

• 化学成分 •

广藿香内生真菌撕裂耙齿菌 A878 次级代谢产物研究

王诺依^{1,2}, 刘洪新², 陈玉婵², 章卫民^{2*}, 高晓霞^{1*}

1. 广东药科大学药学院, 广东 广州 510006

2. 广东省科学院微生物研究所华南应用微生物国家重点实验室, 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东 广州 510070

摘要: 目的 研究药用植物广藿香 *Pogostemon cablin* 内生真菌撕裂耙齿菌 *Irpex laceratus* A878 的活性次级代谢产物。方法 运用硅胶、Sephadex LH-20、HPLC 等多种柱色谱技术以及重结晶方法对发酵产物进行分离纯化, 并利用 ¹H-和 ¹³C-NMR、UV 等谱学方法鉴定化合物结构。采用 SRB 法和 Griess 法测定化合物的生物活性。**结果** 从广藿香内生真菌撕裂耙齿菌 A878 固体发酵产物中分离鉴定了 2 个新化合物和 10 个已知化合物。分别为撕裂耙齿菌内酯 A (1)、撕裂耙齿菌内酯 B (2)、细胞松弛素 H (3)、细胞松弛素 J (4)、18-甲氧基细胞松弛素 J (5)、去乙酰基细胞松弛素 H (6)、细胞松弛素 J₃ (7)、拟茎点霉吡喃酮 A (8)、狄瑟酚 A (9)、桔青霉三酚 A (10)、(22*E*,24*R*)-麦角甾-5,7,22-三烯-3β-醇 (11) 和 1*S*,2*R*,4*S*-三羟基-对-薄荷烷 (12)。**结论** 化合物 1、2 为新的吡喃内酯类化合物。活性研究表明化合物 4、5 和 9 对人神经癌 SF-268 细胞、人乳腺癌 MCF-7 细胞、人肝癌 HepG2 细胞和人肺癌 A549 细胞表现出中等的细胞毒活性, 半数抑制浓度为 24.83~69.63 μmol/L。此外, 化合物 11 表现出较弱的抗炎活性。

关键词: 广藿香; 内生真菌; 撕裂耙齿菌; 次级代谢产物; 生物活性; 撕裂耙齿菌内酯 A; 撕裂耙齿菌内酯 B; 细胞松弛素 J; 狄瑟酚 A

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2023)04-1017-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.04.001

Study on secondary metabolites of endophytic fungus *Irpex laceratus* A878 from *Pogostemon cablin*WANG Nuo-yi^{1,2}, LIU Hong-xin², CHEN Yu-chan², ZHANG Wei-min², GAO Xiao-xia¹

1. School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. State Key Laboratory of Applied Microbiology of Southern China, Guangdong Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510070, China

Abstract: Objective To investigate the secondary metabolites of endophytic fungus *Irpex laceratus* A878 from medicinal plant *Pogostemon cablin*. **Methods** The fermentation products were separated and purified by silica gel column, Sephadex LH-20, HPLC and recrystallization. The structures of the compounds were identified by analysis of their ¹H-, ¹³C-NMR and UV spectra. The biological activities of the compounds were evaluated by SRB and Griess methods. **Results** Two new compounds and 10 known compounds were isolated and identified from the solid fermentation products of endophytic fungus A878, their structures were identified as irpexone A (1), irpexone B (2), cytochalasin H (3), cytochalasin J (4), 18-methoxy cytochalasin J (5), deacetylcytochalasin H (6), cytochalasin J₃ (7), phomoxanthone A (8), dicerandrol A (9), penicillicitrin A (10), (22*E*,24*R*)-ergosta-5,7,22-trien-3β-ol (11) and 1*S*,2*R*,4*S*-trihydroxy-*p*-menthane (12). **Conclusion** Compounds 1 and 2 were new pyranolactones. The bioactivity assay results showed that compounds 4, 5, and 9 demonstrated moderate cytotoxic activity against SF-268, MCF-7, HepG2, and A549 cell lines with IC₅₀ values ranging from 24.83 to 69.63 μmol/L. Besides, compound 11 showed weak anti-inflammatory activity.

收稿日期: 2022-11-24

基金项目: 广东省特支计划项目 (2019TQ05Y375)

作者简介: 王诺依 (1993—), 女, 硕士, 研究方向为天然药物化学。Tel: 15622311838 E-mail: wnykevin@163.com

*通信作者: 高晓霞, 教授, 硕士生导师。Tel: 13828488103 E-mail: gaioxia91@163.com

章卫民, 研究员。Tel: (020)87682785 E-mail: wmzhang@gdim.cn

Key words: *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.; endophytic fungi; *Irpex laceratus* (N. Maek., Suhara & R. Kondo) C.C. Chen & Sheng H. Wu; secondary metabolites; bioactivity; irpexone A; irpexone B; cytochalasin J; dicerandrol A

真菌次级代谢产物具有结构新颖、活性显著等优点,是开发新药的重要来源之一^[1]。植物内生真菌是指生存在健康的植物组织内,在长期共生和遗传进化过程中与宿主植物形成互利共生的一类特殊菌群^[2-3],因其特殊的生长环境进化出独特的代谢途径。众多的科学研究表明,植物内生真菌能够产生丰富的活性次级代谢产物,如生物碱、萜、聚酮、肽等多种类型的天然产物^[4],在医药、工业、农业和环境等行业有着广阔的应用前景。

广藿香 *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. 是连花清瘟胶囊等 30 多种中成药的主要原料,在临床应用、化妆品、香料的原材料等领域有着巨大的市场潜能。前人化学成分研究表明,广藿香植物含有甾体、醇、萜等多种类型次级代谢产物^[5],这些次级代谢产物具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、抗菌等多种药理活性^[6]。植物内生真菌可以产生与宿主植物相同或相似的化合物,以往对广藿香内生真菌次级代谢产物的研究中已经发现了许多具有生物活性的次级代谢产物,如抑菌活性化合物链格孢毒素 VII (altertoxin VII)^[7]、抗肿瘤化合物小穴壳菌酮 O (dothiorelone O) 和异旋孢腔酮 (isocochlioquinones) D~E 等^[8-9]。

本研究从采自广东阳春的广藿香叶中分离筛选到 1 株内生真菌撕裂耙齿菌 *Irpex lacerates* A878。前期通过少量 (500 mL) 液体发酵和薄层色谱分析,发现菌株 A878 的代谢产物丰富、粗提物产率较高。为了进一步挖掘广藿香内生真菌中活性次级代谢产物,本研究对广藿香内生真菌撕裂耙齿菌进行大米固体培养基扩大培养,并对其代谢产物运用现代分离方法系统分离,最终从该真菌粗提物中分离得到 12 个化合物,通过 NMR、MS 等现代波谱方法并结合文献分别鉴定为撕裂耙齿菌内酯 A (irpexone A, **1**)、撕裂耙齿菌内酯 B (irpexone B, **2**)、细胞松弛素 H (cytochalasin H, **3**)、细胞松弛素 J (cytochalasin J, **4**)、18-甲氧基细胞松弛素 J (18-methoxy cytochalasin J, **5**)、去乙酰基细胞松弛素 H (deacetylcytochalasin H, **6**)、细胞松弛素 J₃ (cytochalasin J₃, **7**)、拟茎点霉吡酮 A (phomoxanthone A, **8**)、狄瑟酚 A (dicerandrol A, **9**)、桔青霉三酚 A (penicillocitrin A, **10**)、(22*E*,24*R*)-

麦角甾 -5,7,22-三烯-3 β -醇 [(22*E*,24*R*)-ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol, **11**] 和 1*S*,2*R*,4*S*-三羟基-对-薄荷烷 [1*S*,2*R*,4*S*-trihydroxy-*p*-menthane, **12**] (图 1)。其中化合物 **1** 和 **2** 为新化合物,化合物 **3**~**12** 均为首次从耙齿菌属真菌中分离得到。采用 SRB 法和 Griess 法测定化合物的生物活性,结果表明化合物 **4**、**5** 和 **9** 对人神经癌 SF-268 细胞、人乳腺癌 MCF-7 细胞、人肝癌 HepG2 细胞和人肺癌 A549 细胞表现出中等的细胞毒活性,半数抑制浓度值为 24.83~69.63 μ mol/L。此外,化合物 **11** 表现出较弱的抗炎活性。

1 仪器与材料

1.1 仪器

AVANCE III 型 500 MHz 核磁共振波谱仪 (瑞士 Bruker 公司); LC-20A 半制备型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); EasySep-1050 全制备型高效液相色谱仪 (上海通微分析技术有限公司); PZ1000B 型旋转式大容量普通摇床 (武汉瑞华仪器设备有限公司); AX224ZH/E 电子天平 (OHAUS 公司); MD-S2 显微熔点仪 (Yanagimoto Seisakusho 有限公司)。

1.2 试剂

正相柱色谱硅胶 (100~200、200~300 目,青岛海湾精细化工有限公司); C₁₈ 反相硅胶 (40~75 μ m, Fuji Silysia Chemical Ltd.); Sephadex LH-20 (18~110 μ m, Amersham Biosciences Ltd.); YMC-pack ODS-A 色谱柱 (250 mm $\times$ 10 mm, 5 μ m, 12 nm, YMC 公司); 所有化学试剂均为分析纯 (广州化学试剂厂) 或色谱纯 (美国 BCR 公司)。

1.3 菌株与细胞

实验所用菌株 A878 是从广东省阳春市广藿香叶中分离得到,广藿香由广东药科大学中药学院严寒静教授鉴定为广藿香 *P. cablin* (Blanco) Benth.。分离培养基采用麦芽糖培养基,经 ITS 序列鉴定为撕裂耙齿菌 *Irpex laceratus* (N. Maek., Suhara & R. Kondo) C.C. Chen & Sheng H. Wu, 基因登录号为 OP748374,菌株保存于广东省科学院微生物研究所。

SF-268 细胞、MCF-7 细胞、HepG2 细胞和 A549 细胞购自中国科学院细胞研究所。

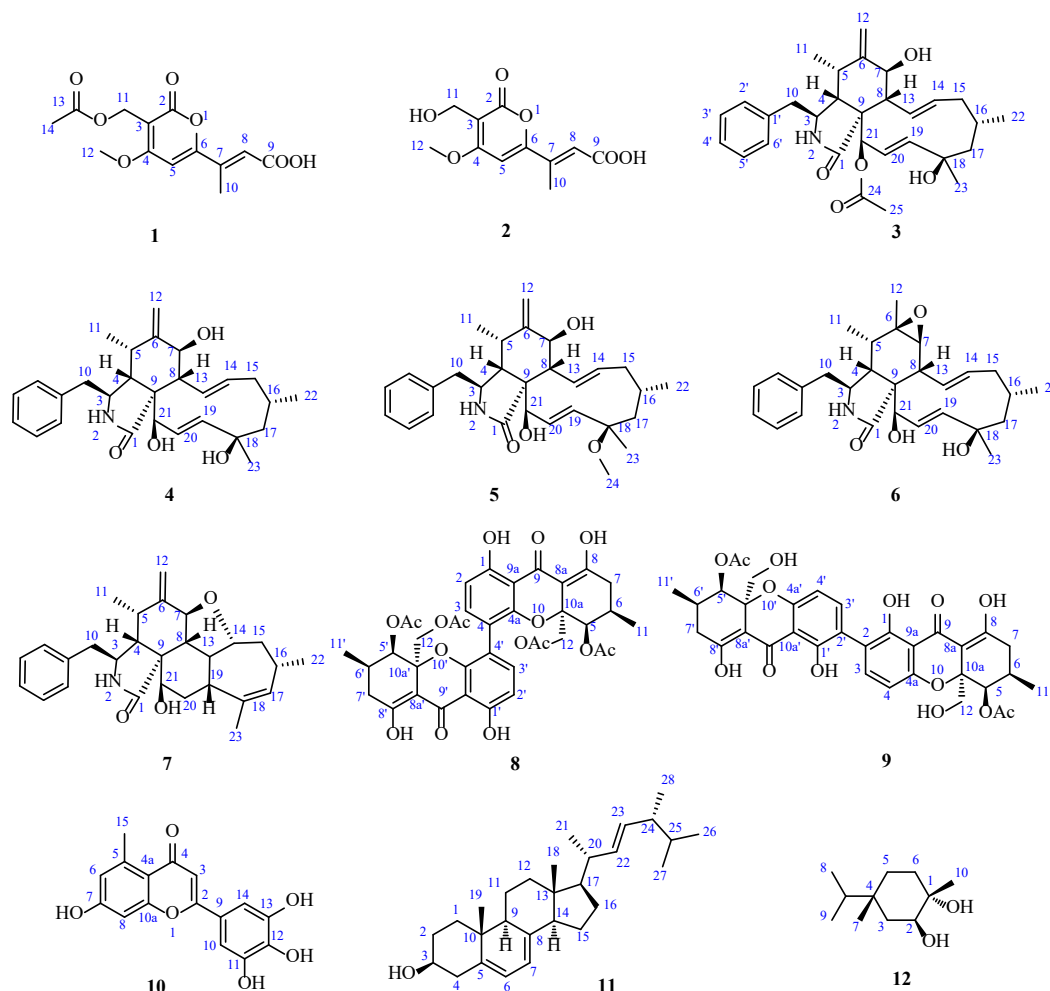


图 1 化合物 1~12 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—12

阿霉素 (Lot#H1421045) 和吡喹酮 (Lot#F1905137) 均购自阿拉丁生化科技股份有限公司。

2 方法

2.1 菌株发酵

将活化后的菌株撕裂耙齿菌 A878 均匀接入 PDB 培养基 (马铃薯 200 g/L、葡萄糖 20 g/L、 KH_2PO_4 3 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5 g/L、维生素 B₁ 10 mg/L) 中, 在 28 °C、120 r/min 振荡培养 3 d, 待长出明显的菌丝球转接到大米培养基 (大米 250 g、纯净水 380 mL) 的锥形瓶 (3 L) 中, 在 28 °C 静置培养 33 d, 发酵规模 15 瓶。

2.2 提取与分离

用适量的醋酸乙酯对发酵产物提取 4 次, 减压浓缩后得到粗提物 76.8 g。粗提物经硅胶柱色谱分离, 首先用石油醚-醋酸乙酯 (1:0~0:1) 梯度洗脱, 再以醋酸乙酯-甲醇 (10:1) 等度洗脱, 最后用纯甲醇冲洗硅胶柱。流分经 TLC 分析, 合并主斑

点相同的流分得到 10 个组分 Fr. 1~10。当菌株 A878 粗提物过正相硅胶色谱柱, 正己烷-醋酸乙酯 (4:1) 洗脱时, 流分中会析出白色针状晶体, 用甲醇反复洗涤晶体纯化, 即可得到化合物 11 (6.5 mg)。Fr. 3 粗组分中则会析出大量淡黄色晶体, 用甲醇溶剂反复洗涤纯化, 进而得到化合物 8 (10.0 g)。

Fr. 4 经反相硅胶柱色谱, 用 50%~100% 甲醇水梯度洗脱, 得 8 个亚组分 Fr. 4-1~4-8; Fr. 4-1 通过正相硅胶柱色谱, 正己烷-醋酸乙酯 (3:1~1:5) 梯度洗脱, 得到 3 个组分 Fr. 4-1-1~4-1-3; Fr. 4-1-1 经半制备 HPLC (甲醇-水 75:25, 2.0 mL/min) 纯化, 得到化合物 7 (6.8 mg)。Fr. 4-1-3 经正相硅胶柱色谱, 用二氯甲烷-甲醇 (100:1~60:1) 梯度洗脱得到化合物 12 (17.4 mg)。Fr. 4-3 通过凝胶柱色谱, 用二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱, 得到化合物 10 (5.1 mg)。Fr. 4-4 过正相硅胶柱色谱, 正己烷-醋酸乙酯 (3:1~2:1) 洗脱, 得到 4 个组分 Fr.

4-4-1~4-4-4。Fr. 4-4-4 再经 HPLC(甲醇-水 72:28, 2.0 mL/min) 纯化得到化合物 **9** (4.0 mg)。

Fr. 5 经反相硅胶柱色谱, 用 50%~100% 甲醇梯度洗 4 个亚组分 Fr. 5-1~5-4, Fr. 5-2 经正相硅胶柱色谱, 石油醚-醋酸乙酯 (2:1) 洗脱纯化, 得到化合物 **3** (4.3 mg)。Fr. 5-1 通过凝胶柱色谱, 甲醇洗脱得到 3 个组分 Fr. 5-1-1~5-1-3。Fr. 5-1-1 再经 HPLC 大量制备 (乙腈-水 35:65, 6.0 mL/min) 纯化, 得到化合物 **4** (5.0 mg)。

Fr. 6 经反相硅胶柱色谱, 50%~100% 甲醇梯度洗脱, 得到 8 个亚组分 Fr. 6-1~6-8; Fr. 6-6 通过正相硅胶柱色谱, 正己烷-醋酸乙酯 (3:2) 洗脱得到 2 个组分 Fr. 6-6-1~6-6-2; Fr. 6-6-1 继续用正相硅胶柱色谱, 正己烷-醋酸乙酯 (1:1) 纯化, 得到化合物 **5** (15.0 mg)。Fr. 6-6-2 通过凝胶柱色谱, 甲醇洗脱, 得到 Fr. 6-6-2-1。Fr. 6-6-2-1 再经半制备 HPLC (甲醇-水 65:35, 2.0 mL/min) 纯化, 得到化合物 **6** (5.0 mg)。Fr. 6-8 析出晶体, 用甲醇反复洗涤晶体纯化, 得到化合物 **1** (2.9 mg)。

Fr. 7 经反相硅胶柱色谱, 甲醇-水 (50:50~100:0) 梯度洗脱, 得到 7 个组分 Fr. 7-1~7-7。Fr. 7-1 经正相硅胶柱色谱, 正己烷-醋酸乙酯 (2:1~1:5) 梯度洗脱, 得到 3 个组分 Fr. 7-1-1~7-1-3; Fr. 7-1-3 经凝胶柱色谱 (甲醇) 洗脱得到 Fr. 7-1-3-1~7-1-3-4; Fr. 7-1-3-1 再通过正相硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (1:0~30:1) 洗脱, 得到 Fr.

7-1-3-1-1~7-1-3-1-4。Fr. 7-1-3-1-3 组分经反复重结晶得到化合物 **2** (10.0 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色针状晶体 (甲醇), mp 219~220 °C。紫外光谱显示化合物 **1** 在 311 (4.48)、267 (4.47)、209 (5.12) nm 处有最大吸收。红外光谱表明该化合物具有羰基 (1703 cm^{-1}) 的吸收峰。HR-ESI-MS 谱给出准分子离子峰 m/z 283.080 9 (计算值为 283.081 2), 可以确定化合物的分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{O}_7$, 氢谱 (表 1) 显示 2 个双键质子信号 δ_{H} 6.95 (1H, s, H-5) 和 6.56 (1H, d, $J=1.2\text{ Hz}$, H-8)、1 个亚甲基信号 δ_{H} 4.82 (2H, s, H-12)、2 个甲基信号 δ_{H} 2.37 (3H, s, H-10) 和 1.99 (3H, s, H-14)、1 个甲氧基信号 δ_{H} 4.05 (3H, s, H-11)。碳谱表明化合物 **1** 共有 13 个碳信号。根据 HMBC 谱 (图 2), H-5 到 C-3、C-4、C-6 的相关信号以及 1 组碳信号 (δ_{C} 162.3、101.3、169.3、97.8、167.3) 表明化合物 **1** 为吡喃内酯类衍生物^[10]。双键氢信号 H-8 到 C-6、C-9 和 C-10 的 HMBC 相关信号表明化合物 **1** 中有 1 个甲基丁烯酸片段连接在吡喃环的 C-6 位上。此外, 由甲氧基信号 H₃-12 与 C-4 的 HMBC 相关信号可以得出甲氧基位于吡喃环的 C-4 位上。同时, 连氧亚甲基信号 H₂-11 与 C-2、C-4 和 C-13 的 HMBC 相关, 表明亚甲基连在吡喃环的 C-3 位, 并且被 1 个乙酰基取代。化合物 **1** 在常温下静置于甲醇溶液中可析出白色针状结晶, 因而获得了化合物 **1** 的单晶结构 (图 3),

表 1 化合物 **1** 和 **2** 的 ^1H -和 ^{13}C -NMR 波谱数据 (500/125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

Table 1 ^1H - and ^{13}C -NMR data of compounds **1** and **2** (500/125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

碳位	1		2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2		162.3, C		162.8, C
3		101.3, C		101.3, C
4		169.3, C		167.4, C
5	6.95 (s)	97.8, CH	6.87 (s)	98.1, CH
6		167.3, C		167.4, C
7		142.3, C		142.4, C
8	6.56 (d, $J=1.2\text{ Hz}$)	122.0, CH	6.51 (d, $J=1.2\text{ Hz}$)	121.2, CH
9		160.5, C		159.1, C
10	2.37 (d, $J=1.2\text{ Hz}$)	13.8, CH ₃	2.35 (d, $J=1.2\text{ Hz}$)	13.7, CH ₃
11	4.82 (s)	56.1, CH ₂	4.23 (s)	52.6, CH ₂
12	4.05 (s)	58.2, CH ₃	3.99 (s)	57.6, CH ₃
13		170.8, C		
14	1.99 (s)	21.1, CH ₃		

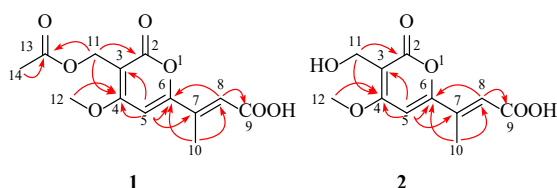


图 2 化合物 1 和 2 的 HMBC 相关图

Fig. 2 HMBC correlations of compounds 1 and 2

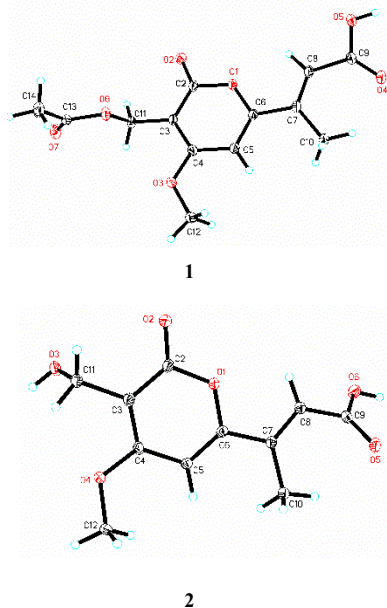


图 3 化合物 1 和 2 的单晶结构图

Fig. 3 X-ray structures of compounds 1 and 2

证实化合物 **1** 的结构如图 1 所示，为 1 个新的吡喃内酯类化合物，命名为撕裂耙齿菌内酯 A (irpexone A)。

化合物 **2**：白色针状晶体（甲醇），mp 194~195 °C，分子式为 C₁₀H₁₀O₅。紫外光谱显示化合物 **2** 在 340 (4.89)、277 (4.49)、235 (5.38) nm 处有最大吸收。化合物 **2** 的核磁谱图与化合物 **1** 的相似，推测其母核结构也为吡喃内酯类。化合物 **2** 比 **1** 缺少了 2 个碳信号 (δ_c 170.8、21.1)，它们正好是乙酰基的碳信号，从而推测化合物 **2** 为 C-12 位没有被乙酰基取代。这一推测被进一步的 2D NMR 谱图分析及单晶衍射实验得以证实（图 3）。因而，化合物 **2** 的结构确定如图 1 所示，为 1 个新的吡喃内酯类化合物，命名为撕裂耙齿菌内酯 B (irpexone B)。

化合物 **3**：白色固体，ESI-MS m/z : 516.3 [M+Na]⁺，分子式为 C₃₀H₃₉NO₅；¹H-NMR (500 MHz, CD₃COCD₃) δ : 3.18 (1H, m, H-3), 2.13 (1H, t, J = 4.2 Hz, H-4), 2.69 (1H, m, H-5), 3.81 (1H, d, J = 10.8 Hz, H-7), 2.91 (1H, m, H-8), 2.78 (1H, m, H-10a), 2.27 (1H, m, H-10b), 1.00 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-11), 4.93

(1H, s, H-12a), 5.17 (1H, s, H-12b), 5.72 (1H, dd, J = 15.6, 10.2 Hz, H-13), 5.26 (1H, m, H-14), 2.03 (1H, d, J = 6.6 Hz, H-15a), 1.78 (1H, m, H-15b), 1.77 (1H, m, H-16), 1.53 (1H, m, H-17a), 1.86 (1H, m, H-17b), 5.86 (1H, dd, J = 16.7, 2.2 Hz, H-19), 5.55 (1H, m, H-20), 5.50 (1H, s, H-21), 0.64 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-22), 1.25 (3H, s, H-23), 2.27 (3H, s, H-25), 7.24 (2H, d, J = 7.2 Hz, H-2', 6'), 7.31 (2H, d, J = 7.2 Hz, H-3', 5'), 7.24 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-4'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃COCD₃) δ : 174.2 (C-1), 53.3 (C-3), 48.9 (C-4), 32.3 (C-5), 150.6 (C-6), 70.8 (C-7), 47.0 (C-8), 52.0 (C-9), 44.7 (C-10), 13.0 (C-11), 111.4 (C-12), 128.5 (C-13), 136.0 (C-14), 43.1 (C-15), 28.1 (C-16), 54.0 (C-17), 72.8 (C-18), 126.0 (C-19), 138.2 (C-20), 77.1 (C-21), 25.7 (C-22), 30.6 (C-23), 137.7 (C-1'), 129.7 (C-2'), 128.4 (C-3'), 126.5 (C-4'), 128.4 (C-5'), 129.7 (C-6'), 170.0 (C-24), 19.9 (C-25)。上述数据与文献报道基本一致^[11]，故鉴定化合物 **3** 为细胞松弛素 H。

化合物 **4**：白色固体，ESI-MS m/z : 474.3 [M+Na]⁺，分子式为 C₂₈H₃₇NO₄；¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 3.31 (1H, m, H-3), 2.60 (1H, t, J = 4.2 Hz, H-4), 2.92 (1H, m, H-5), 3.83 (1H, d, J = 10.8 Hz, H-7), 2.91 (1H, m, H-8), 2.92 (1H, dd, J = 13.2, 4.2 Hz, H-10a), 2.60 (1H, m, H-10b), 1.11 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-11), 5.34 (1H, s, H-12a), 5.12 (1H, s, H-12b), 5.74 (1H, dd, J = 15.6, 10.2 Hz, H-13), 5.35 (1H, m, H-14), 2.03 (1H, d, J = 6.6 Hz, H-15a), 1.79 (1H, m, H-15b), 1.79 (1H, m, H-16), 1.89 (1H, dd, J = 14.4, 3.0 Hz, H-17a), 1.58 (1H, m, H-17b), 5.74 (1H, dd, J = 2.2, 16.8 Hz, H-19), 6.00 (1H, dd, J = 16.8, 2.6 Hz, H-20), 4.08 (1H, dd, J = 2.6, 2.2 Hz, H-21), 1.05 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-22), 1.36 (3H, s, H-23), 7.17 (2H, dd, J = 8.0, 1.3 Hz, H-2', 6'), 7.33 (2H, dd, J = 8.0, 7.2 Hz, H-3', 5'), 7.27 (1H, dd, J = 7.2, 1.3 Hz, H-4'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 176.1 (C-1), 54.0 (C-3), 50.1 (C-4), 33.0 (C-5), 148.5 (C-6), 69.9 (C-7), 45.9 (C-8), 53.1 (C-9), 45.5 (C-10), 14.1 (C-11), 113.8 (C-12), 127.8 (C-13), 137.8 (C-14), 42.8 (C-15), 28.5 (C-16), 53.8 (C-17), 74.6 (C-18), 137.1 (C-19), 130.9 (C-20), 76.6 (C-21), 26.5 (C-22), 31.0 (C-23), 137.6 (C-1'), 129.2 (C-2'), 128.8 (C-3'), 127.8 (C-4'), 128.8 (C-5'), 129.2 (C-6')。上述数据与文献报

道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **4** 为细胞松弛素 J。

化合物 **5**: 白色固体, ESI-MS m/z : 488.3 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{29}H_{39}NO_4$; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.33 (1H, m, H-3), 2.61 (1H, t, $J = 4.2$ Hz, H-4), 2.93 (1H, m, H-5), 3.84 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-7), 2.93 (1H, m, H-8), 2.93 (1H, m, H-10a), 2.58 (1H, m, H-10b), 1.11 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-11), 5.35 (1H, s, H-12a), 5.13 (1H, s, H-12b), 5.75 (1H, dd, $J = 15.6, 10.2$ Hz, H-13), 5.39 (1H, m, H-14), 2.07 (1H, m, H-15a), 1.77 (1H, m, H-15b), 1.77 (1H, m, H-16), 2.01 (1H, m, H-17a), 1.72 (1H, m, H-17b), 5.75 (1H, dd, $J = 2.4, 14.4$ Hz, H-19), 6.01 (1H, dd, $J = 16.8, 2.4$ Hz, H-20), 4.15 (1H, m, H-21), 0.99 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-22), 1.29 (3H, s, H-23), 3.23 (3H, s, H-24), 7.17 (2H, dd, $J = 8.0, 1.3$ Hz, H-2', 6'), 7.34 (2H, dd, $J = 8.0, 7.2$ Hz, H-3', 5'), 7.27 (1H, dd, $J = 7.2, 1.3$ Hz, H-4'); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 175.5 (C-1), 53.8 (C-3), 50.6 (C-4), 33.0 (C-5), 148.4 (C-6), 70.0 (C-7), 45.9 (C-8), 52.8 (C-9), 45.7 (C-10), 13.9 (C-11), 113.8 (C-12), 127.9 (C-13), 137.6 (C-14), 42.9 (C-15), 27.8 (C-16), 51.5 (C-17), 78.9 (C-18), 136.8 (C-19), 131.3 (C-20), 77.1 (C-21), 26.1 (C-22), 24.4 (C-23), 50.5 (C-24), 137.6 (C-1'), 129.1 (C-2'), 128.9 (C-3'), 127.1 (C-4'), 128.9 (C-5'), 129.1 (C-6')。上述数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **5** 为 18-甲氧基细胞松弛素 J。

化合物 **6**: 白色固体, ESI-MS m/z : 474.3 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{28}H_{37}NO_4$; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.56 (1H, m, H-3), 2.46 (1H, t, $J = 4.2$ Hz, H-4), 1.60 (1H, m, H-5), 2.77 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-7), 2.41 (1H, m, H-8), 2.88 (1H, m, H-10a), 3.50 (1H, m, H-10b), 1.09 (3H, d, $J = 7.7$ Hz, H-11), 1.39 (3H, s, H-12), 5.86 (1H, dd, $J = 15.6, 10.2$ Hz, H-13), 5.22 (1H, m, H-14), 1.91 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-15a), 1.60 (1H, m, H-15b), 1.77 (1H, m, H-16), 1.60 (1H, m, H-17a), 1.39 (1H, m, H-17b), 5.72 (1H, dd, $J = 2.2, 16.7$ Hz, H-19), 5.95 (1H, m, H-20), 4.26 (1H, s, H-21), 1.06 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-22), 1.25 (3H, s, H-23), 7.20 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, H-2', 6'), 7.36 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, H-3', 5'), 7.29 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-4'); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 178.4 (C-1), 54.3 (C-3), 51.2 (C-4), 36.7 (C-5), 57.3 (C-6), 63.2 (C-7), 44.1 (C-8), 54.9 (C-9), 42.7 (C-10), 12.8 (C-11), 19.8

(C-12), 128.4 (C-13), 136.8 (C-14), 46.3 (C-15), 30.9 (C-16), 53.7 (C-17), 74.6 (C-18), 134.8 (C-19), 130.4 (C-20), 75.5 (C-21), 26.4 (C-22), 28.2 (C-23), 137.3 (C-1'), 129.2 (C-2'), 129.0 (C-3'), 127.2 (C-4'), 129.0 (C-5'), 129.2 (C-6')。上述数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **6** 为去乙酰基细胞松弛素 H。

化合物 **7**: 白色固体, ESI-MS m/z : 456.3 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{28}H_{35}NO_3$; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.36 (1H, m, H-3), 2.52 (1H, m, H-4), 3.02 (1H, m, H-5), 4.10 (1H, d, $J = 13.0, 2.0$ Hz, H-7), 2.48 (1H, m, H-8), 2.99 (1H, m, H-10a), 2.52 (1H, m, H-10b), 1.26 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-11), 5.41 (1H, s, H-12a), 5.23 (1H, s, H-12b), 1.85 (1H, m, H-13), 3.71 (1H, m, H-14), 1.99 (1H, m, H-15a), 1.41 (1H, m, H-15b), 2.13 (1H, m, H-16), 5.26 (1H, m, H-17), 2.34 (1H, dd, $J = 14.4, 2.4$ Hz, H-19), 2.64 (2H, m, H-20a), 1.96 (2H, m, H-20b), 3.80 (1H, m, H-21), 1.10 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-22), 1.74 (3H, s, H-23), 7.17 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-2', 6'), 7.34 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-3', 5'), 7.27 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-4'); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 175.7 (C-1), 53.4 (C-3), 47.4 (C-4), 30.4 (C-5), 149.2 (C-6), 77.0 (C-7), 43.9 (C-8), 48.4 (C-9), 45.5 (C-10), 15.0 (C-11), 113.8 (C-12), 45.0 (C-13), 88.0 (C-14), 40.0 (C-15), 30.4 (C-16), 133.4 (C-17), 138.3 (C-18), 35.4 (C-19), 34.7 (C-20), 71.1 (C-21), 24.7 (C-22), 23.7 (C-23), 137.2 (C-1'), 129.3 (C-2'), 128.9 (C-3'), 127.1 (C-4'), 128.9 (C-5'), 129.3 (C-6')。上述数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **7** 为细胞松弛素 J₃。

化合物 **8**: 黄色固体, ESI-MS m/z : 773.2 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{38}H_{38}O_{16}$; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 14.1 (2H, s, 8, 8'-OH), 11.5 (2H, s, 1, 1'-OH), 6.55 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2,2'), 7.36 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3, 3'), 5.40 (2H, s, H-5, 5'), 2.38 (2H, m, H-6, 6'), 2.45 (2H, m, H-7a, 7a'), 2.33 (2H, m, H-7b, 7b'), 1.00 (3H, d, $J = 5.8$ Hz, H-11, 11'), 4.28 (2H, d, $J = 12.8$ Hz, H-12a, 12a'), 4.17 (2H, d, $J = 12.8$ Hz, H-12b, 12b'), 2.06 (6H, s, COOMe-5, 5'), 1.89 (6H, s, COOMe-12, 12'); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 161.5 (C-1, 1'), 109.5 (C-2, 2'), 141.1 (C-3, 3'), 115.3 (C-4, 4'), 153.8 (C-4a, 4a'), 70.3 (C-5, 5'), 27.5 (C-6, 6'), 33.2 (C-7, 7'), 177.6 (C-8, 8'), 100.1 (C-8a, 8a'), 187.7 (C-9, 9'), 106.2 (C-9a, 9a'), 80.3 (C-10a, 10a'),

17.5 (C-11, 11'), 64.5 (C-12, 12'), 169.5 (COOMe-5, 5'), 20.6 (COOMe-5, 5'), 170.0 (C-11, 11'), 20.4 (COOMe-12, 12')。上述数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **8** 为拟茎点霉吡酮 A。

化合物 **9**: 黄色固体, ESI-MS m/z : 689.2 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{34}H_{34}O_{14}$; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 14.0 (2H, s, 8, 8'-OH), 12.0 (2H, s, 1, 1'-OH), 7.42 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, 3'), 6.55 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-4, 4'), 5.70 (2H, s, H-5, 5'), 4.12 (2H, d, $J = 13.1$ Hz, H-12a, 12a'), 3.55 (2H, d, $J = 13.1$ Hz, H-12b, 12b'), 2.45 (2H, m, H-7b, 7b'), 2.46 (2H, m, H-6, 6'), 2.33 (2H, m, H-7, 7'), 1.10 (6H, d, $J = 5.3$ Hz, H-11, 11'), 2.12 (6H, s, COOMe-12, 12'); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 159.5 (C-1, 1'), 117.9 (C-2, 2'), 140.1 (C-3, 3'), 107.9 (C-4, 4'), 159.5 (C-4a, 4a'), 70.2 (C-5, 5'), 27.7 (C-6, 6'), 33.4 (C-7, 7'), 178.0 (C-8, 8'), 100.8 (C-8a, 8a'), 187.7 (C-9, 9'), 106.4 (C-9a, 9a'), 82.5 (C-10a, 10a'), 17.6 (C-11, 11'), 65.6 (C-12, 12'), 170.6 (C-11, 11'), 20.9 (COOMe-12, 12')。上述数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **9** 为狄瑟酚 A。

化合物 **10**: 黄色固体, ESI-MS m/z : 323.1 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{16}H_{12}O_6$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.24 (1H, s, H-3), 6.28 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.26 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.36 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-10), 6.24 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-14), 2.22 (3H, s, H-15); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 166.6 (C-1), 112.3 (C-2), 183.4 (C-3), 112.6 (C-4), 140.4 (C-4a), 109.5 (C-5), 160.7 (C-6), 99.4 (C-7), 157.9 (C-8), 100.7 (C-8a), 104.8 (C-9), 159.7 (C-9a), 162.7 (C-10a), 165.3 (C-11), 99.4 (C-12), 19.7 (Me-15)。上述数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **10** 为桔青霉三酚 A。

化合物 **11**: 白色针状晶体 (甲醇), ESI-MS m/z : 419.3 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{28}H_{44}O$; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.66 (1H, m, H-3), 5.60 (1H, m, H-6), 5.41 (1H, m, H-7), 0.66 (3H, s, H-18), 0.97 (3H, m, H-19), 0.94 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-21), 5.22 (2H, m, H-22, 23), 0.78 (6H, d, $J = 6.4$ Hz, H-26, 27), 1.06 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-28); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 39.2 (C-1), 32.1 (C-2), 70.5 (C-3), 37.0 (C-4), 139.8 (C-5), 119.6 (C-6), 116.3 (C-7), 141.4 (C-8), 46.3 (C-9), 38.4 (C-10), 21.1 (C-11, 12), 42.9

(C-13), 54.6 (C-14), 23.0 (C-15), 20.6 (C-16), 55.8 (C-17), 12.1 (C-18), 20.4 (C-19), 20.4 (C-20), 20.4 (C-21), 135.7 (C-22), 132.1 (C-23), 42.9 (C-24), 33.1 (C-25), 19.5 (C-26), 20.0 (C-27), 17.6 (C-28)。上述数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **11** 为 (22*E*, 24*R*)-麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 β -醇。

化合物 **12**: 无色油状物, ESI-MS m/z : 209.2 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{10}H_{12}O_6$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 3.53 (1H, brs, H-2), 1.95 (1H, m, H-3a), 1.80 (1H, m, H-3b), 1.95 (1H, m, H-5a), 1.85 (1H, m, H-5b), 1.44 (2H, m, H-6), 1.63 (3H, s, H-7), 0.93 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-8), 0.93 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-9), 1.25 (3H, s, H-10); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 70.6 (C-1), 74.3 (C-2), 33.4 (C-3), 74.3 (C-4), 29.0 (C-5), 28.9 (C-6), 37.6 (C-7), 15.8 (C-8), 15.7 (C-9), 25.7 (C-10)。上述数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **12** 为 1*S*, 2*R*, 4*S*-三羟基-对-薄荷烷。

4 活性测试结果

4.1 抗肿瘤活性

采用 SRB 法^[19]对化合物 **1**~**12** 进行体外细胞毒活性评价, 供试肿瘤细胞株为 SF-268、MCF-7、HepG2、A549, 阳性对照为阿霉素。测试表明 (表 2), 化合物 **4**、**5** 和 **9** 对 SF-268、MCF-7、HepG2 和 A549 细胞株表现出中等的细胞毒活性, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC_{50}) 范围为 24.83~69.63 $\mu\text{mol/L}$ 。

4.2 抗炎活性

采用 Griess 法^[20]测定化合物 **1**~**12** 对细菌脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导 RAW264.7 巨噬细胞一氧化氮 (NO) 释放的影响, 从而评估化合物的抗炎活性, 阳性对照为吡喹美辛。结果 (表 2) 显示化合物 **11** 表现出一定的抗炎活性。

5 讨论

本研究从广藿香内生真菌撕裂耙齿菌的固体发酵产物中分离得到 **2** 个新化合物和 10 个已知化合物, 分离得到的化合物结构类型多样, 其中 **1** 和 **2** 为吡喃内酯类化合物, **3**~**7** 为 10-苯基细胞松弛素类化合物, **8** 和 **9** 为氧杂蒽酮二聚体, **10** 为黄酮类化合物, **11** 为甾体类化合物, **12** 为萜类化合物。

上述分离得到的化合物已经被证实有多种药理活性。据文献报道, 细胞松弛素 H (**3**) 在体外表现出抑制 HUVEC 细胞生长和迁移等抗血管生成活性, 并在体内抑制促血管生成蛋白诱导新血管形成^[21]。细

表 2 化合物 1~12 的细胞毒和抗炎活性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 2 Cytotoxic and anti-inflammatory activities of compounds 1—12 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物	细胞毒活性 IC ₅₀ /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)				抗炎活性 IC ₅₀ /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
	SF-268	MCF-7	HepG2	A549	
1	>128	>128	>128	>128	>128
2	>128	>128	>128	>128	>128
3	115.60±12.34	100.38±8.45	116.76±3.66	95.92±3.72	>128
4	30.93±3.72	54.41±2.73	55.57±1.31	43.32±2.12	>128
5	27.29±1.49	60.04±1.31	69.63±3.79	56.11±1.53	>128
6~8	>128	>128	>128	>128	>128
9	24.83±3.16	45.46±2.10	25.56±3.35	27.77±3.04	>128
10	>128	>128	>128	>128	>128
11	>128	>128	>128	>128	112.46±5.53
12	>128	>128	>128	>128	>128
阿霉素	1.30±0.05	1.39±0.06	1.11±0.02	1.44±0.02	—
吡喹酮	—	—	—	—	32.92±1.03

胞松弛素 J (4) 和细胞松弛素 J₃ (7) 对酸介导的转化高度敏感, 可以通过分子内环加成反应获得新的细胞松弛素^[12]。拟茎点霉吡啶酮 A (8) 在体外表现出显著的抗疟疾和抗结核活性^[14]。其中抗疟疾活性的 IC₅₀ 值为 0.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与抗疟疾药物二磷酸氯喹的 IC₅₀ 值 0.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 相当; 抗结核的最小抑制浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 值为 0.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 优于抗结核药物卡那霉素 (MIC 值为 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。Elsässer 等^[22]发现拟茎点霉吡啶酮 A 还对巨大芽孢杆菌及稻瘟病菌表现出较强的抑制活性。狄瑟酚 A (9) 对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌具有抑制活性, 对 A549 细胞和人结肠癌 HCT116 细胞表现出一定的细胞毒活性^[15]。

通过文献调研发现, 撕裂耙齿菌 (异名撕裂蜡孔菌 *Ceriporia lacerata*) 的次级代谢产物类型主要是倍半萜和三萜类化合物。如 Ying 等^[23]从蛇足石杉内生真菌 *C. lacerata* 液体发酵产物中分离出 11 个新的 tremulane 型倍半萜类化合物 ceriponols A~K 和 1 个新的单环 tremulane 型倍半萜 ceriponol P, 其中 ceriponol B 具有新颖的 12-去甲肾上腺素骨架。Zhao 等^[24]从棘冠海星内生真菌 *C. lacerata* 的液体发酵产物中分离出 3 个新的羊毛脂烷型三萜化合物 3 β -乙酰氧基-15 α -羟基羊毛脂-8,24-二烯-21-酸、1 β ,3 β -二羟基羊毛脂-8,24-二烯-21-酸和 15 α -羟基-3-氧代羊毛脂-8,24-二烯-21-酸。本研究从菌株 A878 中分离获得的化合物类型主要为生物碱和聚酮类化

合物, 与前人研究结果有较大的差异, 这可能是由于菌株来源和培养条件不同所导致。本研究结果丰富了耙齿菌属的化学成分, 为进一步挖掘该类真菌的活性代谢产物奠定了基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Hoffmeister D, Keller N P. Natural products of filamentous fungi: Enzymes, genes, and their regulation [J]. *Nat Prod Rep*, 2007, 24(2): 393-416.
- [2] Zhang H W, Song Y C, Tan R X. Biology and chemistry of endophytes [J]. *Nat Prod Rep*, 2006, 23(5): 753-771.
- [3] 曾松荣, 徐成东, 王海坤, 等. 药用植物内生真菌及其具宿主相同活性成分的机制初探 [J]. *中草药*, 2000, 31(4): 306-308.
- [4] Kouipou Toghueo R M, Boyom F F. Endophytic fungi from *Terminalia* species: A comprehensive review [J]. *J Fungi (Basel)*, 2019, 5(2): 43.
- [5] Swamy M, Sinniah U. A comprehensive review on the phytochemical constituents and pharmacological activities of *Pogostemon cablin* Benth.: An aromatic medicinal plant of industrial importance [J]. *Molecules*, 2015, 20(5): 8521-8547.
- [6] Chen J R, Xie X F, Li M T, et al. Pharmacological activities and mechanisms of action of *Pogostemon cablin* Benth: A review [J]. *Chin Med*, 2021, 16(1): 5.
- [7] Kong F D, Yi T F, Ma Q Y, et al. Biphenyl metabolites from the patchouli endophytic fungus *Alternaria* sp. PfuH1 [J]. *Fitoterapia*, 2020, 146: 104708.

- [8] Wang M, Sun Z H, Chen Y C, *et al.* Cytotoxic cochlioquinone derivatives from the endophytic fungus *Bipolaris sorokiniana* derived from *Pogostemon cablin* [J]. *Fitoterapia*, 2016, 110: 77-82.
- [9] Liu H X, Li H H, Chen Y C, *et al.* Cytotoxic secondary metabolites from an endophytic fungal strain of *Phomopsis phyllanthicola* [J]. *Chin J Org Chem*, 2019, 39(5): 1475.
- [10] Liu D, Li X M, Li C S, *et al.* Sesterterpenes and 2H-pyran-2-ones (=α-pyrones) from the mangrove-derived endophytic Fungus *Fusarium proliferatum* MA-84 [J]. *Helv Chim Acta*, 2013, 96(3): 437-444.
- [11] Shen L, Luo Q, Shen Z P, *et al.* A new cytochalasin from endophytic *Phomopsis* sp. IFB-E060 [J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(7): 512-516.
- [12] Shang Z, Raju R, Salim A A, *et al.* Cytochalasins from an Australian marine sediment-derived *Phomopsis* sp. (CMB-M0042F): Acid-mediated intramolecular cycloadditions enhance chemical diversity [J]. *J Org Chem*, 2017, 82(18): 9704-9709.
- [13] Cole R J, Wilson D M, Harper J L, *et al.* Isolation and identification of two new [11]cytochalasins from *Phomopsis sojae* [J]. *J Agric Food Chem*, 1982, 30(2): 301-304.
- [14] Isaka M, Jaturapat A, Rukseree K, *et al.* Phomoxanthones A and B, novel xanthone dimers from the endophytic fungus *Phomopsis* species [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64(8): 1015-1018.
- [15] Wagenaar M M, Clardy J. Dicerandrols, new antibiotic and cytotoxic dimers produced by the fungus *Phomopsis longicolla* isolated from an endangered mint [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64(8): 1006-1009.
- [16] Li X L, Zhang L, Liu Y H, *et al.* A new metabolite from the endophytic fungus *Penicillium citrinum* [J]. *Nat Prod Commun*, 2013, 8(5): 1934578X1300800.
- [17] 文小玲, 何承刚, 翁瑞旋, 等. 云南干巴菌次生代谢产物研究 [J]. 云南农业大学学报: 自然科学, 2016, 31(3): 571-574.
- [18] Todorova M, Vogler B, Tsankova E. Terpenoids from *Achillea setacea* [J]. *Z Naturforsch C J Biosci*, 2000, 55(9/10): 840-842.
- [19] Skehan P, Storeng R, Scudiero D, *et al.* New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1990, 82(13): 1107-1112.
- [20] Miranda K M, Espey M G, Wink D A. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite [J]. *Nitric Oxide*, 2001, 5(1): 62-71.
- [21] Lee J, Yi J M, Kim H, *et al.* Cytochalasin H, an active anti-angiogenic constituent of the ethanol extract of *Gleditsia sinensis* thorns [J]. *Biol Pharm Bull*, 2014, 37(1): 6-12.
- [22] Elsässer B, Krohn K, Flörke U, *et al.* X-ray structure determination, absolute configuration and biological activity of phomoxanthone A [J]. *Eur J Org Chem*, 2005, 2005(21): 4563-4570.
- [23] Ying Y M, Shan W G, Zhang L W, *et al.* Ceriponols A-K, tremulane sesquiterpenes from *Ceriporia lacerata* HS-ZJUT-C13A, a fungal endophyte of *Huperzia serrata* [J]. *Phytochemistry*, 2013, 95: 360-367.
- [24] Zhao Y, Li S Q, Li H J, *et al.* Lanostane triterpenoids from the fungus *Ceriporia lacerata* associated with *Acanthaster planci* [J]. *Chem Nat Compd*, 2013, 49(4): 653-656.

[责任编辑 王文倩]