

多花黄精内生真菌 *Aspergillus ochraceus* 的代谢产物研究

程子洋¹, 柯仲成¹, 吴永祥^{2*}

1. 黄山学院化学化工学院, 安徽 黄山 245041

2. 黄山学院生命与环境科学学院, 安徽 黄山 245041

摘要: 目的 研究多花黄精内生真菌 *Aspergillus ochraceus* 的次生代谢产物。方法 利用硅胶、SephadexLH-20、中压及高效液相制备等多种柱色谱法分离化合物, 根据谱学方法对化合物进行结构鉴定。结果 从内生真菌 *Aspergillus ochraceus* 中分离得到 15 个化合物, 分别鉴定为 6,7-dihydroindolizin-8(5H)-one(1)、polygonatine A(2)、8-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-3-indoliziny methyl acetate (3)、8-羟基色原酮(4)、环(L-亮-L-异亮)二肽(5)、交链孢酚(6)、seco-patulolide C(7)、正丁基-β-D-呋喃果糖苷(8)、N^b-乙酰色胺(9)、N-反式-桂皮酰酪胺(10)、5-羟甲基-2-呋喃糠醛(11)、5,7-二羟基-6,8-二甲基-3-(4'-羟基苯基)色烷-4-酮(12)、5,7-二羟基-6-甲基-8-甲氧基-3-(4'-羟基苯基)色烷-4-酮(13)、25R-3β-羟基螺甾-5-烯-12-酮(14)、25S-3β-羟基螺甾-5-烯-12-酮(15)。结论 所有化合物均首次从内生真菌 *Aspergillus ochraceus* 中分离得到。

关键词: 多花黄精; *Aspergillus ochraceus*; 内生真菌; 次生代谢产物; 8-羟基色原酮; 环(L-亮-L-异亮)二肽; 交链孢酚
中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)22-5424-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.22.007

Study on secondary metabolites of endophytic fungus *Aspergillus ochraceus* from *Polygonatum cyrtonema*

CHENG Zi-yang¹, KE Zhong-cheng¹, WU Yong-xiang²

1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Huangshan University, Huangshan 245041, China

2. College of Life and Environment Science, Huangshan University, Huangshan 245041, China

Abstract: Objective To investigate the secondary metabolites of *Aspergillus ochraceus*, an endophytic fungus isolated from *Polygonatum Cyrtonema*. **Methods** Compounds were isolated and purified from the EtOAc extract by using chromatography technology and their structures were established on the basis of comprehensive spectroscopic analysis. **Results** A total of 15 compounds were obtained and their structures were elucidated as 6,7-dihydroindolizin-8(5H)-one (1), polygonatine A (2), 8-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-3-indoliziny methyl acetate (3), 8-hydroxyketone (4), cyclo-(L-Leu-L-Ile) (5), alternariol (6), seco-patulolide C (7), *n*-butyl-β-D-fructopyranoside (8), N^b-acetyltryptamine (9), *N-trans*-cinnamoyltyramine (10), 5-hydroxy-methylfurfural (11), 5,7-dihydroxy-6,8-dimethyl-3-(4'-hydroxybenzyl) chroman-4-one (12), 5,7-dihydroxy-6-methyl-8-methoxy-3-(4'-hydroxybenzyl) chroman-4-one (13), 25R-3β-hydroxyspirost-5-en-12-one (14), and 25S-3β-hydroxyspirost-5-en-12-one (15). **Conclusion** All chemical constituents are isolated from *A. ochraceus* for the first time.

Key words: *Polygonatum cyrtonema* Hua.; *Aspergillus ochraceus*; endophytic fungi; secondary metabolites; 8-hydroxyketone; cyclo-(L-Leu-L-Ile); alternariol

内生真菌(endophytic fungus)是指生活在健康的植物组织或细胞内且不会引起宿主植物明显感染症状的一类真菌。内生真菌可产生与宿主植物相同或相似的活性成分^[1]。内生真菌具有数量众多、种

群结构多样的特点, 具有丰富的生物多样性, 是潜力巨大的微生物新资源^[2]。内生真菌的深入研究对于保护野生与濒危药用植物、拓展药用资源、新药研发等均具有一定的意义。

收稿日期: 2019-05-17

基金项目: 安徽省高校自然科学一般研究项目(KJHS2019B05); 安徽省留学回国人员创新项目择优资助计划重点项目(2017srst1); 安徽省高校优秀青年骨干人才国内访问研究项目(gxgnfx2019037); 博士人才引进启动基金项目(2016xkj004)

作者简介: 程子洋(1982—), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为中药成分提取分离及新剂型的研究。Tel: (0559)2546556

*通信作者 吴永祥, 博士, 副教授。Tel: (0559)2546552 E-mail: wyx2009sun@hsu.edu.cn

药用植物内生真菌具有丰富的生物多样性,其代谢产物繁多,主要有生物碱、皂苷、萜、芳香、多肽等类化合物。内生真菌的次生代谢产物研究备受关注,其结构多样性,必然蕴藏着生物活性的多样性,尤其是在农业和医药业中具有重要的潜力^[3]。内生真菌次生代谢产物具有抗肿瘤、抗炎、抗病原微生物及与宿主植物相近的生物活性^[4]。

百合科(Liliaceae)黄精属*Polygonatum* Mill. 药用植物多花黄精*Polygonatum cyrtoneuma* Hua., 又名“姜形黄精”,系多年生草本植物,是我国传统健脾益肾、补气养阴中药,最早记载见于《名医别录》,常以根茎入药。与黄精属药用植物黄精*P. sibiricum* Red. 和滇黄精*P. kingianum* Coll. et Hemsl 的根茎一同被《中国药典》2015年版一部收录^[5]。黄精作为药食同源和民间常用中药,广泛分布于东亚尤其是中国地区,而多花黄精在中国南部诸省均有分布,陕北、陇南、东北地区也有少量分布,大多生长于海拔500~2 000 m的灌丛、林下或山坡背阴处^[6]。在临床上除可以治疗糖尿病、冠心病、高脂血症等作用外,其营养价值也十分丰富^[7]。随着市场需求量增加,多花黄精将成为一种具有广泛发展前景的药食同源中药。长期以来多花黄精用药主要依靠采挖野生资源,破坏严重,造成野生资源濒临灭绝,人工栽培不能满足市场需求^[8]。为了实现多花黄精资源的综合利用,研究其内生真菌的代谢产物势在必行。

本实验选取从新鲜多花黄精茎中分离得到的 1 株内生真菌菌株 *Aspergillus ochraceus* 进行次生代谢产物研究,进一步从内生真菌中寻找结构新颖或者生物活性高的化合物。本研究采用经典次生代谢产物分离方法,从该菌株发酵液醋酸乙酯萃取部位中分离得到 15 个化合物,分别鉴定为 6,7-dihydroindolizin-8(5H)-one (**1**)、polygonatine A (**2**)、8-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-3-indoliziny methyl acetate (**3**)、8-羟基色原酮(8-hydroxyketone, **4**)、环(L-亮-L-异亮)二肽[cyclo-(L-Leu-L-Ile), **5**]、交链孢酚(alternariol, **6**)、seco-patulolide C (**7**)、正丁基-β-D-呋喃果糖苷(*n*-butyl-β-D-fructopyranoside, **8**)、N^b-乙酰色胺(N^b-acetyltryptamine, **9**)、N-反式-桂皮酰酪胺(*N*-trans-cinnamoyltyramine, **10**)、5-羟甲基-2-呋喃糠醛(5-hydroxymethylfurfural, **11**)、5,7-二羟基-6,8-二甲基-3-(4'-羟基苯基)色烷-4-酮[5,7-dihydroxy-6,8-dimethyl-3-(4'-hydroxybenzyl) chroman-

4-one, **12**]、5,7-二羟基-6-甲基-8-甲氧基-3-(4'-羟基苯基)色烷-4-酮[5,7-dihydroxy-6-methyl-8-methoxy-3-(4'-hydroxybenzyl) chroman-4-one, **13**]、25R-3β-羟基螺甾-5-烯-12-酮(25R-3β-hydroxyspirost-5-en-12-one, **14**)、25S-3β-羟基螺甾-5-烯-12-酮(25S-3β-hydroxyspirost-5-en-12-on, **15**)。所有化合物均为首次从内生真菌 *Aspergillus ochraceus* 中分离得到。

1 仪器与材料

Buker AVANCE III-600、Bruker DRX-500 和 AM-400 型核磁共振谱仪(德国 Bruker 公司); VG Autospec-300 质谱仪(英国 VG 公司); Agilent 1260 型高效液相色谱仪,色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱(150 mm×9.4 mm, 5 μm 和 150 mm×21.2 mm, 5 μm); BÜCHI 旋转蒸发仪(瑞士 BÜCHI 公司); 薄层色谱硅胶板和柱色谱用硅胶(200~300 目)均由青岛海洋化工厂生产;凝胶 Sephadex LH-20 填料由瑞典 Amersham Biosciences 公司生产;氘代溶剂购于各试剂公司;高效液相色谱用溶剂(甲醇、乙腈)为色谱纯,其余溶剂均为分析纯。

多花黄精新鲜根茎采集于湖南省新化县,种植模式为林下种植,由黄山学院化学化工学院柯仲成教授鉴定为百合科黄精属植物多花黄精 *Polygonatum cyrtoneuma* Hua.。内生真菌分子鉴定由上海生工生物工程有限公司完成。*Aspergillus ochraceus* 菌株从新鲜多花黄精的茎中分离得到,活化好后放入 4 °C 冰箱,菌种保存于黄山学院生命与环境科学学院。

2 发酵、提取与分离

将冰箱保存的菌株 *Aspergillus ochraceus* 接种到经高压灭菌的 PDA 平板培养基上,于 28 °C 培养箱活化培养 7 d。用灭菌后的 6 mm 打孔器打孔取其菌饼置装有 400 mL PDB 培养基的 1 000 mL 锥形瓶中,共 60 瓶,放入振荡培养箱中,于 28 °C、135 r/min 振荡培养 15 d,总发酵体积 24 L。将发酵液(24 L)减压浓缩后用醋酸乙酯萃取 3 次,合并萃取液减压浓缩得到浸膏 12.3 g,经正相硅胶柱色谱以石油醚-丙酮(100:0→0:100)梯度洗脱得到 6 个组分(Fr. A~G)。

Fr. C (6.4 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱,以三氯甲烷-甲醇(1:1)为流动相洗脱,得到 8 个亚组分 Fr. C-1~8。其中 Fr. C-2~6 分别经过制备型 HPLC,以乙腈-水(35%~65%)梯度洗脱,分别得到化合物 **1** (2.6 mg)、**3** (5.3 mg)、**4** (1.9 mg)、

7 (4.8 mg)、9 (2.2 mg) 和 10 (1.8 mg)。

Fr. E (4.1 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 以甲醇为流动相洗脱, 得到 5 个亚组分 Fr. E-1~5。其中 Fr. E-3~4 分别经过制备型 HPLC, 以乙腈-水 (35%~65%) 梯度洗脱, 分别得到化合物 2 (2.9 mg) 和 5 (3.1 mg)。

Fr. F (3.1 g) 和 Fr. G (3.1 g) 经以上手段分离纯化, 分别得到 4 个亚组分 Fr. F-1~4 和 5 个亚组分 Fr. G-1~5。其中 Fr. F-3~4 和 Fr. G-3~5 分别经制备型 HPLC, 以乙腈-水 (30%~60%) 梯度洗脱, 分别得到化合物 6 (3.3 mg)、8 (1.9 mg)、14 (4.1 mg)、15 (2.1 mg)、11 (4.8 mg)、12 (2.3 mg) 和 13 (1.7 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末, ESI-MS m/z : 136 $[M+H]^+$, 分子式为 C_8H_9NO 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.04 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-3), 6.87 (1H, s, H-1), 6.25~6.28 (1H, m, H-2), 4.14 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, H-5), 2.61 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, H-7), 2.27~2.32 (2H, m, H-6); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 23.7 (C-6), 36.4 (C-7), 45.3 (C-5), 110.3 (C-2), 114.2 (C-1), 115.9 (C-9), 125.9 (C-3), 187.4 (C-8)。上述数据与文献报道一致^[9-10], 故鉴定化合物 1 为 6,7-dihydroindolizin-8(5H)-one。

化合物 2: 淡黄色油状物, ESI-MS m/z : 188 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_9H_{11}NO_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.79 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-1), 6.17 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-2), 4.19 (2H, m, H-5), 2.27 (2H, m, H-7), 2.51 (2H, m, H-3), 4.62 (2H, s, H-10); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 24.0 (C-6), 36.6 (C-7), 43.2 (C-5), 56.4 (C-10), 110.4 (C-2), 112.9 (C-1), 132.1 (C-9), 138.8 (C-3), 187.7 (C-8)。上述数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 2 为 polygonatine A。

化合物 3: 淡黄色油状物, ESI-MS m/z : 230 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{11}H_{13}NO_3$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.97 (1H, d, $J = 4.1$ Hz, H-1), 6.31 (1H, d, $J = 4.1$ Hz, H-2), 5.10 (2H, s, H-10), 4.09 (2H, d, $J = 5.9$ Hz, H-5), 2.61 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-7), 2.32 (2H, q, $J = 6.1$ Hz, H-6), 2.09 (3H, s, 12- CH_3); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 187.4 (C-8), 170.5 (C-11), 132.0 (C-3), 131.6 (C-9), 113.4 (C-1), 112.6 (C-2), 57.1 (C-10), 42.5 (C-5), 35.9 (C-7), 23.2 (C-6), 20.8 (C-12)。上述数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合

物 3 为 8-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-3-indoliziny methyl acetate。

化合物 4: 白色粉末, ESI-MS m/z : 165 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_9H_8O_3$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.29 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-7), 7.02 (1H, dd, $J = 1.6$, 7.9 Hz, H-6), 6.83 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-5), 4.56 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-2), 2.79 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 38.7 (C-3), 68.6 (C-2), 117.9 (C-5), 122.1 (C-6), 122.4 (C-7), 123.1 (C-4a), 147.8 (C-8), 152.2 (C-8a), 194.3 (C-4)。上述数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 4 为 8-羟基色原酮。

化合物 5: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 227 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{12}H_{22}N_2O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, Pyr- d_5) δ : 4.22 (1H, m, Leu-H- α), 2.21 (2H, m, Leu-H- β), 1.47 (3H, m, Leu-H- γ), 0.94 (3H, d, $J = 7.8$ Hz, Leu-H- δ 1), 0.92 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, Leu-H- δ 2), 4.31 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, Ile-H- α), 2.34 (1H, m, Ile-H- β), 1.89 (2H, m, Ile-H- γ 1), 1.22 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, Ile-H- γ 2), 0.96 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, Ile-H- δ); ^{13}C -NMR (150 MHz, Pyr- d_5) δ : 169.1 (C-1), 167.6 (C-4), 59.6 (C-2), 53.0 (C-5), 44.3 (C-10), 38.9 (C-6), 25.1 (C-7), 24.2 (C-13), 23.8 (C-9), 22.4 (C-8), 15.9 (C-11), 12.5 (C-12)。上述数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 5 为环 (*L*-亮-*L*-异亮) 二肽。

化合物 6: 白色无定形粉末, EI-MS m/z : 259 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{14}H_{10}O_5$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.27 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.70 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-5'), 6.61 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-3'), 6.37 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-4), 2.76 (3H, s, CH_3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 25.8 (CH_3), 102.0 (C-4), 102.7 (C-3'), 105.5 (C-6), 110.9 (C-1'), 118.5 (C-5'), 139.8 (C-1), 140.0 (C-6'), 154.5 (C-2'), 160.0 (C-4'), 166.2 (C-3), 166.9 (C-5), 167.0 (C-7)。上述数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 6 为交链孢酚。 1H - 1H COSY、HSQC、HMBC 等二维核磁共振谱进一步证实了化合物 6 的结构。

化合物 7: 淡黄色油状物, ESI-MS m/z : 237 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{11}H_{18}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.96 (1H, dd, $J = 1.5$, 15.6 Hz, H-2a), 5.96 (1H, dd, $J = 1.5$, 15.6 Hz, H-2b), 6.85 (1H, dd, $J = 5.0$, 15.6 Hz, H-3), 4.21 (1H, m, H-4), 1.55 (2H, m, H-5), 1.43 (2H, m, H-6), 1.32 (2H, m, H-7), 1.34 (2H, m,

H-8), 1.33 (2H, m, H-9), 1.39 (2H, m, H-10), 3.68 (1H, m, H-11), 1.14 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, CH₃-12)。¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 170.5 (C-1), 152.3 (C-3), 121.6 (C-2), 71.8 (C-4), 68.7 (C-11), 40.3 (C-10), 37.7 (C-5), 30.8 (C-7), 30.7 (C-8), 26.9 (C-9), 26.5 (C-6), 23.6 (C-12)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **7** 为 seco-patulolide C。

化合物 **8**: 淡黄色油状物, ESI-MS m/z : 257 [M+Na]⁺, 分子式为 C₁₁H₂₂O₅。¹H-NMR (CD₃OD, 600 MHz) δ : 0.92 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, CH₃), 1.37 (2H, m, CH₂), 1.51 (2H, m, CH₂), 3.47~3.77 (7H, m, H-5, 6, 6', 1, 1', OCH₂), 3.92 (1H, dd, $J = 7.7, 7.8$ Hz, H-4), 4.11 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-3); ¹³C-NMR (CD₃OD, 150 MHz) δ : 14.4 (C-4'), 20.3 (C-3'), 33.5 (C-2'), 62.0 (C-1'), 64.2 (C-1), 65.0 (C-6), 77.3 (C-4), 78.4 (C-3), 83.3 (C-5), 105.2 (C-2)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **8** 为正丁基- β -D-呋喃果糖苷。

化合物 **9**: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 225 [M+Na]⁺, 分子式为 C₁₂H₁₄N₂O。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 8.09 (1H, s, H-1), 7.05 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2), 7.58 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-4), 7.15 (1H, dd, $J = 8.0, 8.0$ Hz, H-5), 7.13 (1H, dd, $J = 8.0, 8.0$ Hz, H-6), 7.37 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7), 2.98 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-10), 3.60 (1H, dd, $J = 6.0, 6.5$ Hz, H-11), 1.94 (3H, s, H-14); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 123.8 (C-2), 113.8 (C-3), 118.5 (C-4), 120.3 (C-5), 123.8 (C-6), 111.6 (C-7), 138.2 (C-8), 128.8 (C-9), 26.2 (C-10), 40.2 (C-11), 169.8 (C-13), 23.8 (C-14)。上述数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **9** 为 *N*^b-乙酰色胺。

化合物 **10**: 白色针状结晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 306 [M+Na]⁺, 分子式为 C₁₇H₁₇NO₃。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.24 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, 6), 6.92 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, 5), 2.94 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-7), 3.68 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-8), 7.71 (3H, m, H-2', 6', 7'), 7.57 (3H, m, H-3', 4', 5'), 6.75 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 131.3 (C-1), 130.8 (C-2, 6), 116.3 (C-3, 5), 157.1 (C-4), 36.0 (C-7), 42.6 (C-8), 168.7 (C-9), 136.3 (C-1'), 128.9 (C-2', 6'), 130.2 (C-3', 5'), 130.8 (C-4'), 141.7 (C-7'), 122.0 (C-8')。上述数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **10** 为 *N*-反式-桂皮酰酰胺。

化合物 **11**: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 127 [M+

H]⁺, 分子式为 C₆H₆O₃。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 9.60 (1H, s, H-6), 7.21 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-3), 6.51 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-4), 4.72 (2H, s, H-7); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 57.6 (C-7), 110.2 (C-3), 120.2 (C-4), 152.6 (C-2), 160.5 (C-5), 177.8 (C-6)。上述数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **11** 为 5-羟甲基-2-呋喃糠醛。

化合物 **12**: 黄色针状结晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 315 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₈H₁₈O₅。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 12.38 (1H, s, 5-OH), 7.12 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.82 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 4.29 (1H, dd, $J = 3.6, 10.8$ Hz, H-2b), 4.12 (1H, dd, $J = 7.2, 10.8$ Hz, H-2a), 3.15 (1H, dd, $J = 4.2, 14.4$ Hz, H-9b), 2.69 (1H, dd, $J = 11.4, 14.4$ Hz, H-9a), 2.78 (1H, m, H-3), 2.07 (3H, s, 6-CH₃), 2.05 (1H, s, 8-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 7.0 (8-CH₃), 7.6 (6-CH₃), 32.2 (C-9), 46.9 (C-3), 68.9 (C-2), 101.7 (C-4a), 102.5 (C-8), 102.9 (C-6), 115.7 (C-3', C-5'), 130.4 (C-2', C-6'), 154.5 (C-4'), 157.8 (C-8a), 159.7 (C-5), 160.7 (C-7), 198.6 (C-4)。上述数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 **12** 为 5,7-二羟基-6,8-二甲基-3-(4'-羟基苯基) 色烷-4-酮。

化合物 **13**: 黄色粉末, EI-MS m/z : 331 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₈H₁₈O₆。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 12.26 (1H, s, 5-OH), 7.12 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', H-6'), 6.81 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 4.34 (1H, dd, $J = 3.6, 10.8$ Hz, H-2b), 4.19 (1H, dd, $J = 7.2, 10.8$ Hz, H-2a), 3.84 (3H, s, 8-OCH₃), 3.18 (1H, dd, $J = 4.2, 14.4$ Hz, H-9b), 2.71 (1H, dd, $J = 11.4, 14.4$ Hz, H-9a), 2.83 (1H, m, H-3), 2.17 (3H, s, 6-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 7.3 (6-CH₃), 32.2 (C-9), 47.1 (C-3), 61.6 (8-OCH₃), 69.5 (C-2), 101.8 (C-4a), 104.4 (C-6), 115.5 (C-3', 5'), 129.8 (C-8), 130.4 (C-2', 6'), 150.6 (C-4'), 154.6 (C-8a), 156.1 (C-5), 158.2 (C-7), 197.9 (C-4)。上述数据与文献报道一致^[21], 故鉴定化合物 **13** 为 5,7-二羟基-6-甲基-8-甲氧基-3-(4'-羟基苯基) 色烷-4-酮。

化合物 **14**: 白色不定形粉末, ESI-MS m/z : 451 [M+Na]⁺, 分子式为 C₂₇H₄₀O₄。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 1.08 (3H, s, 19-CH₃), 1.13 (3H, s, 18-CH₃), 0.70 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, 27-CH₃), 1.33 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 21-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 212.7 (C-12), 141.9 (C-5), 120.9 (C-6), 109.4 (C-22), 79.7

(C-16), 71.1 (C-3), 67.0 (C-26), 56.3 (C-14), 55.1 (C-13), 54.1 (C-17), 52.5 (C-9), 43.3 (C-4), 42.7 (C-20), 37.7 (C-10), 37.6(C-11), 37.4 (C-1), 31.8 (C-23), 31.7 (C-7), 31.6 (C-15), 31.0 (C-8), 30.7 (C-2), 30.7 (C-25), 29.3 (C-24), 19.1(C-19), 17.3 (C-27), 16.0 (C-18), 13.9 (C-21)。以上数据与文献一致^[22], 故鉴定化合物 **14** 为 25R-3 β -羟基螺甾-5-烯-12-酮。

化合物 **15**: 白色不定形粉末, ESI-MS m/z : 451 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{27}H_{40}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 0.92 (3H, s, 19- CH_3), 1.14 (3H, s, 18- CH_3), 1.02 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, 27- CH_3), 1.33 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 21- CH_3); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 212.7 (C-12), 141.9 (C-5), 120.9 (C-6), 109.9 (C-22), 79.9 (C-16), 71.1 (C-3), 67.3 (C-26), 56.3 (C-14), 55.1 (C-13), 54.0 (C-17), 52.5 (C-9), 43.3 (C-4), 43.0 (C-20), 37.7 (C-10), 37.6(C-11), 37.4 (C-1), 31.7 (C-7), 31.6 (C-15), 31.0 (C-8), 30.7 (C-2), 27.6 (C-25), 26.5 (C-23), 26.3 (C-24), 19.1 (C-19), 16.9 (C-27), 16.0 (C-18), 13.8 (C-21)。以上数据与文献一致^[22], 故鉴定化合物 **15** 为 25S-3 β -羟基螺甾-5-烯-12-酮。

参考文献

- [1] Ambrose C, Varghese C, Subhash J B, *et al.* Endophytic bacteria as a source of novel antibiotics: An overview [J]. *Pharmacogn Rev*, 2013, 7(13): 11-16.
- [2] 任慧爽, 徐伟芳, 王爱印, 等. 桑树内生细菌多样性及内生拮抗性菌群的研究 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2017, 39(1): 36-45.
- [3] 吴云, 罗源, 齐博文, 等. 蛇足石杉内生真菌 *Cercospora lagenariae* MT-45 的代谢产物研究 [J]. 中草药, 2019, 50(3): 546-550.
- [4] 何冬梅, 赖长江生, 严铸云, 等. 中药微生态研究与展望 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(17): 3417-3430.
- [5] 姜程曦, 张铁军, 陈常青, 等. 黄精的研究进展及其质量标志物的预测分析 [J]. 中草药, 2017, 48(1): 1-16.
- [6] 赵欣. 黄精 HPLC 指纹图谱的研究及其不同产地的质量评价 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2011.
- [7] 李莺, 赵兵, 陈克克, 等. 黄精的研究进展 [J]. 中国野生资源, 2012, 31(1): 9-13.
- [8] 罗敏, 章文伟, 邓才富, 等. 药用植物多花黄精研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(6): 1467-1469.
- [9] Magnus P, Padilla A I. Proposed biogenetic origin of secu'amamine A from allosecurinine: A model study to support the intermediacy of the putative aziridinium ion [J]. *Org Lett*, 2006, 8(16): 3569-3571.
- [10] Dinsmore A, Mandy A, Michael J P. Total synthesis of two novel 5,6,7,8-tetrahydroindolizine alkaloids, polygonatines A and B [J]. *Org Biomol Chem*, 2006, 4(6): 1032-1037.
- [11] Sun L R, Li X, Wang S X. Two new alkaloids from the rhizome of *Polygonatum sibiricum* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2005, 7(2): 127-130.
- [12] Lynn D G, Jaffe K, Cormwell M, *et al.* Characterization of an endogenous factor controlling the cell cycle of complex tissues [J]. *J Am Chem Soc*, 1987, 109(19): 5858-5859.
- [13] E H C, Tang H, Liu B S, *et al.* Cyclodipeptides from the actinomycete *Kytococcus* sp. associated with the sea cucumber *Apostichopus japonicas* [J]. *Chin J Mar Drugs*, 2013, 32(2): 31-36.
- [14] Amal H A, RuAngelie E E, Ine D I, *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.
- [15] Smith C J, Abbanat D, Bernan V S, *et al.* Novel polyketide metabolites from a species of marine fungi [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(1): 142-145.
- [16] Dudiková J, Mastihubová M, Mastihuba V, *et al.* Exploration of transfructosylation activity in cell walls from *Cryptococcus laurentii* for production of functionalised β -D-fructofuranosides [J]. *J Mol Catal B Enzym*, 2007, 45(1): 27-33.
- [17] Li Y, Li X F, Kim D S, *et al.* Indolyl alkaloid derivatives, N^b -acetyltryptamine and oxaline from a marine-derived fungus [J]. *Arch Pharm Res*, 2003, 26(1): 21-23.
- [18] Zhang L, Bai B, Liu X, *et al.* α -Glucosidase inhibitors from Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) [J]. *Food Chem*, 2011, 126(1): 203-206.
- [19] Pyo M K, Jin J L, Koo Y K, *et al.* Phenolic and furan type compounds isolated from *Gastrodia elata* and their anti-platelet effects [J]. *Arch Pharm Res*, 2004, 27(4): 381-385.
- [20] Lin H R. Two homoisoflavonoids act as peroxisome proliferator-activated receptor agonists [J]. *Med Chem Res*, 2015, 24(7): 2898-2905.
- [21] Wang D M, Li D W, Zhu W, *et al.* A new C-methylated homoisoflavanone and triterpenoid from the rhizomes of *Polygonatum odoratum* [J]. *Nat Prod Res*, 2009, 26(6): 580-589.
- [22] Ma K, Huang X, Kong L Y. Steroidal saponins from *Polygonatum cyrtonea* [J]. *Chem Nat Compd*, 2013, 49(5): 888-891.