文章编号:1001-6880(2014)4-0513-05

地衣内生菌 *Myxotrichum* sp. 的代谢产物的研究

元 超[1],李 刚[2],吴长生[2],李 铭[3],郭玉华[1],赵遵田[3*],娄红祥[2*]

[1]中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所云南分所 西双版纳州傣药南药重点实验室,景洪 666100;

[2]山东大学药学院,济南 250012;[3] 山东师范大学生命科学学院,济南 250014

摘 要:采用硅胶柱色谱,重结晶,高效液相色谱等分离方法从地衣内生菌 *Myxotrichum* sp. 的发酵液中共分离得到 10 个化合物,根据理化性质和波谱数据分别鉴定为:麦角甾醇 (**1**),(3*β*,5*α*,8*α*,22*E*,24*R*)-5,8-epidioxy-ergosta-6,9(**11**),22-trien-3-ol (**2**),麦角甾醇过氧化物 (**3**),7-羟基-2,5-二甲基色原酮 (**4**),7,8-dihydro-7,8-dihydroxy-3,7-dimethyl-2-benzopyran-6-one (**5**),7-hydroxy-2-(2-hydroxypropyl)-5-methylchromone (**6**),Anhydroful vic acid (**7**),柠檬霉素 (**8**),**2**,**3** 二羟柠檬菌素 (**9**),柠檬菌素 (**10**)。化合物 **4** ~ **10** 的体外抑制人白血病细胞 K562 实验表明,该七种化合物均表现非常弱的细胞毒活性。

关键词:地衣内生菌;代谢产物;细胞毒;*Myxotrichum* sp.

中图分类号:Q939.9 **文献标识码**:A

Study on the Metabolites of Endolichenic Fungus *Myxotrichum* sp.

YUAN Chao[1],LI Gang[2],WU Chang-sheng[2],LI Ming[3],GUO Yu-hua[1],ZHAO Zun-tian[3*],LOU Hong-xiang[2*]

[1]*key Laboratory of Dai and Southern Medicine of Xishuangbanna Dai Autonomous Prefecture,Institute of Medicinal Plant Development Yunnan Branch,Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College,Jinghong 666100,China*;[2]*School of Pharmaceutical Sciences,Shandong University,Jinan 250012,China*;

[3]*College of Life Science,Shandong Normal University,Jinan 250014,China*

Abstract:Ten compounds were isolated from the fermentation liquid of endolichenic fungus *Myxotrichum* sp. by column chromatography on silica gel,recrystallization,sephadex LH-20 and HPLC methods. Their structures were elucidated as ergosterol (**1**),(3*β*,5*α*,8*α*,22*E*,24*R*)-5,8-epidioxy-ergosta-6,9(**11**),22-trien-3-ol (**2**),ergosterol peroxide (**3**),Altechromone A (**4**),7,8-dihydro-7,8-dihydroxy-3,7-dimethyl-2-benzopyran-6-one (**5**),7-hydroxy-2-(2-hydroxypropyl)-5-methylchromone (**6**),Anhydrofulvic acid (**7**),Citromycin (**8**),(-)-2,3-dihydro citromycetin (**9**),citromycetin (**10**) by physico-chemical property and spectroscopic data. The cytotoxicity assay of compounds **4-10** shows all the seven compounds exhibit very weak cytotoxicity against human leukemia cell line K562 in vitro.

Key words:endolichenic fungus;metabolites;cytotoxicity;*Myxotrichum* sp.

地衣是藻类与菌类的共生体,藻类为共生菌提供光和产物,共生菌类为藻类提供水和无机盐,同时,菌类还产生次生代谢产物保护地衣体免受辐射和病原微生物的侵入。地衣中除了共生菌外还有大量内生菌,有人从 *Peltigera neopolydactyla* 中分离到 640 株内生真菌[1],表明地衣中含有丰富多样的内生菌。

目前国内外对地衣内生菌次生代谢产物的研究现在相对较少,自 2007 年 Priyani A. Paranagama 等人[2]首次报道地衣内生菌化学成分至今,主要是车永胜[3]等人对地衣内生菌化学成分报道较多,且报道的化学结构新颖,有一定的抗肿瘤、抗真菌等活性。因此我们选择地衣内生菌作为研究对象,以期待筛选出结构新颖,活性好的先导化合物。结果从地衣内生菌 *Myxotrichum* sp. 中分离得到 10 个化合物,分别为麦角甾醇(**1**),(3*β*,5*α*,8*α*,22*E*,24*R*)-5,8-epidioxy-ergosta-6,9(**11**),22-trien-3-ol (**2**),麦角甾醇过氧化物 (**3**),7-羟基-2,5-二甲基色原酮(**4**),8-dihydro-7,8-dihydroxy-3,7-dimethyl-2-benzopyran-6-one (**5**),7-hydroxy-2-(2-hydroxypropyl)-5-methylchromone (**6**),Anhydrofulvic acid (**7**),柠檬霉素(**8**),2,3 二羟柠檬菌素(**9**),柠檬菌素(**10**)。

收稿日期:201309-29 接受日期:2013-12-10

基金项目:国家自然科学基金项目(30925038;30730109)

*通讯作者 Tel:86-013605319748;E-mail:louhongxiang@sdu.edu.cn;yuanchao79@126.com

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器：NMR 测定为瑞士布鲁克公司 Bruker Avance 600 型核磁共振波谱仪；质谱测定为美国 Thermo 公司 LTQ-Orbitrap XL 型质谱仪、配有 ESI 源；鞘气：50arb，毛细管温度：275 ℃；辅助气：10arb；毛细管电压：25 V；喷雾电压：4.5 KV。半制备液相使用美国安捷伦公司 Agilent 1200 高效液相仪，半制备柱为 Ecilipse XDB-C_{18}，4.6 mm × 250 cm，粒径 5 μm，PDA 检测器。试剂：石油醚、丙酮、二氯甲烷和甲醇等均为分析纯；高效液相用甲醇为色谱纯，薄层层析用硅胶（GF_{254}）、柱层析用硅胶（200～300 目）均为青岛海洋化工厂生产；显色剂为 10% H_2SO4-EtOH 溶液、三用紫外灯和碘缸。

1.2 菌种鉴定和发酵液制备

该菌种由本试验室李铭从采自云南丽江老君山的地衣 *Cetraria islandica*（L.）Ach. 中分离出来，通过对其 rDNA 的 ITS 序列分析，其与 *Myxotrichum deflexum* 以 97% 的自展支持聚类为一支，命名为 *Myxotrichum* sp.

该菌种接种于 PDA 斜面培养基上，25 ℃ 培养 14 d，然后用接种棒将其接种于 2 个 500 mL 三角瓶中（每瓶装有 200 mL PDB 培养基，PH 值调至 6.5，120 ℃ 高压蒸汽灭菌 15 min），在 25 ℃ 摇床上震荡培养 7 天，转速 170 rpm，制备种子液。然后，用无菌水将种子液的调节成 10^6 CFU/mL 的菌悬液，同时，制备 50 瓶 PDB 培养基，用菌悬液进行接种，10 mL/瓶，25 ℃ 摇床上震荡培养 21 d，转速 170 rpm，获得 10 L 发酵液。

1.3 提取与分离

发酵液用纱布过滤出菌丝体，用 95% 乙醇回流提取四次，提取物过滤并真空浓缩得乙醇浸膏（6.5 g），按照 1∶2 比例加入一定体积水悬浮，乙酸乙酯萃取，减压浓缩至干（1.3 g）。发酵水液用旋转蒸发仪 45 ℃ 减压浓缩至膏状物（34.5 g），按照 1∶2 比例加入一定体积水悬浮，然后用乙酸乙酯萃取，减压浓缩至干（3.0 g）。两部分乙酸乙酯萃取物分别进行 HPLC 分析，色谱分析条件：30% ～100% MeOH in water in 60 min，经比较液相谱图发现，菌丝体和发酵液的乙酸乙酯萃取物化学成分基本一致，因此决定将两部分合并进行分离，得乙酸乙酯浸膏（4.3 g）。

该乙酸乙酯浸膏经硅胶柱色谱，以二氯甲烷-甲醇系统剃度洗脱（100∶0 至 0∶100），100∶0 部分（0.6 g）经过硅胶柱层析结合 HPLC，得到 **1**（6 mg），**2**（3 mg），**3**（2 mg）。100∶1 部分（1.0 g）经葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱层析（MeOH 洗脱）分为 5 个部分（Part 1-part 5）。Part 1 经半制备 HPLC（MeOH-H_2O = 68∶32，t_R = 9.4 min）得化合物 **4**（3 mg）。Part 2 经半制备 HPLC（MeOH-H_2O = 38∶62，t_R = 14.5 min）得化合物 **5**（5 mg）。Part 3 在甲醇中析出结晶，过滤得化合物 **7**（6 mg）。50∶1 部分（1.1 g）经葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱层析（MeOH 洗脱）分为 5 个部分（Part 1-part 5），Part 1 经半制备 HPLC（MeOH-H_2O = 45∶55，t_R = 27.0 min）得化合物 **6**（3 mg），Part 3 经半制备 HPLC（MeOH-H_2O-HAc = 45∶55∶0.1，t_R = 19.8 min）得化合物 **8**（2 mg）。Part 4 经半制备 HPLC（MeOH-H_2O-HAc = 45∶55∶0.1，t_R = 19.2 min）得化合物 **9**（3 mg），Part 5 经半制备 HPLC（MeOH-H_2O-HAc = 45∶55∶0.1，t_R = 12.0 min）得化合物 **10**（2 mg）。

1.4 对人白血病细胞 K562 增殖的抑制活性

体外细胞毒活性实验采用 MTT 法[4]，取 2 × 10^4/Ml K562 细胞悬液接种于 96 孔培养板，每孔 0.1 mL。实验组：分别加不同浓度药物溶液（5、10、20、40 μM/L）。对照组：加入药物相同体积培养液。空白组：只有培养液，无细胞。每组设 3 个复孔。置 37 ℃、5% CO_2、饱和湿度的培养箱内培养 48 h 后，每孔加入新配制的 MTT 溶液（5 mg/mL）10 μL，混匀，继续孵育 4 h，离心，弃培养上清，加入 200 μL DMSO，振荡 5 min，酶标仪测 570 nm 处 OD 值。按下述公式计算抑制率：抑制率 = [（A 对照-A 实验）/（A 对照-A 空白）] ×100%；阿霉素为阳性对照。

2 结果部分

2.1 结构鉴定

化合物 1 白色针晶，mp：153 ～ 155 ℃，分子式：$C_{28}H_{44}O$，ESI-MS *m/z*：397 $[M+H]^+$；^1H NMR（$CDCl_3$，600 MHz）δ_H：3.67（1H，*m*，H-3），5.59（1H，*dd*，*J* = 6.0，6.0 Hz，H-6），5.41（1H，*m*，H-7），0.66（3H，*s*，H-18），0.97（3H，*s*，H-19），1.05（3H，*d*，*J* = 6.6 Hz，H-21），5.20（1H，*m*，H-22），5.24（1H，*m*，H-23），1.99（1H，*m*，H-24），1.41（1H，*m*，H-25），0.86（3H，*d*，*J* = 6.0 Hz，H-26），0.85（3H，*d*，*J* = 6.0 Hz，H-27）.0.95（3H，*d*，*J* =

6.0 Hz, H-28)。^{13}C NMR (CDCl$_3$, 150 MHz) δ_C: 39.07 (C-1), 32.00 (C-2), 70.48 (C-3), 40.80 (C-4), 139.80 (C-5), 119.59 (C-6), 116.28 (C-7), 141.42 (C-8), 46.23 (C-9), 37.03 (C-10), 21.31 (C-11), 38.37 (C-12), 42.83 (C-13), 54.56 (C-14), 23.01 (C-15), 28.33 (C-16), 55.70 (C-17), 12.07 (C-18), 16.30 (C-19), 40.48 (C-20), 21.12 (C-21), 131.96 (C-22), 135.58 (C-23), 42.81 (C-24), 33.09 (C-25), 19.67 (C-26), 19.98 (C-27), 17.63 (C-28)。将其^{1}H 和^{13}C NMR 数据与文献[5]对照,基本一致,确定化合物 **1** 为麦角甾醇。

化合物 2　白色针晶,10% 硫酸乙醇试液显墨绿色,分子式: $C_{28}H_{42}O_3$, ESI-MS *m/z* 427 [M + H]$^+$, ^{1}H NMR (CDCl$_3$, 600 MHz) δ_H: 3.98 (1H, *m*, 3-H), 6.29 (1H, *d*, *J* = 8.4 Hz, 6-H), 6.608 (1H, *d*, *J* = 8.4 Hz, 7-H), 5.46 (1H, *m*, 11-H), 0.74 (3H, *s*, 18-H), 1.27 (3H, *s*, 19-H), 1.10 (3H, *d*, *J* = 4.8 Hz, 21-H), 5.16 (1H, *dd*, *J* = 14.8, 6.8 Hz, 22-H), 5.24 (1H, *dd*, *J* = 15.2, 7.4 Hz, 23-H), 0.84 (3H, *d*, *J* = 7.2 Hz, 26-H), 0.83 (3H, *d*, *J* = 6.6 Hz, 27-H), 1.00 (3H, *d*, *J* = 6.6 Hz, 28-H)。^{13}C NMR (CDCl$_3$, 150 MHz) δ_C: 36.062 (C-1), 30.600 (C-2), 66.347 (C-3), 32.558 (C-4), 82.697 (C-5), 135.109 (C-6), 130.750 (C-7), 78.346 (C-8), 142.522 (C-9), 37.950 (C-10), 119.743 (C-11), 41.171 (C-12), 43.601 (C-13), 48.155 (C-14), 20.882 (C-15), 29.698 (C-16), 55.847 (C-17), 12.957 (C-18), 25.541 (C-19), 39.903 (C-20), 20.701 (C-21), 135.447 (C-22), 132.423 (C-23), 42.752 (C-24), 33.051 (C-25), 19.939 (C-26), 19.632 (C-27), 17.542 (C-28)。将其^{1}H NMR 和^{13}C NMR 数据与文献[6]对照,完全一致,确定化合物 **2** 为(3*β*, 5*α*, 8*α*, 22*E*, 24*R*)-5, 8-epidioxy-ergosta-6, 9 (**11**), 22-trien-3-ol。

化合物 3　白色针晶, mp: 178 ~ 179 ℃, 10% 硫酸乙醇试液显墨绿色, $C_{28}H_{44}O_3$, ESI-MS, *m/z* 429 [M + H]$^+$, ^{1}H NMR (CDCl$_3$, 600 MHz) δ_H: 3.98 (1H, *t*, 3-H), 6.25 (1H, *d*, *J* = 8.4 Hz, 6-H), 6.51 (1H, *d*, *J* = 8.4 Hz, 7-H), 0.86 (3H, *s*, 18-H), 0.89 (3H, *s*, 19-H), 0.92 (3H, *d*, *J* = 6.6 Hz, 21-H), 5.15 (1H, *dd*, *J* = 14.4, 7.2 Hz, 22-H), 5.21 (1H, *dd*, *J* = 14.4, 7.2 Hz, 23-H), 0.90 (3H, *d*, *J* = 3.6 Hz, 26-H), 0.82 (3H, *d*, *J* = 5.4 Hz, 27-H). 1.00 (3H, *d*, *J* = 6.6 Hz, 28-H)。^{13}C NMR (CDCl$_3$, 150 MHz) δ_C: 37.03 (C-1), 30.23 (C-2), 66.60 (C-3), 34.80 (C-4), 82.30 (C-5), 135.53 (C-6), 130.88 (C-7), 79.57 (C-8), 51.16 (C-9), 37.08 (C-10), 20.76 (C-11), 39.44 (C-12), 44.68 (C-13), 51.79 (C-14), 23.53 (C-15), 28.81 (C-16), 56.20 (C-17), 13.00 (C-18), 18.32 (C-19), 39.91 (C-20), 21.01 (C-21), 135.33 (C-22), 132.41 (C-23), 42.89 (C-24), 33.19 (C-25), 20.10 (C-26), 19.78 (C-27), 17.70 (C-28)。将其^{1}H NMR 和^{13}C NMR 数据与文献[5,7]对照,完全一致,确定化合物 **3** 为麦角甾醇过氧化物(ergosterol peroxide)。

化合物 4　白色针状结晶, mp: 257 ~ 258 ℃, 喷 10% H_2SO_4 – EtOH 加热后红色; 254 nm 紫外灯下显褐色暗斑; 喷 1% 三氯化铁-2% 铁氰化钾溶液显蓝色. 分子式 $C_{11}H_{10}O_3$. ^{1}H NMR (CDCl$_3$, 600 MHz) δ_H: 5.943 (1H, *s*, H-3), 6.695 (1H *d*, *J* = 4.2 Hz, H-6), 6.688 (1H, *d*, *J* = 4.2 Hz, H-8), 2.303 (3H, *s*, C2-CH$_3$), 2.722 (3H, *s*, C5-CH$_3$)。^{13}C NMR (CDCl$_3$, 150 MHz) δ_C: 163.573 (C-2), 110.892 (C-3), 178.373 (C-4), 142.187 (C-5), 116.29 (C-6), 159.648 (C-7), 100.626 (C-8), 160.779 (C-9), 115.049 (C-10), 18.822 (C2-CH$_3$), 21.963 (C5-CH$_3$)。谱图数据与文献[8]对照完全一致,确定化合物 **4** 为 7-羟基-2,5-二甲基色原酮(7-hydroxy-2-methyl-5-methylchromone)。

化合物 5　白色粉末,喷 10% H_2SO_4 – EtOH 加热后不显色; 365 nm 紫外灯下显强烈天蓝色荧光; 喷 $FeCl_3$ 溶液显蓝绿色, ESI-MS *m/z* 209.3 [M + H]$^+$, 231.2 [M + Na]$^+$, 分子式为 $C_{11}H_{12}O_4$。^{1}H NMR (DMSO-d_6, 600 MHz) δ_H: 7.41 (1H, *s*, H-1), 6.20 (1H, *s*, H-4), 5.19 (1H, *s*, H-5), 4.32 (3H, *s*, H-8), 2.13 (3H, *s*, H-10), 0.99 (3H, *s*, H-9)。^{13}C NMR (DMSO-d_6, 150 MHz) δ_C: $_1$45.35 (C-1), 159.32 (C-3), 106.58 (C-4), 104.54 (C-5), 198.92 (C-6), 76.27 (C-7), 71.92 (C-8), 145.49 (C-4a), 121.30 (C-8a), 19.50 (C-9), 19.44 (C-10)。与文献对照[9]一致,推断化合物 **5** 为 8-dihydro-7, 8-dihydroxy-3, 7-dimethyl-2-benzopyran-6-one.

化合物 6　白色针状结晶,以 $CHCl_3$ – MeOH (20:1) 在薄层板上展开, R_f 值为 0.20, 喷 10% 浓硫酸乙醇溶液加热无色, 254 nm 紫外灯下显暗斑, 喷 1% 三氯化铁-2% 铁氰化钾溶液显蓝色。分子式 C_{13}

$H_{14}O_4$，ESI-MS：m/z 235.3 [M+H]$^+$，257.3 [M+Na]$^+$. ^{1}H NMR (CDCl$_3$，600 MHz) δ_H：5.99 (1H，s，H-3)，6.67 (1H，s，H-6)，6.70 (1H，s，H-8)，2.67 (2H，d，H-1′)，4.23 (1H，m，H-2′)，1.26 (3H，d，J = 6.0 Hz，H-3′)，2.71 (3H，s，H-9)。^{13}C NMR (CDCl$_3$，150 MHz) δ_C：164.68 (C-2)，111.88 (C-3)，178.54 (C-4)，142.20 (C-5)，116.24 (C-6)，160.68 (C-7)，100.73 (C-8)，22.00 (C-9)，159.71 (C-8a)，115.32 (C-4a)，43.33 (C-1′)，64.77 (C-2′)，22.92 (C-3′)。将其 NMR 数据与文献[10]报道数据比较，确定化合物 **6** 为 7-hydroxy-2-(2-hydroxypropyl)-5-methylchromone。

化合物 7 黄色棱状结晶，以 CHCl$_3$ - MeOH (20∶1) 薄层展开，R_f 为 0.25，喷 1% 三氯化铁-2% 铁氰化钾溶液显蓝色，365nm 紫外灯下显蓝色荧光，喷 10% H_2SO_4 - EtOH 加热后显黄色斑点。ESI-MS m/z 291.3 [M+H]$^+$，313.3 [M+Na]$^+$，分子式为 $C_{14}H_{10}O_7$. ^{1}H NMR (DMSO-d_6，600 MHz) δ_H：2.001 (3H，s，H-1)，5.688 (1H s，H-3)，6.903 (1H，s，H-10)，5.145 (2H，s，H-6)。^{13}C NMR (DMSO-d_6，150 MHz) δ_C：20.11 (C-1)，167.56 (C-2)，94.59 (C-3)，158.61 (C-4)，101.38 (C-5)，64.33 (C-6)，171.30 (C-7)，113.01 (C-8)，151.95 (C-9)，103.32 (C-10)，149.82 (C-11)，143.29 (C-12)，118.19 (C-13)，168.85 (C-14)。将其^{1}H 和^{13}C NMR 数据与文献[11]对照，完全一致，确定化合物 **7** 为 Anhydrofulvic acid。

化合物 8 绿色针状结晶，喷 1% 三氯化铁-2% 铁氰化钾溶液呈墨绿色，365 nm 紫外灯下显亮黄色荧光，254 nm 紫外灯下显红色暗斑，喷 10% H_2SO_4 - EtOH 加热后显黄色斑点。ESI-MS m/z 247.2 [M+H]$^+$，269.3 [M+Na]$^+$，分子式 $C_{13}H_{10}O_5$。^{1}H NMR (DMSO-d_6，600 MHz) δ_H：6.99 (1H，s，H-13)，6.38 (1H s，H-10)，6.15 (1H，s，H-3)，4.96 (2H，s，H-6)，2.32 (3H，s，H-1)。^{13}C NMR (DMSO-d_6，150 MHz) δ_C：19.65 (C-1)，164.96 (C-2)，113.78 (C-3)，175.33 (C-4)，110.72 (C-5)，62.77 (C-6)，155.91 (C-7)，106.66 (C-8)，150.89 (C-9)，104.41 (C-10)，151.24 (C-11)，141.34 (C-12)，109.08 (C-13)。将其^{1}H 和^{13}C NMR 数据与文献[11]对照，完全一致，确定化合物 **8** 为 Citromycin。

化合物 9 绿色针状结晶，喷 1% 三氯化铁-2% 铁氰化钾溶液呈墨绿色，365 nm 紫外灯下显亮黄色荧光，喷 10% H_2SO_4 - EtOH 加热后显黄色斑点。ESI-MS m/z 293.3 [M+H]$^+$，分子式为 $C_{14}H_{12}O_7$。^{1}H NMR (DMSO-d_6，600 MHz) δ_H：6.39 (1H，s，H-10)，4.53 (1H m，H-2)，4.90 (1H，d，J = 12.0 Hz，H-6a)，4.54 (1H，d，J = 12.0 Hz，H-6b)，2.45 (2H，m，H-3)，1.37 (3H，d，H-1)。^{13}C NMR (DMSO-d_6，600 MHz) δ_C：20.10 (C-1)，76.00 (C-2)，42.88 (C-3)，188.37 (C-4)，102.24 (C-5)，62.63 (C-6)，152.62 (C-7)，105.33 (C-8)，163.05 (C-9)，103.51 (C-10)，152.19 (C-11)，138.30 (C-12)，120.80 (C-13)，168.41 (C-14)。将其^{1}H 和^{13}C NMR 数据与文献[11]对照，完全一致，确定化合物 **9** 为(-)-2,3-dihydrocitromycetin。

化合物 10 黄色针状结晶，喷 1% 三氯化铁-2% 铁氰化钾溶液呈蓝绿色，365nm 紫外灯下显亮黄色荧光，喷 10% H_2SO_4 - EtOH 加热后显黄色斑点。ESI-MS m/z 291.2 [M+H]$^+$，分子式为 $C_{14}H_{10}O_7$。^{1}H NMR (DMSO-d_6，600 MHz) δ_H：2.24 (3H，s，H-1)，6.17 (1H，s，H-3)，4.94 (2H，s，H-6)，6.47 (1H s，H-10)。^{13}C NMR (DMSO-d_6，150 MHz) δ_C：19.07 (C-1)，164.80 (C-2)，113.76 (C-3)，175.15 (C-4)，111.66 (C-5)，62.43 (C-6)，150.94 (C-7)，103.62 (C-8)，155.31 (C-9)，104.11 (C-10)，151.34 (C-11)，138.61 (C-12)，120.15 (C-13)，168.23 (C-14)。将其^{1}H 和^{13}C NMR 数据与文献[11]对照，完全一致，确定化合物 **10** 为 citromycetin。

2.2 生物活性

采用 MTT 法评价了化合物 **4~10** 对人白血病细胞株 K562 的生长抑制作用，结果显示，所有供试 7 种化合物均表现非常弱的细胞毒活性，IC_{50} 为 37.6 ~ 56.5 μM，阿霉素为阳性对照，IC_{50} 为 0.3 μM。

参考文献

1 Elizabeth Arnold1, F. Lutzoni. Diversity and Host Range of Foliar Fungal Endophytes: Are Tropical Leaves Biodiversity Hotspots? *Ecology*, 2007, 88: 541-549.

2 Priyani A. Paranagama EM. Kithsiri Wijeratne, Anna M. Burns, *et al*. Heptaketides from Corynespora sp. inhabiting the cavern beard Lichen, *Usnea cavernosa*: first report of metabolites of an endolichenic fungus (1). *J Nat Prod*, 2007, 70: 1700-1705.

(下转第 560 页)