

亳芍内生真菌 *Alternaria alternata* 次生代谢产物的研究

王举涛, 马宗慧, 王国凯, 刘劲松, 许凤清, 彭代银, 王 刚*

安徽中医药大学药学院, 现代中药安徽省重点实验室, 安徽道地中药材品质提升协同创新中心, 安徽 合肥 230012

摘要: 目的 研究亳芍内生真菌 *Alternaria alternata* 的次生代谢产物。方法 利用硅胶、Sephadex LH-20、反相、中压、高效液相制备等多种色谱法分离化合物, 采用波谱方法对化合物进行结构鉴定。结果 从内生真菌 *Alternaria alternata* 次生代谢产物中分离得到 15 个化合物, 分别鉴定为 methyl 4-acetamido-3-hydroxybenzoate (1)、(*E*)-methyl-5-hydroxy-3-methylpent-2-eno (2)、异苯并呋喃酮 A (3)、对羟基苯乙酮 (4)、6-hydroxy-isosclerone (5)、talaroflavone (6)、7-hydroxy-2-hydroxymethyl-5-methyl-4*H*-chromen-4-one (7)、alternarienic acid (8)、7-hydroxy-2,5-dimethyl-4*H*-1-benzopyran-4-one (9)、5-hydroxy-epialtenuene (10)、交链孢醇 (11)、methyl 3-hydroxybenzoate (12)、stemphyperylenol (13)、细格菌素 (14)、交链孢烯 (15)。结论 其中化合物 1、3、5~10、12~13 为首次从内生真菌 *Alternaria alternata* 次生代谢产物中分离得到。

关键词: 亳芍; *Alternaria alternata*; 内生真菌; 次生代谢产物; 异苯并呋喃酮 A

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)05-1061-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.05.006

Study on secondary metabolites of endophytic fungus *Alternaria alternata* from *Paeonia lactiflora*

WANG Ju-tao, MA Zong-hui, WANG Guo-kai, LIU Jin-song, XU Feng-qing, PENG Dai-yin, WANG Gang

Anhui Key Laboratory for modern Chinese Materia Medica & Synergetic Innovation Center of Anhui Authentic Chinese Medicine Quality Improvement, School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

Abstract: **Objective** This study focused on the secondary metabolites of endophytic fungus *Alternaria alternata* in *Paeonia lactiflora*. **Methods** Compounds were isolated from the EtOAc extract by chromatography technology and their structures were elucidated on the basis of comprehensive spectroscopic analysis. **Results** A total of 15 compounds were isolated and their structures were identified as methyl 4-acetamido-3-hydroxybenzoate (1), (*E*)-methyl-5-hydroxy-3-methylpent-2-eno (2), isobenzofuranone A (3), 4-hydroxyacetophenone (4), 6-hydroxy-isosclerone (5), talaroflavone (6), 7-hydroxy-2-hydroxymethyl-5-methyl-4*H*-chromen-4-one (7), alternarienic acid (8), 7-hydroxy-2,5-dimethyl-4*H*-1-benzopyran-4-one (9), 5-hydroxy-epialtenuene (10), alternariol (11), methyl 3-hydroxybenzoate (12), stemphyperylenol (13), altenusin (14), and altenuene (15). **Conclusion** Compounds 1, 3, 5—10, 12, and 13 are isolated from *Alternaria alternata* for the first time.

Key words: *Paeonia lactiflora* Pall; *Alternaria alternata*; endophytic fungi; secondary metabolites; isobenzofuranone A

内生真菌与宿主植物存在着互利共生关系^[1], 内生真菌一方面从宿主植物中摄取营养获得保护, 一方面还能够促进宿主植物对病虫害以及逆境等产生抗性。同时, 内生真菌在长期与宿主植物协同进化的过程中, 还可产生与宿主植物相似或相同活性成分的次生代谢产物, 包括抗菌、抗肿瘤、抗病毒、

抗氧化等活性成分^[2-4]。植物内生真菌与宿主之间特殊的共生关系为从植物内生真菌次生代谢产物的研究中寻找新型的天然活性先导物带来了新的方向。

亳芍, 即白芍, 亳州产道地药材, 为芍药科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的根^[5], 包含多种生物活性物质, 主要有苷类、萜类、黄酮类、酚类和糖

收稿日期: 2018-11-20

基金项目: 安徽省科技重大专项 (18030801128); 安徽省中央引导地方科技发展专项 (2017070702D173); 安徽省高等学校自然科学基金 2019 年度重点项目 (KJ2019A); 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室资助项目 (P2017-KF03)

作者简介: 王举涛 (1977—), 男, 副教授, 硕士生导师, 主要从事天然药物化学及中药复方物质基础研究。

Tel: (0551)68129167 E-mail: wjt591@163.com

*通信作者 王 刚 (1958—), 男, 教授, 硕士生导师, 主要从事天然药物化学研究。Tel: (0551)68129167 E-mail: kunhong_8@163.com

类等化合物^[6]。目前已有相关文献报道^[7]从亳芍的内生真菌中发现一株细脚棒束孢种菌种,能产生亳芍的主要成分芍药苷。因此,进一步挖掘亳芍中内生真菌次生代谢产物,致力于丰富其次生代谢产物多样性,为后期寻找新颖生物活性高的先导化合物奠定坚实基础。

本研究选取从亳芍中分离得到的一株内生真菌 *Alternaria alternata*, 采用经典大米固体发酵法和常规色(波)谱方法分离鉴定,从该菌株发酵液的醋酸乙酯提取物中分离得到 15 个化合物,分别鉴定为 methyl 4-acetamido-3-hydroxybenzoate (1)、(E)-methyl 5-hydroxy-3-methylpent-2-eno (2)、异苯并呋喃酮 A (isobenzofuranone A, 3)、对羟基苯乙酮(4-hydroxyacetophenone, 4)、6-hydroxy-isosclerone (5)、talaroglavone (6)、7-hydroxy-2-hydroxymethyl-5-methyl-4H-chromen-4-one (7)、alternarienic acid (8)、7-hydroxy-2,5-dimethyl-4H-1-benzopyran-4-one (9)、5-hydroxy-epialtenuene (10)、交链孢醇(alternariol, 11)、methyl 3-hydroxybenzoate (12)、stemphyperylenol (13)、细格菌素(altenusin, 14)、交链孢烯(altenuene, 15)。其中,化合物 1、3、5~10、12~13 为首次从 *Alternaria alternata* 内生真菌次生代谢产物中分离得到。

1 仪器与材料

亳芍植株采集于安徽省亳州市谯城区谯东镇崔柳行村农户亳芍种植园(北纬 33°51'12.74", 东经 115°53'24.06"), 经安徽中医药大学方成武教授鉴定为芍药科芍药属植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall.。内生真菌分子鉴定由上海生工生物工程有限公司完成。*Alternaria alternata* 菌株从新鲜亳芍根中分离得到,利用 PCR 技术扩增其 18 S DNA,经过基因测序比对后鉴定 *Alternaria alternata*, 活化好后放入 4℃ 冰箱,菌种保存于安徽中医药大学天然药物化学研究室。

正相柱色谱硅胶(200~300 目,由青岛海洋化工厂);反相柱色谱硅胶 RP-18 (45~70 μm), 日本富士化工有限公司;Sephadex LH-20 (GE);MCI 柱色谱硅胶(MCI gel CHP-20P (75~150 μm, 日本三菱化工);制备型 HPLC (Agilent 1260 型;色谱柱 Zorbax SB-C₁₈, 150 mm×9.4 mm, 5 μm, 体积流量 8 mL/min; 150 mm×21.2 mm, 体积流量 16 mL/min);MPLC (Sepacore System, 配备泵控制系统 C-615, 泵模块 C-605, 自动接收器 C-600, 填料

RP₁₈, 45~70 μm, 4.5~50 cm; 瑞士 BÜCHI 实验室技术服务有限公司);NMR 谱由 Bruker AVIII-600、DRX-500 或者 AV-400 型核磁共振波谱仪测定;质谱由 Waters AutoPremier P776 质谱仪、Agilent G6230A TOF LC/MS 质谱仪测定。

2 发酵、提取与分离

将保存在斜面试管中的 *Alternaria alternata* 菌株进行活化,将活化 3 代后的菌株用灭菌后的打孔器打取菌饼置于装有 1 L PDB (称取马铃薯粉 5 g 加入葡萄糖 15 g、蛋白胨 10 g 以及 5 g 氯化钠,然后加蒸馏水定容至 1 L) 培养基的锥形瓶中,放入恒温振荡培养箱中,于 28℃、135 r/min 振荡培养 7 d。将发酵液以 10% 的比例分别加入已灭菌的大米培养基中置于 28℃ 恒温培养箱中共培养,待菌丝长满大米培养基后取出用醋酸乙酯提取,得发酵提取物,提取物减压浓缩得到待分离浸膏 63 g,经 MPLC (甲醇-水 0:100→100:0) 梯度洗脱得到 14 个组分(1~14)。

组分 3 经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮 20:1)系统洗脱,得 11 个组分。组分 3-1、3-3 经 Sephadex LH-20 柱(氯仿-甲醇 1:1)纯化得到化合物 1 (1.1 mg) 和 2 (1.3 mg);组分 3-5 经 Sephadex LH-20 柱(100%甲醇)反复纯化得化合物 3 (2.1 mg) 和 4 (3.0 mg);组分 3-9 经 Sephadex LH-20 柱(100%甲醇)纯化得化合物 5 (2.3 mg);组分 3-10 析出沉淀,沉淀经反复重结晶纯化得化合物 6 (5.0 mg)。组分 4 经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮 10:1)系统洗脱,得 11 个组分。组分 4-11 经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮 10:1)系统洗脱和 Sephadex LH-20 柱(100%甲醇)纯化得化合物 7 (5.2 mg);组分 4-6 析出沉淀,反复纯化后得到化合物 10 (3.9 mg);组分 4-8 经高效液相色谱(乙腈-水 15:85→30:70, 运行时间 20 min)制备得到化合物 8 (3.0 mg)。组分 6 经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮 10:1)系统洗脱,得到化合物 9 (1.1 mg) 和 10 个组分。组分 6-2 经高效液相色谱(乙腈-水 12:88→30:70, 运行时间 40 min)制备后经 Sephadex LH-20 柱(100%丙酮)纯化得到化合物 11 (1.2 mg) 和 12 (2.0 mg);组分 6-8 经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮 10:1)系统洗脱,经高效液相色谱(乙腈-水 15:85→25:75, 运行时间 20 min)制备得到化合物 13 (2.5 mg) 和 14 (3.5 mg);组分 8 经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮 10:1)系统洗脱,再经 Sephadex LH-20 柱(100%

甲醇)反复纯化得到化合物 **15** (3.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末。mp 65~68 °C, ESI-MS m/z : 211 $[M+H]^+$; 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.62 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-7), 7.24 (1H, dd, $J = 7.9$, 1.5 Hz, H-6), 7.15 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-3), 3.93 (3H, s, OCH₃-H-5b), 2.34 (3H, s, CH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 169.0 (C-1), 128.8 (C-2), 125.9 (C-3, 6), 149.8 (C-4), 119.2 (C-5), 171.5 (C-5a), 122.9 (C-6), 52.7 (OCH₃), 24.3 (CH₃)。以上数据与文献报道一致^[8], 故确定化合物 **1** 为 methyl-4-acetamido-3-hydroxybenzoate。

化合物 **2**: 淡黄色油状液体。ESI-MS m/z : 143 $[M-H]^-$; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.73 (1H, m, H-3), 3.77 (2H, t, $J = 6.3$ Hz, H-4), 3.67 (3H, s, OCH₃), 2.39 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, H-5), 2.18 (3H, d, $J = 1.3$ Hz, CH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.9 (C-1), 156.4 (C-2), 117.2 (C-3), 60.1 (C-4), 43.7 (C-5), 50.9 (OCH₃), 18.7 (CH₃)。其波谱数据与文献对照一致^[9], 确定化合物 **2** 为 (*E*)-methyl-5-hydroxy-3-methylpent-2-eno。

化合物 **3**: 无色油状液体。 $[\alpha]_D^{25} +2.9^\circ$ (*c* 0.1, MeOH), ESI-MS m/z : 245 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.52 (1H, dt, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.99 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-4), 6.86 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6), 5.80 (1H, dd, $J = 8.0$, 4.6 Hz, H-3), 3.69 (3H, s, H-10), 3.05 (1H, dd, $J = 16.6$, 4.7 Hz, H-8), 2.78 (1H, dd, $J = 16.6$, 8.0 Hz, H-8); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 171.2 (C-1), 78.4 (C-3), 152.2 (C-3a), 113.9 (C-4), 137.8 (C-5), 117.1 (C-6), 158.3 (C-7), 112.5 (C-7a), 40.0 (C-8), 171.6 (C-9), 52.5 (C-10)。其波谱数据与文献报道一致^[10], 确定化合物 **3** 为 isobenzofuranone A。

化合物 **4**: 白色粉末。mp 107~108 °C, ESI-MS m/z : 159 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.88 (2H, brd, $J = 8.6$ Hz, H-2, 6), 6.85 (2H, brd, $J = 8.7$ Hz, H-3, 5), 2.51 (3H, s, CH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 199.8 (C = O), 130.2 (C-1), 132.2 (C-2, 6), 116.3 (C-3, 5), 163.9 (C-4), 26.3 (CH₃)。其波谱数据与文献对照一致^[11], 确定化合物 **4** 为 4-hydroxyacetophenone。

化合物 **5**: 白色针状结晶 (甲醇)。mp 189~190 °C, ESI-MS m/z : 195 $[M+H]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.53 (1H, dd, $J = 2.4$, 1.0 Hz, H-5), 6.16

(1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-7), 4.70 (1H, dd, $J = 8.7$, 3.8 Hz, H-4), 2.76 (2H, m, H-2 β), 2.62 (2H, m, H-2 α), 2.21 (1H, m, H-3 β), 2.03 (1H, m, 3 α); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 203.7 (C-1), 32.7 (C-2), 35.7 (C-3), 68.5 (C-4), 107.3 (C-5), 166.8 (C-6), 102.4 (C-7), 166.8 (C-8), 110.1 (C-1a), 151.0 (C-4a)。其波谱数据与文献对照一致^[12], 确定化合物 **5** 为 6-hydroxy-isosclerone。

化合物 **6**: 淡黄色粉末。mp 230~231 °C, $[\alpha]_D^{25} +181^\circ$ (*c* 0.74, MeOH), ESI-MS m/z : 299 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.78 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-4), 6.45 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-3), 6.40 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-6'), 3.56 (3H, s, OCH₃), 1.83 (3H, s, H-2'); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 169.6 (C-1), 93.2 (C-3), 103.6 (C-4), 166.9 (C-5), 100.2 (C-6), 160.3 (C-7), 13.4 (C-2'), 130.9 (C-3'), 201.4 (C-4'), 80.0 (C-5'), 151.0 (C-3a), 106.8 (C-7a), 55.7 (OCH₃)。其波谱数据与文献对照一致^[13], 确定化合物 **6** 为 talaroflavone。

化合物 **7**: 淡黄色结晶 (甲醇)。mp 256~258 °C, ESI-MS m/z : 207 $[M+H]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.65 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.64 (1H, dd, $J = 2.3$, 0.8 Hz, H-6), 6.22 (1H, t, $J = 0.9$ Hz, H-3), 4.43 (2H, d, $J = 0.8$ Hz, CH₂OH), 2.71 (3H, s, CH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 168.8 (C-2), 109.1 (C-3), 182.1 (C-4), 143.8 (C-5), 118.1 (C-6), 163.3 (C-7), 101.7 (C-8), 116.0 (C-4a), 161.2 (C-8a), 61.3 (CH₂OH), 23.2 (CH₃)。其波谱数据与文献对照一致^[14], 确定化合物 **7** 为 7-hydroxy-2-hydroxymethyl-5-methyl-4H-chromen-4-one。

化合物 **8**: 黄色油状液体。 $[\alpha]_D^{20} +75^\circ$ (*c* 0.1 MeOH), ESI-MS 279 $[M+H]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.47 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6), 6.15 (1H, dd, $J = 13.5$, 2.0 Hz, H-4), 4.30 (1H, dd, $J = 7.4$, 3.0 Hz, H-4'), 3.81 (3H, s, OCH₃), 3.01 (1H, q, $J = 17.7$, 7.15 Hz, H-3' α), 2.55 (1H, m, H-3' β), 2.02 (3H, d, $J = 12.6$ Hz, CH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 166.7 (C-1), 106.4 (C-2), 137.5 (C-3), 111.4 (C-4), 165.5 (C-5), 101.6 (C-6), 168.9 (C-7), 142.0 (C-1'), 167.1 (C-2'), 41.8 (C-3'), 73.1 (C-4'), 208.7 (C-5'), 56.0 (OCH₃), 17.9 (CH₃)。其波谱数据与文献对照一致^[15], 确定化合物 **8** 为 alternarienonic acid。

化合物 **9**: 白色粉末。mp 253~255 °C, ESI-MS

m/z : 191 $[M+H]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.62 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.62 (1H, d, $J = 2.3$, 0.8 Hz, H-6), 5.99 (1H, d, $J = 0.6$ Hz, H-8a), 2.70 (3H, s, H-5), 2.31 (3H, d, $J = 0.6$ Hz, H-2); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 166.6 (C-2), 19.8 (2- CH_3), 111.4 (C-3), 182.0 (C-4), 115.6 (C-4a), 143.6 (C-5), 118.0 (C-6), 163.1 (C-7), 101.6 (C-8), 161.5 (C-8a), 23.1 (5- CH_3)。其波谱数据与文献对照一致^[16], 确定化合物 **9** 为 7-hydroxy-2,5-dimethyl-4H-1-benzopyran-4-one。

化合物 **10**: 白色粉末。 $[\alpha]_D^{20} +3.6^\circ$ (c 0.02 MeOH), ESI-MS m/z : 301 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (500 MHz, C_5D_5N) δ : 6.95 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 6.82 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-4), 6.67 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-6'), 4.62 (1H, dd, $J = 5.5$, 2.9 Hz, H-5'), 4.44 (1H, m, H-4'), 2.88 (1H, dd, $J = 14.2$, 3.8 Hz, H-3' β), 2.30 (1H, dd, $J = 14.2$, 8.8 Hz, H-3' α), 1.68 (3H, s, CH_3); ^{13}C -NMR (125 MHz, C_5D_5N) δ : 140.6 (C-1), 100.2 (C-2), 164.79 (C-3), 104.5 (C-4), 166.7 (C-5), 169.6 (C-7), 133.5 (C-1'), 81.8 (C-2'), 40.8 (C-3'), 70.4 (C-4'), 72.2 (C-5'), 132.2 (C-6'), 56.4 (OCH₃), 28.1 (CH_3)。其波谱数据与文献对照一致^[17], 确定化合物 **10** 为 5-hydroxy-epialtenuene。

化合物 **11**: 无色油状液体。ESI-MS m/z : 281 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.25 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.69 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-5'), 6.59 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, H-3'), 6.36 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-4), 2.75 (3H, s, CH_3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 110.4 (C-1), 98.5 (C-2), 165.6 (C-3), 101.4 (C-4), 166.3 (C-5), 105.0 (C-6), 166.5 (C-7), 139.3 (C-1'), 153.9 (C-2'), 102.2 (C-3'), 159.3 (C-4'), 118.0 (C-5'), 139.5 (C-6'), 25.3 (CH_3)。其波谱数据与文献对照一致^[18], 确定化合物 **11** 为 alternariol。

化合物 **12**: 白色粉末。 $[\alpha]_D^{25} +7.5^\circ$ (c 0.04 MeOH), ESI-MS m/z : 153 $[M+H]^+$; 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.48 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-2), 7.41 (1H, t, $J = 2.0$ Hz, H-3), 7.20 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-6), 7.01 (1H, m, H-5), 3.87 (3H, s, CH_3); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 168.6 (C-1), 132.6 (C-2), 117.0 (C-3), 158.9 (C-4), 121.2 (C-5), 130.6 (C-6), 121.6 (C-7), 52.6 (OCH₃)。其波谱数据与文献对照一致^[19], 确定化合物 **12** 为 methyl-3-hydroxybenzoate。

化合物 **13**: 白色粉末。250 $^\circ C$ 分解; $[\alpha]_D^{25} +506^\circ$ (c 0.16 MeOH), ESI-MS m/z : 375 $[M+Na]^+$;

1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.02 (2H, dd, $J = 8.8$, 3.8 Hz, H-6, 12), 6.80 (2H, dd, $J = 8.8$, 3.3 Hz, H-5, 11), 4.62 (2H, m, H-1, 7), 3.68 (2H, dd, $J = 7.5$, 2.9 Hz, H-6b, 12b), 3.05 (4H, m, H-2 β , 8 β); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 68.6 (C-1, 7), 48.0 (C-2, 8), 204.3 (C-3, 9), 161.3 (C-4, 10), 116.0 (C-5, 11), 135.6 (C-6, 12), 116.1 (C-3a, 9a), 131.2 (C-6a, 12a), 46.2 (C-6b, 12b), 144.0 (C-9b, 12c)。其波谱数据与文献对照一致^[20], 确定化合物 **13** 为 stemphyperylennol。

化合物 **14**: 黄色粉末。mp 193~195 $^\circ C$, EI-MS m/z : 289 $[M-H]^-$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.57 (1H, s, H-3'), 6.47 (1H, s, H-6'), 6.41 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, H-4), 6.15 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, H-6), 3.79 (3H, s, 5-OCH₃), 1.90 (3H, s, 2'- CH_3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 174.4 (COOH), 148.0 (C-1), 107.7 (C-2), 164.8 (C-3), 100.5 (C-4), 165.7 (C-5), 111.3 (C-6), 135.6 (C-1'), 127.3 (C-2'), 116.6 (C-3'), 144.9 (C-4'), 143.7 (C-5'), 117.3 (C-6'), 55.9 (5-OCH₃), 19.3 (2'- CH_3)。其波谱数据与文献对照一致^[21], 确定化合物 **14** 为 altenusin。

化合物 **15**: 无色油状液体。 $[\alpha]_D^{25} -4^\circ$ (c 0.1 MeOH), ESI-MS m/z : 293 $[M+H]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.66 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-6), 6.47 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-4), 6.23 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-6'), 4.09 (1H, dd, $J = 5.9$, 2.7 Hz, H-5'), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.79 (1H, m, H-4'), 2.40 (1H, dd, $J = 14.5$, 4.0 Hz, H-3' β), 1.97 (1H, dd, $J = 14.5$, 9.0 Hz, H-3' α), 1.50 (3H, s, CH_3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 140.8 (C-1), 101.8 (C-2), 165.2 (C-3), 103.8 (C-4), 168.0 (C-5), 170.4 (C-7), 134.7 (C-1'), 82.5 (C-2'), 101.6 (C-3'), 70.7 (C-4'), 72.3 (C-5'), 131.5 (C-6'), 56.4 (OCH₃), 40.8 (C-3' α), 28.1 (CH_3)。其波谱数据与文献对照一致^[22], 确定化合物 **15** 为 altenuene。

参考文献

- [1] 梁宇, 高玉葆. 内生真菌对植物生长发育及抗逆性的影响 [J]. 植物学通报, 2000, 17(1): 52-59.
- [2] Zhang G, Sun S, Zhu T, et al. Antiviral isoidolone derivatives from an endophytic fungus *Emericella* sp. associated with *Aegiceras corniculatum* [J]. *Phytochemistry*, 2011, 72(11/12): 1436-1442.
- [3] Isaka M, Berkaew P, Intereya K, et al. Antiplasmodial and antiviral cyclohexadepsipeptides from the endophytic fungus *Pullularia* sp. BCC 8613 [J]. *Tetrahedron*, 2007, 63(29): 6855-6860.

- [4] Wagenaar M M, Corwin J, Strobel G, *et al.* Three new cytochalasins produced by an endophytic fungus in the Genus *Rhinochadiella* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(12): 1692-1695.
- [5] 杨柳, 许舜军, 吴金雄, 等. 白芍、赤芍的比较研究概况 [J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(5): 577-580.
- [6] 石钰. 美丽芍药化学成分及其生物活性研究 [D]. 西安: 陕西科技大学, 2015.
- [7] 程孝中, 许勇, 葛永斌, 等. 亳芍产芍药苷内生真菌的筛选 [J]. 安徽农业科学, 2016, 44(11): 162-164.
- [8] Nazare, M, Matter, H, Klingler O, *et al.* Novel factor Xa inhibitors based on a benzoic acid scaffold and incorporating a neutral P1 ligand [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14(11), 2801-2805.
- [9] Li J, Menche D. Selective deprotection of silyl ethers with sodium periodate [J]. *Synthesis*, 2009(11): 1904-1908.
- [10] Wang Y, Liu H X, Chen Y C, *et al.* Two new metabolites from the endophytic fungus *Alternaria* sp. A744 derived from *Morinda officinalis* [J]. *Molecules*, 2017, 22(5): 765-771.
- [11] Ding H Y, Lin H C, Teng C M, *et al.* Phytochemical and pharmacological studies on Chinese *Paeonia* species [J]. *J Chin Chem Soc*, 2000, 47(3): 561-566.
- [12] Venkatasubbaiah P, Chilton W S. Phytotoxins produced by *Tubakia dryina* [J]. *Mycopathologia*, 1992, 120(1): 33-37.
- [13] Ayer W A, Racok J S. The metabolites of *Talaromyces flavus*: Part 1. Metabolites of the organic extracts [J]. *Can J Chem*, 1990, 68(11): 2085-2094.
- [14] Kimura Y, Shiojima K, Nakajima H, *et al.* Structure and biological activity of plant growth regulators produced by *Penicillium* sp. No. 31f [J]. *Biosci Biotech Biochem*, 1992, 56(7): 1138-1139.
- [15] Aly A H, Edrada-Ebel R, Indriani I D, *et al.* Cytotoxic metabolites from the fungal endophyte *Alternaria* sp. and their subsequent detection in its host plant *Polygonum senegalense* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(6): 972-980.
- [16] 桑圣民, 毛士龙, 劳爱娜, 等. 中药韭子中一个新生物碱成分 [J]. 天然产物研究与开发, 2000, 12(2): 1-3.
- [17] 靳鹏飞, 戴好富, 左文健, 等. 角果木内生真菌的代谢产物研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2013, 23(4): 309-311.
- [18] Koch K, Podlech J, Pfeiffer E, *et al.* Total synthesis of alternariol [J]. *J Org Chem*, 2005, 70(8): 3275-3276.
- [19] 姚金龙, 付辉政, 周志强, 等. 鲜竹沥乙酸乙酯部位的化学成分研究 [J]. 中药材, 2018, 41(10): 2102-2106.
- [20] 李冬梅, 武昕, 季欣岑, 等. 植物内生真菌 *Alternariatenuissima* SY-P-07 次级代谢产物的研究 [J]. 中国药学杂志, 2014, 49(6): 464-468.
- [21] 郭玲芝, 刘呈雄, 徐帮, 等. 一株昆虫内生真菌 *Alternaria* sp. 次级代谢产物研究 [J]. 化学研究与应用, 2014, 26(2): 306-310.
- [22] Altemöller M, Podlech J, Fenske D. Total synthesis of altenuene and isoaltenuene [J]. *Eur J Org Chem*, 2006(7): 1678-1684.