

涠洲岛珊瑚共附生真菌 *Alternaria* sp. GXIMD 02516 次级代谢产物研究

周茂席^{1,2}, 林妙萍², 齐鑫^{1,2}, 彭帅², 肖姣^{1,2}, 高程海², 刘永宏^{1,2*}, 罗小卫^{2*}

1. 沈阳药科大学无涯创新学院, 辽宁 沈阳 110016

2. 广西中医药大学海洋药物研究院, 广西海洋药物重点实验室, 广西 南宁 530200

摘要: 目的 研究涠洲岛珊瑚共附生真菌 *Alternaria* sp. GXIMD 02516 的次级代谢产物及其抗菌活性。方法 采用硅胶柱色谱等技术对化合物进行分离纯化, 利用核磁共振、质谱等谱学技术进行结构鉴定, 采用滤纸片琼脂扩散法和改良肉汤稀释法测定其抑菌活性。结果 从菌株 *Alternaria* sp. GXIMD 02516 的次级代谢产物中分离鉴定了 15 个化合物, 分别为钩端孢菌素 N (1)、leptosphaerin L (2)、clearanol D (3)、3-(1-羟乙基)-7-甲氧基苯酐 (4)、porriolide (5)、tenuissimasatin (6)、(R)-3,4-二氢-4,6,8-三羟基-4,5-二甲基-3-亚甲基异铬烯-1-酮 (7)、1-脱氧红布内酯 (8)、djalonsone (9)、百叶酚 (10)、phaeosphaeride A (11)、对羟基苯甲醛 (12)、chaxine B (13)、BB (14)、去甲基林西甾醇 A₃ (15)。化合物 9~11 和 13~15 对铜绿假单胞菌具有抑制作用, 最小抑菌浓度 (minimal inhibitory concentration, MIC) 为 0.78~25 μg/mL, 化合物 13~15 还对表皮葡萄球菌和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌具抑制作用, MIC 为 0.78~3.13 μg/mL。结论 化合物 1 为新化合物, 4 为新天然来源苯并呋喃酮类化合物, 化合物 11 和 13~15 为首次从该属中分离得到, 化合物 9~11 和 13~15 具有抑菌活性。

关键词: 海洋真菌; *Alternaria* sp.; 次级代谢产物; 苯并呋喃酮; 抑菌活性; 钩端孢菌素 N

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)21-7208-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.21.002

Secondary metabolites from Weizhou Island coral-associated fungus *Alternaria* sp. GXIMD 02516

ZHOU Maoxi^{1,2}, LIN Miaoping², QI Xin^{1,2}, PENG Shuai², XIAO Jiao^{1,2}, GAO Chenghai², LIU Yonghong^{1,2}, LUO Xiaowei²

1. Wuya College of Innovation, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

2. Guangxi Key Laboratory of Marine Drugs, Institute of Marine Drugs, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

Abstract: Objective To investigate secondary metabolites of the Weizhou Island coral-associated fungus *Alternaria* sp. GXIMD 02516 and their antibacterial activities. **Methods** The compounds were isolated and purified by chromatographic methods exemplified by silica gel column. The structures of the compounds were identified by extensive spectroscopic methods, including NMR, MS, etc. Their antibacterial activity was further evaluated by methods of the Kirby-Bauer test and the modified broth dilution. **Results** 15 compounds were isolated and identified from the fungus *Alternaria* sp. GXIMD 02516, which were identified as leptosphaerin N (1), leptosphaerin L (2), clearanol D (3), 3-(1-hydroxyethyl)-7-methoxyphthalide (4), porriolide (5), tenuissimasatin (6), (R)-3,4-dihydro-4,6,8-trihydroxy-4,5-dimethyl-3-methylenisochromen-1-one (7), 1-deoxyrubralactone (8), djalonsone (9), stemphyperylenol (10), phaeosphaeride A (11), para-hydroxybenzaldehyde (12), chaxine B (13), BB (14), and demethylcincisterol A₃ (15). Compounds 9—11 and 13—15 showed inhibitory activity against *Pseudomonas aeruginosa*, with minimal inhibitory concentration (MIC) values of 0.78—25 μg/mL. Moreover, compounds 13—15 showed inhibitory activity against *Staphylococcus epidermidis* albus and Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, with MIC values of 0.78—3.13 μg/mL. **Conclusion** Compound 1 was a new compound, and compound 4 was a new natural benzofuranone derivative. Besides, compounds 11 and 13—15 were

收稿日期: 2024-07-16

基金项目: 广西杰出青年科学基金项目 (2024GXNSFFA010004); 广西重点研发计划项目 (桂科 AB24010109); 国家自然科学基金项目 (U20A20101); 辽宁省博士科研启动基金计划 (2022-BS-160); 广西海洋药物重点实验室开放课题 (LMD2023-5)

作者简介: 周茂席, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: zhoumaoxi2022@163.com

*通信作者: 刘永宏, 研究员, 博士生导师, 从事海洋天然药物化学研究。E-mail: yonghongliu@scsio.ac.cn

罗小卫, 副研究员, 硕士生导师, 从事海洋天然药物化学研究。Tel: (0771)4733826 E-mail: luoxiaowei1991@126.com

obtained from the *Alternaria* genus for the first time. Compounds 9—11 and 13—15 showed antibacterial activities.

Key words: marine fungus; *Alternaria* sp.; secondary metabolites; benzofuranone; antibacterial activity; leptosphaerin N

海洋具有高盐、高压、低温（局部高温）及寡营养等特殊环境^[1]，造就海洋微生物产生独特的代谢途径及环境适应机制，成为结构新颖多样且活性显著天然产物的重要来源^[2]。北部湾是中国南海西北部的半封闭港湾，北邻广西，具有珊瑚礁、红树林、海草床、滨海湿地等四大典型海洋生态系统，蕴藏着丰富多样的海洋中药及其共附生微生物资源。北部湾海洋天然产物研究起步较晚，截止到 2022 年已报道 477 个，主要来源于海洋生物（48%）及其微生物（52%），结构类型包括聚酮类（43%）、萜类（40%）、含氮类（12%）和糖苷类（5%），具有细胞毒、抗菌和抗炎等生物活性，文献调研显示本团队在北部湾海洋天然产物研究方面做出重要贡献^[3]。链格孢属（*Alternaria*）真菌分布广泛，可作为腐生菌、寄生菌或者内生菌^[4]。该属真菌被报道可产生结构多样的次级代谢产物，包括聚酮类、含氮化合物、醌类、萜类等，具有抗菌、抗肿瘤、抗氧化和酶抑制等显著的生物活性^[4-6]。

本课题组长期致力于北部湾海洋微生物活性代谢产物研究，近年来筛选发现系列结构新颖多样的活性化合物，包括壳二孢氯素^[7]、喹诺酮类^[8]、环匹阿尼酸类^[9]和伊快霉素类生物碱^[10]、氯代酚酸类^[11]和 tanzawaic 酸类聚酮^[12]等。本研究从涠洲岛珊瑚中分离得到 1 株链格孢属真菌 *Alternaria* sp. GXIMD 02516，从其大米培养基发酵产物中分离鉴定了 1 个新的苯并呋喃酮类化合物（1）、1 个新天然产物（4）、以及 13 个已知化合物，分别为钩端孢菌素 N（leptosphaerin N，1）、钩端孢菌素 L（leptosphaerin L，2）、clearanol D（3）、3-(1-羟乙基)-7-甲氧基苯酐 [3-(1-hydroxyethyl)-7-methoxybenzofuran-2-one，4]、porriolide（5）、tenuissimasatin（6）、(R)-3,4-二氢-4,6,8-三羟基-4,5-二甲基-3-亚甲基异铬烯-1-酮 [(R)-3,4-dihydro-4,6,8-trihydroxy-4,5-dimethyl-3-methylene-isochromene-1-one，7]、1-脱氧红布内酯（1-deoxyrubralactone，8）、djalonsone（9）、百叶酚（stemphyrenol，10）、phaeosphaeride A（11）、对羟基苯甲醛（4-hydroxybenzaldehyde，12）、chaxine B（13）、BB（14）和去甲基林西甾醇 A₃（demethylincisterol A₃，15）（图 1）。通过改良肉汤稀释法对上述化合物进行抑菌活性测试，结果显示，

化合物 13~15 对表皮葡萄球菌（*Staphylococcus epidermidis albus*）和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*）具有抑制作用，最小抑菌浓度（minimal inhibitory concentration，MIC）值为 0.78~3.13 μg/mL，化合物 9~11 和 13~15 对铜绿假单胞菌（*Pseudomonas aeruginos*）具有抑制作用，MIC 值为 0.78~25 μg/mL。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

Eyelan-1100V-W 型旋转蒸发仪（日本东京理化株式会社）；ZYJ-S 型超净工作台（苏州净化设备公司）；Bruker AVANCE-500 MHz 超导核磁共振仪（德国布鲁克公司）；MLS-3781L-PC 型高压灭菌锅（普和希健康医疗器械上海有限公司）；纯水仪（成都优普仪器设备有限公司）；中压制备色谱仪（瑞士 BUCHI 公司）；Prominnence LC-2030 型高效液相色谱仪（日本岛津公司）；Xevo G2 QTof 型高分辨质谱仪（美国 Waters 公司）；J-1500 型圆二色谱仪（日本 JASCO 公司）；SYNERGY H1 型酶标仪（美国 BioTek 公司）；薄层色谱及柱色谱用硅胶（青岛海洋化工厂）；YMC-Pack ODS-A 色谱柱（250 mm×10 mm，5 μm，日本 YMC 公司）；COSMOSIL πNAP 蔡基柱（250 mm×10 mm，5 μm，日本 COSMOSIL 公司）；96 孔细胞板（Corning 公司，美国）；分析纯甲醇、醋酸乙酯等化学试剂（天津富宇精细化工有限公司）；色谱纯试剂（上海星可高纯溶剂有限公司）。

铜绿假单胞菌（*Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027）、表皮葡萄球菌（*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228）和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*，MRSA）等 3 株测试病原菌购自北京北纳创联生物技术研究院，菌株均保藏于广西中医药大学海洋药物研究院菌种库。

1.2 菌株来源及鉴定

菌株 GXIMD 02516 分离自广西北海涠洲岛鹿角珊瑚 *Acropora austera* 的新鲜组织，利用 PCR 技术对菌株的 ITS 进行扩增测序（北京擎科生物科技股份有限公司），通过 Blast 检索分析发现其 ITS 序列与菌株 *Alternaria* sp. 2YHY-2018（accession No. MH141264.1）的相似度高达 100%，故初步将其鉴

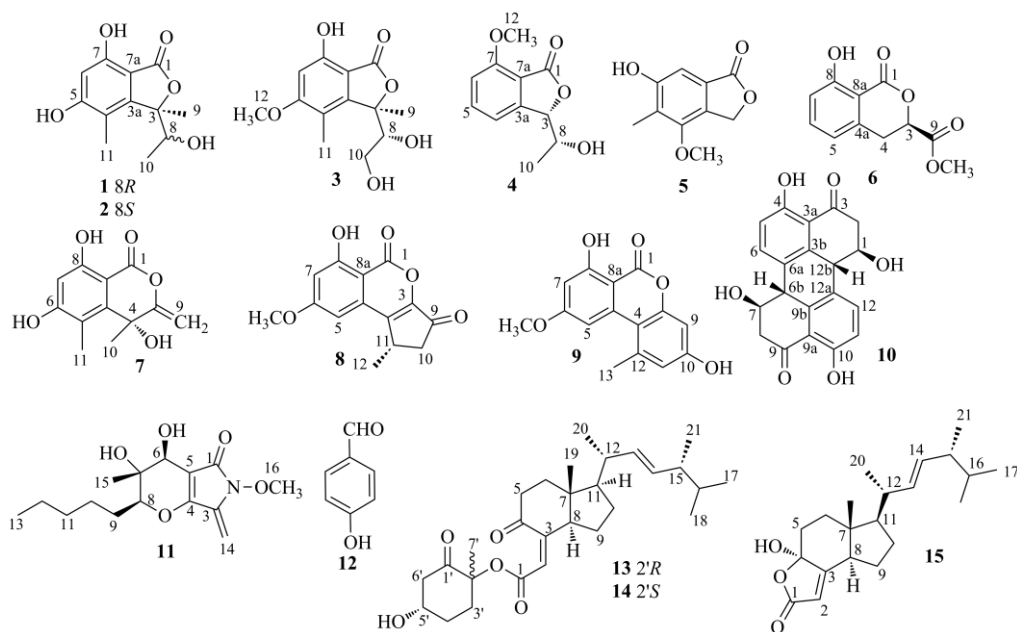


图 1 化合物 1~15 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—15

定为 *Alternaria* sp. GXIMD 02516 (链格孢菌)。该菌种已保存于广西中医药大学海洋药物研究院北部湾海洋微生物资源库中。

2 方法

2.1 菌株的培养与发酵

在无菌环境下, 将已经活化完成的菌株 GXIMD 02516 接种至 MB 液体培养基中, 然后将其放于 27 °C 摇床中动态培养 (180 r/min) 3 d, 当观察到培养基中充满颗粒均匀的菌落聚集时, 将种子液分别接种至已灭菌过的 1 L 三角瓶大米固体培养基 (120 g 大米、2% 海盐、0.1% 玉米浆、0.05% 蛋氨酸) 中, 室温下静置发酵 30 d, 共发酵 100 瓶。

2.2 发酵产物的提取分离

发酵结束后收获发酵产物, 加入适量醋酸乙酯, 再将大米捣碎, 超声提取 20 min, 反复提取浓缩至醋酸乙酯层溶液颜色变浅, 合并得到粗浸膏 199 g。采用中压硅胶柱色谱对粗浸膏进行分离, 采用石油醚-二氯甲烷-甲醇体系 (100 : 0 : 0 ~ 0 : 50 : 50) 进行梯度洗脱, 经过 TLC 分析后合并得到 9 个流分 Fr. 1~9。Fr. 4 (5.6 g) 经过中压反相硅胶柱色谱分离, 采用甲醇-水 (10%~100%) 梯度洗脱的方式共得到 10 个流分 Fr. 4-1~4-10。Fr. 4-5 (8 mg) 经半制备 HPLC (蔡基柱, 乙腈-水 65 : 35, 2 mL/min) 纯化得到化合物 **8** ($t_R=21$ min, 1.3 mg)。Fr. 4-2 (51 mg) 经半制备 HPLC (蔡基柱, 乙腈-水 30 : 70, 2

mL/min) 分离得到化合物 **6** ($t_R=23$ min, 24.4 mg)。Fr. 5 (1.0 g) 经过中压反相硅胶柱色谱分离, 采用甲醇-水 (10%~100%) 梯度洗脱的方式共得到 14 个流分 Fr. 5-1~5-14。其中, Fr. 5-9 (37 mg) 经半制备 HPLC (C_{18} 柱, 乙腈-水 65 : 35, 2 mL/min) 纯化得到化合物 **9** ($t_R=19$ min, 4.9 mg)。Fr. 5-3 (10 mg) 经半制备 HPLC (C_{18} 柱, 乙腈-水 40 : 60, 2 mL/min) 纯化得到化合物 **12** ($t_R=16.5$ min, 1.9 mg)。Fr. 7 (1.9 g) 经过中压反相硅胶柱色谱分离, 甲醇-水 (10%~100%) 梯度洗脱得到 16 个流分 Fr. 7-1~7-16。其中, Fr. 7-13 (100 mg) 经半制备 HPLC (C_{18} 柱, 乙腈-水 60 : 40, 2 mL/min) 纯化得到化合物 **11** ($t_R=21.5$ min, 9.3 mg)。Fr. 7-8 (73 mg) 经半制备 HPLC (C_{18} 柱, 乙腈-水 50 : 50, 2 mL/min) 纯化得到化合物 **7** ($t_R=17.8$ min, 3.6 mg)。Fr. 7-11 (66 mg) 经半制备 HPLC (C_{18} 柱, 乙腈-水 40 : 60, 2 mL/min) 纯化得到化合物 **10** ($t_R=34.5$ min, 2.3 mg)。Fr. 8 (6.1 g) 经过中压反相硅胶柱色谱分离, 采用甲醇-水 (10%~100%) 梯度洗脱得到 16 个流分 Fr. 8-1~8-16。其中 Fr. 8-9 (70 mg) 经半制备 HPLC (C_{18} 柱, 乙腈-水 40 : 60, 2 mL/min) 分离得到化合物 **5** ($t_R=27.9$ min, 3 mg)。Fr. 8-12 (509 mg) 经半制备 HPLC (C_{18} 柱, 乙腈-水 95 : 5, 2 mL/min) 纯化得到化合物 **13** ($t_R=42.8$ min, 18.8 mg)、**14** ($t_R=46.6$ min, 10.3 mg) 和 **15** ($t_R=34.5$ min, 17.5

mg)。Fr. 8-6 (79.6 mg) 经半制备 HPLC (蔡基柱, 乙腈-水 24:76, 2 mL/min) 纯化得到化合物 **4** ($t_R=29$ min, 10.6 mg)。Fr. 9 (4.8 g) 经过中压反相硅胶柱色谱分离, 采用甲醇-水 (10%~100%) 梯度洗脱的方式共得到 12 个流分 Fr. 9-1~9-12。其中 Fr. 9-5 (457.6 mg) 经半制备 HPLC (蔡基柱, 乙腈-水 20:80, 2 mL/min) 纯化得到化合物 **1** ($t_R=47$ min, 4.2 mg)、**2** ($t_R=32$ min, 7.5 mg) 和 **3** ($t_R=52$ min, 4.5 mg)。

2.3 化合物 1 和 4 的 ECD 计算

ECD 计算主要参考本团队前期报道的方法^[7]。简而言之, 基于分子默克力场 (Molecular Merck force field) 采用 Spartan'14 软件对化合物 **1** 和 **4** 进行构象搜索。然后基于含时密度泛函理论 (TDDFT methodology) 选择 Boltzmann 分布大于 1% 的低能构型进一步利用 Gaussian 16 软件在 B3LYP/6-311+G(d, p)/B3LYP/6-31+G (d) 水平进行 ECD 计算, 计算的 ECD 谱图采用 SpecDis 1.71 软件处理, 并经紫外校准后利用 Origin 9.0 软件进行绘制。

2.4 抑菌活性测试

参考本团队前期报道的方法^[13]。采用滤纸片琼脂扩散法对分离得到的化合物进行抑菌活性测试, 包括铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌和 MRSA, 所有的单体化合物用 DMSO 配制成质量浓度为 5 mg/mL 的溶液, 阳性药 (氨苄西林) 配制成质量浓度为 1 mg/mL 的溶液, 观察有无抑菌圈的形成, 并根据抑菌圈的大小即可初步判断单体化合物的抑菌活性。针对筛选出的具有抑菌活性的化合物继续采用改良肉汤稀释法测定其 MIC 值, 氨苄西林作为阳性对照。先用 LB 培养基制备菌悬液, 于 37 °C、180 r/min 床中培养至菌悬液在 600 nm 处的 A 值为 0.2~0.8, 再用 LB 培养基将菌悬液稀释 1 000 倍。然后取无菌 96 孔板, 采用二倍稀释法将氨苄西林和待测化合物分别设置 9 组浓度梯度进行横向倍比稀释, 每组设置 3 个平行实验。于 37 °C 培养 12~24 h, 使用酶标仪在 600 nm 处测量各孔的 A 值, 结合阴性和阳性对照, 判断 MIC 值。

3 结果与分析

3.1 化合物结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末; $[\alpha]_D^{25}-21$ (c 0.1, CH₃OH); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 295 (3.14), 258 (3.39), 214 (3.77); 高分辨质谱 HR-ESI-MS 在 m/z 237.076 9 给出准分子离子峰 $[M-H]^-$ (计算值 237.076 3, C₁₂H₁₃O₅), 说明其分子式为 C₁₂H₁₄O₅。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱

图, 并结合 HSQC 谱图给出 3 个甲基信号, 即为 $\delta_{H/C}$ 1.49 (s, H₃-9)/21.6, 1.11 (d, $J=6.3$ Hz, H₃-10)/17.9, 2.06 (s, H₃-11)/10.8; 1 个连氧次甲基 $\delta_{H/C}$ 4.07 (d, $J=6.3$ Hz, H-8)/68.5; 1 个芳香次甲基 $\delta_{H/C}$ 6.37 (s, H-6)/101.9, 以及 7 个季碳, 包括 5 个芳香碳 (δ_C 162.2, 155.3, 153.2, 109.2, 103.9), 1 个羰基 (δ_C 167.8) 和 1 个连氧季碳 (δ_C 88.1), 以上核磁数据与化合物 **2** 的核磁数据非常相似 (表 1), 进一步分析二维 NMR 相关谱图 (图 2) 发现两者具有一样的平面结构, 主要区别在于两者间 8-OH 和 CH₃-10 的化学位移, 推断为化合物 **1** 和 **2** 为一对 8 位差向异构体, 且化合物 **1** 和 **3** 的实测 ECD 曲线趋势基本一致, 推测两者具有一样的绝对构型。进一步采用 ECD 计算分析发现化合物 **1** 的实测 ECD 曲线与 (3*R*, 8*R*)-**1** 的计算 ECD 曲线的趋势 (图 3) 基本一致, 故确定化合物 **1** 的绝对构型为 3*R*, 8*R*, 经在 Scifinder 数据库中结构检索确认为新化合物, 命名为钩端孢菌素 N (leptosphaerin N)。

化合物 **2**: 白色粉末; HR-ESI-MS m/z 237.076 9 $[M-H]^-$ (calcd for C₁₂H₁₃O₅, 237.076 3); 分子式为 C₁₂H₁₄O₅。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.41 (1H, s, H-6), 4.05 (1H, m, H-8), 2.01 (3H, s, H₃-11), 1.58 (3H, s, H₃-9), 0.71 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H₃-10); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 167.8 (C, C-1), 162.6 (C, C-5), 155.8 (C, C-7), 153.0 (C, C-3a), 108.8 (C, C-4), 103.0 (C, C-7a), 102.2 (CH, C-6), 88.1 (C, C-3), 68.7 (CH, C-8), 21.1 (CH₃, C-9), 17.1 (CH₃, C-10), 11.0 (CH₃, C-11); 该化合物的数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **2** 为 leptosphaerin L。

化合物 **3**: 白色粉末; 分子式 C₁₃H₁₆O₆; HR-ESI-MS m/z 291.084 5 $[M+Na]^+$ (calcd for C₁₃H₁₆NaO₆, 291.084 5)。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.45 (1H, s, H-6), 4.62 (1H, t, $J=6.0$ Hz, H-8), 3.94 (1H, m, H-10a), 3.61 (1H, m, H-10b), 3.80 (3H, s, H₃-12), 2.10 (3H, s, H₃-11), 1.55 (3H, s, H₃-9); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 167.6 (C, C-1), 163.3 (C, C-5), 155.8 (C, C-7), 152.4 (C, C-3a), 110.4 (C, C-4), 104.4 (C, C-7a), 98.5 (CH, C-6), 87.4 (C, C-3), 73.7 (CH, C-8), 62.3 (CH₂, C-10), 56.0 (CH₃, C-12), 21.7 (CH₃, C-9), 10.8 (CH₃, C-11); 该化合物的数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **3** 为 clearanol D。

化合物 **4**: 白色粉末; 分子式 C₁₁H₁₂O₄; HR-ESI-MS m/z 231.063 2 $[M+Na]^+$ (calcd for C₁₁H₁₂NaO₄,

表 1 化合物 1~4 的 ^1H -NMR (500 MHz) 和 ^{13}C -NMR (125 MHz) 数据
Table 1 ^1H -NMR (500 MHz) and ^{13}C -NMR (125 MHz) data of compounds 1—4

碳位	1 ^a		2 ^a		3 ^a		4 ^b	
	δ_{H}	δ_{C} , type	δ_{H}	δ_{C} , type	δ_{H}	δ_{C} , type	δ_{H}	δ_{C} , type
1		167.8, C		167.8, C		167.6, C		168.7, C
3		88.1, C		88.1, C		87.4, C	5.26 (d, $J = 3.5$ Hz)	83.3, C
3a		153.2, C		153.0, C		152.4, C		149.7, C
4		109.2, C		108.8, C		110.4, C	7.07 (d, $J = 8.0$ Hz)	114.6, CH
5		162.2, C		162.6, C		163.3, C	7.62 (t, $J = 8.0$ Hz)	136.5, CH
6	6.37 (s)	101.9, CH	6.41 (s)	102.2, C	6.45 (s)	98.5, CH	6.94 (d, $J = 8.0$ Hz)	111.2, CH
7		155.3, C		155.8, C		155.8, C		158.7, C
7a		103.9, C		103.0, C		104.4, C		114.3, C
8	4.07 (m)	68.5, CH	4.05 (m)	68.7, CH	4.62 (t, $J = 6.0$ Hz)	73.7, CH	4.12 (m)	68.9, CH
9	1.49 (s)	21.6, CH ₃	1.58 (s)	21.1, CH ₃	1.55 (s)	21.7, CH ₃		
10	1.11 (d, $J = 6.5$ Hz)	17.9, CH ₃	0.71 (d, $J = 6.5$ Hz)	17.1, CH ₂	3.94 (m), 3.61 (m)	62.3, CH ₂	1.36 (d, $J = 6.5$ Hz)	18.9, CH ₃
11	2.06 (s)	10.8, CH ₃	2.01 (s)	11.0, CH ₃	2.10 (s)	10.8, CH ₃		
12					3.80 (s)	56.0, CH ₃	3.98 (s)	56.1, CH ₃
8-OH	4.81 (d, $J = 6.0$ Hz)		5.09 (d, $J = 6.0$ Hz)		5.00 (d, $J = 6.0$ Hz)			

^aDMSO- d_6 , ^bCDCl₃.

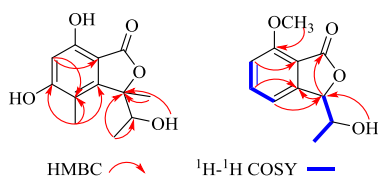
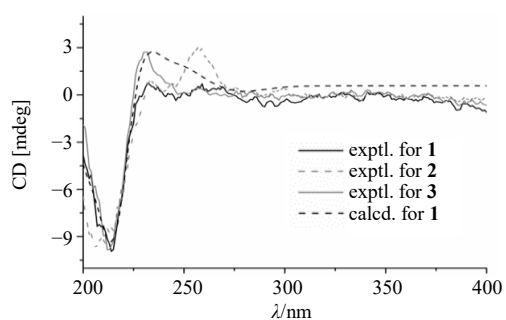


图 2 化合物 1 和 4 的主要 HMBC 和 ^1H - ^1H COSY 相关
Fig. 2 Key HMBC and/or ^1H - ^1H COSY correlations of compounds 1 and 4



231.063 3). ^1H -NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.62 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.07 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-4), 6.94 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 5.26 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-3), 4.12 (1H, m, H-8), 3.98 (3H, s, H₃-12), 1.36 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H₃-10); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 168.7 (C, C-1), 158.7 (C, C-7), 149.7 (C, C-3a), 136.5 (C, C-5), 114.6 (C, C-4), 114.3 (C, C-7a), 111.2 (C, C-6), 83.3 (C, C-3), 68.9 (C, C-8), 56.1 (CH₃, H₃-12), 18.9 (C, C-

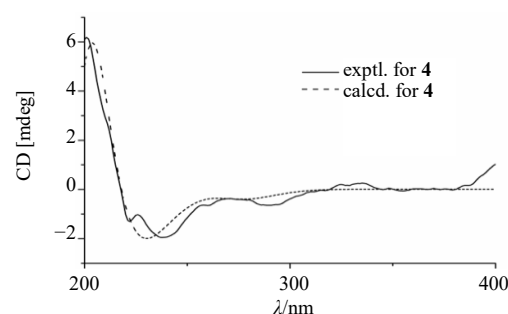


图 3 化合物 1~4 的实测和计算 ECD 谱图

Fig. 3 Experimental and calculated ECD spectra of compounds 1—4

10); 以上核磁数据与文献报道的合成产物 3-(1-hydroxyethyl)-7-methoxyphthalide [3-(1-羟乙基)-7-甲氧基苯酐] 基本一致^[16], 深入的二维 NMR 相关也证实了结构的正确性 (图 2), 经文献检索发现化合物 4 是新天然产物。

本团队前期也分离获得苯并呋喃酮类化合物,

发现 3 位手性是影响该类化合物 CD 效应的主要因素^[15], 化合物 4 的实测 ECD 谱图主要趋势与化合物 1 的实测 ECD 谱图趋势基本相反, 初步推断化合物 4 的 3 位构型为 S 构型, 此外化合物 4 和 1 的 10 位甲基化学位移更接近 (表 1), 初步推断两者具有一致的 8R 构型。以上推断进一步采用 ECD 计算

加以分析, 研究发现化合物 **4** 的实测 ECD 曲线与 (3*S*,8*R*)-**4** 的计算 ECD 曲线的趋势 (图 3) 基本一致, 故确定化合物 **4** 的绝对构型为 3*S*,8*R*。

化合物 **5**: 白色粉末; HR-ESI-MS m/z 217.047 3 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{10}H_{10}NaO_4$, 217.047 7)。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.90 (1H, s, H-7), 5.45 (2H, s, H₂-3), 3.89 (3H, s, H₃-8), 2.13 (3H, s, H₃-8); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 173.6 (C, C-1), 159.2 (C, C-4), 154.6 (C, C-6), 127.6 (C, C-7a), 125.6 (C, C-5), 124.7 (C, C-3a), 105.1 (CH, C-7), 70.1 (CH₂, C-3), 59.5 (CH₃, C-11), 9.7 (CH₃, C-8); 该化合物的数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **5** 为 porriolide。

化合物 **6**: 无色油状物; HR-ESI-MS m/z 245.042 9 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{11}H_{10}NaO_5$, 245.042 6)。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.55 (1H, t, $J=8.0$ Hz, H-6), 6.94 (2H, d, $J=8.0$ Hz, H-7, 5), 5.89 (1H, t, $J=7.0$ Hz, H-3), 3.76 (3H, s, 9-OCH₃), 2.90 (2H, dd, $J=7.0, 6.0$ Hz, H₂-4); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 171.5 (C, C-1), 169.7 (C, C-9), 156.7 (C, C-8), 149.0 (C, C-4a), 137.3 (CH, C-6), 116.2 (CH, C-7), 113.5 (CH, C-5), 111.0 (C, C-8a), 78.3 (CH, C-3), 52.4 (CH₃, 9-OCH₃), 39.3 (CH₂, C-4)。该化合物的数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **6** 为 tenuissimasatin。

化合物 **7**: 无色油状物; HR-ESI-MS m/z 259.058 9 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{12}H_{12}NaO_5$, 259.058 2)。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.32 (1H, s, H-7), 5.06 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-9a), 4.85 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-9b), 2.37 (3H, s, H₃-11), 1.64 (3H, s, H₃-10); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 168.1 (C, C-1), 166.3 (C, C-6), 163.8 (C, C-8), 163.0 (C, C-3), 145.6 (C, C-4a), 116.6 (C, C-5), 102.3 (CH, C-7), 98.6 (C, C-8a), 95.2 (CH₂, C-9), 72.5 (C, C-4), 29.5 (CH₃, C-10), 12.2 (CH₃, C-11); 该化合物的数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **7** 为 (*R*)-3,4-二氢-4,6,8-三羟基-4,5-二甲基-3-亚甲基异铬烯-1-酮。

化合物 **8**: 白色粉末; HR-ESI-MS m/z 283.058 3 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{14}H_{12}NaO_5$, 283.058 2)。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 11.35 (1H, s, 8-OH), 6.70 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-5), 6.69 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-7), 3.94 (3H, s, 6-OCH₃), 3.44 (1H, m, H-11), 2.95 (1H, dd, $J=19.0, 6.5$ Hz, H-10a), 2.32 (1H, dd, $J=19.0, 1.0$ Hz, H-10b), 1.46 (3H, d, $J=7.0$ Hz, H₃-12); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 195.5 (C, C-9), 166.9 (C, C-6),

165.4 (C, C-8), 165.1 (C, C-1), 148.3 (C, C-3), 144.8 (C, C-4), 134.6 (C, C-4a), 103.4 (CH, C-7), 103.2 (CH, C-5), 100.9 (C, C-8a), 56.2 (CH₃, 6-OCH₃), 42.9 (CH₂, C-10), 28.5 (CH, C-11), 21.2 (CH₃, C-12)。该化合物的数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 **8** 为 1-脱氧红布内酯。

化合物 **9**: 白色粉末; HR-ESI-MS m/z 295.058 4 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{15}H_{12}NaO_5$, 295.058 2)。 1H -NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.22 (1H, brs, H-5), 6.72 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-11), 6.65 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-9), 6.62 (1H, brs, H-7), 3.90 (3H, s, 6-OCH₃), 2.73 (3H, s, H₃-13); ^{13}C -NMR (125 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 166.2 (C, C-6), 164.2 (C, C-8), 158.8 (C, C-10), 152.7 (C, C-3), 138.4 (C, C-12), 137.9 (C, C-4a), 117.7 (CH, C-11), 108.7 (C, C-4), 103.4 (CH, C-5), 101.7 (CH, CH-9), 99.2 (CH, C-7), 98.5 (C, C-8a), 55.8 (C, 6-OCH₃), 25.1 (C, C-13)。该化合物的数据与文献报道一致^[21], 故鉴定化合物 **9** 为 djalonensone。

化合物 **10**: 白色粉末; HR-ESI-MS m/z 375.084 0 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{20}H_{16}NaO_6$, 375.084 5)。 1H -NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 12.04 (2H, s, 4, 10-OH), 8.01 (2H, d, $J=9.0$ Hz, H-5, 11), 6.87 (2H, d, $J=9.0$ Hz, H-6, 12), 5.80 (2H, brs, 1, 7-OH), 4.61 (2H, t, $J=9.0$ Hz, H-1, 7), 3.73 (2H, d, $J=9.0$ Hz, H-6b, 12b), 3.15 (2H, dd, $J=15.5, 7.5$ Hz, H-2a, 8a), 2.93 (2H, dd, $J=15.5, 4.5$ Hz, H-2b, 8b); ^{13}C -NMR (125 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 203.6 (C, C-3, 9), 159.2 (C, C-4, 10), 142.9 (C, C-3b, 9b), 134.7 (CH, C-6, 12), 130.0 (C, C-6a, 12a), 114.9 (C, C-3a, 9a), 114.5 (CH, C-5, 11), 66.6 (CH, C-1, 7), 48.6 (CH, C-6b, 12b), 46.9 (CH₂, C-2, 8); 该化合物的数据与文献报道一致^[22], 故鉴定化合物 **10** 为百叶酚。

化合物 **11**: 淡黄色油状物; 分子式 $C_{15}H_{23}NO_5$; HR-ESI-MS m/z 320.1476 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{15}H_{23}NNaO_5$, 320.147 4); HR-ESI-MS m/z 320.147 6 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{15}H_{23}NNaO_5$, 320.147 4)。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.08 (1H, d, $J=1.0$ Hz, H-14a), 5.03 (1H, d, $J=1.0$ Hz, H-14b), 4.46 (1H, s, H-6), 4.04 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-8), 3.90 (3H, s, H₃-16), 1.80 (2H, m, H₂-9), 1.58 (1H, m, H-12a), 1.33 (4H, m, H₂-10, 11), 1.32 (1H, m, H-12b), 1.27 (3H, s, H₃-15), 0.89 (3H, t, $J=7.0$ Hz, H₃-13); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.7 (C, C-1), 156.3 (C, C-4), 136.4 (C, C-

3), 104.5 (C, C-5), 92.9 (CH₂, C-14), 86.4 (CH, C-8), 71.9 (C, C-7), 64.7 (CH, C-6), 64.7 (CH₃, C-16), 31.6 (CH₂, C-11), 27.6 (CH₂, C-9), 26.3 (CH₂, C-10), 22.7 (CH₂, C-12), 22.7 (CH₃, C-15), 14.2 (CH₃, C-13); 该化合物的数据与文献报道一致^[23], 故鉴定化合物 **11** 为 phaeosphaeride A。

化合物 **12**: 白色粉末; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 9.71 (1H, s, H-7), 7.72 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-3), 7.72 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5), 6.86 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-2), 6.86 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 192.8 (CH, C-7), 165.6 (C, C-1), 133.5 (CH, C-3), 133.5 (CH, C-5), 130.1 (C, C-4), 117.0 (CH, C-2), 117.0 (CH, C-6)。该化合物的数据与文献报道一致^[24], 故鉴定化合物 **12** 为对羟基苯甲醛。

化合物 **13**: 无色油状物; 分子式 C₂₈H₄₂O₅; HR-ESI-MS m/z 481.295 5 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₈H₄₂NaO₅, 481.293 0)。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 5.63 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-2), 5.27 (1H, dd, J = 15.3, 7.8 Hz, H-14), 5.20 (1H, dd, J = 15.3, 8.4 Hz, H-13), 3.70 (1H, m, H-5'), 2.78 (1H, m, H-6'b), 2.71 (1H, m, H-6'a), 2.59 (1H, m, H-5b), 2.53 (1H, m, H-8), 2.45 (1H, m, H-5a), 2.25 (1H, m, H-3'b), 2.15 (1H, m, H-6a), 2.10 (1H, m, H-12), 1.91 (1H, m, H-4'b), 1.85 (3H, m, H-4'a, 10b, 15), 1.73 (1H, td, J = 13.1, 5.4 Hz, H-6b), 1.60 (3H, m, H-9b, 3'a, 16), 1.48 (1H, m, H-10a), 1.41 (2H, m, H-9a, 11), 1.35 (3H, s, H₃-7'), 1.05 (3H, d, J = 6.6 Hz, H₃-20), 0.93 (3H, d, J = 6.8 Hz, H₃-21), 0.90 (3H, s, H₃-19), 0.85 (3H, d, J = 6.9 Hz, H₃-17), 0.83 (3H, d, J = 7.1 Hz, H₃-18); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 206.5 (C, C-1'), 205.2 (C, C-4), 166.9 (C, C-1), 157.8 (C, C-3), 136.3 (CH, C-13), 133.9 (CH, C-14), 118.2 (CH, C-2), 84.0 (C, C-2'), 71.8 (CH, C-5'), 58.5 (CH, C-8), 56.5 (CH, C-11), 48.9 (CH₂, C-6'), 47.4 (C, C-7), 44.3 (CH, C-15), 41.5 (CH, C-12), 39.7 (CH₂, C-5), 38.8 (CH₂, C-6), 35.2 (CH₂, C-3'), 34.3 (CH, C-16), 30.6 (CH₂, C-4'), 30.2 (CH₂, C-10), 22.9 (CH₂, C-9), 21.5 (CH₃, C-20), 20.5 (CH₃, C-7'), 20.1 (CH₃, C-17), 19.3 (CH₃, C-18), 18.2 (CH₃, C-21), 12.3 (CH₃, C-19); 该化合物的数据与文献报道一致^[25], 故鉴定化合物 **13** 为 chaxine B。

化合物 **14**: 无色油状物; HR-ESI-MS m/z 481.294 6 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₈H₄₂NaO₅, 481.293 0)。分子式 C₂₈H₄₂O₅; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ :

5.60 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2), 5.27 (1H, dd, J = 15.2, 7.8 Hz, H-14), 5.18 (1H, dd, J = 15.3, 8.4 Hz, H-13), 4.31 (1H, m, H-5'), 3.01 (1H, m, H-6'b), 2.70 (2H, m, H-6'a, 5b), 2.58 (1H, m, H-8), 2.45 (1H, m, H-5a), 2.28 (1H, m, H-3'b), 2.23 (1H, m, H-6a), 2.03 (1H, m, H-12), 1.96 (1H, m, H-4'b), 1.90 (2H, m, H-4'a, 10b), 1.84 (1H, m, H-15), 1.74 (1H, td, J = 13.0, 5.5 Hz, H-6b), 1.58 (2H, m, H-9b, 3'a), 1.48 (4H, m, H-10a, 9a, 16, 11), 1.36 (3H, s, H₃-7'), 1.04 (3H, d, J = 6.4 Hz, H₃-20), 0.92 (3H, d, J = 6.4 Hz, H₃-21), 0.88 (3H, s, H₃-19), 0.84 (3H, d, J = 6.8 Hz, H₃-17), 0.82 (3H, d, J = 6.8 Hz, H₃-18); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 207.5 (C, C-1'), 205.4 (C, C-4), 167.3 (C, C-1), 155.8 (C, C-3), 136.3 (CH, C-13), 133.9 (CH, C-14), 118.8 (CH, C-2), 85.5 (C, C-2'), 71.1 (CH, C-5'), 58.2 (CH, C-8), 56.6 (CH, C-11), 47.1 (CH₂, C-6'), 47.0 (C, C-7), 44.3 (CH, C-15), 41.5 (CH, C-12), 39.6 (CH₂, C-5), 38.6 (CH₂, C-6), 35.8 (CH₂, C-3'), 34.3 (CH, C-16), 30.2 (CH₂, C-4'), 28.9 (CH₂, C-10), 23.0 (CH₂, C-9), 21.5 (CH₃, C-20), 20.6 (CH₃, C-7'), 20.5 (CH₃, C-17), 20.1 (CH₃, C-18), 18.2 (CH₃, C-21), 12.3 (CH₃, C-19); 该化合物的数据与文献报道一致^[25], 故鉴定化合物 **14** 为 BB。

化合物 **15**: 淡黄色油状物; 分子式 C₂₁H₃₂O₃; HR-ESI-MS m/z 355.225 0 [M+Na]⁺ (calcd for C₂₁H₃₂NaO₃, 355.224 9)。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 5.65 (1H, d, J = 1.7 Hz, H-2), 5.26 (1H, dd, J = 15.2, 8.2 Hz, H-14), 5.19 (1H, dd, J = 15.2, 7.5 Hz, H-13), 2.64 (1H, ddd, J = 12.4, 7.0, 1.9 Hz, H-8), 2.21 (1H, ddd, J = 13.9, 4.1, 2.5 Hz, H-5a), 2.06 (1H, m, H-12), 1.95 (1H, ddd, J = 13.2, 4.6, 2.5 Hz, H-6a), 1.90 (1H, m, H-10a), 1.85 (1H, dt, J = 13.5, 6.9 Hz, H-15), 1.77 (td, J = 13.8, 4.5 Hz, H-9a), 1.69 (1H, m, H-6b), 1.58 (1H, m, H-11), 1.48 (3H, m, H-9b, 10b, 16), 1.04 (3H, d, J = 6.6 Hz, H₃-20), 0.92 (3H, d, J = 6.8 Hz, H₃-21), 0.84 (3H, d, J = 6.7 Hz, H₃-18), 0.82 (3H, d, J = 6.9 Hz, H₃-17), 0.62 (3H, s, H₃-19); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 173.6 (C, C-1), 173.0 (C, C-3), 136.4 (CH, C-13), 133.8 (CH, C-14), 112.6 (CH, C-2), 107.0 (C, C-4), 56.7 (CH, C-11), 51.7 (CH, C-8), 49.9 (C, C-7), 44.3 (CH, C-15), 41.6 (CH, C-12), 36.4 (CH₂, C-5), 36.2 (CH₂, C-6), 34.3 (CH, C-16), 30.1 (CH₂, C-10), 22.2 (CH₂, C-9), 21.6 (CH₃, C-20), 20.5 (C, CH₃-18), 20.1 (CH₃, C-17), 18.2 (CH₃, C-21), 12.1 (CH₃, C-19); 该

化合物的数据与文献报道一致^[26], 故鉴定化合物 **15** 为去甲基林西甾醇 A₃。

3.2 抑菌活性结果

通过测试 15 个化合物对铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌和 MRSA 的抑制效果, 结果显示化合物 **9**~**11** 对铜绿假单胞菌具选择性抑制作用, MIC 值分别为 1.56、25、25 $\mu\text{g/mL}$ (表 2); 化合物 **13**~**15** 对表皮葡萄球菌、铜绿假单胞菌以及耐甲氧基金黄色葡萄球菌具有抑制作用, 其 MIC 值为 0.78~3.13 $\mu\text{g/mL}$ 。初步构效关系分析发现化合物 **13** 中的 2'R 构型有利于提高其抗 MRSA 和抗铜绿假单胞菌活性。

表 2 化合物 1~15 的抗菌活性

Table 2 Anti-bacterial activity of compounds 1—15

化合物	MIC/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)		
	铜绿假单胞菌	表皮葡萄球菌	耐甲氧西林金黄色葡萄球菌
1 ~ 8	—	—	—
9	1.560	—	—
10	25.000	—	—
11	25.000	—	—
12	—	—	—
13	0.780	1.560	0.780
14	1.560	1.560	3.130
15	1.560	0.780	1.560
氨苄西林	0.048	0.045	0.039

—: 无抑菌活性。

—: no bacteriostatic activity.

4 讨论

本研究从涠洲岛珊瑚共附生真菌 *Alternaria* sp. GXIMD 02516 的大米培养基发酵产物中, 分离鉴定了 15 个单体化合物, 包括 1 个新的苯并呋喃酮类化合物 (**1**)、1 个新的天然产物 (**4**)、3 个已知的苯并呋喃酮类化合物 (**2**、**3** 和 **5**)、4 个苯并吡喃酮类化合物 (**6**~**9**)、1 个茛类化合物 (**10**)、1 个生物碱 (**11**)、1 个苯甲醛类化合物 (**12**) 和 3 个甾醇类化合物 (**13**~**15**), 其中化合物 **11** 和 **13**~**15** 为首次从该属中分离得到。抗菌活性研究发现化合物 **9**~**11** 和 **13**~**15** 对表皮葡萄球菌、铜绿假单胞菌以及耐甲氧基金黄色葡萄球菌具有抑制作用, MIC 值为 0.78~25 $\mu\text{g/mL}$ 。初步构效关系分析发现化合物 **13** 中的 2'R 构型有利于提高其抗 MRSA 和抗铜绿假单胞菌活性。此外, 化合物 **8** 被报道具有显著的细胞毒性^[27], 化合物 **10** 被报道具有良好的抗真菌活性

和植物毒性^[22], 化合物 **13** 和化合物 **14** 还被报道能促进神经干细胞的增殖^[25]。本研究丰富了 *Alternaria* 属真菌代谢产物结构多样性, 为抗生素药物研究开发提供化学实体参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王聪, 王玉妃, 孙建, 等. 海洋曲霉 *Aspergillus ruber* TX-M4-1 的次级代谢产物研究 [J]. 中草药, 2022, 53(18): 5600-5606.
- [2] Voser T M, Campbell M D, Carroll A R. How different are marine microbial natural products compared to their terrestrial counterparts? [J]. *Nat Prod Rep*, 2022, 39(1): 7-19.
- [3] Wang J M, Qin Y N, Lin M P, *et al.* Marine natural products from the Beibu gulf: Sources, chemistry, and bioactivities [J]. *Mar Drugs*, 2023, 21(2): 63.
- [4] 冯中红, 孙广宇. 链格孢属及相关属分类研究新进展 [J]. 菌物研究, 2020, 18(4): 294-303.
- [5] Zhao S Q, Li J, Liu J P, *et al.* Secondary metabolites of *Alternaria*: A comprehensive review of chemical diversity and pharmacological properties [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 1085666.
- [6] 林妙萍, 张艳婷, 唐振洲, 等. 北部湾珊瑚共附生链格孢菌 *A. alternata* GXIMD 02507 次级代谢产物研究 [J]. 中国海洋药物, 2024, 43(1): 26-32.
- [7] Luo X W, Cai G D, Guo Y F, *et al.* Exploring marine-derived ascochlorins as novel human dihydroorotate dehydrogenase inhibitors for treatment of triple-negative breast cancer [J]. *J Med Chem*, 2021, 64(18): 13918-13932.
- [8] Chen C M, Chen W H, Pang X Y, *et al.* Pyrrolyl 4-quinolone alkaloids from the mangrove endophytic fungus *Penicillium steckii* SCSIO 41025: Chiral resolution, configurational assignment, and enzyme inhibitory activities [J]. *Phytochemistry*, 2021, 186: 112730.
- [9] Wang J M, Li Z C, Zhang Y T, *et al.* A new α -cyclopiazonic acid alkaloid identified from the Weizhou Island coral-derived fungus *Aspergillus flavus* GXIMD 02503 [J]. *J Ocean Univ China*, 2022, 21(5): 1307-1312.
- [10] Wang X N, Luo X W, Gan X, *et al.* Analysis of regulating activities of 5'-epiequisetin on proliferation, apoptosis, and migration of prostate cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 920554.
- [11] Lu H M, Tan Y H, Zhang Y T, *et al.* Osteoclastogenesis inhibitory phenolic derivatives produced by the Beibu Gulf coral-associated fungus *Acremonium sclerotigenum* GXIMD 02501 [J]. *Fitoterapia*, 2022, 159: 105201.
- [12] Chen C M, Chen W H, Tao H M, *et al.* Diversified

- polyketides and nitrogenous compounds from the mangrove endophytic fungus *Penicillium steckii* SCSIO 41025 [J]. *Chin J Chem*, 2021, 39(8): 2132-2140.
- [13] 张艳婷, 彭帅, 黄炳耀, 等. 1 株珊瑚共附生真菌 *Talaromyces verruculosus* GXIMD 02504 的次级代谢产物及抑菌活性研究 [J]. 中国抗生素杂志, 2022, 47(10): 1045-1050.
- [14] Li L Y, Sun B D, Zhang G S, *et al.* Polyketides with different post-modifications from desert endophytic fungus *Paraphoma* sp. [J]. *Nat Prod Res*, 2018, 32(8): 939-943.
- [15] Luo X W, Lin X P, Salendra L, *et al.* Isobenzofuranones and isochromenones from the deep-sea derived fungus *Leptosphaeria* sp. SCSIO 41005 [J]. *Mar Drugs*, 2017, 15(7): 204.
- [16] Mali R S, Babu K N. Reactions of 3-(1-hydroxyalkyl) phthalides with acids: Synthesis of (Z)-3-alkylidenephthalides and 3-alkyl-8-hydroxyisocoumarins [J]. *J Org Chem*, 1998, 63(8): 2488-2492.
- [17] Suemitsu R, Ohnishi K, Horiuchi M, *et al.* Structure of porriolide, a new metabolite from *Alternaria porri* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1993, 57(2): 334-335.
- [18] Fang Z F, Yu S S, Zhou W Q, *et al.* A new isocoumarin from metabolites of the endophytic fungus *Alternaria tenuissima* (Nees & T. Nees: Fr.) Wiltshire [J]. *Chin Chemical Lett*, 2012, 23(3): 317-320.
- [19] Tayone W C, Honma M, Kanamaru S, *et al.* Stereochemical investigations of isochromenones and isobenzofuranones isolated from *Leptosphaeria* sp. KTC 727 [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(3): 425-429.
- [20] Naganuma M, Nishida M, Kuramochi K, *et al.* 1-Deoxyrubralactone, a novel specific inhibitor of families X and Y of eukaryotic DNA polymerases from a fungal strain derived from sea algae [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16(6): 2939-2944.
- [21] Onocha P A, Okorie D A, Connolly J D, *et al.* Monoterpene diol, iridoid glucoside and dibenzo- α -pyrone from *Anthocleista djalensis* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(4): 1183-1189.
- [22] Huang R H, Gou J Y, Zhao D L, *et al.* Phytotoxicity and anti-phytopathogenic activities of marine-derived fungi and their secondary metabolites [J]. *RSC Adv*, 2018, 8(66): 37573-37580.
- [23] Kobayashi K, Kunitura R, Tanaka K III, *et al.* Total synthesis of (-)-phaeosphaeride B by a biomimetic conversion from (-)-phaeosphaeride A [J]. *Tetrahedron*, 2017, 73(17): 2382-2388.
- [24] 肖永庆, 李丽, 游小琳. 天麻有效部位化学成分研究 (I) [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(1): 35-36.
- [25] Hirata Y, Nakazaki A, Kawagishi H, *et al.* Biomimetic synthesis and structural revision of chaxine B and its analogues [J]. *Org Lett*, 2017, 19(3): 560-563.
- [26] Mansoor T A, Hong J, Lee C O, *et al.* Cytotoxic sterol derivatives from a marine sponge *Homaxinella* sp [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68(3): 331-336.
- [27] Zhou J, Li G, Deng Q, *et al.* Cytotoxic constituents from the mangrove endophytic *Pestalotiopsis* sp. induce G₀/G₁ cell cycle arrest and apoptosis in human cancer cells [J]. *Nat Prod Res*, 2018, 32(24): 2968-2972.

[责任编辑 王文倩]