南烛内生真菌 *Cercophora* sp. UJN-EF001 的次级代谢产物研究

李俊江[1], 潘银波[1], 赵江宁[2], 王荫荫[1], 张君生[1*], 张　华[1*]

(1. 济南大学生物科学与技术学院, 山东 济南 250022;　2. 青岛市市立医院, 山东 青岛 266011)

摘要: 利用正相硅胶柱色谱、反相 C_{18} 柱色谱及高效液相色谱等, 对南烛内生真菌 *Cercophora* sp. UJN-EF001 的乙醇浸提物中的小分子化学成分进行分离, 共计得到 13 个化合物 (**1**～**13**)。进一步通过高分辨质谱、核磁共振波谱、圆二色谱等谱学方法解析鉴定了这些化合物的结构, 其中包含 2 个未报道的全新分子 (**1** 和 **2**)、2 个首次发现的新天然产物 (**3** 和 **4**) 及 9 个首次从尾孢菌属真菌中分离得到的化合物 (**5**～**13**)。对这 13 个化合物进行了 *α*-葡萄糖苷酶抑制活性及一氧化氮 (NO) 生成抑制活性评价; 结果显示, 这 13 个化合物对 *α*-葡萄糖苷酶均无明显抑制活性, 而化合物 **13** 对脂多糖诱导的 RAW264.7 巨噬细胞中的 NO 生成具有较强的抑制活性, IC_{50} 值为 34.3 ± 3.8 μmol·L^{-1}。

关键词: 内生真菌; 尾孢菌属; 南烛; 抗炎活性

中图分类号: R284　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0513-4870(2025)12-3758-06

Study on the specialized metabolites from the endophytic fungus *Cercophora* sp. UJN-EF001 in *Vaccinium bracteatum*

LI Jun-jiang[1], PAN Yin-bo[1], ZHAO Jiang-ning[2], WANG Yin-yin[1], ZHANG Jun-sheng[1*], ZHANG Hua[1*]

(*1. School of Biological Science and Technology, University of Jinan, Jinan 250022, China;　2. Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266011, China*)

Abstract: Thirteen compounds (**1** − **13**) were isolated from the ethanol extract of an endophytic fungus *Cercophora* sp. UJN-EF001 derived from *Vaccinium bracteatum*, using normal-phase silica gel column chromatography (CC), reversed-phase C_{18} CC and high-performance liquid chromatography. The structures of these isolates were elucidated through spectroscopic methods including high-resolution mass spectrometry, nuclear magnetic resonance and electronic circular dichroism. Among them, two (**1** and **2**) were previously unreported molecules, two (**3** and **4**) were obtained for the first time as natural products, and nine (**5**−**13**) were isolated for the first time from the genus *Cercophora*. All 13 compounds were evaluated for their inhibitory activities against *α*-glucosidase and nitric oxide (NO) production. As a result, none of them exhibited significant inhibition toward *α*-glucosidase, while compound **13** displayed moderate inhibition against lipopolysaccharide-induced release of NO in RAW264.7 macrophages with an IC_{50} value of 34.3 ± 3.8 μmol·L^{-1}.

Key words: endophytic fungi; *Cercophora*; *Vaccinium bracteatum*; anti-inflammatory activity

南烛 (*Vaccinium bracteatum* Thunb.) 最早记载于《开宝本草》, 之后在《图经本草》等本草著作中均有记载[1]。其枝叶在江南一带被用于榨汁浸泡米饭, 煮制成乌饭直接食用[1]; 其果实可入药, 具有强筋益气、固精的功效[2]。本课题组在前期对南烛枝叶活性化学成分进行研究的基础上[3,4], 又对其内生真菌的代谢成分进行了研究; 从一株毛壳菌属真菌 *Chaetomium* sp. UJN-EF006 中分离鉴定了一系列具有抗炎活性的链状

收稿日期: 2025-08-28;　修回日期: 2025-10-23.
基金项目: 济南大学高层次人才科研启动项目.
*通讯作者 E-mail: bio_zhangjs@ujn.edu.cn; bio_zhangh@ujn.edu.cn
DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-1025

聚酮[5]、具有细胞毒活性的新骨架球毛壳菌素[6]及具有优良抗植物灰霉病菌活性的球毛壳菌素[7]类成分。

受上述南烛内生真菌活性成分的研究工作鼓舞, 作者近期对其另一株内生的尾孢菌属真菌 *Cercophora* sp. UJN-EF001 进行了放大发酵, 随后对得到的提取物中代谢产物进行了系统研究。本次工作共计分离得到 13 个化合物, 并利用波谱学方法鉴定了它们的结构 (**1**～**13**, 图 1), 通过圆二色谱 (ECD) 技术确定了部分化合物的绝对构型; 其中包括 2 个新化合物 **1** 和 **2**、2 个首次从天然资源中得到的化合物 **3** 和 **4**、9 个首次从尾孢菌属真菌得到的已知化合物 (**5**～**13**)。对这 13 个化合物进行了 *α*-葡萄糖苷酶抑制活性及一氧化氮 (NO) 生成抑制活性评价; 结果显示, 这 13 个化合物对 *α*-葡萄糖苷酶均无明显抑制活性, 而化合物 **13** 对脂多糖诱导的 RAW264.7 巨噬细胞中的 NO 生成具有较强的抑制活性, IC_{50} 值为 34.3 ± 3.8 μmol·L^{-1}。

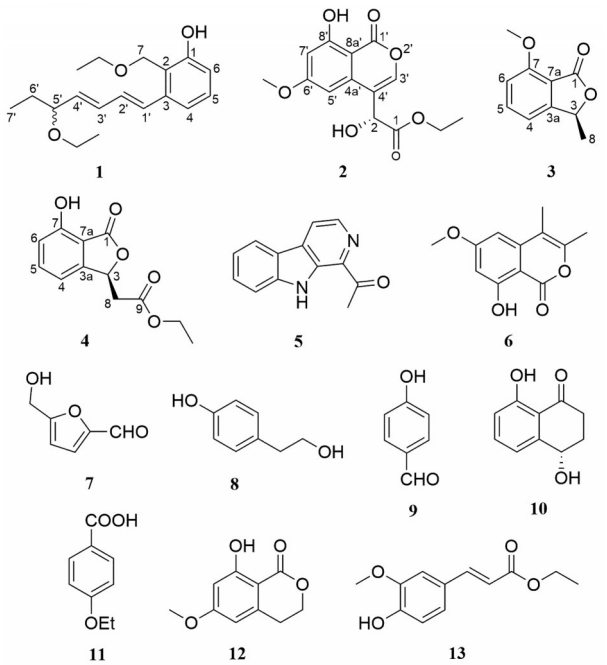


Figure 1 The structures of compounds **1**−**13** from *Cercophora* sp. UJN-EF001

结果与讨论

1 化合物结构鉴定

化合物 **1** 为白色固体。根据其 HR-ESI-MS 数据 (*m*/*z* 313.177 8 $[M+Na]^+$, 计算值 313.177 4) 及核磁共振波谱 (NMR) 数据 (表 1), 确定其分子式为 $C_{18}H_{26}O_3$, 不饱和度为 6。仔细分析其 ^1H 和 ^{13}C NMR 数据, 结合 HSQC 二维核磁谱, 可以推测该分子结构中含有 1 个 1,2,3-三取代苯 [δ_H 6.79 (brd, J = 8.1 Hz), 6.99 (brd, J = 7.6 Hz), 7.15 (dd, J = 8.1, 7.6 Hz); δ_C 116.1, 116.5, 118.2, 119.5, 129.0, 157.0]、2 个共轭反式双键 [δ_H 5.68 (dd, J = 15.1, 7.8 Hz), 6.32 (dd, J = 15.1, 9.7 Hz), 6.59 (dd, J = 15.3, 9.7 Hz), 6.64 (d, J = 15.3 Hz); δ_C 136.1, 132.0, 131.8, 128.7]、1 个连氧次甲基 [δ_H 3.66 (m); δ_C 81.8]、3 个连氧亚甲基 [δ_H 3.37 (m), 3.57 (m), 3.64 (m, 2H), 4.85 (s, 2H); δ_C 64.0, 66.7, 68.6] 及 3 个 t 峰甲基 [δ_H 0.92 (J = 7.4 Hz), 1.21 (J = 7.0 Hz), 1.29 (J = 7.0 Hz); δ_C 10.0, 15.2, 15.5]; 此外在其氢谱中还观察到 1 个活泼氢信号 (δ_H 8.18, brs)。上述的共轭双键和苯环占用了全部 6 个不饱和度, 说明化合物 **1** 的结构中没有额外的环系存在。

Table 1 ^1H and ^{13}C NMR data of **1** and **2** in $CDCl_3$

No.	**1**		No.	**2**	
	δ_C	δ_H (J in Hz)		δ_C	δ_H (J in Hz)
1	157.0		1	173.1	
2	119.5		2	69.3	5.04, s
3	116.5		1′	165.5	
4	118.2	6.99, brd (7.6)	3′	144.6	7.28, s
5	129.0	7.15, dd (8.1, 7.6)	4′	116.0	
6	116.1	6.79, brd (8.1)	5′	100.8	6.61, d (2.4)
7	68.6	4.85, s	6′	167.1	
1′	128.7	6.64, d (15.3)	7′	101.3	6.55, d (2.4)
2′	131.8	6.59, dd (15.3, 9.7)	8′	164.5	
3′	132.0	6.32, dd (15.1, 9.7)	4a′	136.3	
4′	136.1	5.68, dd (15.1, 7.8)	8a′	100.6	
5′	81.8	3.66, m	1-OEt	63.2	4.24, dq (10.8, 7.1)
6′	28.7	1.65, m			4.30, dq (10.8, 7.1)
		1.54, m		14.2	1.22, t (7.1)
7′	10.0	0.92, t (7.4)	2-OH		3.39, brs
1-OH		8.18, brs	6-OMe	55.9	3.86, s
7-OEt	66.7	3.64, m (2H)	8′-OH		11.27, s
	15.2	1.29, t (7.0)			
5′-OEt	64.0	3.57, m			
		3.37, m			
	15.5	1.21, t (7.0)			

进一步分析其二维 ^1H-^1H COSY 数据 (图 2) 可以得到 $CH_3CH_2CH(O)CH=CHCH=CH$- (C-1′至 C-7′) 的链状结构片段, 并确定了上述三取代苯 (CH-4/CH-5/CH-6) 和 2 个乙氧基基团的存在; 再根据 H-6 与 C-1 和 C-2, H_2-7 与 C-1、C-2 和 C-3 及 H-1′与 C-2、C-3 和 C-4 的 HMBC 相关信号 (图 2), 确定了苯环上的取代基位置; 最后, 2 个乙氧基的位置通过 H-5′和 H_2-7 分别与 2 个连氧亚甲基碳的 HMBC 相关信号得到确认, 从而完成了化合物 **1** 的平面结构的鉴定。该化合物有 1 个手性中心, 然而其比旋光值却接近 0, 圆二色谱 (ECD) 中也没有明显 Cotton 效应, 因此推断其为消旋体[8]。由于样品量较少, 为保证后续活性测试的顺利进行, 未对其进行手性拆分。综上, 化合物 **1** 被鉴定为 *rac*-3-((1*E*,3*E*)-5-ethoxyhepta-1,3-dien-1-yl)-2-(ethoxymethyl)phenol。

化合物 **2** 为无色胶状固体。根据其 HR-ESI-MS 数

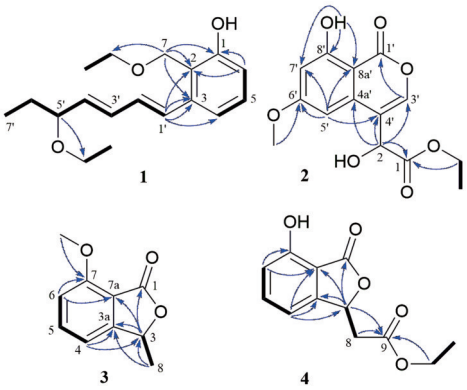


Figure 2 ^{1}H-^{1}H COSY (bond lines) and HMBC (arrows) correlations for **1**−**4**

据 (*m*/*z* 295.081 6 [M+H]$^{+}$, 计算值 295.081 2) 与 NMR 数据 (表 1) 确定其分子式为 $C_{14}H_{14}O_7$, 不饱和度为 8。仔细分析其 ^{1}H 和 ^{13}C NMR 数据, 结合 HSQC 二维核磁谱, 可以得出以下结构片段 (或基团) 的存在: 2 个酯羰基 (δ_C 165.5, 173.1)、1 个 1,2,3,5-四取代苯 [δ_H 6.55, 6.61, 均为 d 峰 (J = 2.4 Hz); δ_C 100.6, 100.8, 101.3, 136.3, 164.5, 167.1]、1 个双键 [δ_H 7.28 (s); δ_C 116.0, 144.6]、1 个乙氧基 [δ_H 4.24, 4.30, 均为 dq 峰 (J = 10.8, 7.1 Hz); δ_C 63.2]、1 个甲氧基 [δ_H 3.86 (s); δ_C 55.9] 和 2 个活泼氢 [δ_H 11.27 (s), 3.39 (brs)]。上述核磁数据解释了 8 个不饱和度中的 7 个, 最后 1 个不饱和度则被归因于化合物 **2** 的结构中还有额外 1 个环。二维 ^{1}H-^{1}H COSY 谱给出的有用信息较少 (图 2), 只能确认乙氧基基团。进一步分析二维 HMBC 谱, 根据 8′-OH 与 C-7′、C-8′和 C-8a′, H-5′与 C-6′、C-7′和 C-8a′以及 H_3-6′-OMe 与 C-6′的 HMBC 相关信号 (图 2), 可以确认 1,2,3,5-四取代苯的结构片段; 而 8′-OH 的化学位移则说明氢键的存在, 进而确定了 C-1′在苯环上的取代位置为 C-8a′; H′-5 与 C-4′, H-2 与 C-3′、C-4′、C-4a′和 C-1 以及乙氧基中亚甲基氢与 C-1 的 HMBC 相关信号则确定了 C-4a′位置的取代结构单元; 最后, 根据 C-1′和 C-3′的化学位移, 结合上述未指认的不饱和度, 可以确定 C-1′和 C-3′之间的酯键链接; 最后 1 个活泼氢则基于 C-2 的化学位移被定为 2-OH。化合物 **2** 也只有 1 个手性中心, 通过比较其实验 ECD 谱与 2 个可能对映异构体的计算 ECD 谱 (图 3), 确定其绝对构型为 *R*。因此化合物 **2** 被鉴定为 ethyl (*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-6-methoxy-1-oxo-1*H*-isochromen-4-yl)acetate。

化合物 **3** 为白色固体。根据其 HR-ESI-MS 数据 (*m*/*z* 179.070 7 [M+H]$^{+}$, 计算值 179.070 3) 及 NMR 数据推断其分子式为 $C_{10}H_{10}O_3$。仔细分析其 ^{1}H 和 ^{13}C NMR 数据, 可以确认以下结构片段 (或基团) 的存在: 1 个酯羰基 (δ_C 170.9)、1 个 1,2,3-三取代苯 [δ_H 7.09 (d, J = 8.3 Hz),

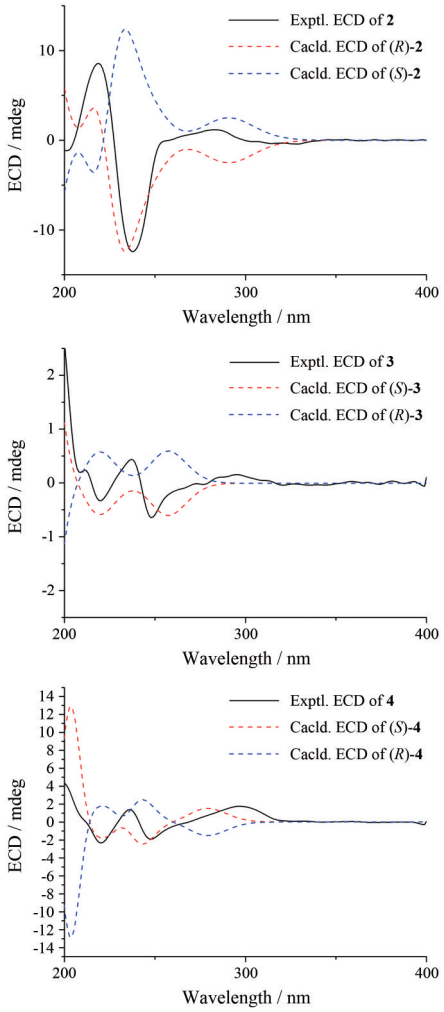


Figure 3 Experimental and calculated ECD spectra for **2**−**4**

7.10 (d, J = 7.6 Hz), 7.70 (dd, J = 8.3, 7.6 Hz); δ_C 112.0, 113.7, 114.7, 138.1, 155.8, 159.9]、1 个连氧次甲基 [δ_H 5.55 (q, J = 6.6 Hz); δ_C 78.6]、1 个甲氧基 [δ_H 3.96 (s); δ_C 56.4] 和 1 个 d 峰甲基 [δ_H 1.58 (J = 6.6 Hz); δ_C 20.6]。根据二维 ^{1}H-^{1}H COSY 数据 (图 2), 可以得到-CH=CH=CH-与-CH(O)CH_3 2 个含氢的结构单元; 再通过 H-3 与 C-1、C-3a 和 C-7a、H-4 与 C-3 和 C-3a、H-6 与 C-7 和 C-7a 以及 H_3-7-OMe 与 C-7 的 HMBC 相关信号, 确定了化合物 **3** 的平面结构。化合物 **3** 只有 1 个手性中心, 通过比较其实验 ECD 谱与两个可能对映异构体的计算 ECD 谱 (图 3), 确定其绝对构型为 *S*。通过查阅文献, 发现 **3** 与 2009 年 Phan 等[9]所报道的合成化合物 (*S*)-7-methoxy-3-methylisobenzofuran-1(3*H*)-one 一致, 且只有这 1 篇文献, 本次工作首次报道其天然存在, 并对其核磁数据进行了详细归属 (见实验部分)。

化合物 **4** 为无色胶状固体。根据其 HR-ESI-MS 数据 (*m*/*z* 237.076 0 [M+H]$^{+}$, 计算值 237.075 7) 及 NMR 数

据推断其分子式为$C_{12}H_{12}O_5$。仔细分析其^{1}H和^{13}C NMR数据, 发现其结构与**3**的结构有很多相似之处, 区别在于**4**的核磁谱中少了甲氧基和双峰甲基的信号, 但却多了乙酯 [δ_H 1.23 (t, J = 7.1 Hz), 4.16 (q, J = 7.1 Hz); δ_C 14.4, 62.0, 171.3] 和亚甲基的信号 [δ_H 2.80 (dd, J = 16.5, 7.8 Hz), 3.08 (dd, J = 16.5, 4.6 Hz); δ_C 40.2]。通过分析其二维^{1}H-^{1}H COSY和HMBC数据 (图2), 尤其是H-3、H_2-8和乙氧基中亚甲基氢与C-9的关键HMBC相关信号, 确定了化合物**4**的平面结构。通过比较其实验ECD谱与2个可能对映异构体的计算ECD谱 (图3), 确定其绝对构型与**3**一致, 同为*S*。通过查阅文献, 发现**4**与1986年Yeola等[10]所报道的合成化合物ethyl (±)-2-(4-hydroxy-3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-1-yl) acetate一致, 且只有这1篇文献, 本次工作首次报道其天然光学纯异构体的存在, 并对其核磁数据进行了详细归属 (见实验部分)。

除了上述四个化合物, 本次工作中还分离鉴定了9个其他已知化合物, 通过分析其波谱学数据并与文献中数据对比, 分别鉴定为1-acetyl-β-carboline (**5**)[11]、polygonolide (**6**)[12]、5-hydroxymethyl-furaldehyde (**7**)[13]、*p*-hydroxyphenethyl alcohol (**8**)[14]、*p*-hydroxybenzaldehyde (**9**)[15]、(−)-regiolone (**10**)[16]、4-ethoxy benzoic acid (**11**)[17]、8-hydroxy-6-methoxyisochroman-1-one (**12**)[18]和ethyl ferulate (**13**)[19]。

2 活性评价

本课题对**1**～**13**进行了α-葡萄糖苷酶抑制活性检测, 以阿卡波糖 (acarbose) 为阳性药 (IC_{50} = 55.0 ± 2.5 μmol·L^{-1})。在100 μmol·L^{-1}初筛浓度下, 所有化合物对α-葡萄糖苷酶均无显著抑制活性 (抑制率<50%)。

随后, 通过测试化合物**1**～**13**对脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 刺激的RAW264.7巨噬细胞中NO生成抑制的活性来评价其抗炎潜力, 以地塞米松 (dexamethasone) 作为阳性对照 (IC_{50} = 2.2 ± 1.0 μmol·L^{-1})。在20和40 μmol·L^{-1} 2个初筛浓度下, 化合物**13**显示了最好的抑制活性, 进一步测试得到**13**的IC_{50}值为34.3 ± 3.8 μmol·L^{-1} (图4)。

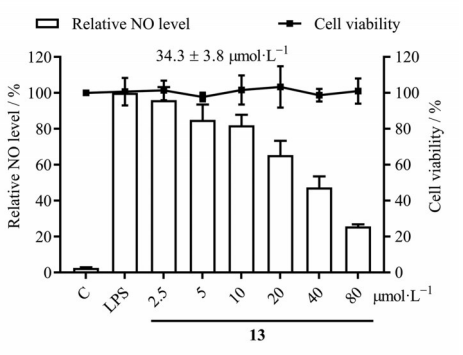


Figure 4 Nitric oxide (NO) inhibitory activity of compound **13**

实验部分

Bruker Avance DRX600核磁共振波谱仪 [瑞士布鲁克公司, 化学位移δ, 耦合常数J, 使用氘代溶剂残留峰定标: $CDCl_3$ (δ_H 7.26, δ_C 77.16), CD_3OD (δ_H 3.31, δ_C 49.00)]; 安捷伦6545四极杆−飞行时间高分辨质谱仪 (德国安捷伦科技有限公司); Rudolph VI高精旋光仪 (美国鲁道夫公司); Heidolph Hei-VAPG3旋转蒸发仪 (德国海道尔夫公司); Chirascan圆二色谱仪 (英国应用光物理公司); DLSK-10/20循环冷凝泵 (郑州科泰试验设备有限公司); Agilent 1260高效液相色谱仪 (安捷伦科技中国有限公司); LA104/A分析天平 (济南东仪实验室设备有限公司); Spark 10M型多功能酶标仪 (Tecan公司); Nicolet 380傅立叶变换红外光谱仪 (美国Thermo公司)。

正相硅胶 (H、200～300目、300～400目, 青岛海洋化工有限公司); 反相C_{18}硅胶和氘代溶剂 (德国默克科技有限公司); Agilent SB-C_{18}色谱柱 (9.4 mm × 250 mm, 美国安捷伦科技有限公司); 薄层色谱 (TLC) 硅胶板 (青岛海洋化工有限公司); 色谱纯溶剂 (瑞典欧普森化工有限公司); 分析纯试剂 (天津富宇精细化工有限公司)。如无特殊说明, 化合物分离过程中使用的溶剂体系均为体积比; 高效液相设置流速3.00 mL·min^{-1}。

菌种是从南烛 (*Vaccinium bracteatum* Thunb.) 的新鲜叶子[5]中分离得到的优势菌株, 经DNA提取、扩增、测序和序列对比后, 鉴定为尾孢菌属 (*Cercophora*) 真菌, 现存于济南大学生物科学与技术学院 (保藏号: *Cercophora* sp. UJN-EF001)。

1 菌种发酵

将*Cercophora* sp. UJN-EF001接种于马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基中, 在180 r·min^{-1}的摇床上于28 ℃培养3天作为后续发酵种子培养液。取20 mL种子培养液接种至装有固体大米培养基的1 L锥形瓶中 (每瓶含市售大米80 g、酵母提取物0.4 g、蛋白胨0.5 g、葡萄糖0.4 g及120 mL水)。将锥形瓶在28 ℃静置条件下培养发酵35天。发酵结束后, 用95%乙醇对大米培养基进行3次浸泡提取, 所得提取溶液经减压浓缩后用乙酸乙酯萃取5次, 最终获得147 g粗提物。

2 提取与分离

使用200～300目正相硅胶色谱柱对乙酸乙酯相萃取物进行分离, 以石油醚−乙酸乙酯体系 (1∶0～1∶5) 进行梯度洗脱, 得到7段样品 (A～G)。

取B段样品 (6.99 g) 进行反相C_{18}色谱柱层析分

离, 以甲醇−水作流动相进行梯度洗脱 (75%～100%), 得到6段样品 (B_1～B_6)。B_1段样品使用高效液相色谱进行纯化 (45% MeCN−H_2O) 得到化合物**5** (0.8 mg, t_R = 20.0 min) 和**6** (2.2 mg, t_R = 36.0 min); B_2段样品同样使用高效液相色谱进行纯化 (55% MeCN−H_2O) 得到化合物**1** (0.6 mg, t_R = 14.0 min)。

取D段样品 (0.8 g) 使用300～400目正相硅胶色谱柱进行分离, 以二氯甲烷−甲醇作为流动相进行梯度洗脱 (1∶0～50∶1), 得到D_1～D_4段样品。再用反相C_{18}色谱柱对D_3段样品进行分离 (60%～100% 甲醇−水), 得到19段样品 (D_3-1～D_3-19)。使用高效液相色谱对D_3-1进行分离 (15% MeCN−H_2O), 得到化合物**7** (7.5 mg, t_R = 7.0 min)、**8** (4.2 mg, t_R = 13.0 min)、**9** (0.9 mg, t_R = 23.0 min) 和**10** (2.6 mg, t_R = 45.0 min); 同样用高效液相色谱对D_3-4进行分离 (15%～35% 乙腈−水), 得到化合物**3** (1.3 mg, t_R = 33.0 min)、**4** (5.5 mg, t_R = 38.5 min)、**11** (1.5 mg, t_R = 51.0 min)、**12** (1.1 mg, t_R = 57.0 min)、**2** (2.0 mg, t_R = 61.0 min) 和**13** (0.5 mg, t_R = 72.0 min)。

3 化合物1～4理化数据

化合物**1**: 白色固体; 无明显旋光值; UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 283 (4.74), 224 (4.78) nm; ECD无明显Cotton效应; IR (film) ν_{max} 3 353, 2 920, 2 848, 1 736, 1 660, 1 631, 1 577, 1 465, 1 371, 1 270, 1 219, 1 088, 987 cm^{-1}; ^1H和^{13}C NMR (in CD_3OD) 见表1; HR-ESI-MS *m/z* 313.177 8 $[M + Na]^+$ (计算值$C_{18}H_{26}O_3Na^+$, 313.177 4)。

化合物**2**: 无色胶状固体; $[\alpha]_D^{28}$ −39 (*c* 0.20 MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 244 (5.48) nm; ECD (0.13 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 238 (−12.62), 218 (8.35), 201 (−0.73), 192 (3.87) nm; IR (film) ν_{max} 3 418, 3 003, 3 916, 1 738, 1 678, 1 642, 1 620, 1 566, 1 510, 1 434, 1 404, 1 313, 1 236, 1 207, 1 165, 1 023, 951, 842, 799, 705 cm^{-1}; ^1H和^{13}C NMR (in CD_3OD) 见表1; HR-ESI-MS *m/z* 295.081 6 $[M+H]^+$ (计算值$C_{14}H_{15}O_7^+$, 295.081 2)。

化合物**3**: 白色固体; $[\alpha]_D^{28}$ −6.2 (*c* 0.13 MeOH); ECD (0.13 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 248 (−0.66), 237 (0.44), 220 (−0.37), 211 (0.23), 195 (3.90) nm; IR (film) ν_{max} 3 427, 3 003, 2 920, 1 743, 1 651, 1 485, 1 436, 1 407, 1 315, 1 281, 1 245, 1 207, 1 019, 951, 709 cm^{-1}; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H 7.70 (dd, *J* = 8.3, 7.6 Hz, H-5), 7.10 (d, *J* = 7.6 Hz, H-4), 7.09 (d, *J* = 8.3 Hz, H-6), 5.55 (q, *J* = 6.6 Hz, H-3), 3.96 (s, 3H, OC$\underline{H}_3$), 1.58 (d, *J* = 6.6 Hz, H-8); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD) δ_C 170.9 (C-1), 159.9 (C-7), 155.8 (C-3a), 138.1 (C-5), 113.7 (C-7a), 114.7 (C-4), 112.0 (C-6), 78.6 (C-3), 56.4 (O$\underline{C}H_3$), 20.6 (C-8); HR-ESI-MS *m/z* 179.070 7 $[M+H]^+$ (计算值$C_{10}H_{11}O_3^+$, 179.070 3)。

化合物**4**: 无色胶状固体; $[\alpha]_D^{28}$ −15 (*c* 0.55 MeOH); ECD (0.14 mg·mL^{-1}, MeOH) λ ($\Delta\varepsilon$) 297 (2.35), 248 (−2.54), 236 (1.85), 220 (−3.10), 200 (5.77) nm; IR (film) ν_{max} 3 424, 2 996, 3 918, 1 752, 1 606, 1 472, 1 436, 1 404, 1 375, 1 313, 1 189, 1 019, 951, 799, 693 cm^{-1}; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H 7.55 (dd, *J* = 8.2, 7.5 Hz, H-5), 7.00 (d, *J* = 7.5 Hz, H-4), 6.89 (d, *J* = 8.2 Hz, H-6), 5.82 (dd, *J* = 7.8, 4.6 Hz, H-3), 4.16 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OC$\underline{H}_2$CH$_3$), 3.08 (dd, *J* = 16.5, 4.6 Hz, H_a-8), 2.80 (dd, *J* = 16.5, 7.8 Hz, H_b-8), 1.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, OCH$_2$C$\underline{H}_3$); ^{13}C NMR (151 MHz, CD_3OD) δ_C 171.3 (C-1), 171.0 (C-9), 158.4 (C-7), 152.3 (C-3a), 137.7 (C-5), 117.1 (C-6), 113.8 (C-4), 112.6 (C-7a), 78.4 (C-3), 62.0 (O$\underline{C}$H$_2$CH$_3$), 40.2 (C-8), 14.4 (OCH$_2\underline{C}$H$_3$); HR-ESI-MS *m/z* 237.076 0 $[M+H]^+$ (计算值$C_{12}H_{13}O_5^+$, 237.075 7)。

4 ECD计算

化合物**2**～**4**首先用ChemDraw 14.0软件进行MM2力场分析初步确认化合物的初始构象并保存为'.mol2'格式的文件, 再利用Maestro 10.2软件在3.01 kcal·mol^{-1}的能量窗口中使用MMFFs力场进行构象搜索。化合物**2**通过Gaussian 16软件在B3LYP/6-311G(d,p) 水平上对优化后的构象进行重新优化和含时密度泛函理论 (TD-DFT) 计算, **3**和**4**同样利用Gaussian 16软件在CAM-B3LYP/6-311G(d,p) 水平上对优化后的构象进行重新优化和TD-DFT计算, 以确认重新优化的各构象能量处于最低。最后使用SpecDis 1.71软件获得理论ECD谱图。

5 活性测试

5.1 *α*-葡萄糖苷酶抑制活性测试 *α*-葡萄糖苷酶抑制活性测试实验步骤参考本课题组近期发表论文中的流程[20]。

5.2 NO生成抑制活性测试 对分离化合物NO生成抑制活性的测试采用经典的LPS诱导的RAW264.7巨噬细胞模型, 详细实验流程和步骤见前述报道[21]。简述如下: 取处于对数生长期的细胞进行消化、离心及重悬后, 按每孔细胞数1×10^5个接种于96孔板中, 培养12 h后加入待测化合物。设置空白对照组、模型对照组 (LPS 0.5 μg·mL^{-1}) 和给药组 (不同浓度的单体化合物 + LPS 0.5 μg·mL^{-1})。加药24 h后, 通过Griess反应测定化合物对巨噬细胞产生NO的抑制作用, 用酶标仪于540 nm波长处检测各孔吸光度值, 并计算抑制率。

作者贡献: 李俊江负责化学成分的提取分离、结构鉴定、相关数据处理及文章初稿撰写; 潘银波和赵江宁负责活性测试及相关数据处理; 王荫荫负责菌种分离与发酵; 张君生负

责研究生指导、数据核实及论文修改; 张华负责经费获取、项目管理、研究生指导、数据核实及论文修改。

利益冲突: 本文中所有作者声明无任何利益冲突。

References

[1] Flora of China Editorial Committee of Chinese Academy of Sciences. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 2016, 57: 1.

[2] Ma MZ. Compendium of Materia Medica (本草纲目) [M]. Wuhan: Chongwen Publishing Bureau, 2020: 212.

[3] Wang YY, Zhang JS, Wang XX, et al. Identification of small-molecule bioactive constituents from the leaves of *Vaccinium bracteatum* confirms it as a potential functional food with health benefits [J]. Foods, 2023, 12: 177.

[4] Wang YY, Li JJ, Wei QH, et al. Bioactive neolignan, iridoid and flavonoid glycosides from the leaves of *Vaccinium bracteatum* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2024, 26: 690-698.

[5] Wang YY, Pan YB, Wan ZY, et al. Anti-inflammatory polyketides from an endophytic fungus *Chaetomium* sp. UJN-EF006 of *Vaccinium bracteatum* [J]. Chem Biodivers, 2024, 21: e202400002.

[6] Wang YY, Wang YS, Li JJ, et al. Unusual chaetoglobosins and a new type of ferroptosis inducer from an endophytic fungus *Chaetomium* sp. UJN-EF006 [J]. Bioorg Chem, 2025, 158: 108342.

[7] Wang LJ, Ma ZY, Wang XL, et al. New chaetoglobosins with fungicidal activity from *Chaetomium* sp. UJN-EF006 endophytic in *Vaccinium bracteatum* [J]. J Fungi, 2025, 11: 511.

[8] Yu JH, Yu ZP, Capon RJ, et al. Natural enantiomers: occurrence, biogenesis and biological properties [J]. Molecules, 2022, 27: 1279.

[9] Phan DH, Kim B, Dong VM. Phthalides by rhodium-catalyzed ketone hydroacylation [J]. J Am Chem Soc, 2009, 131: 15608-15609.

[10] Yeola SN, Mali RS. A convenient total synthesis of (±)-isoochracinic acid, a phthalide from *Alternaria kikuchiana* [J]. ChemInform, 1986, 25B: 804-806.

[11] Liu GP, Zhang WJ, Tang XL, et al. Study on secondary metabolites of a marine fungus *Cladosporium halotolerans* [J]. Chin J Mar Drugs (中国海洋药物), 2023, 42: 59-63.

[12] Furuta T, Fukuyama Y, Asakawa Y. Polygonolide, an isocoumarin from *Polygonum hydropiper* possessing anti-inflammatory activity [J]. Phytochemistry, 1986, 25: 517-520.

[13] Zhang Z, Wang D, Zhao Y, et al. Fructose-derived carbohydrates from *Alisma orientalis* [J]. Nat Prod Res, 2009, 23: 1013-1020.

[14] Chen X, Cao YG, Zhang YH, et al. Study on phenolic acids of fresh *Rehmannia glutinosa* [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2023, 46: 3005-3009.

[15] Sun B, Ao YL, Wang DZ, et al. Chemical constituents of petroleum ether extract from the stems and leaves of *Humulus scandens* [J]. J China Pharm Univ (中国药科大学学报), 2022, 53: 178-184.

[16] Yang CY, Chen KL, Liu Y, et al. Secondary metabolites of endophytic fungus *Talaromyces malicola* hosted in *Armadillidium vulgare* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2024, 49: 4470-4476.

[17] Lv HW, Li YX, Luo M, et al. Chemical constituents from *Selaginella pulvinata* [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2021, 43: 102-105.

[18] Weber A, Breugst M, Pietruszka J. Experimental and computational investigations of the reactions between α,β-unsaturated lactones and 1,3-dienes by cooperative lewis acid/brønsted acid catalysis [J]. Angew Chem Int Ed, 2020, 59: 18709-18716.

[19] Fang X, Zhang Y, Cao Y, et al. Studies on chemical composition of *Pueraria lobata* and its anti-tumor mechanism [J]. Molecules, 2022, 27: 7253.

[20] Song H, Ma RF, Zhang H. Diterpenoid constituents from the aerial parts of *Euphorbia antiquorum* [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2025, 60: 1828-1835.

[21] Wei QH, Cao XX, Xu DF, et al. Anti-inflammatory labdane diterpenoids from the aerial parts of *Leonurus japonicus* [J]. Phytochemistry, 2023, 210: 113646.