

# 一株太子参内生真菌 *Aspergillus terreus* TZS-201607 中抗肿瘤活性代谢产物研究

胡晓峰, 柴海全, 贾林川, 邵 露\*, 刘晓晓\*, 陈 野

青岛市中医院药剂科, 青岛 266071

**摘要:** 为研究太子参内生真菌 *Aspergillus terreus* TZS-201607 所产的次级代谢产物, 利用硅胶柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱层析、反相柱层析及半制备高效液相色谱等技术, 从其 PDB 培养基发酵产物的乙酸乙酯萃取物中分离纯化得到 16 个单体化合物。利用波谱学方法结合文献数据分析分别鉴定为柄曲霉素(1)、5-甲氧基柄曲霉素(2)、variecoxanthone A(3)、chryxanthone A(4)、6,8-di-O-methylaverufin(5)、6,8-di-O-methylnidurufin(6)、6,8,1'-tri-O-methyl averantin(7)、(22E,24R)-ergosta-7,9(11),22-trien-3β-ol(8)、(22E,24R)-ergosta-4,6,8(14),22-trtraen-3-one(9)、(22E,24R)-3β,5α-dihydroxy-ergosta-7,22-dien-6-one(10)、(22E,24R)-3β,5α,9α-trihydroxy-ergosta-7,22-diene-6-one(11)、(22E,24R)-3α-ureido-ergosta-4,6,8(14),22-tetraene(12)、(22E,24R)-ergosta-7,22-dien-3β,5α,6β-triol(13)、(22E,24R)-5α,8α-epidioxyergosta-6,22-dien-3β-ol(14)、demethylincisterol A<sub>3</sub>(15)和(17R)-17-methylincisterol(16)。化合物 1~7, 12, 14~16 为首次从 *A. terreus* 中分离得到。体外抗肿瘤活性测试显示, 化合物 6, 7 和 14 对人肿瘤细胞株 A549、BT-549、HeLa 和 THP-1 表现出较强的细胞毒活性( $IC_{50} < 10 \mu\text{M}$ )。

**关键词:** 太子参; 内生真菌; *Aspergillus terreus*; 次级代谢产物; 抗肿瘤活性

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)7-1156-09

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.7.010

## Antitumor secondary metabolites of an endophytic fungus *Aspergillus terreus* TZS-201607 from *Pseudostellaria heterophylla*

HU Xiao-feng, CHAI Hai-quan, JIA Lin-chuan, SHAO Lu\*, LIU Xiao-xiao\*, CHEN Ye

Qingdao Hospital of Traditional Chinese Medicine, Qingdao 266071, China

**Abstract:** The secondary metabolites of the endophytic fungus *Aspergillus terreus* TZS-201607 isolated from *Pseudostellaria heterophylla* were fully studied. A total of 16 compounds were isolated from the EtOAc extracts of the PDB culture broth by means of chromatographic techniques, including silica gel, Sephadex LH-20 gel, reversed-phase and semi-preparative HPLC column chromatography. Their structures were identified as sterigmatocystin (1), 5-methoxysterigmatocystin (2), variecoxanthone A (3), chryxanthone A (4), 6,8-di-O-methylaverufin (5), 6,8-di-O-methylnidurufin (6), 6,8,1'-tri-O-methyl averantin (7), (22E,24R)-ergosta-7,9(11),22-trien-3β-ol (8), (22E,24R)-ergosta-4,6,8(14),22-trtraen-3-one (9), (22E,24R)-3β,5α-dihydroxy-ergosta-7,22-dien-6-one (10), (22E,24R)-3β,5α,9α-trihydroxy-ergosta-7,22-diene-6-one (11), (22E,24R)-3α-ureido-ergosta-4,6,8(14),22-tetraene (12), (22E,24R)-ergosta-7,22-dien-3β,5α,6β-triol (13), (22E,24R)-5α,8α-epidioxyergosta-6,22-dien-3β-ol (14), demethylincisterol A<sub>3</sub> (15), and (17R)-17-methylincisterol (16), by spectroscopic analysis and by comparison with previously reported literatures. Compounds 1-7, 12, and 14-16 were isolated from the fungus *A. terreus* for the first time. The cytotoxicity of compounds 1-16 against A549, BT-549, HeLa, HepG2, MCF-7, and THP-1 cell lines was evaluated. Compounds 6, 7, and 14 showed strong inhibitory activity against A549, BT-549, HeLa, and THP-1 cell lines, respectively ( $IC_{50} < 10 \mu\text{M}$ )。

**Key words:** *Pseudostellaria heterophylla*; endophytic fungus; *Aspergillus terreus*; secondary metabolites; cytotoxicity

植物内生真菌(plant endophyte)是指生活在健康植物组织体内或生活史的某一阶段生活在植物组织体内,对宿主植物没有引起明显病害症状的一类微生物菌群<sup>[1,2]</sup>。近几十年来,内生真菌已被证实具有合成独特的次级代谢产物的能力,成为近些年来天然产物领域研究的热点<sup>[2]</sup>。植物内生真菌次级代谢产物具有结构多样、活性显著的特点。目前已从内生真菌中发现了具有抑菌、杀虫、抗肿瘤、抗氧化等活性的次级代谢产物,涵盖了聚酮类(大环内酯类、醌类、氧杂蒽酮类等)、萜类、生物碱类、肽类等多种结构类型<sup>[3]</sup>。内生真菌在与宿主植物长期的协同进化过程中,能够产生与宿主相同或相似的活性成分<sup>[4]</sup>。因此,药用植物内生真菌的研究引起了人们越来越多的关注<sup>[5-7]</sup>。特别是从植物内生真菌中发现了众多抗肿瘤先导化合物或药物,如紫杉醇(taxol)、鬼臼毒素(podophyllotoxin)、喜树碱(camptothecin)等,表明从药用植物内生真菌中发掘新的抗肿瘤活性先导化合物具有较大的潜力。

太子参为石竹科植物孩儿参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq) Pax 的干燥块根,为我国常用传统中药,具有益气健脾、生津润肺等功效,用于治疗肺燥干咳、自汗口渴、脾虚体倦、食欲不振等症状<sup>[8]</sup>。与其他药用植物相比,关于太子参内生真菌分离鉴定的研究较少。Cai 等<sup>[9]</sup>从太子参中分离获得 18 株内生真菌,其中有 6 株菌株发酵产物具有显著的抗肿瘤活性,3 株菌株发酵产物具有较好的抗氧化活性。但是,目前缺乏对太子参内生真菌活性次级代谢产物的深入研究。为了研究内生真菌这一特殊的微生物资源,我们从太子参中分离获得了 12 株内生真菌,并对其次级代谢产物的多样性和活性进行了筛选分析。其中菌株 *Aspergillus terreus* Tzs-201607 次级代谢产物具有丰富的化学结构多样性。在抗肿瘤活性筛选中,该菌株马铃薯葡萄糖肉汤(PDB)发酵产物对 HeLa 细胞表现出一定的抑制活性(48 h 抑制率 > 50%)。为从该菌株中获得具有抗肿瘤活性的次级代谢产物,本文对其化学成分及活性进行了进一步研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

主要仪器:UV-2700 紫外分光光度计(Shimadzu 公司,日本);Agilent DD2-500 MHz 型核磁共振波谱仪(Agilent 公司,美国),TMS 内标;LTQ Orbitrap XL 混合线性离子阱质谱仪(Thermo Scientific 公司,美

国);Waters Acquity UPLC 超高效液相色谱仪(配置 PDA 二极管阵列检测器,Waters 公司,美国);Waters 2545 制备色谱仪(Waters 公司,美国);快速纯化制备液相色谱 Flash Isolera one(Biotage 公司,瑞典);R-100 型旋转蒸发仪(Buchi 公司,瑞士);MD 4C NT 型化学隔膜泵(Vacuubrand 公司,德国)。

主要试剂:Lobar LiChroprep RP-18 硅胶(40~63 μm,Merck 公司,德国);葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20(Merck 公司,德国);薄层色谱 GF<sub>254</sub> 硅胶预制板和柱色谱用硅胶(100~200 目和 200~300 目,青岛海洋化工厂);色谱纯级和分析纯级乙腈、甲醇、二氯甲烷等有机溶剂(国药集团化学试剂有限公司)。

### 1.2 实验样品

供试菌株分离自 2016 年 7 月采集于临沂市河东区重沟镇万家湖村的太子参(标本编号 20160722A,经中国农业科学院烟草研究所张鹏副研究员鉴定为太子参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq) Pax)。将采集的太子参经表面消毒后,分离纯化得到内生真菌。通过形态学观察与 ITS 序列系统发育分析,将供试菌株鉴定为 *A. terreus*。菌种保存于中国海洋大学海洋生命学院(编号:*Aspergillus terreus* Tzs-201607)。

将保藏于 4 °C 的菌株接种到马铃薯葡萄糖琼脂(PDA,成分:马铃薯粉 6 g/L,葡萄糖 20 g/L,琼脂 20 g/L)平板上进行活化,28 °C 活化培养 5~7 天。然后用 6 mm 打孔器将菌体(含培养基)接种入装有 400 mL 马铃薯葡萄糖肉汤培养基(PDB,成分:马铃薯粉 5 g/L,蛋白胨 10 g/L,葡萄糖 15 g/L,氯化钠 5 g/L)的 1 L 锥形瓶中。置于 28 °C 静置培养 30 天。

### 1.3 提取分离

发酵结束后,将发酵液与菌丝体分离。发酵液用乙酸乙酯萃取 3 遍,经减压浓缩后得到粗提物 A 共 10.6 g。菌丝体经干燥后,采用高速分散器进行组织破碎,然后用超声波细胞破碎仪于 95% 乙醇中进行萃取。处理 3 遍后获得粗提物 B 共 15.2 g。合并粗提物 A 和 B 得总浸膏 25.8 g。

将获得的浸膏用 100~200 目硅胶拌样,经正相硅胶柱(200~300 目)采用石油醚-乙酸乙酯(30:1→1:1,体积比 V/V)和二氯甲烷-甲醇(20:1→1:1, V/V)依次梯度洗脱后经 TLC 和 HPLC 检测合并得到 6 个流份(Fr. 1~Fr. 6)。采用活性追踪的策略,以 HeLa 细胞为活性筛选模型,经 48 h 细胞培养后

进行分析,发现流分 Fr. 3、Fr. 4 和 Fr. 5 均表现出一定的活性(样品浓度为 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时抑制率分别为 62.5%、75.6% 和 59.3%)。因此,对上述 3 个流分进行了系统的分离纯化。流分 Fr. 3(1.6 g, 石油醚-乙酸乙酯 2:1 洗脱部分)经二氯甲烷-甲醇(50:1, 30:1, 10:1, V/V)梯度洗脱,合并得到 3 个子流分(Fr. 3.1 ~ Fr. 3.3)。Fr. 3.1(0.5 g)经制备薄层层析(pTLC, 展开体系为二氯甲烷-甲醇 20:1, 80 mL), 然后经 Sephadex LH-20 柱层析(甲醇洗脱)纯化得到化合物 2(5.6 mg)和 15(6.3 mg)。Fr. 3.2(0.2 g)使用半制备 HPLC(甲醇-水 45%:55%, 流速 2 mL/min)分离得到化合物 1(11.3 mg)。流分 Fr. 4(3.5 g, 石油醚-乙酸乙酯 1:1 洗脱部分)经常压 Lobar Li-Chroprep RP-18(反相 C18)柱层析,以甲醇-水梯度洗脱(10% → 100%), 合并得到 6 个子流分(Fr. 4.1 ~ Fr. 4.6)。Fr. 4.3(1.0 g)经制备薄层层析(pTLC, 展开体系为二氯甲烷-甲醇 15:1, 40 mL), 然后经 Sephadex LH-20 柱层析(甲醇洗脱)纯化得到化合物 6(8.8 mg)和 11(5.0 mg)。Fr. 4.5(0.2 g)经 pTLC(展开体系为二氯甲烷-丙酮 10:1, 40 mL)纯化得到化合物 5(6.2 mg)。Fr. 4.6(1.3 g)经硅胶柱层析(二氯甲烷-甲醇 30:1 洗脱), 然后经 Sephadex LH-20 柱层析(甲醇洗脱)纯化得到化合物 7(12.6 mg)、12(20.3 mg)和 13(9.6 mg)。流分 Fr. 5(2.2 g, 二氯甲烷-甲醇 20:1 洗脱部分)经反相 C18 柱层析,以甲醇-水梯度洗脱(10% → 100%), 合并得到 4 个子流分(Fr. 5.1 ~ Fr. 5.4)。Fr. 5.2(0.2 g)使用半制备 HPLC(甲醇-水 35%:65%, 流速 2 mL/min)分离得到化合物 3(20.1 mg)。Fr. 5.3(0.2 g)经 pTLC(展开体系为二氯甲烷-甲醇 15:1, 40 mL)分离得到化合物 4(7.8 mg)和 8(9.9 mg)。Fr. 5.4

(1.1 g)经硅胶柱层析(二氯甲烷-甲醇 40:1 洗脱), 然后经 Sephadex LH-20 柱层析(甲醇洗脱)纯化得到化合物 9(6.8 mg)、10(16.2 mg)、14(7.7 mg)和 16(15.2 mg)。

#### 1.4 细胞毒活性测试

采用 MTT 法对分离获得的单体化合物进行细胞毒活性测试<sup>[10]</sup>。供试肿瘤细胞包括:人非小细胞肺癌细胞(A549)、人乳腺管癌细胞(BT-549)、人宫颈癌细胞(HeLa)、人肝癌细胞(HepG2)、人乳腺癌细胞(MCF-7)和人髓系白血病单核细胞(THP-1)。上述细胞均购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。将待测样品分别设 2、4、8、16、32 和 64  $\mu\text{g}/\text{mL}$  共 6 个浓度梯度。取对数生长期的细胞分别接种在 96 孔板上,每孔加入不同浓度化合物 100  $\mu\text{L}$ , 培养 24 ~ 72 h 后,在显微镜下观察细胞的形态。然后,每孔加入 10  $\mu\text{L}$  浓度为 5  $\text{mg}/\text{mL}$  的 MTT, 置于 37 °C 下反应 4 h。弃去上清液,每孔中加入 150  $\mu\text{L}$  的 DMSO 振荡混匀。490 nm 下用酶标仪测定每孔的 OD 值。以表阿霉素(epirubicin)为阳性对照。计算不同化合物的 IC<sub>50</sub> 值。

## 2 结果

### 2.1 菌株鉴定

菌株在 PDA 平板上初期为白色菌丝体,后变为黄色到褐色(图 1)。其孢子小、圆形,地毡状,深褐色或褐色。将扩增的 ITS 序列在 GenBank 上进行 BLAST 比对,结果发现,该菌株与 *A. terreus* EBF108 (MF377552. 1)、*A. terreus* JJGG-54 (MK644096. 1)、*A. terreus* GKF25 (MK713427. 1) 等菌株相似度均为 99%。因此,鉴定该菌株为土曲霉 *A. terreus* (GenBank 序列号:MW534402)。

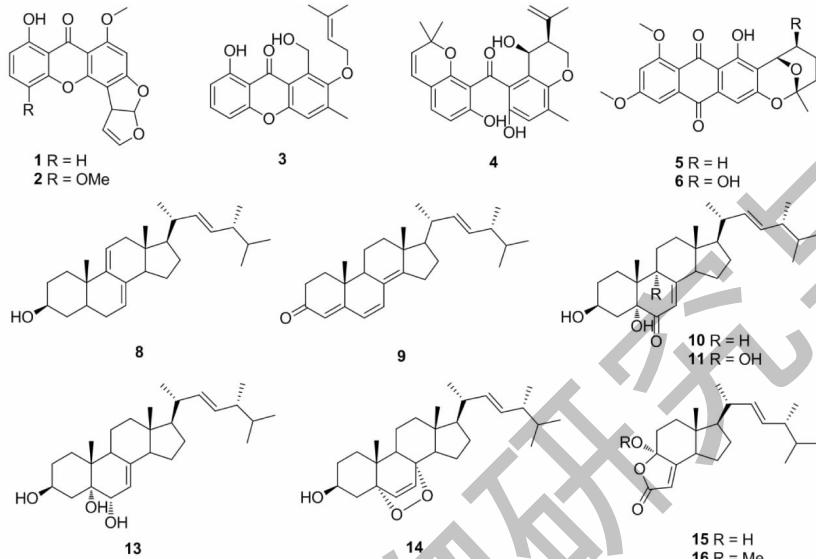


图 1 菌株 *A. terreus* 在 PDA 平板上的形态

Fig. 1 Morphology of strain *A. terreus* on PDA plate

## 2.2 结构鉴定

**化合物 1** 淡黄色固体;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 13.21 (1H, s, 8-OH), 7.48 (1H, t,  $J$  = 8.3 Hz, H-6), 6.81 (1H, dd,  $J$  = 8.3, 0.7 Hz, H-5), 6.81 (1H, d,  $J$  = 7.0 Hz, H-1'), 6.74 (1H, dd,  $J$  = 8.3, 0.7 Hz, H-7), 6.49 (1H, dd,  $J$  = 2.0, 2.6 Hz, H-4'), 6.42 (1H, s, H-2), 5.44 (1H, t,  $J$  = 2.6 Hz, H-3'), 4.78 (1H, dt,  $J$  = 7.0, 2.0 Hz, H-2'), 3.98 (3H, s, 1-OMe);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 181.3



(s, C-9), 164.5 (s, C-3), 163.3 (s, C-1), 162.3 (s, C-8), 154.9 (s, C-10a), 154.0 (s, C-4a), 145.4 (d, C-4'), 135.6 (d, C-6), 113.2 (d, C-2'), 111.2 (d, C-7), 108.9 (s, C-8a), 106.5 (s, C-4), 105.9 (s, C-9a), 105.9 (d, C-5), 102.5 (d, C-3'), 90.5 (d, C-2), 56.8 (q, 1-OMe), 48.0 (d, C-1')。以上核磁数据与文献<sup>[11]</sup>中基本一致,故鉴定化合物 1 为杂色曲霉素(图 2)。

图 2 化合物 1~16 的化学结构  
Fig. 2 The chemical structures of compounds 1~16

**化合物 2** 淡黄色无定形粉末;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 12.60 (1H, s, 8-OH), 7.19 (1H, d,  $J$  = 8.9 Hz, H-6), 6.83 (1H, d,  $J$  = 7.2 Hz, H-1'), 6.68 (1H, d,  $J$  = 9.0 Hz, H-7), 6.49 (1H, dd,  $J$  = 2.7, 2.2 Hz, H-4'), 6.44 (1H, s, H-2), 5.51 (1H, t,  $J$  = 2.7 Hz, H-3'), 4.86 (1H, d,  $J$  = 7.1 Hz, H-2'), 3.99 (3H, s, 1-OMe), 3.92 (3H, s, 5-OMe);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 181.4 (s, C-9), 164.7 (s, C-3), 163.5 (s, C-1), 155.5 (s, C-8), 154.2 (s, C-10), 145.4 (d, C-4'), 144.9 (s, C-13), 139.6 (s, C-5), 120.7 (d, C-6), 113.5 (d, C-1'), 109.8 (d, C-7), 109.7 (s, C-11), 107.0 (s, C-4), 106.3 (s, C-12), 102.7 (d, C-3'), 90.8 (d, C-2), 57.9 (q, 5-OMe), 57.0 (q, 1-OMe), 48.3 (d, C-2')。以上核磁数据与文献<sup>[12]</sup>中基本一致,故鉴定化合物 2 为 5-甲氧基柄曲霉素。

**化合物 3** 淡黄色油状物;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,

$\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 12.65 (1H, s, 1-OH), 7.59 (1H, t,  $J$  = 8.3 Hz, H-7), 7.30 (1H, s, H-1), 6.90 (1H, dd,  $J$  = 8.4, 0.8 Hz, H-8), 6.79 (1H, dd,  $J$  = 8.2, 0.8 Hz, H-6), 5.61 (1H, m, H-16), 5.09 (2H, s, H-20), 4.45 (2H, d,  $J$  = 7.2 Hz, H-15), 2.46 (3H, s, H-14), 1.81 (3H, s, H-18), 1.72 (3H, s, H-19);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 184.4 (s, C-13), 161.8 (s, C-5), 155.6 (s, C-12), 154.0 (s, C-3), 152.6 (s, C-9), 142.8 (s, C-2), 139.1 (s, C-17), 136.8 (d, C-7), 134.3 (s, C-4), 119.6 (d, C-16), 119.4 (d, C-1), 118.0 (s, C-10), 110.5 (d, C-8), 106.5 (s, C-6), 72.2 (t, C-15), 57.1 (t, C-20), 25.9 (q, C-18), 18.1 (q, C-19), 17.7 (q, C-14)。以上数据与文献<sup>[13]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 3 为 variecoxanthone A。

**化合物 4** 淡黄色油状物;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 7.12 (1H, d,  $J$  = 8.3 Hz, H-3), 6.58 (1H, s, H-5), 6.38 (1H, d,  $J$  = 8.3 Hz, H-4), 6.26

(1H, d, *J* = 9.9 Hz, H-14), 5.43 (1H, d, *J* = 9.9 Hz, H-15), 4.82 (1H, s, H-22 $\alpha$ ), 4.60 (1H, s, H-22 $\beta$ ), 4.52 (1H, br s, H-25), 4.18 (1H, m, H-19 $\alpha$ ), 4.12 (1H, m, H-19 $\beta$ ), 2.33 (1H, br d, *J* = 11.2 Hz, H-20), 2.10 (3H, s, H-24), 1.69 (3H, s, H-23), 0.99 (3H, s, H-17), 0.93 (3H, s, H-18);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 200.6 (s, C-13), 161.4 (s, C-10), 154.1 (s, C-1), 146.4 (s, C-11), 144.2 (s, C-7), 142.1 (s, C-21), 132.8 (d, C-3), 128.3 (s, C-6), 127.0 (d, C-15), 126.3 (s, C-12), 121.6 (d, C-14), 121.3 (s, C-9), 117.4 (d, C-5), 113.5 (s, C-8), 112.6 (s, C-2), 111.7 (t, C-22), 108.5 (d, C-4), 76.8 (s, C-16), 62.9 (t, C-19), 61.5 (d, C-25), 44.5 (d, C-20), 27.3 (q, C-17), 26.6 (q, C-18), 22.2 (q, C-23), 16.1 (q, C-24)。以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物4为chryxanthone A。

**化合物5** 黄色固体;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 13.54 (1H, s, 1-OH), 7.43 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-5), 7.19 (1H, s, H-4), 6.75 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-7), 5.37 (1H, d, *J* = 3.1 Hz, H-1'), 4.00 (3H, s, 8-OMe), 3.96 (3H, s, 6-OMe), 2.06 (1H, m, H-2' $\alpha$ ), 2.05 (1H, m, H-4' $\alpha$ ), 1.88 (1H, m, H-2' $\beta$ ), 1.84 (1H, m, H-4' $\beta$ ), 1.66 (1H, m, H-3' $\alpha$ ), 1.59 (1H, m, H-3' $\beta$ ), 1.58 (3H, s, H-6');  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 186.7 (s, C-9), 182.5 (s, C-10), 164.9 (s, C-6), 162.7 (s, C-8), 159.5 (s, C-1), 159.5 (s, C-3), 137.5 (s, C-10a), 132.5 (s, C-4a), 116.8 (s, C-2), 115.2 (s, C-8a), 110.0 (s, C-9a), 107.0 (d, C-4), 104.8 (d, C-7), 103.9 (d, C-5), 100.8 (s, C-5'), 67.1 (d, C-1'), 56.6 (q, 8-OMe), 56.0 (q, 6-OMe), 35.9 (t, C-4'), 27.8 (q, C-6'), 27.4 (t, C-2'), 16.0 (t, C-3')。以上数据与文献<sup>[15]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物5为6,8-di-*O*-methylaverufin。

**化合物6** 黄色固体;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 13.57 (1H, s, 1-OH), 7.43 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-5), 7.20 (1H, s, H-4), 6.76 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-7), 5.24 (1H, s, H-1'), 4.06 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 4.01 (3H, s, 8-OMe), 3.96 (3H, s, 6-OMe), 2.19 (1H, ddd, *J* = 11.8, 6.7, 2.9 Hz, H-3' $\alpha$ ), 1.93 (1H, m, H-3' $\beta$ ), 1.74 (2H, m, H-4'), 1.63 (3H, s, H-6');  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 186.7 (s, C-9), 182.4 (s, C-10), 165.0 (s, C-6), 162.8 (s, C-8), 159.7 (s, C-1), 159.2 (s, C-3), 137.4 (s, C-

10a), 132.9 (s, C-4a), 115.1 (s, C-2), 114.7 (s, C-8a), 110.0 (s, C-9a), 107.2 (d, C-4), 104.8 (d, C-7), 104.0 (d, C-5), 100.8 (s, C-5'), 71.3 (d, C-1'), 65.2 (d, C-2'), 56.6 (q, 8-OMe), 56.0 (q, 6-OMe), 30.8 (t, C-4'), 27.6 (q, C-6'), 23.2 (t, C-3')。以上数据与文献<sup>[16]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物6为6,8-di-*O*-methylnidurufin。

**化合物7** 黄色固体;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 13.76 (1H, s, 1-OH), 9.43 (1H, s, 3-OH), 7.39 (1H, s, H-5), 7.19 (1H, s, H-4), 6.73 (1H, s, H-7), 4.94 (1H, m, H-1'), 3.99 (3H, s, 8-OMe), 3.94 (3H, s, 9-OMe), 3.45 (3H, s, 1'-OMe), 1.83 (1H, m, H-2' $\alpha$ ), 1.75 (1H, m, H-2' $\beta$ ), 1.49 (1H, m, H-3' $\alpha$ ), 1.39 (1H, m, H-3' $\beta$ ), 1.26 (2H, m, H-4'), 1.25 (2H, s, H-5'), 0.86 (3H, m, H-6');  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 186.7 (s, C-9), 182.4 (s, C-10), 164.9 (s, C-6), 162.8 (s, C-8), 162.2 (s, C-1), 162.1 (s, C-3), 137.4 (s, C-10a), 133.0 (s, C-4a), 119.0 (s, C-2), 115.1 (s, C-8a), 110.2 (s, C-9a), 108.4 (d, C-4), 104.8 (d, C-7), 103.8 (d, C-5), 79.6 (d, C-1'), 58.0 (q, 1'-OMe), 56.6 (q, 8-OMe), 56.0 (q, 6-OMe), 34.6 (t, C-2'), 31.6 (t, C-4'), 25.0 (t, C-3'), 22.5 (t, C-5'), 14.0 (q, C-6')。以上数据与文献<sup>[17]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物7为6,8,1'-tri-*O*-methylaverantin。

**化合物8** 白色粉末;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 3.63 (1H, m, H-3), 5.57 (1H, br d, *J* = 4.9 Hz, H-6), 5.38 (1H, br s, H-7), 0.94 (3H, s, H-18), 0.63 (3H, s, H-19), 1.03 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 5.17, 5.24 (2H, dd, *J* = 11.2, 7.6 Hz, H-22/H-23), 0.83 (6H, t, *J* = 7.1 Hz, H-26/H-27), 0.91 (3H, d, *J* = 6.1 Hz, H-28);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 38.4 (t, C-1), 32.0 (t, C-2), 70.4 (d, C-3), 40.8 (t, C-4), 139.8 (s, C-5), 119.6 (d, C-6), 116.3 (d, C-7), 141.3 (s, C-8), 46.2 (d, C-9), 37.0 (s, C-10), 21.1 (t, C-11), 39.1 (t, C-12), 42.8 (s, C-13), 54.5 (d, C-14), 23.0 (t, C-15), 28.3 (t, C-16), 55.7 (d, C-17), 12.0 (q, C-18), 16.3 (q, C-19), 40.4 (d, C-20), 21.1 (q, C-21), 135.5 (d, C-22), 132.0 (d, C-23), 42.8 (d, C-24), 33.1 (d, C-25), 19.6 (q, C-26), 19.9 (q, C-27), 17.6 (q, C-28)。以上数据与文献<sup>[18]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物8为(22E, 24R)-ergosta-7,9(11),22-trien-3 $\beta$ -ol。

**化合物 9** 淡黄色粉末;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.73 (1H, s, H-4), 6.03 (1H, d,  $J$  = 9.5 Hz, H-6), 6.60 (1H, d,  $J$  = 9.5 Hz, H-7), 0.96 (3H, s, H-18), 0.99 (3H, s, H-19), 1.05 (3H, d,  $J$  = 6.4 Hz, H-21), 5.21 (1H, dd,  $J$  = 14.1, 7.2 Hz, H-22), 5.24 (1H, dd,  $J$  = 14.1, 8.3 Hz, H-23), 0.83 (6H, t,  $J$  = 7.1 Hz, H-26/H-27), 0.93 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz, H-28);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 34.1 (t, C-1), 34.2 (t, C-2), 199.5 (s, C-3), 123.0 (d, C-4), 164.4 (s, C-5), 124.4 (d, C-6), 134.0 (d, C-7), 124.4 (s, C-8), 44.3 (d, C-9), 36.8 (s, C-10), 19.0 (t, C-11), 35.6 (t, C-12), 44.0 (s, C-13), 156.1 (s, C-14), 25.4 (t, C-15), 27.7 (t, C-16), 55.7 (d, C-17), 19.0 (q, C-18), 16.6 (q, C-19), 39.3 (d, C-20), 21.2 (q, C-21), 135.0 (d, C-22), 132.5 (d, C-23), 42.9 (d, C-24), 33.1 (d, C-25), 20.0 (q, C-26), 19.7 (q, C-27), 17.6 (q, C-28)。以上数据与文献<sup>[19]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 9 为(22E,24R)-ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one。

**化合物 10** 白色粉末;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.03 (1H, m, H-3), 5.63 (1H, s, H-7), 0.59 (3H, s, H-18), 0.93 (3H, s, H-19), 1.03 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz, H-21), 5.15 (1H, dd,  $J$  = 15.3, 8.3 Hz, H-22), 5.23 (1H, dd,  $J$  = 15.2, 7.6 Hz, H-23), 0.82 (6H, t,  $J$  = 7.0 Hz, H-26/H-27), 0.92 (3H, d,  $J$  = 6.7 Hz, H-28);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 27.8 (t, C-1), 30.3 (t, C-2), 67.4 (d, C-3), 38.7 (t, C-4), 77.6 (s, C-5), 198.7 (s, C-6), 119.7 (d, C-7), 165.6 (s, C-8), 38.8 (s, C-9), 42.8 (s, C-10), 27.8 (t, C-11), 33.0 (t, C-12), 44.7 (s, C-13), 55.8 (d, C-14), 22.5 (t, C-15), 27.7 (t, C-16), 56.0 (d, C-17), 12.7 (q, C-18), 16.4 (q, C-19), 40.3 (d, C-20), 21.1 (q, C-21), 135.0 (d, C-22), 132.4 (d, C-23), 43.8 (d, C-24), 33.0 (d, C-25), 19.6 (q, C-26), 19.9 (q, C-27), 17.6 (q, C-28)。以上数据与文献<sup>[19]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 10 为(22E,24R)-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ -dihydroxy-ergosta-7,22-dien-6-one。

**化合物 11** 白色粉末;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta$ : 3.95 (1H, m, H-3), 5.64 (1H, s, H-7), 0.67 (3H, s, H-18), 0.99 (3H, s, H-19), 1.06 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz, H-21), 5.24 (1H, dd,  $J$  = 15.3, 8.0 Hz, H-22), 5.30 (1H, dd,  $J$  = 15.3, 7.4 Hz, H-23), 0.85 (6H, t,  $J$  = 6.9 Hz, H-26/H-27), 0.95 (3H, d,  $J$

= 6.8 Hz, H-28);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta$ : 26.3 (t, C-1), 31.2 (t, C-2), 67.0 (d, C-3), 37.6 (t, C-4), 79.9 (s, C-5), 197.9 (s, C-6), 120.5 (d, C-7), 163.4 (s, C-8), 75.4 (s, C-9), 42.4 (s, C-10), 29.2 (t, C-11), 35.8 (t, C-12), 45.7 (s, C-13), 52.2 (d, C-14), 23.0 (t, C-15), 28.7 (t, C-16), 56.8 (d, C-17), 12.5 (q, C-18), 20.6 (q, C-19), 41.2 (d, C-20), 21.5 (q, C-21), 136.3 (d, C-22), 133.0 (d, C-23), 43.7 (d, C-24), 33.8 (d, C-25), 20.0 (q, C-26), 20.3 (q, C-27), 18.1 (q, C-28)。以上数据与文献<sup>[19]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 11 为(22E,24R)-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -trihydroxy-ergosta-7,22-diene-6-one。

**化合物 12** 白色粉末;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta$ : 4.27 (1H, m, H-3), 5.44 (1H, d,  $J$  = 4.9 Hz, H-4), 6.18 (1H, d,  $J$  = 9.7 Hz, H-6), 5.88 (1H, d,  $J$  = 9.7 Hz, H-7), 0.99 (3H, s, H-18), 0.84 (3H, s, H-19), 1.07 (3H, d,  $J$  = 6.7 Hz, H-21), 5.26 (1H, dd,  $J$  = 14.9, 7.4 Hz, H-22), 5.30 (1H, dd,  $J$  = 14.7, 6.7 Hz, H-23), 0.86 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz, H-26), 0.87 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz, H-27), 0.95 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz, H-28);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta$ : 30.4 (t, C-1), 26.9 (t, C-2), 44.3 (d, C-3), 124.1 (d, C-4), 146.4 (s, C-5), 127.2 (d, C-6), 126.5 (d, C-7), 125.8 (s, C-8), 46.4 (d, C-9), 36.5 (s, C-10), 20.3 (t, C-11), 37.6 (t, C-12), 44.4 (s, C-13), 149.8 (s, C-14), 25.3 (t, C-15), 28.7 (t, C-16), 57.0 (d, C-17), 19.6 (q, C-18), 17.8 (q, C-19), 40.3 (d, C-20), 21.7 (q, C-21), 136.5 (d, C-22), 133.0 (d, C-23), 43.9 (d, C-24), 33.9 (d, C-25), 20.1 (q, C-26), 20.4 (q, C-27), 18.2 (q, C-28), 158.6 (s, C-29)。以上数据与文献<sup>[20]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 12 为(22E,24R)-3 $\alpha$ -ureido-ergosta-4,6,8(14),22-tetraene。

**化合物 13** 白色粉末;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 3.75 (1H, m, H-3), 3.58 (1H, br s, H-6), 5.06 (1H, m, H-7), 0.52 (3H, s, H-18), 0.89 (3H, s, H-19), 0.97 (3H, d,  $J$  = 6.5 Hz, H-21), 5.15 (1H, dd,  $J$  = 15.3, 8.1 Hz, H-22), 5.21 (1H, dd,  $J$  = 15.3, 7.2 Hz, H-23), 0.79 (6H, t,  $J$  = 6.6 Hz, H-26/H-27), 0.87 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz, H-28);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 31.6 (t, C-1), 32.9 (t, C-2), 66.4 (d, C-3), 40.6 (t, C-4), 74.9 (s, C-5), 72.6 (d, C-6), 119.9 (d, C-7), 140.1 (s, C-8), 42.7 (d, C-9),

37.1(s,C-10),21.8(t,C-11),40.6(t,C-12),43.4(s,C-13),54.6(d,C-14),23.0(t,C-15),28.2(t,C-16),55.8(d,C-17),12.5(q,C-18),18.2(q,C-19),40.5(d,C-20),21.4(q,C-21),135.8(d,C-22),131.8(d,C-23),42.5(d,C-24),32.9(d,C-25),20.2(q,C-26),19.9(q,C-27),17.7(q,C-28)。以上数据与文献<sup>[21]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物**13**为(22E,24R)-ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol。

**化合物14** 白色粉末;<sup>1</sup>H NMR(500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ :3.93(1H,m,H-3),6.48(1H,d,J=8.5 Hz,H-6),6.22(1H,d,J=8.5 Hz,H-7),0.79(3H,s,H-18),0.82(3H,s,H-19),0.89(3H,d,J=6.8 Hz,H-21),5.12(1H,dd,J=15.3,8.3 Hz,H-22),5.20(1H,dd,J=15.3,7.6 Hz,H-23),0.80(3H,d,J=6.8 Hz,H-26),0.88(3H,d,J=6.8 Hz,H-27),0.98(3H,d,J=6.6 Hz,H-28);<sup>13</sup>C NMR(125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ :34.7(t,C-1),30.0(t,C-2),66.3(d,C-3),39.3(t,C-4),82.2(s,C-5),135.2(d,C-6),130.7(d,C-7),79.4(s,C-8),51.6(d,C-9),36.9(s,C-10),20.6(t,C-11),36.9(t,C-12),44.5(s,C-13),51.6(d,C-14),23.4(t,C-15),28.6(t,C-16),56.1(d,C-17),12.9(q,C-18),18.2(q,C-19),39.7(d,C-20),20.9(q,C-21),135.4(d,C-22),132.2(d,C-23),42.7(d,C-24),33.0(d,C-25),19.6(q,C-26),19.9(q,C-27),17.6(q,C-28)。以上数据与文献<sup>[22]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物**14**为(22E,24R)-5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxyergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol。

**化合物15** 白色固体;<sup>1</sup>H NMR(500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ :5.74(1H,d,J=1.2 Hz,H-2),0.52(3H,s,H-12),0.98(3H,d,J=6.6 Hz,H-14),5.17(1H,dd,J=15.3,8.2 Hz,H-15),5.25(1H,dd,J=15.3,7.4 Hz,H-16),0.79(6H,t,J=7.0 Hz,H-19/H-20),0.88(3H,d,J=6.8 Hz,H-21);<sup>13</sup>C NMR(125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ :171.1(s,C-1),112.0(d,C-2),171.1(s,C-3),105.5(s,C-4),35.2(t,C-5),35.4(t,C-6),48.7(s,C-7),50.3(d,C-8),21.3(t,C-9),29.0(t,C-10),55.1(d,C-11),11.9(q,C-12),40.0(d,C-13),21.3(q,C-14),135.4(d,C-15),132.2(d,C-16),42.5(d,C-17),32.9(d,C-18),19.9(q,C-19),20.2(q,C-20),17.8(q,C-21)。以上数据与文献<sup>[23]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物**15**为demethylincisterol A<sub>3</sub>。

**化合物16** 白色固体;<sup>1</sup>H NMR(500 MHz, DM-

SO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ :6.01(1H,s,H-2),0.54(3H,s,H-12),0.98(3H,d,J=6.6 Hz,H-14),5.17(1H,dd,J=15.3,8.2 Hz,H-15),5.25(1H,dd,J=15.3,7.5 Hz,H-16),0.79(6H,t,J=7.2 Hz,H-19/H-20),0.88(3H,d,J=6.8 Hz,H-21),2.99(3H,s,OCH<sub>3</sub>);<sup>13</sup>C NMR(125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) $\delta$ :170.4(s,C-1),114.7(d,C-2),169.1(s,C-3),107.7(s,C-4),34.6(t,C-5),35.0(t,C-6),48.7(s,C-7),50.6(d,C-8),21.1(t,C-9),28.9(t,C-10),55.1(d,C-11),12.0(q,C-12),40.0(d,C-13),21.2(q,C-14),135.4(d,C-15),132.3(d,C-16),42.5(d,C-17),32.9(d,C-18),19.9(q,C-19),20.3(q,C-20),17.8(q,C-21),50.1(q,OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[24]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物**16**为(17R)-17-methyl-*incisterol*。

## 2.3 细胞毒活性测试结果

将分离获得的化合物**1~16**进行了细胞毒活性测试。以抗生素类抗肿瘤药表阿霉素(epirubicin)为阳性对照,以A549、BT-549、HeLa、HepG2、MCF-7和THP-1为供试细胞,活性结果见表1。化合物**1~7**、**12**、**14~16**对不同的肿瘤细胞表现出一定活性。其中,蒽醌类化合物**6**对A549和BT-549表现出较强的细胞毒活性,IC<sub>50</sub>值分别为9.8±0.2和9.8±1.3 μM。蒽醌类化合物**7**对HeLa表现出较强的细胞毒活性,IC<sub>50</sub>值为9.9±1.1 μM。甾醇类化合物**14**对THP-1表现出较强的活性,IC<sub>50</sub>值为9.0±0.5 μM。

## 3 讨论与结论

药用植物与其内生真菌通过长期的协同进化,形成了独特的互惠共生关系。其中,宿主植物为真菌提供生长、保护场所和营养环境,而内生真菌通过合成次级代谢产物促进植物的生长及防御。由于这些次级代谢产物具有显著的生物活性,极具新药开发前景,因此药用植物内生真菌资源已被证实是一个亟待开发的宝库。近30年来,已经从数百种药用植物,如宁前胡、川芎、夹竹桃等,分离纯化了大量的内生真菌,表明药用植物中蕴含着丰富的内生真菌资源。太子参作为我国常用传统中药,其关于内生真菌分离鉴定的研究较少,目前仅从中分离获得了18株内生真菌<sup>[9]</sup>。因此,太子参内生真菌资源有待进一步深入发掘。

药用植物内生真菌能够产生结构多样的活性次级代谢产物,其中相当部分的次级代谢产物具有抗

表 1 化合物的细胞毒活性

Table 1 Cytotoxic activity of the isolated compounds

化合物 Compound	IC <sub>50</sub> (μM)					
	A549	BT-549	HeLa	HepG2	MCF-7	THP-1
<b>1</b>	23.2 ± 1.6	18.8 ± 1.6	36.5 ± 0.8	20.6 ± 1.4	17.3 ± 2.0	>50
<b>2</b>	26.6 ± 1.1	>50	>50	32.1 ± 1.8	40.5 ± 1.5	>50
<b>3</b>	28.6 ± 1.0	30.5 ± 0.8	49.2 ± 1.2	>50	>50	46.2 ± 0.9
<b>4</b>	40.0 ± 0.4	30.1 ± 1.7	20.3 ± 1.2	31.0 ± 1.6	>50	>50
<b>5</b>	19.8 ± 0.8	10.5 ± 1.2	22.9 ± 2.0	19.6 ± 1.5	29.8 ± 1.0	>50
<b>6</b>	9.8 ± 0.2	9.8 ± 1.3	18.0 ± 1.4	17.8 ± 0.5	36.3 ± 1.9	48.3 ± 0.6
<b>7</b>	20.5 ± 0.9	20.9 ± 1.2	9.9 ± 1.1	10.6 ± 1.0	23.5 ± 0.1	>50
<b>8</b>	>50	>50	>50	>50	>50	>50
<b>9</b>	>50	45.6 ± 0.8	>50	>50	39.7 ± 0.3	>50
<b>10</b>	>50	>50	>50	>50	>50	>50
<b>11</b>	>50	>50	19.7 ± 1.2	>50	>50	>50
<b>12</b>	25.6 ± 0.2	38.9 ± 0.9	43.1 ± 1.0	22.3 ± 1.1	>50	>50
<b>13</b>	>50	30.1 ± 1.5	>50	>50	>50	>50
<b>14</b>	10.9 ± 0.3	29.6 ± 0.5	30.6 ± 1.0	19.0 ± 0.8	46.7 ± 1.8	9.0 ± 0.5
<b>15</b>	15.5 ± 1.0	40.0 ± 1.2	29.7 ± 0.8	35.5 ± 1.5	10.5 ± 0.3	20.5 ± 1.2
<b>16</b>	48.9 ± 1.6	>50	>50	>50	16.8 ± 0.5	23.6 ± 1.3
表阿霉素 Epirubicin	5.9 ± 0.3	4.9 ± 0.1	1.1 ± 0.1	3.8 ± 0.3	5.0 ± 0.1	5.0 ± 0.3

肿瘤药理活性,表现出潜在的应用价值。这些代谢产物的结构类型包括生物碱类、甾体类、萜类、黄酮类、蒽醌类等。蒽醌是天然醌类化合物中数量最多也是最重要的一类化合物,具有重要的生物活性,尤其抗肿瘤活性。其具有天然低毒、高效的特点,引起了研究人员广泛的关注。为了研究太子参内生真菌并从中获得活性显著的次级代谢产物,特别是发现具有抗肿瘤活性的化合物,本研究采用多种色谱技术从太子参内生真菌 *A. terreus* Tzs-201607 中分离纯化得到 16 个化合物,分别为山酮(化合物 1~4)、蒽醌(化合物 5~7)以及甾醇(化合物 8~16)类化合物。本研究报道的化合物 1~7、12、14~16 为首次从内生真菌 *A. terreus* 中分离获得。在体外抗肿瘤活性测试中,化合物 6、7 和 14 对人肿瘤细胞株 A549、BT-549、HeLa 和 THP-1 表现出较强的细胞毒

活性( $IC_{50} < 10 \mu M$ )。本研究丰富了太子参内生真菌资源多样性,在一定程度上丰富了真菌 *A. terreus* 次级代谢产物化学结构类型和生物活性。同时,本研究发现了抗肿瘤活性显著的蒽醌类化合物,为后续药物先导化合物的发现和研究提供了化合物实体。

#### 参考文献

- Wang ZW, Ji YL, Chen YG, et al. Studies and biological significances of plant endophytes [J]. Microbiol China (微生物学通报), 2015, 42: 349-363.
- Aly AH, Debbab A, Proksch P. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2011, 90: 1829-1845.
- Gouda S, Das G, Sen SK, et al. Endophytes: a treasure house of bioactive compounds of medicinal importance [J]. Front

- Microbiol, 2016, 7;1538.
- 4 Ludwig-Müller J. Plants and endophytes: equal partners in secondary metabolite production [J]. Biotechnol Lett, 2015, 37:1325-1334.
- 5 Liu CB, Liu HT, Yang JX, et al. Secondary metabolites of endophytic fungus *Fusarium tricinctum* from Ningguo *Peucedanum praeruptorum* Dunn. [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31:1580-1584.
- 6 Ma C, Meng CW, Peng C, et al. Isolation and identification of secondary metabolites of endophytic fungus *Cladosporium* sp. and study of antimicrobial activity [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31:69-74.
- 7 Zheng H, Mei WL, Cai CH, et al. Study on the secondary metabolites and their bioactivities of the endophytic fungus *Colletotrichum* sp. HK-08 from the leaves of *Nerium indicum* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2020, 32: 75-80.
- 8 Zhang CL, Xu GB, Liu J, et al. Chemical constituents of *Pseudostellaria heterophylla* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2017, 29:1132-1135.
- 9 Cai QY, Lin S, Xiao GQ, et al. Study on bioactivity of endophytic fungi from *Pseudostellaria heterophylla* (Miqi) Pax ex Pax et Hoffm [J]. J Fujian Univ TCM(福建中医药大学学报), 2011, 21(6):43-45.
- 10 OuYang W, Luo YF, Li Z, et al. Study on the isolation, identification and content determination of anti-inflammatory components in Tunixi [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2020, 32:1171-1181.
- 11 Lee YM, Li H, Hong J, et al. Bioactive metabolites from the sponge-derived fungus *Aspergillus versicolor* [J]. Arch Pharm Res, 2010, 33:231-235.
- 12 Shao C, She Z, Guo Z, et al. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR assignments for two anthraquinones and two xanthones from the mangrove fungus (ZSUH-36) [J]. Magn Reson Chem, 2007, 45: 434-438.
- 13 Wang J, He W, Huang X, et al. Antifungal new oxepine-containing alkaloids and xanthones from the deep-sea-derived fungus *Aspergillus versicolor* SCSIO 05879 [J]. J Agr Food Chem, 2016, 64:2910-2916.
- 14 Zhao DL, Yuan XL, Du YM, et al. Benzophenone derivatives from an algal-endophytic isolate of *Penicillium chrysogenum* and their cytotoxicity [J]. Molecules 2018, 23:3378.
- 15 Oleinikova GK, Denisenko VA, Slinkina NN, et al. Secondary metabolites of the marine fungus *Aspergillus ustus* KMM 4640 [J]. Chem Nat Compd, 2012, 48:467-469.
- 16 Ren H, Liu WW. Nidurufin as a new cell cycle inhibitor from marine-derived fungus *Penicillium flavidorum* SHK1-27 [J]. Arch Pharm Res, 2011, 34:901-905.
- 17 Shao C, Wang C, Wei M, et al. Structural and spectral assignments of six anthraquinone derivatives from the mangrove fungus (ZSUH-36) [J]. Magn Reson Chem, 2008, 46: 886-889.
- 18 Shao YY, Chen CC, Wang HY, et al. Chemical constituents of *Antrodia camphorata* submerged whole broth [J]. Nat Prod Res, 2008, 22:1151-1157.
- 19 Valisolalao J, Luu B, Ourisson G. Steroides cytotoxiques de *Polyporus versicolor* [J]. Tetrahedron, 1983, 39:2779-2785.
- 20 Yoshikawa K, Ikuta M, Arihara S, et al. Two new steroidal derivatives from the fruit body of *Chlorophyllum molybdites* [J]. Chem Pharm Bull, 2001, 49:1030-1032.
- 21 Keller AC, Maillard MP, Hostettmann K. Antimicrobial steroids from the fungus *Fomitopsis pinicola* [J]. Phytochemistry, 1996, 41:1041-1046.
- 22 Yue JM, Chen SN, Lin ZW, et al. Sterols from the fungus *Lactarius volemus* [J]. Phytochemistry, 2001, 56:801-806.
- 23 Mansoor TA, Hong J, Lee CO, et al. Cytotoxic sterol derivatives from a marine sponge *Homaxinella* sp. [J]. J Nat Prod, 2005, 68:331-336.
- 24 De Riccardis F, Spinella A, Izzo I, et al. Synthesis of (17R)-17-methylcisterol, a highly degraded marine steroid [J]. Tetrahedron Lett, 1995, 36:4303-4306.