

植物内生真菌 *Fusarium guttiforme* 次生代谢产物研究

李慧媛¹, 岳婧怡³, 王举涛^{1,2*}, 蔡百祥^{1*}

¹安徽中医药大学药学院; ²安徽省中药研究与开发重点实验室, 合肥 230012; ³芜湖职业技术学院, 芜湖 241006

摘要:采用多种色谱分离方法从植物内生真菌 *Fusarium guttiforme* 次生代谢产物中分离纯化得到 7 种化合物, 并通过核磁共振和质谱等波谱学手段鉴定其结构, 包括一个新型含过氧键的二聚苯衍生物:fucinum A (**1**) 以及 6 个已知化合物:(Z)-1-hydroxy-4-(2-nitroethenyl)benzene (**2**)、对羟基苯甲醛 (**3**)、stigmasta-4,6,8(14)-trien-3-one (**4**)、stigmast-4-ene-3,6-dione (**5**)、麦角甾醇 (**6**)、5-羟甲基糠醛 (**7**) 均首次从该真菌次生代谢产物中分离。此外, 对上述化合物进行 NO 生成抑制活性实验的研究, 其结果表明化合物 **1**、**2** 对 NO 产生具有一定的抑制作用, IC_{50} 值分别为 48.1 和 46.6 $\mu\text{mol/L}$ 。

关键词:*Fusarium guttiforme*; 次生代谢产物; 苯环衍生物; 一氧化氮抑制活性

中图分类号:R932

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)7-1143-05

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.7.006

Study on secondary metabolites of plant endophytic fungus *Fusarium guttiforme*

LI Hui-yuan¹, YUE Jing-yi³, WANG Ju-tao^{1,2*}, CAI Bai-xiang^{1*}

¹School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine;

²Anhui Province Key Laboratory of Research & Development of Chinese Medicine, Hefei 230012, China;

³Wuhu Institute of Technology, Wuhu 241006, China

Abstract: Fucinum A (**1**), a novel peroxy bond-containing dimeric benzene derivative, together with six known compounds (Z)-1-hydroxy-4-(2-nitroethenyl)benzene (**2**), *p*-hydroxybenzaldehyde (**3**), stigmasta-4,6,8(14)-trien-3-one (**4**), stigmast-4-ene-3,6-dione (**5**), ergosterol (**6**), 5-hydroxymethyl furfural (**7**) were firstly isolated from plant endophytic fungus *Fusarium guttiforme* based on the comprehensive chromatographic methods. Their structures were elucidated on the basis of spectroscopic analyses, including HR-ESI-MS, 1D and 2D NMR experiments. Additionally, all of them were evaluated on the NO production inhibition activity. The results showed that compounds **1** and **2** exhibited inhibitory effects against NO production with IC_{50} values of 48.1 and 46.6 $\mu\text{mol/L}$, respectively.

Key words:*Fusarium guttiforme*; secondary metabolites; benzene derivative; inhibitory activity on NO production

内生真菌指一类生活在健康植物组织体内但不引起植物感染病害的微生物, 其具有独特的生物学特性, 与宿主植物互生互利, 且产生多种重要的次生代谢产物, 可用于制药、农业, 以及具有一系列生物活性的食品工业^[1-3]。

镰刀菌属(*Fusarium*)是一类广泛分布于土壤和植物体内的丝状真菌, 近年来, 诸多学者对镰刀菌属

真菌次生代谢产物进行研究, 发现其不仅能产生伏马毒素(fumonis)、单端孢霉烯族毒素(trichothecenes)和玉米赤霉烯酮(zearealenones)三类主要真菌毒素, 还能产生萜类、酰胺、醌类和聚酮类等具有广泛的显著的生物活性的次生代谢产物^[4-9]。调研相关文献, 发现植物内生菌 *Fusarium guttiforme* 次生代谢产物的研究较少, 为进一步丰富 *Fusarium guttiforme* 代谢产物的化学成分, 同时考虑固体发酵对其次生代谢产物的影响, 本文利用多种色谱分离方法和现代波谱技术, 对植物内生真菌 *Fusarium guttiforme* 大米发酵次生代谢产物进行化学成分研究, 并同时对所获得的化合物进行体外抗炎活性筛选, 旨在发现结构新颖和活性较好的先导分子, 以期丰富

收稿日期:2022-01-20 接受日期:2022-05-07

基金项目: 安徽省高等学校自然科学基金重点项目(KJ2020A0915, KJ2021A0597); 安徽省中药研究与开发重点实验室基金(AKLPDCM202004)

*通信作者 Tel: 86-551-68129167; E-mail: wjt591@ahcm.edu.cn, caibx103@126.com

镰刀属内生真菌次生代谢产物。

1 材料与方法

1.1 仪器和材料

AV-500 MHz 型核磁共振谱仪(Bruker 公司, 德国); UPLC-IT-TOF 质谱(Shimadzu Crop 公司, 日本); LC-3000 半制备型 HPLC(北京同恒创新科技有限公司, 中国); Waters Xbridge C₁₈(250 mm × 20 mm, 5 μmol/L) 色谱柱(Waters 公司, 美国); ODS C₁₈(45 ~ 60 μmol/L)(日本京都 YMC 株式会社, 日本); Sephadex LH-20 凝胶(GE 公司, 瑞士); 柱层析硅胶 200 ~ 300 目(青岛海洋化工厂, 中国); HS-GF254 薄层层析硅胶板(烟台江有硅胶开发有限公司, 中国)。

1.2 菌种来源

内生真菌 *Fusarium guttiforme* (GenBank accession No. KC464629.1) 来源于安徽中医药大学天然药化教研室, 4 ℃ 保存。

1.3 菌种的发酵提取与分离

将保存在斜面试管中的待发酵菌株接种到灭菌后的 PDA 培养基(马铃薯浸粉 3 g/L、葡萄糖 20 g/L、琼脂 14.0 g/L)上,于 28 ℃ 恒温培养箱中培养活化 5 ~ 7 天,用灭菌后的 5 mm 打孔器打孔取其菌饼,将菌饼置于灭菌后的大米固体培养基(100 g 大米和 110 mL 蒸馏水置于 1 L 的锥形瓶中,121 ℃ 高压灭菌 20 min)中,于 28 ℃ 恒温发酵 25 天。25 天后停止发酵,在每个锥形瓶中加入 500 mL 乙酸乙酯进行提取,连续减压回流 3 次后得到待分离浸膏。

该乙酸乙酯部位(20 g)经硅胶柱色谱(200 ~ 300 目),依次以石油醚-丙酮系统梯度洗脱(100:0 → 0:1, V/V)和二氯甲烷-甲醇系统洗脱(1:1, V/V),共得到 9 个组分(A ~ I)。Fr. B(0.5 g)经 Sephadex LH-20 柱(MeOH, 100%)处理并通过半制备型 HPLC(MeOH-H₂O, 50:50 V/V)分离得到化合物 7(10 mg)。Fr. D(5 g)经 MCI(MeOH-H₂O, 1:1 → 0:1, V/V), RP-C18 柱(MeOH-H₂O, 30:70 → 100:00, V/V)洗脱得到 S1 ~ S3 三个亚组分。S2(0.6 g)经 Sephadex LH-20 柱(CHCl₃-MeOH, 1:1, V/V 和 MeOH)洗脱,并采用 pre-HPLC(MeCN-H₂O, 60:40 V/V)得到化合物 2(5 mg)、3(8 mg)。Fr. E7(6 g)经 Sephadex LH-2 柱(MeOH, 100%)洗脱,并通过 pre-HPLC(MeOH-H₂O, 60:40 V/V)纯化,得到化合物 1(6 mg)和 5(11 mg)。Fr. F(3 g)经 ODS 柱(MeOH-H₂O, 10:90 → 100:0, V/V)梯度洗脱,得到

四个亚组分 SF1 ~ SF4。SF2(0.2 g)通过 pre-HPLC(MeCN-H₂O, 60:40 V/V)纯化,得到化合物 4(5 mg)和化合物 6(4 mg)。

1.4 化合物 NO 抑制活性的测试

当免疫细胞遭受微生物内毒素、炎症介质等刺激时,会生成大量的诱导型一氧化氮合成酶(induced NO synthase, iNOS),产生 NO 进行免疫应答,因此抑制 NO 生成是化合物抗炎活性的直接指标。因此本实验取指数生长期小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 用 LPS 脂多糖诱导一氧化氮合成酶的生成,同时加入待测化合物处理,吸取培养基通过 Griess 法在 570 nm 波长测吸光值来检测亚硝酸盐(NO₂⁻)。因此本实验取指数生长期的 RAW 264.7 细胞接种至 96 孔板,用 1 μg/mL LPS 进行诱导刺激,同时加入待测化合物(终浓度 50 μmol/L)处理,设置不含药物组和 L-NMMA 阳性药物组做对照。细胞过夜培养后取培养基检测 NO 生成,在 570 nm 处测定吸光值。在剩余培养基中加入 MTS 进行细胞存活率检测,排除化合物对细胞的毒性影响。

$$\text{NO 生成抑制率} = \frac{(OD_{\text{非药物处理组}} - OD_{\text{样品组}})}{OD_{\text{非药物处理组}}} \times 100\%$$

2 结果

2.1 结构鉴定

化合物 1 白色无定形粉末;[α]_D²⁰ 5.8 (c 1.5, CH₃OH); UV(MeOH) λ_{max} (log ε): 202.0 (3.84), 221.5 (3.65), 258.5 (3.27) 和 273.0 (3.26) nm; HR-ESI-MS: *m/z* 327.062 [M-H]⁻ (calcd for C₁₆H₁₁N₂O₆, 327.061 7), 由此可知其分子式为 C₁₆H₁₂N₂O₆, 不饱和度为 10。在¹H NMR 和¹H-¹H COSY 光谱显示两组特征信号,分别为:一组芳香质子信号 δ_H 6.89 (2H, d, *J* = 8.6 Hz) 和 7.46 (2H, d, *J* = 8.6 Hz) 表明芳香环取代为对位取代以及一组烯健质子信号 δ_H 7.96 (1H, d, *J* = 13.5 Hz) 和 7.51 (1H, d, *J* = 13.5 Hz) 且烯质子氢耦合常数为 13.5 Hz, 这表明乙烯基的构型为 Z。由¹³C NMR 和 DEPT 以及 HSQC 光谱数据显示该分子有 16 个碳原子,包括芳香次甲基 δ_C 116.5 (C-2/2'/6/6') 和 131.4 (C-3/3'/5/5'), 4 个季碳 δ_C 159.2 (C-1/1') 和 122.8 (C-4/4') 以及 4 个次甲基在 δ_C 138.9 (C-7/7') 和 135.1 (C-8/8') 信号(见表 1)。化合物 1 的 1D 和 2D NMR 数据与化合物 2((Z)-1-hydroxy-4-(2-nitroethyl) benzene)的数据极其相似,化合物 2 是一种从桑树根皮中分离出来的苯类化合物,主要区别在于 C-1 (δ_C

表 1 化合物 1 的¹H 和¹³C NMR 数据 (500 和 125 MHz, CDCl₃)
Table 1 ¹H and ¹³C NMR data of compound 1 (500 and 125 MHz, CDCl₃)

Position	δ_{H}	δ_{C}
1/1'	-	159.2 (s)
2/2'/6/6'	6.89 (d, 8.6)	116.5 (d)
3/3'/5/5'	7.46 (d, 8.6)	131.4 (d)
4/4'	-	122.8 (s)
7/7'	7.96 (d, 13.5)	138.9 (d)
8/8'	7.51 (d, 13.5)	135.1 (d)

159.2)^[10]信号向高场位移。此外,将 1 与已知化合物 2 的 HR-ESI-MS (*m/z* 327.0623 [M-H]⁻) 数据进行比较,确定了化合物 1 是二聚体。因此,化合物 1 的平面结构被定义为(*Z*)-4,4'-过氧双(4-(2-nitroethenyl)-苯)并命名为 fucinum A(见图 1)。此

外,在二维图谱上,H-3 与 C-1、H-2 与 C-4、H-7 与 C-3、H-8 与 C-4 之间的 HMBC 相关性证实了化合物 1 的取代模式(见图 2)。化合物 1 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载(www.trew.ac.cn)。

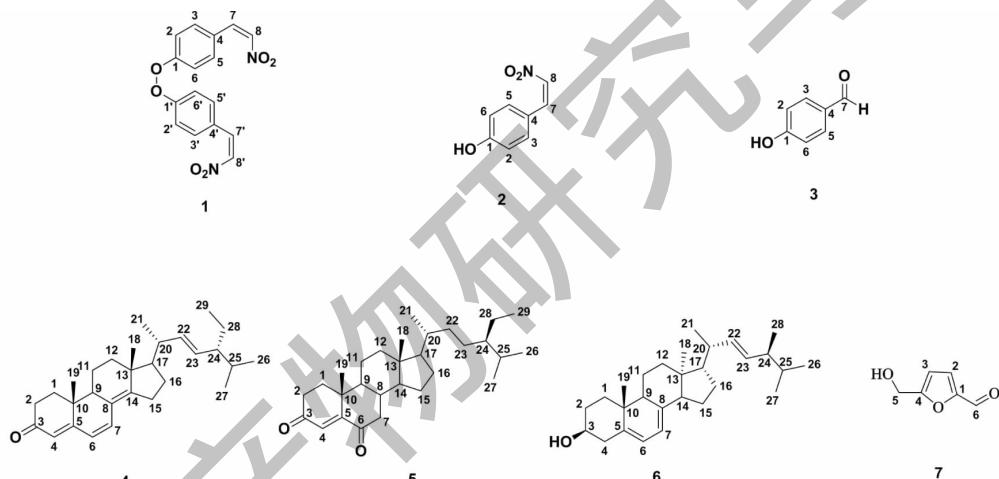


图 1 化合物 1~7 的结构
Fig. 1 Structures of compounds 1-7

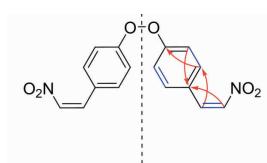


图 2 化合物 1 的关键¹H-¹H COSY (-) 和 HMBC (→) 相关性
Fig. 2 The key ¹H-¹H COSY (-) and HMBC (→) correlations of compound 1

化合物 2 白色粉末;分子式为 C₈H₇NO₂。¹H NMR (400 MHz, (CD₃)₂CO) δ: 9.26 (1H, br s, 1-OH), 8.05 (1H, d, *J* = 13.5 Hz, H-7), 7.85 (1H, d, *J* = 13.5 Hz, H-8), 7.72 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-3, 5), 6.98 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-2, 6);¹³C NMR (125

MHz, (CD₃)₂CO); δ: 162.2 (C-1), 117.1 (C-2, C-6), 132.7 (C-3, C-5), 122.7 (C-4), 140.0 (C-7), 135.9 (C-8)。上述数据与文献^[10]报道基本一致,因此确定化合物 2 为(*Z*)-1-hydroxy-4-(2-nitroethyl)-benzene。

化合物 3 无色粉末; 易溶于甲醇, 分子式 $C_7H_6O_2$ 为。ESI-MS: 121 [M-H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 9.85 (1H, s, CHO), 7.81 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2, 6), 7.01 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3, 5); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 129.8 (C-1), 132.6 (C-2, 6), 116.0 (C-3, 5), 161.7 (C-4), 191.4 (C-7)。上述数据与文献^[11]报道基本一致, 因此确定化合物3为对羟基苯甲醛。

化合物 4 白色针状结晶; 分子式为 $C_{29}H_{43}O$ 。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 6.59 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-6), 6.02 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-7), 5.73 (1H, br s, H-4), 5.25 (1H, dd, *J* = 16.5, 6.7 Hz, H-23), 5.18 (1H, dd, *J* = 16.5, 6.3 Hz, H-22), 2.54 (1H, m, H-2α), 2.48 (1H, m, H-2β), 2.02 (1H, m, H-1α), 1.82 (1H, m, H-1β), 1.05 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, H-21), 0.96 (3H, s, H-19), 0.94 (3H, s, H-18), 0.92 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, H-27), 0.86 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, H-26), 0.83 (3H, t, *J* = 6.2 Hz, H-29); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 35.6 (C-1), 19.0 (C-2), 199.6 (C-3), 123.0 (C-4), 164.4 (C-5), 124.4 (C-6), 134.0 (C-7), 124.5 (C-8), 44.3 (C-9), 36.8 (C-10), 25.4 (C-11), 34.1 (C-12), 44.0 (C-13), 156.1 (C-14), 34.1 (C-15), 27.7 (C-16), 55.7 (C-17), 16.6 (C-18), 18.9 (C-19), 39.3 (C-20), 21.2 (C-21), 132.5 (C-22), 135.0 (C-23), 42.8 (C-24), 33.1 (C-25), 19.6 (C-26), 20.0 (C-27), 29.7 (C-28), 17.6 (C-29)。上述数据与文献^[12]报道基本一致, 因此确定化合物4为 stigmasta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one。

化合物 5 无色晶体; 分子式为 $C_{29}H_{46}O_2$ 。ESI-MS: 427 [M + H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 6.17 (1H, s, H-4), 2.53 (1H, m, H-2α), 2.46 (1H, m, H-2β), 2.14 (1H, dd, *J* = 5.0, 2.8 Hz, H-1β), 1.91 (1H, dd, *J* = 9.9, 5.7 Hz, H-1α), 1.17 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-21), 0.85 (3H, t, *J* = 7.5 Hz, H-29), 0.84 (3H, d, *J* = 7.1 Hz, H-26), 0.81 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-27), 0.72 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 35.5 (C-1), 33.9 (C-2), 199.5 (C-3), 125.4 (C-4), 161.1 (C-5), 202.4 (C-6), 46.8 (C-7), 34.2 (C-8), 51.0 (C-9), 39.8 (C-10), 20.9 (C-11), 39.1 (C-12), 42.5 (C-13), 55.8 (C-14), 23.9 (C-15), 28.0 (C-16), 56.5 (C-17), 11.9 (C-18), 17.5 (C-19), 36.0 (C-20), 18.7 (C-21), 33.8 (C-22), 26.0 (C-23), 45.8 (C-

24), 29.1 (C-25), 19.8 (C-26), 18.9 (C-27), 23.0 (C-28), 11.8 (C-29)。上述数据与文献^[13]报道基本一致, 因此确定化合物5为 stigmast-4-ene-3,6-dione。

化合物 6 无色针状结晶; 分子式为 $C_{28}H_{43}O$ 。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 5.57 (1H, dd, *J* = 6.6, 2.5 Hz, H-6), 5.38 (1H, m, H-7), 5.21 (1H, dd, *J* = 15.9, 6.6 Hz, H-23), 5.18 (1H, dd, *J* = 15.9, 6.6 Hz, H-22), 1.03 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 0.94 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-28), 0.84 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-27), 0.82 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-26), 0.63 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 38.4 (C-1), 32.0 (C-2), 70.5 (C-3), 40.8 (C-4), 139.8 (C-5), 119.6 (C-6), 116.3 (C-7), 141.4 (C-8), 46.3 (C-9), 37.0 (C-10), 21.1 (C-11), 39.1 (C-12), 42.8 (C-13), 54.6 (C-14), 23.0 (C-15), 28.3 (C-16), 55.7 (C-17), 12.1 (C-18), 16.3 (C-19), 40.4 (C-20), 21.1 (C-21), 135.6 (C-22), 132.0 (C-23), 42.3 (C-24), 33.1 (C-25), 20.0 (C-26), 19.7 (C-27), 17.6 (C-28)。上述数据与文献^[14]报道基本一致, 因此确定化合物6为麦角甾醇。

化合物 7 白色粉末; 分子式为 $C_6H_6O_3$ 。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 9.43 (1H, s, CHO), 7.28 (1H, d, *J* = 3.2 Hz, H-3), 6.48 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H-4), 4.51 (2H, s, H-6); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 179.5 (C-1), 153.8 (C-2), 124.8 (C-3), 110.9 (C-4), 163.2 (C-5), 57.6 (C-6)。上述数据与文献^[15]报道基本一致, 因此确定化合物7为5-羟甲基糠醛。

2.2 生物活性

评估化合物1~7在LPS刺激的RAW 264.7细胞中抑制NO产生的能力。结果(见表2)显示化合物1和2表现出较弱的NO抑制活性, IC₅₀值为48.1和46.6 μmol/L, 阳性对照LNMMMA(NG-单甲基-L-精氨酸盐酸盐)的IC₅₀为38.2 μmol/L。

3 讨论

本研究从植物内生菌 *F. guttiforme* 大米发酵物的乙酸乙酯部位分离鉴定了7个化合物, 其中化合物1为一种新型的含过氧键的二聚苯衍生物, 化合物2~7分别为苯衍生物、酚酸类、甾体类化合物、麦角甾醇及糠醛类化合物, 均首次从该真菌中分离得到, 极大地丰富了镰刀菌属次生代谢产物结构的多样性。同时, 二聚体或多聚体衍生物大多具有较强

表 2 化合物 1~7 在 RAW 246.7 细胞中

抑制 NO 产生的 IC₅₀ 值 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 2 IC₅₀ values of compounds 1~7 inhibiting NO production in RAW 246.7 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

化合物 Compound	IC ₅₀ (μmol/L)
1	48.1 ± 1.3
2	46.6 ± 1.1
3	-
4	>50
5	>50
6	>50
7	>50
L-NMMA	38.2 ± 1.1

注:“-”表示样品在 25 μmol/L 时对细胞显示出细胞毒性作用(小于 15% 的细胞存活率)。

Note: “-” means the sample showed cytotoxic effects to cells at 25 μmol/L (less than 15% cell survival).

的药理活性和稳定性,其中对二聚体类衍生物研究偏多,Paik 等^[16]报道了一系列含有苯环结构的二聚体衍生物,其中邻苯二甲酸酯二聚体对人子宫颈癌具有很好的选择性和杀伤性,对正常宫颈细胞没有细胞毒性作用。烷基、酯基、醚键等连接的青蒿素二聚体往往比单核化合物具有更高体内外抗疟疾的活性、更低的毒副作用和稳定的理化性质^[17,18]。此外,已有报道表明苯环衍生物、酚类和甾体类化合物等具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抑菌等活性,因此本文对从 *F. guttiforme* 中分离所得到的化合物 1~7 抗炎活性进行体外初步评估,结果表明化合物 1 和 2 表现出一定的 NO 生成抑制活性,IC₅₀ 值为 48.1 和 46.6 μmol/L,初步阐明了镰刀菌 *F. guttiforme* 的活性物质基础,为后续药理实验的开展提供参考,同时亦可为镰刀菌相关研究提供一定科学价值。

参考文献

- 1 Feng L, Han J, Wang J, et al. Pestalopyrones A-D, four tricyclic pyrone derivatives from the endophytic fungus Pestalotopsis neglecta S3 [J]. Phytochemistry, 2020, 179:112505.
- 2 Sun XX, Wang GY, Xiao H, et al. Streptimidazoles A-G from the plant endophytic *Streptomyces* sp. PKU-EA00015 with inhibitory activities against a plant pathogenic fungus [J]. J Nat Prod, 2020, 83:2246-2254.
- 3 Zhang XY, Tan XM, Yu M, et al. Bioactive metabolites from the desert plant-associated endophytic fungus *Chaetomium globosum* (Chaetomiaceae) [J]. Phytochemistry, 2021, 185: 112701.
- 4 Ibrahim SRM, Abdallah HM, Elkhayat ES, et al. Fusaripeptide A: new antifungal and anti-malarial cyclodepsipeptide from the endophytic fungus *Fusarium* sp. [J]. J Asian Nat Prod Res, 2017, 20:75-85.
- 5 Shen WY, Bai R, Wang AR, et al. Two new polyhydroxysterols produced by *Fusarium solani*, an endophytic fungus from *Chloranthus multistachys* [J]. Nat Prod Res, 2016, 30:2173-2182.
- 6 Zhen X, Mao MJ, Wang RZ, et al. Fusapyrone A, a γ-pyrone derived from a desert *Fusarium* sp. [J]. J Asian Nat Prod Res, 2020, 23:504-511.
- 7 Zhou GL, Qiao L, Zhang XM, et al. Fusaricates H-K and fusolanones A-B from a mangrove endophytic fungus *Fusarium solani* HDN15-410 [J]. Phytochemistry, 2019, 158:13-19.
- 8 Li XJ, Li FM, Xu LX, et al. Antifungal secondary metabolites of endophytic *Fusarium* sp. HU0174 from *Celtis sinensis* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2021, 33:943-950.
- 9 Zhang XW, Zhang D. Recent advances of secondary metabolites in genus *Fusarium* [J]. J Plant Physiol(植物生理学报), 2013, 49:201-216.
- 10 Liao YR, Kuo PC, Tsai WJ, et al. Bioactive chemical constituents from the root bark of *Morus australis* [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2017, 27:309-313.
- 11 Liu NZ, Zhao BQ, Qian QG, et al. Chemical constituents from *Scropularia ningpoensis* [J]. J Tradit Chin Med(中成药), 2019, 41:576-579.
- 12 Elkhayat ES, Ibrahim SRM, Mohamed GA, et al. Terrenolide S, a new antileishmanial butenolide from the endophytic fungus *Aspergillus terreus* [J]. Nat Prod Res, 2015, 30:814-820.
- 13 Wei K, Li W, Koike K, et al. Complete ¹H and ¹³C NMR assignments of two phytosterols from roots of *Piper nigrum* [J]. Magn Reson Chem, 2004, 42:355-359.
- 14 Luo Y, Yuan XH, Gao P. Chemical constituents from fruiting bodies of *Amanita caesarea* [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2016, 39:107-109.
- 15 Xiang T, Wu LJ, Lin RH, et al. Studies on the chemical constituents of *Lonicera bournei* Hemsl. II [J]. J Chin Med Chem(中国药物化学杂志), 1999(1):51-52.
- 16 Paik I H, Xie S, Shapiro TA, et al. Second generation, orally active, antimalarial, artemisinin-derived trioxane dimers with high stability, efficacy, and anticancer activity [J]. J Med Chem, 2006, 49:2731-2734.
- 17 Yang LJ, Xie XB, Yu Z, et al. Dimers based on artemisinin-based structural units and their activity against drug-resistant malaria [J]. World Notes Antibiot(国外医药:抗生素分册), 2019, 40:528-534.
- 18 Wei L, Liu WZ, Wang YF, et al. Progress of anti-tumor activities of artemisinin derivatives [J]. J Chin Pharm(中国医药工业杂志), 2010, 41:768-775.