成分进行研究,共分离鉴定 13 个化合物,包括 1 个新化合物,命名为灰黄青霉呋喃醇 A (penicifuranol A, **1**); 其余已知化合物分别为 chaetominine (**2**)、dehydrocyclopeptine (**3**)、1-methylcyclophenin (**4**)、4-(2-羟基丁炔氧基) 苯甲酸 [4-(2-hydroxybutynoxy)benzoic acid, **5**]、penipratynolene (**6**)、hypofuran B (**7**)、lobechine (**8**)、4-(2-甲氧基-5-甲氧基甲基-1*H*-吡咯-1-基) 丁酸 [4-(2-formyl-5-methoxymethyl-1*H*-pyrrole-1-yl)butanoic acid, **9**]、2-呋喃甲醇-(5'→11)-1,3-环戊二烯-[5,4-*c*]-1*H*-邻二氮杂萘 [2-furanmethanol-(5'→11)-1,3-cyclopentadiene-[5,4-*c*]-1*H*-cinnoline, **10**]、*N*-乙酰色胺 (*N*-acetyltryptamine, **11**)、1*H*-吡啶-3-基甲基氨基甲酸甲酯 (methyl 1*H*-indol-3-ylmethylcarbamate, **12**) 和顺式阿魏酸甲酯 [methyl (*Z*)-ferulic acid ester, **13**]。灰黄青霉 *P. griseofulvum* Z005 为首次从石菖蒲健康组织中分离获得,化合物 **1** 为新的苯并呋喃类化合物,化合物 **2**~**10**、**12** 和 **13** 均为首次从该种真菌中分离得到。

1 仪器与材料

Bruker AM-400 核磁共振仪 (Bruker 公司), LC3000 型高效液相色谱仪 (北京创新通恒科技有限公司), YMC-Pack ODS-A C₁₈ 反相半制备柱 (250

mm×9.4 mm, 50 μm), API QSTAR Pulsar 1 型质谱仪, PE-341LC 旋光仪 (美国 PerkinElmer 公司), Cary 50 型紫外可见分光仪 (美国 Varian 公司); 柱色谱硅胶 200~300 目 (青岛海洋化工厂), Sephadex LH-20 (Pharmacia Biotech 产品, 瑞典), ODS-AQ (50 μm, YMC 产品), GF254 高效硅胶薄层色谱板 (烟台化工研究所); 色谱纯试剂由上海国药集团化学试剂有限公司提供, 分析纯试剂由上海强顺化学试剂有限公司提供。

2 发酵、提取与分离

石菖蒲植物于 2018 年 9 月采自河南省郑州市, 经河南省郑州市郑州大学第一附属医院中医药学部王娟主任药师鉴定。所研究内生真菌从石菖蒲新鲜根茎经表面消毒后分离得到。ITS1-4 序列分析与灰黄青霉 (GenBank 注册号为 OP214767) 序列相似度为 100%, 结合进一步的真菌形态学分析, 目标菌种被赵松峰博士鉴定为灰黄青霉 *Penicillium griseofulvum* Z005。药用植物石菖蒲标本和目标菌株均保存于郑州大学第一附属医院药学部。

菌种接种于 PDA 培养基上, 在 26 °C 条件下培养 1 周, 切碎后接种于高压灭菌的 5 kg 大米培养基中 (200 g 大米加水 180 mL), 在 26 °C 条件下静置发酵培养 35 d。在室温条件下, 发酵物经醋酸乙酯浸提 5 次, 减压浓缩回收溶剂后得醋酸乙酯萃取总浸膏 95 g。总浸膏经 200~300 目硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇 (50:1→0:1) 梯度洗脱后得到 6 个流分段 (A~F)。流分段 C (12 g) 经正相硅胶色谱柱 (二氯甲烷-甲醇 10:1; 石油醚-醋酸乙酯 1:1)、Sephadex LH-20 (甲醇为洗脱剂), 以及半制备 HPLC (甲醇-水 50:50; 乙腈-水 45:55) 等色谱方法分离, 得到化合物 **2** (15.2 mg)、**3** (8.1 mg)、**4** (4.5 mg)、**5** (6.4 mg) 和 **11** (6.5 mg)。流分段 D (15 g) 经过 ODS RP-C₁₈ 色谱柱 (洗脱剂: 甲醇-水, 20:80→100:0)、正相硅胶色谱柱 (二氯甲烷-甲醇 8:1; 石油醚-醋酸乙酯 1:1)、Sephadex LH-20 (甲醇为洗脱剂), 以及半制备反相 HPLC (甲醇-水 45:55; 乙腈-水 40:60) 等, 分离得到化合物 **1** (4.3 mg)、**6** (3.6 mg)、**7** (8.0 mg)、**8** (5.2 mg)、**9** (3.9 mg)、**10** (5.5 mg)、**12** (7.7 mg) 和 **13** (10.2 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状物 (甲醇)。紫外光谱显示其在 212 和 298 nm 处有最大吸收。红外光谱表明该化合物具有羟基 (3400 cm⁻¹) 和苯环 (1587 和

1441 cm^{-1}) 的吸收峰。HRESIMS 谱给出准分子离子峰 m/z 301.141 5 (计算值为 301.141 0), 可以确定化合物的分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$ 。 ^1H -NMR (表 1) 显示化合物 **1** 有 4 个烯质子信号 δ_{H} 7.06 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-4)、6.58 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-5)、6.67 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-6) 和 5.98 (1H, dt, $J = 11.4, 7.0$ Hz, H-7)、2 个含氧亚甲基信号 δ_{H} 4.43 (2H, brs, H₂-9) 和 4.06 (2H, d, $J = 7.0$ Hz, H₂-10)、1 个含氧次甲基信号 δ_{H} 4.63 (1H, dt, $J = 9.4, 8.6$ Hz, H-2)、2 个甲基信号 δ_{H} 1.20 (3H, s, H₃-12) 和 1.34 (3H, s, H₃-13) 等。 ^{13}C -NMR (表 1) 表明化合物 **1** 共有 16 个碳信号。根据 HMBC 谱 (图 1), 观察到 H-6 到 C-5、C-5a 和 C-9a, OCH₃ 到 C-9, H-9 到 C-5a、C-9a 和 C-9b, H₂-3 到 C-3a、C-4 和 C-9b, 与 H₃-13 到 C-2、C-11 和 C-12 的相关信号, 以及 ^1H - ^1H COSY 谱 (图 1), H-7 与 H-6 和 H₂-10、H-4 与 H-5、以及 H-2 与 H₂-3 的相关信号, 表明化合物 **1** 为苯并呋喃类衍生物^[6]。

化合物 **1** 的 H-6 与 H-7 之间的耦合常数为 11.4 Hz (表 1), 表明 H-6 与 H-7 的双键为 *Z* 构型。在测试的 ECD 谱图 (图 2) 中, 化合物 **1** 在 213 nm 处显示出很强的负 Cotton 效应, 与文献中报道的苯

表 1 化合物 **1** 的 ^1H -和 ^{13}C -NMR 波谱数据 (400/100 MHz, CDCl_3)

Table 1 ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data for compound **1** (400/100 MHz, CDCl_3)

碳位	δ_{H}	δ_{C}
2	4.63 (1H, dd, $J = 9.4, 8.6$ Hz)	89.6 (CH)
3	3.13 (1H, dd, $J = 15.8, 9.4$ Hz), 3.21 (1H, dd, $J = 15.8, 8.6$ Hz)	30.8 (CH ₂)
3a		126.5 (C)
4	7.06 (1H, d, $J = 7.6$ Hz)	124.5 (CH)
5	6.58 (1H, d, $J = 7.6$ Hz)	121.8 (CH)
5a		137.2 (C)
6	6.67 (1H, d, $J = 11.4$ Hz)	129.5 (CH)
7	5.98 (1H, dt, $J = 11.4, 7.0$ Hz)	132.7 (CH)
9	4.43 (2H, brs)	66.3 (CH ₂)
9a		116.9 (C)
9b		159.2 (C)
10	4.06 (2H, d, $J = 7.0$ Hz)	59.1 (CH ₂)
11		71.9 (C)
12	1.20 (3H, s)	24.3 (CH ₃)
13	1.34 (3H, s)	26.3 (CH ₃)
9-OCH ₃	3.38 (3H, d, $J = 1.1$ Hz)	58.3 (CH ₃)

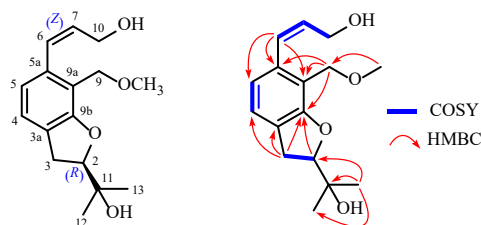


图 1 化合物 **1** 的化学结构及主要 HMBC 和 ^1H - ^1H COSY 相关信号

Fig. 1 Chemical structure and key HMBC and ^1H - ^1H COSY correlations of compound **1**

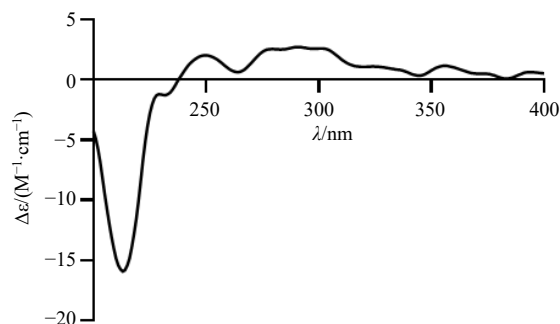


图 2 化合物 **1** 的 ECD 谱图

Fig. 2 ECD spectrum of compound **1**

并呋喃类似物 asperfuranoid A^[6] 的在末端吸收处显示的负 Cotton 效应一致, 表明化合物 **1** 的 C-2 位构型为 *R*; 因此, 化合物 **1** 的平面结构和绝对构型得以确定, 该化合物命名为灰黄青霉呋喃醇 A。

化合物 **2**: 无色晶体 (甲醇), ESI-MS m/z : 425 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_4$; ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.28 (1H, s, H-24), 8.18 (1H, brd, $J = 7.8$ Hz, H-19), 7.86 (1H, dt, $J = 7.8, 1.0$ Hz, H-21), 7.69 (1H, brd, $J = 7.8$ Hz, H-22), 7.58 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-20), 7.50 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-8), 7.49 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 7.43 (1H, dd, $J = 7.8, 1.0$ Hz, H-7), 7.25 (1H, dd, $J = 7.8, 1.0$ Hz, H-6), 5.92 (1H, s, H-14), 4.61 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, H-11), 2.93 (1H, t, $J = 12.5$ Hz, H-13b), 2.53 (1H, dd, $J = 12.5, 2.5$ Hz, H-13a), 1.60 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-12); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 172.5 (C-10), 165.9 (C-17), 160.5 (C-15), 147.9 (C-24), 147.2 (C-23), 139.2 (C-9), 137.2 (C-4), 135.2 (C-21), 130.4 (C-7), 127.8 (C-20), 127.7 (C-22), 126.9 (C-19), 126.0 (C-6), 125.4 (C-5), 121.6 (C-18), 115.0 (C-8), 83.0 (C-2), 76.8 (C-3), 60.1 (C-11), 50.9 (C-14), 38.6 (C-13), 14.5 (C-12)。以上数据与文献报

道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **2** 为 chaetominine。

化合物 **3**: 无色晶体 (甲醇), ESI-MS m/z : 301 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{17}H_{14}N_2O_2$; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.02 (1H, dd, $J = 7.9, 1.6$ Hz, H-6), 7.48 (1H, ddd, $J = 8.0, 7.3, 1.6$ Hz, H-8), 7.39 (2H, m, H-3', 5'), 7.36 (2H, m, H-2', 6'), 7.35 (1H, m, H-4'), 7.06 (1H, dd, $J = 8.2, 1.1$ Hz, H-9), 6.95 (1H, s, H-10), 3.20 (3H, s, NH_3 -4); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 171.7 (C-2), 166.9 (C-5), 135.7 (C-9a), 133.5 (C-3), 132.9 (C-8), 132.2 (C-1'), 131.6 (C-10), 131.5 (C-6), 130.0 (C-4'), 129.6 (C-2', 6'), 129.2 (C-3', 5'), 125.7 (C-5a), 125.2 (C-7), 120.6 (C-9), 36.2 (4- NCH_3)。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **3** 为 dehydrocyclopeptide。

化合物 **4**: 无色油状物 (甲醇), ESI-MS m/z : 331 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{18}H_{16}N_2O_3$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.56 (1H, m, H-8), 7.30 (1H, m, H-4'), 7.22 (2H, m, H-3', 5'), 7.18 (1H, m, H-6), 7.14 (1H, m, H-7), 7.06 (1H, dd, $J = 7.9, 1.6$ Hz, H-9), 6.69 (2H, m, H-2', 6'), 4.18 (1H, s, H-10), 3.35 (3H, s, 1- NH_3), 3.20 (3H, s, 4- NH_3); ^{13}C -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 168.6 (C-2), 168.3 (C-5), 136.5 (C-5a), 134.0 (C-8), 132.1 (C-6), 132.1 (C-1'), 130.1 (C-4'), 129.1 (2C, C-2', C-6'), 127.3 (2C, C-3', C-5'), 126.1 (C-7), 122.3 (C-9), 71.7 (C-3), 66.0 (C-10), 49.8 (1- NCH_3), 31.6 (4- NCH_3)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **4** 为 1-methylcyclophenin。

化合物 **5**: 无色油状物 (甲醇), ESI-MS m/z : 229 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{11}H_{10}O_4$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.98 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-2, H-6), 7.03 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-3, H-5), 4.70 (1H, ddd, $J = 6.6, 4.2, 2.2$ Hz, H-2'), 4.17 (1H, dd, $J = 9.8, 4.2$ Hz, H-1'a), 4.11 (1H, dd, $J = 9.8, 7.1$ Hz, H-1'b), 2.93 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-4'); ^{13}C -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 169.7 (C-7), 163.9 (C-4), 132.8 (2C, C-2, C-6), 124.5 (C-1), 115.4 (2C, C-3, C-5), 82.9 (C-3'), 75.0 (C-4'), 72.9 (C-1'), 61.6 (C-2')。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **5** 为 4-(2-羟基丁炔氧基) 苯甲酸。

化合物 **6**: 无色油状物 (甲醇), ESI-MS m/z : 243 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{12}H_{12}O_4$; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.90 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-2, H-6), 6.86 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-3, H-5), 4.69 (1H, m, H-2'), 4.10

(1H, dd, $J = 9.6, 3.7$ Hz, H-1'a), 4.04 (1H, dd, $J = 9.6, 6.9$ Hz, H-1'b), 3.79 (3H, s, 7- OCH_3), 2.45 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-4'); ^{13}C -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.8 (C-7), 162.0 (C-4), 131.8 (C-2, 6), 123.6 (C-1), 114.4 (C-3, 5), 80.9 (C-3'), 74.8 (C-4'), 71.5 (C-1'), 61.3 (C-2'), 52.1 (7- OCH_3)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **6** 为 penipratynolene。

化合物 **7**: 无色油状物 (甲醇), ESI-MS m/z : 267 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{14}H_{12}O_4$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 9.60 (1H, s, H-14), 7.34 (1H, s, H-8), 7.02 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2, H-6), 6.86 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3, H-5), 6.33 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-11), 6.22 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-10), 4.47 (1H, s, H-13); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 195.2 (C-14), 159.6 (C-12), 159.1 (C-4), 151.9 (C-9), 140.0 (C-7), 137.9 (C-8), 131.6 (C-2, 6), 125.4 (C-1), 118.5 (C-10), 115.3 (C-3, 5), 111.3 (C-11), 57.5 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **7** 为 hypofuran B。

化合物 **8**: 无色油状物 (甲醇), ESI-MS m/z : 290 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{14}H_{21}NO_4$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 9.44 (1H, s, H-1'), 6.99 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-3), 6.27 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-4), 4.53 (2H, s, H_2 -1'''), 4.37 (2H, m, H_2 -1''), 3.50 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H_2 -1'''), 2.26 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H_2 -3''), 2.02 (2H, m, H_2 -2''), 1.57 (2H, m, H_2 -2'''), 1.38 (2H, m, H_2 -3'''), 0.91 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-4'''); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 181.0 (C-1'), 177.8 (C-4''), 141.5 (C-5), 133.7 (C-2), 126.0 (C-3), 112.7 (C-4), 71.3 (C-1'''), 64.7 (C-1''), 46.1 (C-1'), 33.3 (C-2'''), 32.8 (C-3''), 28.2 (C-2''), 20.4 (C-3'''), 14.2 (C-4''')。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **8** 为 lobechine。

化合物 **9**: 无色油状物 (甲醇), ESI-MS m/z : 248 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{11}H_{15}NO_4$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 9.45 (1H, s, H-1'), 6.99 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-3), 6.29 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-4), 4.50 (2H, s, H_2 -1'''), 4.36 (2H, m, H_2 -1''), 3.36 (3H, s, 1'''- OCH_3), 2.26 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H_2 -3''), 2.00 (2H, m, H_2 -2''); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 181.1 (C-1'), 177.9 (C-4''), 141.0 (C-5), 133.8 (C-2), 125.9 (C-3), 112.9 (C-4), 66.3 (C-1'''), 58.2 (1'''- OCH_3), 46.1 (C-1''), 33.3 (C-3''), 28.3 (C-2'')。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **9** 为 4-(2-甲酰基-5-甲氧基甲基-1H-吡咯-1-基) 丁酸。

化合物 **10**: 无色油状物 (甲醇), ESI-MS m/z : 287 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{16}H_{12}N_2O_2$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.29 (1H, d, $J = 5.3$ Hz, H-9), 8.18 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-5), 8.01 (1H, d, $J = 5.3$ Hz, H-10), 7.71 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-8), 7.59 (1H, ddd, $J = 8.3, 7.1, 1.2$ Hz, H-7), 7.29 (1H, ddd, $J = 8.1, 7.1, 1.0$ Hz, H-6), 7.22 (1H, d, $J = 3.4$ Hz, H-4'), 6.59 (1H, d, $J = 3.4$ Hz, H-3'), 4.76 (2H, s, H_2-1''); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 157.1 (C-2'), 154.3 (C-5'), 143.0 (C-8a), 138.6 (C-9), 134.4 (C-11), 132.5 (C-3), 132.1 (C-4), 129.9 (C-7), 122.5 (C-5), 122.1 (C-4a), 121.1 (C-6), 114.9 (C-10), 113.2 (C-8), 111.0 (C-3'), 110.9 (C-4'), 57.5 (C-1''). 以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **10** 为 2-呋喃甲醇-(5'→11)-1,3-环戊二烯-[5,4-*c*]-1*H*-邻二氮杂萘。

化合物 **11**: 无色油状物 (甲醇), ESI-MS m/z : 225 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{12}H_{14}N_2O$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.55 (1H, dt, $J = 7.9, 1.0$ Hz, H-4), 7.32 (1H, dt, $J = 8.1, 1.0$ Hz, H-7), 7.09 (1H, m, H-6), 7.06 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-2), 7.00 (1H, ddd, $J = 8.0, 7.0, 1.1$ Hz, H-5), 3.46 (2H, d, $J = 7.3$ Hz, H_2-9), 2.93 (2H, m, H_2-8), 1.91 (3H, s, H_3-12); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 173.2 (C-11), 138.2 (C-7a), 128.8 (C-3a), 123.3 (C-2), 122.3 (C-6), 119.6 (C-5), 119.2 (C-4), 113.3 (C-3), 112.2 (C-7), 41.6 (C-9), 26.2 (C-8), 22.6 (C-12)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **11** 为 *N*-acetyltryptamine。

化合物 **12**: 无色油状物 (甲醇), ESI-MS m/z : 211 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{11}H_{12}N_2O$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.51 (1H, dt, $J = 7.9, 1.0$ Hz, H-6), 7.34 (1H, dt, $J = 8.2, 1.0$ Hz, H-5), 7.15 (1H, s, H-2), 7.08 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-4), 6.99 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-7), 3.77 (2H, d, $J = 0.9$ Hz, H_2-8), 3.68 (3H, s, 10-OCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 174.8 (C-10), 138.0 (C-7a), 128.6 (C-3a), 124.6 (C-2), 122.5 (C-6), 119.9 (C-5), 119.3 (C-4), 112.2 (C-3), 108.5 (C-7), 52.3.6 (10-OCH₃), 31.9 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **12** 为 1*H*-吡啶-3-基甲基氨基甲酸甲酯。

化合物 **13**: 无色油状物 (甲醇), ESI-MS m/z : 231 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{11}H_{12}O_4$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.79 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.10 (1H, dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz, H-6), 6.84 (1H, d, $J = 12.9$

Hz, H-7), 6.76 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 5.77 (1H, d, $J = 12.9$ Hz, H-8), 3.87 (3H, s, 3-OCH₃), 3.71 (3H, s, 10-OCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 168.7 (C-9), 149.6 (C-4), 148.3 (C-3), 145.4 (C-7), 128.0 (C-1), 126.8 (C-6), 116.1 (C-8), 115.7 (C-5), 114.9 (C-2), 56.3 (3-OCH₃), 51.7 (9-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **13** 为顺式阿魏酸甲酯。

4 讨论

本实验综合利用各种色谱分离技术对药用植物石菖蒲内生真菌 *P. griseofulvum* Z005 的化学成分进行了系统的研究, 共得到 13 个化合物, 并运用谱学技术鉴定了它们的化学结构, 包括 8 个生物碱和 5 聚酮衍生物, 与前期对石菖蒲的物质基础研究发现的木脂素类、苯丙烷类、倍半萜类等化合物的结构类型存在较大的差异, 表明了药用植物内生真菌具有丰富的化学多样性, 本实验中灰黄青霉 *P. griseofulvum* Z005 为首次从石菖蒲健康组织中分离获得, 化合物 **1** 为新的苯并呋喃类衍生物。另外, 除了化合物 **11** 外, 其余化合物均为首次从该种真菌中分离得到, 该研究为药用微生物新资源的挖掘和中药石菖蒲的进一步开发利用提供了重要的依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Huang Y, Zeng D Q, Tang W W, et al. Research advances of endophytic fungi bioactive components [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2020, 32: 1419-1437.
- [2] Liu C, Qian G, Li L. A review of endophytes and their role in producing active ingredients of medicinal plants [J]. *J Zunyi Med Univer*, 2021, 44(6): 801-806.
- [3] Liang Z H, Tang T. Effects of endophytes on biosynthesis of secondary metabolites and stress tolerance in plants [J]. *Biotech Bulletin*, 2021, 37(8): 35-45.
- [4] 李广志, 陈峰, 沈连钢, 等. 石菖蒲根茎的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2013, 44(7): 808-811.
- [5] Zhao S F, Zhang X, Shi X Q, et al. Chemical constituents of stems of *Acorus tatarinowii* [J]. *Chin Pharm J*, 2018, 53(8): 585-588.
- [6] Cai R L, Jiang H M, Zang Z M, et al. New benzofuranoids and phenylpropanoids from the mangrove endophytic fungus, *Aspergillus* sp. ZJ-68 [J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(8): 478.
- [7] Jiao R H, Xu S, Liu J Y, et al. Chaetominine, a cytotoxic alkaloid produced by endophytic *Chaetomium* sp. IFB-E015 [J]. *Org Lett*, 2006, 8(25): 5709-5712.

- [8] He P, Tian S S, Xu Y, *et al.* Three new phenyl ether derivatives from *Aspergillus carneus* HQ889708 [J]. *Helv Chim Acta*, 2015, 98(6): 819-822.
- [9] Li J, Wang J, Jiang C S, *et al.* (+)-Cyclophenol, a new naturally occurring 7-membered 2, 5-dioxopiperazine alkaloid from the fungus *Penicillium sclerotiorum* endogenous with the Chinese mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2014, 16(5): 542-548.
- [10] Oh H, Swenson D C, Gloer J B, *et al.* New bioactive rosigenin analogues and aromatic polyketide metabolites from the freshwater aquatic fungus *Massarina tunicata* [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(1): 73-79.
- [11] Nakahara S, Kusano M, Fujioka S, *et al.* Penipratynolene, a novel nematocide from *Penicillium bilaiae* chalabuda [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2004, 68(1): 257-259.
- [12] Ding L J, Gu B B, Jiao W H, *et al.* New furan and cyclopentenone derivatives from the sponge-associated fungus *Hypocrea koningii* PF04 [J]. *Mar Drugs*, 2015, 13(9): 5579-5592.
- [13] Kuo P C, Hwang T L, Lin Y T, *et al.* Chemical constituents from *Lobelia chinensis* and their anti-virus and anti-inflammatory bioactivities [J]. *Arch Pharm Res*, 2011, 34(5): 715-722.
- [14] Lv J H, Yao L, Duan C, *et al.* New bioactive α -pyrone from wild mushroom *Paxillus involutus* [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 36(11): 2707-2712.
- [15] Chen C J, Deng A J, Liu C, *et al.* Hepatoprotective activity of *Cichorium endivia* L. extract and its chemical constituents [J]. *Molecules*, 2011, 16(11): 9049-9066.
- [16] Hu X Y, Li X M, Yang S Q, *et al.* Three new sesquiterpenoids from the algal-derived fungus *Penicillium chermesinum* EN-480 [J]. *Mar Drugs*, 2020, 18(4): 194.
- [17] Pedras M S C, Chumala P B, Jin W, *et al.* The phytopathogenic fungus *Alternaria brassicicola*: Phytotoxin production and phytoalexin elicitation [J]. *Phytochemistry*, 2009, 70(3): 394-402.
- [18] Cao X X, Sun J Y, Liu C, *et al.* Antiradical aromatic constituents from *Pleurotus eryngii* [J]. *Rec Nat Prod*, 2021, 15(3): 169-174.

[责任编辑 王文倩]