

宁前胡内生真菌 *Fusarium tricinctum* 次生代谢产物研究刘丛彬¹, 刘海涛¹, 杨家欣², 刘劲松¹, 王刚¹, 王国凯^{1*}¹ 安徽中医药大学药学院 现代中药安徽省工程技术中心, 合肥 230012;² 中国医药大学附设医院医学研究部, 台中 40447

摘要:为研究宁前胡内生真菌 *Fusarium tricinctum* 次生代谢产物, 采用液体发酵法发酵内生真菌, 利用硅胶、凝胶、MPLC、制备液相等多种方法分离获得 13 个单体化合物。利用波谱方法分别鉴定为 cyclo-(*L*-pro-*L*-pro) (1)、cyclo-(*S*-pro-*S*-leu) (2)、cyclo-(*L*-phe-*L*-phe) (3)、cyclo-(*D*-pro-*L*-phe) (4)、cyclo-(*L*-pro-*L*-phe) (5)、cyclo-(*D*-pro-*L*-leu) (6)、cyclo-(*S*-pro-*S*-leu) (7)、cyclo-[*D*-(4-hydroxyprolinyl)]-(*L*)-leucine (8)、cyclo-[*L*-(4-hydroxyprolinyl)]-(*L*)-leucine (9)、cyclo-(*trans*-4-hydroxy-*L*-prolyl-*L*-phenylalanine) (10)、cyclo-(*D*-cis-hyp-*L*-phe) (11)、苯甲酸苄酯 (12) 和苯乙酸 (13), 所有化合物均首次从内生真菌 *F. tricinctum* 中分离得到。体外抗肿瘤活性显示, 化合物 4、6、7 对 CAR、CAL27、SCC-4、SCC-9、HSC-3 五种口腔癌肿瘤细胞有一定的细胞毒活性。

关键词:内生真菌; 宁前胡; *Fusarium tricinctum*; 次生代谢产物; 抗肿瘤活性

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)9-1580-05

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.9.014

Secondary metabolites of endophytic fungus *Fusarium tricinctum* from Ningguo *Peucedanum praeruptorum* Dunn.

LIU Cong-bin¹, LIU Hai-tao¹, YANG Jai-sing², LIU Jin-song¹, WANG Gang¹, WANG Guo-kai^{1*}

¹ School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine & Anhui Engineering Research Center of Modernized Chinese Material, Hefei 230012, China;

² Department of Medical Research, China Medical University Hospital, China Medical University, Taichung 40447, China

Abstract: To study the secondary metabolites of endophytic fungus *Fusarium tricinctum* from Ningguo *Peucedanum praeruptorum* Dunn. Compounds were isolated from the EtOAc extract by chromatography technology and their structures were elucidated on the basis of comprehensive spectroscopic analysis. Thirteen compounds were isolated and their structures were identified as cyclo-(*L*-pro-*L*-pro) (1), cyclo-(*S*-pro-*S*-leu) (2), cyclo-(*L*-phe-*L*-phe) (3), cyclo-(*D*-pro-*L*-phe) (4), cyclo-(*L*-pro-*L*-phe) (5), cyclo-(*D*-pro-*L*-leu) (6), cyclo-(*S*-pro-*S*-leu) (7), cyclo-[*D*-(4-hydroxyprolinyl)]-(*L*)-leucine (8), cyclo-[*L*-(4-hydroxyprolinyl)]-(*L*)-leucine (9), cyclo-(*trans*-4-hydroxy-*L*-prolyl-*L*-phenylalanine) (10), cyclo-(*D*-cis-hyp-*L*-phe) (11), benzyl benzoate (12), phenylacetic acid (13). All these compounds were isolated from *Fusarium tricinctum* for the first time. The cytotoxicity assay showed that compounds 4, 6 and 7 had moderate cytotoxic activities against CAR, CAL27, SCC-4, SCC-9, and HSC-3.

Key words: endophytic fungus; Ningguo *Peucedanum praeruptorum* Dunn.; *Fusarium tricinctum*; secondary metabolites; anti-tumor

植物内生真菌是指那些在其成长过程中存在于植物组织内但并没有引起植物组织明显病变的真

菌^[1]。内生真菌次生代谢产物已经从中发现了许多具有抗菌, 杀虫, 细胞毒和抗癌作用的活性成分^[2], 且涵盖了生物碱, 萜类, 醌类, 肽类, 氧杂蒽酮类和酚类^[3]等多种结构类型, 因此植物内生真菌次生代谢产物具有生物活性多样、结构类型丰富等特点和优势。

前胡为伞形科白花前胡 (*Peucedanum praerupto-*

收稿日期: 2019-01-25 接受日期: 2019-06-04

基金项目: 安徽省高校优秀青年人才支持计划重点项目 (gxyqZD2019035); 安徽省高校科研创新平台团队-中药饮片产地加工与炮制一体化关键技术研究创新团队 (皖教秘科[2015]49号)

* 通信作者 Tel: 86-551-68129167; E-mail: wanggk@ahcm.edu.cn

rum Dunn.) 干燥根,常用于风热感冒、咳嗽痰多、痰热喘满等症状^[4]。宁国所产前胡具有个大、皮黑、肉白、条长、柔软、香味浓等特点,为传统道地药材“宁前胡”^[5]。目前没有相关宁前胡内生真菌报道,前期研究从宁前胡中分离鉴定了41株内生真菌,分属于10属21种,其中 *Fusarium tricinctum* 为优势菌株^[6]。为探讨宁前胡内生真菌次生代谢产物,从内生菌 *F. tricinctum* 液体发酵法的乙酸乙酯萃取物中分离鉴定了13个单体化合物,分别为 cyclo-(*L*-pro-*L*-pro) (**1**)、cyclo-(*S*-pro-*S*-leu) (**2**)、cyclo-(*L*-phe-*L*-phe) (**3**)、cyclo-(*D*-pro-*L*-phe) (**4**)、cyclo-(*L*-pro-*L*-phe) (**5**)、cyclo-(*D*-pro-*L*-leu) (**6**)、cyclo-(*S*-pro-*S*-leu) (**7**)、cyclo-[*D*-(4-hydroxyprolinyl)]-(*L*)-leucine (**8**)、cyclo-[*L*-(4-hydroxyprolinyl)]-(*L*)-leucine (**9**)、cyclo-(*trans*-4-hydroxy-*L*-prolyl-*L*-phenylalanine) (**10**)、cyclo-(*D*-cis-hyp-*L*-phe) (**11**)、苯甲酸苄酯 (**12**) 和苯乙酸 (**13**)。所有化合物均首次从内生真菌 *F. tricinctum* 中分离得到。体外抗肿瘤活性显示化合物 **4**、**6**、**7** 对 CAR、CAL27、SCC-4、SCC-9、HSC-3 五种口腔癌肿瘤细胞有一定的细胞毒活性,可为宁前胡内生真菌次生代谢产物的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

质谱由 Waters Auto Premier P776 质谱仪测定;核磁共振由 Bruker AM-400、DRX 500 和 AVANCE III-600 测定;制备液相为 Agilent 1260;分析液相为 Agilent 1100;中压制备为 BüCHI 中压制备;硅胶由青岛海洋化工厂生产;Sephadex LH-20 由 GE 公司生产。

1.2 菌种

新鲜宁前胡药材采自安徽宁国,经安徽中医药大学梁益敏副教授鉴定为伞形科前胡属白花前胡 (*P. praeruptorum*), 凭证编号 QHX34。 *F. tricinctum* 菌株从宁前胡新鲜根中分离得到,药材及菌株保存于安徽中医药大学天然药物化学研究室。

1.3 真菌发酵

F. tricinctum 菌株接种到新 PDA 活化,6 mm 打孔器打孔使菌块均匀分布在液体培养基中。分装、灭菌,接种后放入培养箱,135 rpm、28 °C 振荡培养15天。乙酸乙酯萃取发酵液,合并,得到浸膏 13.6 g。

1.4 提取分离

发酵液乙酸乙酯萃取物浸膏经硅胶柱以氯仿-

甲醇梯度洗脱,TLC 检测合并,得到6个组分。组分3经 MPLC 法以甲醇/水梯度洗脱,组分3-2经 Sephadex LH-20(甲醇)和制备液相(乙腈/水,10:90 → 25:75)纯化得化合物 **1**(8.6 mg,20.5 min)和 **2**(6.8 mg,23.3 min)。组分3-2以氯仿/甲醇经硅胶柱层析得到3个组份。组分3-2-2经 Sephadex LH-20(甲醇)和制备液相(乙腈/水,20:80 → 35:65)纯化得化合物 **3**(5.5 mg,27.7 min)。组分3-3经 Sephadex LH-20(甲醇)洗脱得到3个组分。组分3-3-1经制备液相(乙腈/水,30:70 → 45:55)制备得化合物 **4**(3.5 mg,34.5 min)和 **5**(4.5 mg,38.0 min)。3-3-2组分经制备液相(乙腈/水,25:75 → 40:60)制备得化合物 **6**(5.0 mg,31.2 min)和 **7**(3.0 mg,33.4 min)。组分4以氯仿/甲醇经硅胶柱层析得到4个组分,组分4-1经 Sephadex LH-20(甲醇)和制备液相(乙腈/水,30:70 → 45:55)纯化得化合物 **8**(6.0 mg,26.5 min)和 **9**(2.5 mg,27.4 min)。组分4-2以(甲醇/水,10:100 ~ 100:0)经 MPLC 梯度洗脱得到4个组分。组分4-2-1经 Sephadex LH-20(甲醇)和制备液相(乙腈/水,20:80 → 35:65)纯化得化合物 **10**(5.3 mg,28.9 min)和 **11**(2.0 mg,30.4 min)。组分5经 Sephadex LH-20(甲醇)洗脱,组分5-1经制备液相(乙腈/水,10:90 → 25:65)制备得化合物 **12**(11.3 mg,23.2 min)。5-2经制备液相(乙腈/水,15:85 → 30:70)制备得化合物 **13**(6.3 mg,22.6 min)。

1.5 抗肿瘤活性筛选

采用 MTT 法^[7]测定化合物对 CAR、CAL27、SCC-4、SCC-9、HSC-3 五种口腔癌肿瘤细胞株(中国医药大学附设医院提供)的细胞毒活性。样品梯度稀释,肿瘤细胞分别接种于96孔板,每孔100 μL,加入不同浓度药物,20 h 每孔加入5 mg/mL 的 MTT 10 μL,继续培养4 h 后弃去上清液,加入100 μL DMSO,492 nm 测定 OD 值。肿瘤细胞存活率是加药组与对照组比较,公式: Viability (%) = (A_{treatment} / A_{control}) × 100%, 计算 IC₅₀。

2 结果

2.1 结构鉴定

化合物 **1** 白色晶体 (CH₃OH), ESI-MS: *m/z* 217 [M + Na]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 4.36 (2H, t, *J* = 8.0 Hz, H-2, 5), 3.53 (2H, m, H-9,

12), 2.30 (2H, m, H-8, 11), 2.05 (2H, m, H-7, 10); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 61.7 (C-2, 5), 168.6 (C-3, 6), 24.1 (C-7, 10), 28.7 (C-8, 11), 46.1 (C-9, 12)。上述数据与文献^[8]报道基本一致, 确定为 cyclo-(*L*-pro-*L*-pro)。

化合物 2 白色粉末 (CH_3OH), ESI-MS: m/z 219 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 4.13 (1H, t, $J = 8.2$ Hz, H-6), 4.05 (1H, s, H-9), 3.63 ~ 3.69 (1H, m, H-3a), 3.53-3.62 (1H, m, H-3b), 2.68 (1H, m, H-4a), 2.33-2.38 (1H, m, H-4b), 1.88-2.06 (1H, m, H-10), 1.09 (3H, d, $J = 8.2$ Hz, H-11), 0.95 (3H, d, $J = 8.2$ Hz, H-12); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 172.8 (C-1), 46.3 (C-3), 25.7 (C-4), 29.0 (C-5), 60.2 (C-6), 167.9 (C-7), 54.6 (C-9), 30.3 (C-10), 19.6 (C-11), 16.8 (C-12)。上述数据与文献^[9]报道基本一致, 确定为 cyclo-(*S*-pro-*S*-leu)。

化合物 3 白色晶体 (CH_3OH), ESI-MS: m/z 317 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.30 ~ 7.02 (5H, m, H-2', 3', 4', 5', 6'), 4.07 (1H, dd, $J = 3.6, 13.4$ Hz, H-3), 2.08 (2H, dd, $J = 8.0, 13.4$ Hz, H-3a); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 166.2 (C-2), 55.4 (C-3), 136.5 (C-1'), 129.8 (C-2'), 128.2 (C-3'), 126.5 (C-4'), 39.6 (C-3a)。上述数据与文献^[10]报道基本一致, 确定为 cyclo (*L*-phe-*L*-phe)。

化合物 4 白色粉末 (CH_3OH), ESI-MS: m/z 267 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.29 ~ 7.18 (5H, m, H-2', 3', 4', 5', 6'), 4.19 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, H-9), 4.05 (1H, m, H-6), 3.53 (2H, m, H-3), 3.33 ~ 3.28 (1H, dd, $J = 4.0, 9.4$ Hz, H-10b), 3.21 ~ 3.16 (1H, dd, $J = 4.0, 9.4$ Hz, H-10a), 3.00 ~ 2.85 (1H, dd, $J = 4.8, 13.9$ Hz, H-6), 2.63 ~ 2.59 (1H, m, H-5b), 2.03-2.01 (1H, m, H-5b), 1.90 (2H, m, H-4), 1.68-1.57 (1H, m, H-5a); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 167.4 (C-1), 46.1 (C-3), 22.4 (C-4), 29.8 (C-5), 59.0 (C-6), 171.3 (C-7), 59.7 (C-9), 40.9 (C-10), 136.7 (C-1'), 131.2 (C-2'), 129.6 (C-3'), 128.5 (C-4')。上述数据与文献^[11]报道基本一致, 确定为 cyclo-(*D*-pro-*L*-phe)。

化合物 5 白色粉末 (CH_3OH), ESI-MS: m/z 267 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.27 ~ 7.22 (5H, m, H-2', 3', 4', 5', 6'), 4.43 (1H, t, $J = 1.9, 5.0$ Hz, H-9), 4.05 (1H, m, H-6), 3.54 (2H, m, H-3), 3.36 (1H, m, H-10a), 3.23 ~ 3.15 (1H, m, H-10b), 2.08 (1H, m, H-5a), 1.81 ~ 1.75 (2H, m, H-4), 1.23 ~ 1.18 (1H, m, H-5b); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 167.5 (C-1), 45.9 (C-3), 22.7 (C-4), 29.3 (C-5), 57.6 (C-6), 170.9 (C-7), 60.0 (C-9), 38.2 (C-10), 137.3 (C-1'), 131.2 (C-2'), 129.4 (C-3'), 128.0 (C-4')。上述数据与文献^[11]报道基本一致, 确定为 cyclo-(*L*-pro-*L*-phe)。

化合物 6 白色粉末 (CH_3OH), ESI-MS: m/z 233 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 4.28 (1H, dd, $J = 6.4, 9.5$ Hz, H-6), 3.84 (1H, dd, $J = 5.4, 9.5$ Hz, H-9), 3.60 (1H, m, H-3a), 3.57 ~ 3.46 (1H, m, H-3b), 2.34 (1H, m, H-4a), 2.02 ~ 1.88 (1H, m, H-4b), 1.84 (2H, m, H-5), 1.78 (1H, m, H-10a), 1.67 (1H, m, H-10b), 1.56 (1H, m, H-11), 0.98 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-12), 0.95 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-13); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 171.6 (C-1), 46.7 (C-3), 23.0 (C-4), 29.9 (C-5), 61.3 (C-6), 169.0 (C-7), 59.3 (C-9), 43.6 (C-10), 25.5 (C-11), 23.3 (C-12), 21.9 (C-13)。上述数据与文献^[9]报道基本一致, 确定为 cyclo-(*D*-pro-*L*-leu)。

化合物 7 白色粉末 (CH_3OH), ESI-MS: m/z 233 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 4.13 (1H, dd, $J = 8.2$ Hz, H-6), 4.05 (1H, dd, $J = 3.4, 9.4$ Hz, H-9), 3.50 (2H, m, H-3), 2.28 (1H, m, H-5a), 2.03 (1H, m, H-5b), 1.99 (2H, m, H-4a, H-10a), 1.91 (2H, m, H-4b, H-10b), 1.51 (1H, m, H-11), 0.95 (6H, m, H-12, 13); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 172.8 (C-1), 46.3 (C-3), 23.6 (C-4), 29.0 (C-5), 60.2 (C-6), 168.9 (C-7), 54.6 (C-9), 39.3 (C-10), 25.7 (C-11), 23.3 (C-12), 22.2 (C-13)。上述数据与文献^[12]报道基本一致, 确定为 cyclo-(*S*-pro-*S*-leu)。

化合物 8 白色粉末 (CH_3OH), ESI-MS: m/z 249 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 4.45 (1H, dd, $J = 6.6, 11.3$ Hz, H-6), 4.38 (1H, t, $J =$

4.2 Hz, H-8), 4.15 (H, m, H-3), 3.66 (1H, dd, $J = 4.6, 12.6$ Hz, H-9a), 3.46 (1H, d, $J = 12.4$ Hz, H-9b), 2.28 (1H, dd, $J = 6.4, 13.2$ Hz, H-7a), 2.11 (1H, m, H-7b), 1.99 ~ 1.78 (2H, m, H-10), 1.65 ~ 1.36 (1H, m, H-11), 0.96 (6H, m, H-12, 13); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 171.2 (C-2), 57.5 (C-3), 169.4 (C-5), 69.2 (C-6), 37.6 (C-7), 54.4 (C-8), 56.9 (C-9), 43.3 (C-10), 25.5 (C-11), 23.0 (C-12), 21.9 (C-13)。上述数据与文献^[13]报道基本一致,确定为 cyclo-[*D*-(4-hydroxyprolinyl)]-(*L*)-leucine。

化合物 9 白色粉末 (CH_3OH), ESI-MS: m/z 249 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 4.47 (1H, m, H-8), 4.05 (1H, dd, $J = 4.2, 10.3$ Hz, H-6), 3.88 (2H, m, H-3, 9a), 3.56 (1H, dd, $J = 4.6, 12.4$ Hz, H-9b), 2.46 (1H, dd, $J = 6.4, 13.2$ Hz, H-7a), 2.29 (1H, m, H-7b), 1.99 ~ 1.78 (2H, m, H-10), 1.65-1.36 (1H, m, H-11), 1.03 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-12), 0.98 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-13); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 172.3 (C-2), 56.9 (C-3), 169.8 (C-5), 59.7 (C-6), 37.7 (C-7), 69.4 (C-8), 55.4 (C-9), 43.1 (C-10), 25.2 (C-11), 23.4 (C-12), 21.5 (C-13)。上述数据与文献^[14]报道基本一致,确定为 cyclo-[*L*-(4-hydroxyprolinyl)]-(*L*)-leucine。

化合物 10 白色粉末 (CH_3OH), ESI-MS: m/z 283 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.29 ~ 7.17 (5H, m, H-2', 3', 4', 5', 6'), 4.32 ~ 4.30 (2H, m, H-9, H-8), 4.20 (1H, t, $J = 4.4$ Hz, H-4), 3.72 (1H, dd, $J = 5.1, 13.0$ Hz, H-3b), 3.21 (1H, d, $J = 13.4$ Hz, H-3a), 3.02 (2H, dd, $J = 3.3, 5.2$ Hz, H-10), 1.99 (1H, dd, $J = 6.0, 13.0$ Hz, H-5a), 1.08 (1H, m, H-5b); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 171.3 (C-1), 38.9 (C-3), 67.9 (C-4), 55.4 (C-5), 167.5 (C-7), 57.3 (C-8), 59.7 (C-9), 40.9 (C-10), 136.5 (C-1'), 131.1 (C-2', 6'), 129.7 (C-3', 5'), 128.5 (C-4')。上述数据与文献^[15]报道基本一致,确定为 cyclo-(*trans*-4-hydroxy-*L*-prolyl-*L*-phenylalanine)。

化合物 11 白色粉末 (CH_3OH), ESI-MS: m/z 283 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.27

~ 7.18 (5H, m, H-12, 13, 14, 15, 16), 4.32 ~ 4.24 (2H, m, H-3, 8), 3.72 (1H, dd, $J = 5.1, 13.0$ Hz, H-9b), 3.21 (1H, m, H-9a), 3.02 (2H, dd, $J = 4.8, 13.3$ Hz, H-10), 2.78 (1H, t, $J = 9.6$ Hz, H-6), 2.21 (1H, dd, $J = 6.6, 12.8$ Hz, H-7a), 1.94 (1H, m, H-7b); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 167.5 (C-2), 59.7 (C-3), 171.3 (C-5), 57.1 (C-6), 38.9 (C-7), 67.9 (C-8), 55.4 (C-9), 40.9 (C-10), 136.5 (C-11), 131.1 (C-12, 16), 129.7 (C-13, 15), 128.5 (C-14)。上述数据与文献^[15]报道基本一致,确定为 cyclo-(*D*-*cis*-hyp-*L*-phe)。

化合物 12 淡黄色油状物 (CH_3OH), ESI-MS: m/z 235 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.45 ~ 7.29 (5H, m, H-4, 5, 6, 7, 8, 9), 7.27 ~ 7.11 (5H, m, H-2', 3', 4', 5', 6'), 3.30 (2H, s, H-3); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 173.5 (C-1), 63.2 (C-3), 137.6 (C-4), 123.6 (C-5, 9), 125.8 (C-6, 8), 124.0 (C-7), 130.8 (C-1'), 127.5 (C-2', 6'), 125.2 (C-3', 5'), 132.3 (C-4')。上述数据与文献^[16]报道基本一致,确定为苯甲酸苄酯。

化合物 13 白色粉末 (CH_3OH), ESI-MS: m/z 136 [M] $^+$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.31 ~ 7.22 (5H, m, H-2, 3, 4, 5, 6), 3.58 (2H, s, H-7); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 136.2 (C-1), 130.2 (C-2, 2'), 129.4 (C-3, 3'), 127.8 (C-4), 42.1 (C-7), 175.9 (C-8)。上述数据与文献^[17]报道基本一致,确定为苯乙酸。

2.2 抗肿瘤活性结果

化合物 1 ~ 13 进行了对 5 种口腔癌细胞株 CAR、CAL27、SCC-4、SCC-9、HSC-3 抗肿瘤活性的细胞毒筛选,结果发现化合物 4、6、7 具有中等的抑制作用,结果见表 1。以 IC_{50} 表示半抑制浓度,其中化合物 4 对 5 种口腔癌细胞株 IC_{50} 分别是 45.33 ± 3.21 、 39.42 ± 2.19 、 40.23 ± 2.72 、 40.22 ± 3.21 、 39.44 ± 2.98 $\mu\text{M}/\text{mL}$ 。化合物 6 对 5 种口腔癌细胞株 IC_{50} 分别是 46.43 ± 3.98 、 41.23 ± 2.19 、 40.89 ± 2.98 、 43.22 ± 2.11 、 40.42 ± 2.96 $\mu\text{M}/\text{mL}$ 。化合物 7 对 5 种口腔癌细胞株 IC_{50} 分别是 48.98 ± 2.33 、 43.21 ± 1.12 、 41.23 ± 3.23 、 45.22 ± 2.23 、 42.42 ± 3.01 $\mu\text{M}/\text{mL}$ 。

3 结论

从道地药材宁前胡内生菌 *F. tricinctum* 液体发酵液中分离并鉴定了 13 个单体化合物,所有化合物均首次从 *F. tricinctum* 内生真菌中分离得到。体外

抗肿瘤活性显示化合物 **4**、**6**、**7** 对 CAR、CAL27、SCC-4、SCC-9、HSC-3 五种口腔癌肿瘤细胞有一定的细胞毒活性。

表 1 化合物抗肿瘤细胞毒活性
Table 1 Anti-tumor cytotoxic activity of compounds

化合物 Compound	细胞毒活性 Anti-tumor cytotoxic activity ($\mu\text{M}/\text{mL}$)				
	CAR	CAL27	SCC-4	SCC-9	HSC-3
4	45.33 \pm 3.21	39.42 \pm 2.19	40.23 \pm 2.72	40.22 \pm 3.21	39.44 \pm 2.98
6	46.43 \pm 3.98	41.23 \pm 2.19	40.89 \pm 2.98	43.22 \pm 2.11	40.42 \pm 2.96
7	48.98 \pm 2.33	43.21 \pm 1.12	41.23 \pm 3.23	45.22 \pm 2.23	42.42 \pm 3.01
Taxol	0.78 \pm 0.38	0.89 \pm 2.33	0.99 \pm 0.25	0.85 \pm 0.31	0.48 \pm 0.12

参考文献

- Liang YM, Yu Y, Sun YP, et al. Secondary metabolites of endophytic fungus *Stagonosporopsis oculihominis* from *Dendrobium huoshanense* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2018, 30:783-788.
- Zhao J, Shan T, Mou Y, et al. Plant-derived bioactive compounds produced by endophytic fungi [J]. Mini Rev Med Chem, 2011, 11:159-168.
- Kusari S, Spiteller M. Are we ready for industrial production of bioactive plant secondary metabolites utilizing endophytes? [J]. Nat Prod Rep, 2011, 28:1203-1207.
- Meng DY, Mao ZC, He XJ, et al. Progress on research of medicinal Qian-Hu [J]. Chin Wild Plant Res(中国野生植物资源), 2005, 24:10-14.
- Xiang JR. Study on bionics wild cultivation technique of ning-guo *Peucedanum praeruptorum* [J]. Res Prac Chin Med(现代中药研究与实践), 2006, 20:18-20.
- Liu HT, Shao J, Wang G, et al. Culture separation and identification of endophytic fungi from Ningguo *Peucedanum praeruptorum* Dunn [J]. J Anhui Trad Chin Med Coll(安徽中医药大学学报), 2018, 37:87-91.
- Wen CN, Hu DB, Bai X, et al. Chemical constituents from fruiting bodies of basidiomycete *Perenniporia subacida* [J]. Fitoterapia, 2016, 109:179-184.
- Stark T, Hofmann T. Structures, sensory activity, and dose/response functions of 2,5-diketopiperazines in Roasted Cocoa Nibs (*Theobroma cacao*) [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53:7222-7231.
- Campbell J, Lin Q, Geske GD, et al. New and unexpected insights into the modulation of luxR-type quorum sensing by cyclic dipeptides [J]. ACS Chem Biol, 2009, 4:1051-1059.
- Zhang WW, Kong LY. Chemical constituents in the introduced *Coleus forskohlii* [J]. China J Chin Mat Med(中国中药杂志), 2009, 34:2060-2062.
- Wang GH, Dai SK, Chen MJ, et al. Two diketopiperazine cyclo(Pro-Phe) isomers from marine bacteria *Bacillus subtilis* sp. 13-2 [J]. Chem Nat Com, 2010, 46:583-585.
- Pedras MS, Yu Y, Liu J, et al. Metabolites produced by the phytopathogenic fungus *Rhizoctonia solani*; isolation, chemical structure determination, syntheses and bioactivity [J]. Z Naturforsch C, 2005, 60:717-722.
- Jr. Cronan MC, Davidson TR, Singleton FL, et al. Plant growth promoters isolated from a marine bacterium associated with *Palythoa* sp. [J]. Nat Prod Lett, 1998, 11:271-278.
- Shigemori H, Tenma M, Shimazaki K, et al. Three new metabolites from the marine yeast *Aureobasidium pullulans* [J]. J Nat Prod, 1998, 61:696-698.
- Furtado NAJC, Pupoa MT, Carvalho I, et al. Diketopiperazines produced by an *Aspergillus fumigatus* Brazilian strain [J]. J Braz Chem Soc, 2005, 16:1448-1453.
- Chen PS, Chou CH. Pyrolytic chemistry of benzyl benzoate [J]. J Chin Chem Soc, 2013, 41:597-599.
- Wightman F, Lighty DL. Identification of phenylacetic acid as a natural auxin in the shoots of higher plants [J]. Physiol Plant, 2010, 55:17-24.