

三叶青内生真菌 *Phomopsis* sp. YK-7 的化学成分研究

黄艳萍¹, 吴学谦¹, 胡玲², 帅永鑫¹, 况焱^{1*}, 杨胜祥^{1*}

1. 浙江农林大学 浙江省林业生物质化学利用重点实验室, 浙江 临安 311300

2. 宁波卫生职业技术学院, 浙江 宁波 315100

摘要: 目的 研究三叶青 *Tetrastigma hemsleyanum* 内生真菌 *Phomopsis* sp. YK-7 发酵产物中的化学成分。方法 采用色谱分离技术进行分离和纯化, 并根据谱学数据鉴定化合物的结构。结果 从 *Phomopsis* sp. YK-7 的发酵产物中分离得到 15 个化合物, 包括 13 个芳基苯并呋喃类化合物和 2 个甾体类化合物, 分别鉴定为 wittifuran X (1)、4-hydroxy-2-(4'-hydroxy-2'-methoxyphenyl)-6-methoxybenzofuran-3-carbaldehyde (2)、erypoeigin J (3)、桑辛素 S (4)、桑辛素 T (5)、桑辛素 C (6)、wiffifuran E (7)、iteafuranal A (8)、burtinol D (9)、7-methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-3-methyl-5-(3-prenyl)-benzofuran (10)、桑辛素 N (11)、桑辛素 P (12)、桑辛素 M (13)、过氧麦角甾醇 (14) 和 25-hydroxy-ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one (15)。结论 化合物 1~9 为首次从该属真菌中分离得到。

关键词: 三叶青; 内生真菌; 苯并呋喃类化合物; 甾体; 桑辛素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)15-3032-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.15.003

Chemical constituents of endophytic fungus *Phomopsis* sp. YK-7 isolated from *Tetrastigma hemsleyanum*

HUANG Yan-ping¹, WU Xue-qian¹, HU Ling², SHUAI Yong-xin¹, KUANG Yi¹, YANG Sheng-xiang¹

1. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Chemical Utilization of Forestry Biomass, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, China

2. Ningbo College of Health Science, Ningbo 315100, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of endophytic fungus *Phomopsis* sp. YK-7 isolated from *Tetrastigma hemsleyanum*. **Methods** The compounds were isolated and purified by chromatographic techniques and their structures were identified on the basis of spectral features. **Results** Fifteen known compounds, including 13 arylbenzofuran derivatives and two steroids, named wittifuran X (1), 4-hydroxy-2-(4'-hydroxy-2'-methoxyphenyl)-6-methoxybenzofuran-3-carbaldehyde (2), erypoeigin J (3), moracin S (4), moracin T (5), moracin C (6), wiffifuran E (7), iteafuranal A (8), burtinol D (9), 7-methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-3-methyl-5-(3-prenyl)-benzofuran (10), moracin N (11), moracin P (12), moracin M (13), ergosterol peroxide (14), and 25-hydroxy-ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one (15) were isolated from the fermentation products of *Phomopsis* sp. YK-7. **Conclusion** Compounds 1~9 are obtained from genus *Phomopsis* for the first time.

Key words: *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg.; endophytic fungus; arylbenzofuran; steroids; moracin

植物内生真菌 (endophytic fungi) 指生活史的一定阶段或全部在健康植物的各种组织或器官内部的真菌, 其通过产生次生代谢产物来增强植物的抗逆、抗病虫害特性及种间竞争能力。协同进化使得某些内生真菌具有了与宿主相同或相似的合成途

径。自从在短叶红豆杉 *Taxus brevifolia* Nutt. 内生真菌 *Taxomyces andreanae* 中发现紫杉醇 (paclitaxel, taxol) 后, 很多植物内生真菌新颖成分被发现具有抗菌、抗肿瘤、抗病毒、提高免疫力、调节植物生长和杀虫等活性^[1-2]。三叶青 *Tetrastigma hemsleyanum*

收稿日期: 2017-02-27

基金项目: 浙江省农业生物资源生化制造协同创新中心开放基金项目 (2016KF0025, 2016KF0003, 2016KF0007); 浙江省重点科技创新团队项目 (2013TD17); 浙江省重点研发项目 (2017C02012); 浙江农林大学人才项目 (2034020119)

*通信作者 杨胜祥 Tel: (0571)63732775 E-mail: shengxiangyang2000@163.com

况焱 Tel: (0571) 63732775 E-mail: kuang_yan_yan@163.com

Diels et Gilg. 是我国特有的珍稀药用植物, 以块根或全草入药, 具有清热解毒、祛风化痰、活血止痛的功效, 常用于治疗高热惊厥、肺炎、哮喘、肝炎、风湿、月经不调、咽痛、瘰癧、疔疮等^[3]。目前, 关于三叶青内生真菌化学成分的研究尚未见文献报道。本实验对三叶青内生真菌 *Phomopsis* sp. YK-7 发酵产物的化学成分进行了研究, 从该菌的发酵产物中分离得到 15 个化合物, 包括 13 个芳基苯并呋喃类化合物和 2 个甾体类化合物, 分别鉴定为: wittifuran X (**1**)、4-hydroxy-2-(4'-hydroxy-2'-methoxyphenyl)-6-methoxybenzofuran-3-carbaldehyde (**2**)、erypogin J (**3**)、桑辛素 S (moracin S, **4**)、桑辛素 T (moracin T, **5**)、桑辛素 C (moracin C, **6**)、wiffifuran E (**7**)、iteafuranal A (**8**)、burttinol D (**9**)、7-methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-3-methyl-5-(3-prenyl)-benzofuran (**10**)、桑辛素 N (moracin N, **11**)、桑辛素 P (moracin P, **12**)、桑辛素 M (moracin M, **13**)、过氧麦角甾醇 (ergosterol peroxide, **14**) 和 25-hydroxy-ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one (**15**)。其中, 化合物 **1**~**9** 为首次从该属真菌中分离得到。

1 仪器与材料

XRC-1 型显微熔点仪 (四川大学科仪厂); Bruker DRX-500 型核磁共振仪 (Bruker 公司); VG AUTO spec-3000 质谱仪 (VG 仪器公司)。柱色谱用硅胶 (100~200、200~300 目) 和薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ 均由青岛海洋化工厂生产。反相用材料 RP₁₈ 为 Merck 公司产品。Sephadex LH-20 由 Fluka 公司生产。其余试剂均为分析纯。

三叶青新鲜植株采自浙江省丽水市遂昌县, 经浙江农林大学桂仁意教授鉴定为葡萄科植物三叶青 *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg.; 本实验所用的三叶青内生真菌 (编号 YK-7) 由浙江农林大学天然产物化学研究室提供, 是从该三叶青的新鲜枝中分离得到的, 经浙江农林大学桂仁意教授形态鉴定法确定该菌种为拟茎点霉菌属 *Phomopsis* sp.。

2 液体发酵

发酵培养基 (氯化钙 0.5 g、磷酸二氢钾 0.1 g、氯化钾 0.05 g、硫酸镁 0.1 g、葡萄糖 20.0 g、蛋白胨 15.0 g、1 000 mL 水、pH 6.5)。在 1 000 mL 的三角瓶中加入 200 mL 液体培养基, 灭菌。无菌条件下取 8~10 mm² 大小的菌苔 2~3 块接入液体培养基中, 先在 28 ℃ 的摇床上静置培养 1 d, 然后 120 r/min 旋转震荡培养 6 d, 共发酵 30 L, 发酵结束后

滤过分别获得菌丝体和发酵液。

3 提取与分离

将发酵得到的菌丝体用 5 倍量甲醇超声提取 4 次后, 合并提取液, 减压浓缩得到甲醇浸膏。甲醇浸膏加水悬浮, 用石油醚脱脂后再用醋酸乙酯萃取得到浸膏 13.2 g。醋酸乙酯提取物用粗硅胶 (100~200 目) 拌样后, 经过硅胶 (200~300 目) 柱色谱, 氯仿-甲醇梯度洗脱 (100:0→0:100), TLC 检测合并为 7 个组分 (Fr. 1~7)。Fr. 2 经硅胶 (200~300 目) 柱色谱, 石油醚-丙酮 (20:1→1:1) 梯度洗脱后, 合并得到 5 个组分 Fr. 2A~2E。Fr. 2B 经过 Sephadex LH-20 (甲醇) 分离后得到化合物 **14** (13.9 mg) 和 **15** (9.9 mg); Fr. 2E 经过 Sephadex LH-20 (氯仿-丙酮 1:1) 分离后, 得到化合物 **10** (6.3 mg)。Fr. 3 进行硅胶柱色谱分离, 用氯仿-丙酮 (20:1→1:1) 梯度洗脱, 得到化合物 **1** (7.0 mg)、**2** (8.8 mg)、**3** (9.1 mg) 和 **9** (11.0 mg)。Fr. 4 通过 RP₁₈ 色谱, 甲醇-水 (20:80→0:100) 梯度洗脱, 得到化合物 **4** (6.7 mg)、**5** (10.1 mg)、**6** (10.6 mg) 和 **11** (9.2 mg); Fr. 5 经过 Sephadex LH-20 (甲醇) 分离后, 再通过 RP₁₈ 分离, 甲醇-水 (20:80→50:50) 梯度洗脱, 得到化合物 **7** (8.8 mg)、**8** (7.2 mg)、**12** (13.1 mg) 和 **13** (6.9 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 棕色粉末 (丙酮)。¹H-NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) δ : 7.13 (1H, s, H-4), 6.96 (1H, s, H-7), 6.94 (1H, s, H-3), 6.77 (2H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2', 6'), 6.31 (1H, t, *J* = 2.0 Hz, H-4'), 3.87 (3H, s, 5-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ : 159.7 (C-3', 5'), 155.9 (C-2), 149.5 (C-7a), 147.6 (C-5), 144.5 (C-6), 133.2 (C-1'), 122.5 (C-3a), 105.8 (C-4), 103.3 (C-2', 4', 6'), 102.0 (C-3), 95.8 (C-7), 56.6 (5-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[4], 故鉴定化合物 **1** 为 wittifuran X。

化合物 **2**: 黄色粉末 (甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.74 (1H, s, 3-CHO), 7.49 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6'), 6.79 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-7), 6.62 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-3'), 6.56 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, H-5'), 6.33 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-5), 3.77 (3H, s, 2'-OCH₃), 3.76 (3H, s, 6-CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 190.6 (3-CHO), 163.5 (C-2), 162.3 (C-4'), 160.4 (C-6), 158.9 (C-2'), 155.8 (C-7a), 151.1 (C-4), 133.2 (C-6'), 117.7 (C-3), 108.3 (C-5'), 107.4

(C-1'), 106.6 (C-3a), 99.9 (C-3'), 98.1 (C-5), 88.3 (C-7), 55.9 (6, 2'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[5], 故鉴定化合物 **2** 为 4-hydroxy-2-(4'-hydroxy-2'-methoxyphenyl)-6-methoxybenzofuran-3-carbaldehyde。

化合物 **3**: 黄色粉末(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) δ : 10.19 (1H, s, 3-CHO), 7.93 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-4), 7.55 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-6'), 7.08 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 6.66 (1H, d, J = 2.5 Hz, H-3'), 6.61 (1H, dd, J = 8.5, 2.5 Hz, H-5'), 5.35 (1H, t, J = 7.5 Hz, H-2''), 3.94 (3H, s, H-6-OCH₃), 3.60 (2H, d, J = 7.5 Hz, H-1''), 1.81 (3H, s, H-4''), 1.65 (3H, s, H-5''); ¹³C-NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ : 187.9 (3-CHO), 163.8 (C-2), 162.1 (C-4'), 157.7 (C-2'), 156.5 (C-6), 154.5 (C-7a), 133.4 (C-6'), 132.2 (C-3''), 122.8 (C-2''), 120.0 (C-4), 119.9 (C-3a), 117.8 (C-3), 114.1 (C-7), 109.9 (C-5), 109.0 (C-5'), 108.8 (C-1'), 104.2 (C-3'), 56.8 (6-OCH₃), 25.8 (C-5''), 23.2 (C-1''), 17.9 (C-4'')。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 **3** 为 erypogin J。

化合物 **4**: 棕色粉末(丙酮)。¹H-NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) δ : 7.25 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-4), 7.04 (1H, s, H-3), 6.91 (2H, d, J = 2.0 Hz, H-2', 6'), 6.85 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5), 6.40 (1H, t, J = 2.0 Hz, H-6'), 5.47 (1H, t, J = 7.5 Hz, H-2''), 3.65 (2H, d, J = 7.5 Hz, H-1''), 1.95 (3H, s, H-5''), 1.68 (3H, s, H-4''); ¹³C-NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ : 160.1 (C-3', 5'), 155.6 (C-2), 155.5 (C-6), 153.8 (C-7a), 133.7 (C-1'), 132.0 (C-3''), 123.3 (C-2''), 122.6 (C-3a), 119.2 (C-4), 113.3 (C-5), 112.4 (C-7), 104.0 (C-2', 6'), 103.5 (C-4'), 102.9 (C-3), 26.2 (C-5''), 23.1 (C-1''), 18.3 (C-5'')。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **4** 为桑辛素 S。

化合物 **5**: 棕色粉末(丙酮)。¹H-NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) δ : 7.06 (1H, s, H-3), 6.94 (1H, s, H-7), 6.85 (2H, d, J = 2.0 Hz, H-2', 6'), 6.36 (1H, t, J = 2.0 Hz, H-4'), 5.33 (1H, t, J = 7.5 Hz, H-2''), 3.79 (3H, s, 5-OCH₃), 3.60 (2H, d, J = 7.5 Hz, H-1''), 1.86 (3H, s, H-5''), 1.70 (3H, s, H-4''); ¹³C-NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ : 160.0 (C-3', 5'), 155.5 (C-2), 152.6 (C-7a), 150.0 (C-6), 144.0 (C-5), 133.6 (C-1'), 132.6 (C-3''), 127.5 (C-4), 124.2 (C-2''), 122.3 (C-3a), 104.0 (C-2', 6'), 103.5 (C-4'), 101.9 (C-3), 97.5 (C-7), 61.7 (5-OCH₃), 27.3 (C-1''), 26.2 (C-5''), 18.3 (C-4'')。以上

数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **5** 为桑辛素 T。

化合物 **6**: 黄色粉末(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.39 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-4), 6.92 (1H, s, H-3), 6.91 (1H, overlap, H-7), 6.76 (2H, d, J = 2.0 Hz, H-2', 6'), 6.73 (1H, dd, J = 8.5, 2.0 Hz, H-5), 5.20 (1H, t, J = 7.0 Hz, H-2''), 3.21 (1H, d, J = 7.0 Hz, H-1''), 1.70 (3H, s, H-5''), 1.61 (3H, s, H-4''); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 156.9 (C-3', 5'), 156.1 (C-6), 155.5 (C-7a), 154.6 (C-2), 130.2 (C-3''), 128.5 (C-1'), 123.6 (C-2''), 121.5 (C-4), 121.2 (C-3a), 115.5 (C-4'), 112.8 (C-5), 102.8 (C-2', 6'), 101.0 (C-3), 97.8 (C-7), 26.1 (C-1''), 22.7 (C-5''), 18.2 (C-4'')。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **6** 为桑辛素 C。

化合物 **7**: 黄色粉末(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) δ : 7.52 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-4), 7.10 (1H, s, H-3), 7.04 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5), 6.66 (2H, d, J = 2.0 Hz, H-2', 6'), 6.24 (1H, t, J = 2.0 Hz, H-4''); ¹³C-NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ : 159.7 (C-3', 5'), 155.8 (C-2), 155.2 (C-7a), 154.5 (C-6), 133.5 (C-1'), 122.8 (C-3a), 121.5 (C-4), 113.7 (C-5), 104.8 (C-7), 103.8 (C-2', 6'), 103.5 (C-4'), 102.4 (C-3)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **7** 为 wiffifuran E。

化合物 **8**: 黄色粉末(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 9.94 (1H, s, 3-CHO), 7.39 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-6), 7.30 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.25 (1H, dd, J = 8.5, 2.0 Hz, H-6'), 6.96 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.95 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-7), 6.74 (1H, dd, J = 16.0, 1.5 Hz, H-1''), 6.21 (1H, dq, J = 16.0, 6.5 Hz, H-2''), 1.88 (3H, dd, J = 6.5, 1.5 Hz, H-3''); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 190.6 (C-3-CHO), 169.1 (C-2), 155.5 (C-7a), 150.8 (C-4'), 149.4 (C-4), 147.3 (C-3'), 126.7 (C-1''), 126.4 (C-6), 125.5 (C-2''), 123.2 (C-6'), 121.5 (C-5), 120.7 (C-1'), 118.6 (C-3), 116.9 (C-2'), 117.0 (C-5'), 114.8 (C-3a), 103.4 (C-7), 19.1 (C-3'')。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **8** 为 iteafuranal A。

化合物 **9**: 黄色粉末(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.84 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-6'), 7.44 (1H, s, H-4), 7.12 (1H, s, H-3), 7.01 (1H, s, H-7), 6.53 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-3'), 6.50 (1H, dd, J = 8.5, 2.0 Hz, H-5'), 6.25 (1H, dd, J = 18.0, 10.5 Hz, H-2''), 5.36 (1H, d, J = 18.0 Hz, H-3'' β), 5.28 (1H, d, J = 10.5 Hz, H-3'' α), 3.94 (3H, s, 2'-OCH₃), 1.50 (6H, s, H-1''-Me₂)；

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 157.6 (C-2'), 156.7 (C-4'), 153.7 (C-2), 152.5 (C-6), 104.1 (C-7), 151.6 (C-7a), 148.1 (C-2''), 128.4 (C-5), 123.4 (C-1'), 127.7 (C-6'), 117.5 (C-4), 113.7 (C-3''), 112.9 (C-3a), 107.4 (C-5'), 99.7 (C-3), 99.2 (C-3'), 40.4 (C-1''), 27.4 (C-1''-Me₂)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **9** 为 burtinol D。

化合物 **10**: 黄色粉末 (甲醇)。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 7.96 (2H, dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, H-2', 6'), 7.68 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-4), 7.40 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.80 (2H, dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, H-3', 5'), 5.23 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-2''), 3.84 (3H, s, 7-OCH₃), 3.80 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.21 (2H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1''), 2.18 (3H, s, 3-CH₃), 1.70 (3H, s, H-5''), 1.52 (3H, s, H-4''); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 160.2 (C-4'), 152.6 (C-2), 151.3 (C-7), 144.4 (C-7a), 136.1 (C-5), 133.8 (C-3''), 129.3 (C-2', 6'), 126.1 (C-3a), 123.0 (C-2''), 121.7 (C-1'), 116.0 (C-4), 115.0 (C-3', 5'), 113.3 (C-6), 110.9 (C-3), 56.1 (C-7-OCH₃), 56.0 (C-4'-OCH₃), 28.2 (C-1''), 25.7 (C-5''), 17.7 (C-5'')。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **10** 为 7-methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-3-methyl-5-(3-prenyl)-benzofuran。

化合物 **11**: 黄色粉末 (甲醇)。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.20 (1H, s, H-4), 7.05 (1H, s, H-7), 6.96 (1H, s, H-3), 6.67 (2H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2', 6'), 6.22 (1H, t, $J = 2.0$ Hz, H-4'), 5.32 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-2''), 3.26 (2H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1''), 1.72 (3H, s, H-5''), 1.68 (3H, s, H-4''); ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 158.9 (C-3', 5'), 153.7 (C-2), 153.6 (C-7a), 153.3 (C-6), 131.9 (C-1'), 131.2 (C-3''), 124.5 (C-5), 123.2 (C-2''), 120.5 (C-3a), 120.2 (C-4), 102.6 (C-4'), 102.2 (C-2', 6'), 101.5 (C-3), 97.0 (C-7), 28.4 (C-1''), 25.6 (C-5''), 17.7 (C-4'')。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **11** 为桑辛素 N。

化合物 **12**: 黄色粉末 (甲醇)。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{acetone}-d_6$) δ : 7.24 (1H, s, H-4), 6.98 (1H, s, H-3), 6.87 (1H, s, H-7), 6.86 (2H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2', 6'), 6.36 (1H, t, $J = 2.0$ Hz, H-4'), 3.82 (1H, t, $J = 5.5$ Hz, H-2''), 3.11 (1H, dd, $J = 16.0, 5.5$ Hz, H-1'' α), 2.80 (1H, dd, $J = 16.0, 5.5$ Hz, H-1'' β), 1.36 (3H, s, H-4''), 1.25 (3H, s, H-5''); ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{acetone}-d_6$) δ : 159.8 (C-3', 5'), 155.7 (C-7a), 155.3 (C-2), 152.5 (C-6), 133.3 (C-1'), 123.4 (C-3a), 121.8 (C-4), 117.9

(C-5), 103.9 (C-2', 6'), 103.6 (C-4'), 101.8 (C-3), 99.3 (C-3), 78.1 (C-3''), 69.9 (C-2''), 32.5 (C-1''), 26.3 (C-4''), 20.5 (C-5'')。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **12** 为桑辛素 P。

化合物 **13**: 棕色粉末 (甲醇)。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{acetone}-d_6$) δ : 7.40 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-4), 7.04 (1H, s, H-3), 6.98 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-7), 6.88 (2H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2', 6'), 6.81 (1H, dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, H-5), 6.38 (1H, t, $J = 2.0$ Hz, H-4'); ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{acetone}-d_6$) δ : 159.9 (C-3', 5'), 156.9 (C-7a), 156.7 (C-6), 155.8 (C-2), 133.5 (C-1'), 122.8 (C-3a), 122.0 (C-4), 113.4 (C-5), 103.9 (C-2', 6'), 103.8 (C-4'), 102.5 (C-3), 98.6 (C-7)。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **13** 为桑辛素 M。

化合物 **14**: 白色针状晶体 (甲醇)。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.50 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7), 6.24 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 5.22 (1H, dd, $J = 15.3, 7.6$ Hz, H-23), 5.14 (1H, dd, $J = 15.5, 8.3$ Hz, H-22), 3.92 (1H, m, H-3), 1.25 (3H, s, H-19), 1.00 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-21), 0.91 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-28), 0.88 (3H, s, H-18), 0.83 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-26), 0.82 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-27); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 135.4 (C-6), 135.2 (C-22), 132.3 (C-23), 130.7 (C-7), 82.2 (C-5), 79.4 (C-8), 66.4 (C-3), 56.2 (C-17), 51.8 (C-14), 51.1 (C-9), 44.6 (C-13), 42.8 (C-24), 39.4 (C-12, C-20), 36.9 (C-4, C-19), 34.7 (C-1), 33.1 (C-25), 30.1 (C-2), 28.6 (C-16), 23.4 (C-11), 20.9 (C-21), 20.6 (C-15), 20.0 (C-26), 19.6 (C-27), 18.2 (C-19), 17.6 (C-28), 12.9 (C-18)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **14** 为过氧麦角甾醇。

化合物 **15**: 白色针状晶体 (甲醇)。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.60 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, H-7), 6.04 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, H-6), 5.74 (1H, s, H-4), 5.37 (2H, m, H-22, 23), 1.18 (3H, s, H-27), 1.15 (3H, s, H-26), 1.08 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 1.01 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-28), 1.00 (3H, s, H-19), 0.97 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 199.5 (C-3), 164.2 (C-5), 155.9 (C-14), 138.2 (C-22), 133.9 (C-7), 129.9 (C-23), 124.5 (C-6, C-8), 123.5 (C-4), 72.5 (C-25), 56.1 (C-17), 49.0 (C-24), 44.5 (C-9), 44.0 (C-13), 39.3 (C-20), 36.8 (C-10), 35.6 (C-12), 34.2 (C-2), 34.1 (C-1), 27.7 (C-16), 27.0 (C-26), 26.3 (C-27), 25.4 (C-15), 21.2 (C-21), 19.1 (C-11), 19.0 (C-18), 16.3

(C-19), 15.5 (C-28)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **15** 为 25-hydroxy-ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one。

参考文献

- [1] 任慧慧, 许蕾, 杨胜祥, 等. 铁皮石斛内生真菌 *Verticillium* sp. KY-18 的化学成分研究 [J]. 中草药, 2014, 45(16): 2312-2315.
- [2] You F, Han T, Wu J Z, *et al.* Antifungal secondary metabolites from endophytic *Verticillium* sp. [J]. *Biochem System Ecol*, 2009, 37(3): 162-165.
- [3] 李瑛琦, 陆文超, 于治国. 三叶青的化学成分研究 [J]. 中草药, 2003, 34(11): 982-983.
- [4] Tan Y X, Yang Y, Zhang T, *et al.* Bioactive 2-arylbenzofuran derivatives from *Morus wittiorum* [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(7): 742-746.
- [5] Wang S C, Zhang G G, Guan J, *et al.* A new arylbenzofuran from the aerial parts of alfalfa [J]. *J Nat Med*, 2009, 63(2): 189-191.
- [6] Tanaka H, Oh-Uchi T, Etoh H, *et al.* An arylbenzofuran and four isoflavonoids from the roots of *Erythrina poeppigiana* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 63(5): 597-602.
- [7] Kapche G W D F, Fozing C D, Donfack J H, *et al.* Prenylated arylbenzofuran derivatives from *Morus mesozygia* with antioxidant activity [J]. *Phytochemistry*, 2009, 70(2): 216-221.
- [8] 谭永霞, 刘超, 陈若芸. 长穗桑中的苯并呋喃类化合物 [J]. 药学学报, 2008, 43(11): 1119-1122.
- [9] Yang Z Z, Wang Y C, Wang Y, *et al.* Bioassay-guided screening and isolation of α -glucosidase and tyrosinase inhibitors from leaves of *Morus alba* [J]. *Food Chem*, 2012, 131(2): 617-625.
- [10] Luo G Y, Zhou M, Liu Y, *et al.* 3-Formyl-2-arylbenzofurans from the aerial parts of *Itea ilicifolia* [J]. *Phytochemistry Lett*, 2014, 10(1): 19-22.
- [11] Yenesew A, Midiwo J O, Guchu S M, *et al.* Three isoflav-3-enes and a 2-arylbenzofuran from the root bark of *Erythrina burtii* [J]. *Phytochemistry*, 2002, 59(3): 337-341.
- [12] Du G, Wang Z C, Hu W Y, *et al.* Three new 3-methyl-2-arylbenzofurans from the fermentation products of an endophytic fungus *Phomopsis* sp. and their anti-TMV activity [J]. *Phytochemistry Lett*, 2017, 21(3): 172-175.
- [13] 崔锡强, 陈若芸. 滇桑茎皮中化学成分的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(3): 352-355.
- [14] 景莹, 张晓琦, 韩伟立, 等. 蒙桑叶化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(2): 181-184.
- [15] 高锦明, 董泽军, 刘吉开. 蓝黄红菇的化学成分 [J]. 云南植物研究, 2000, 22(1): 85-89.
- [16] Deng Z P, Sun L R, Ji M, *et al.* Steroids from *Bovistella radicata* (Mont.) Pat. [J]. *Biochem Systematics Ecol*, 2007, 35(10): 700-703.