

- Bioorg Med Chem Letter*, 2014, 24(19): 4667-4671.
- [19] Sun Y, Zeng Q H, Lu H Q, *et al.* Two new lignans from *Zanthoxylum armatum*[J]. *Nat Prod Res*, 2020, 36(13): 3331-3336.
- [20] Tuyen T T, Bach P C, Nghi D H, *et al.* Lignans and some other non-alkaloid compounds from the stem bark of *Zanthoxylum rhetsa* and their biological activities[J]. *J Chem Res*, 2023, 47(4): 4.
- [21] Yang G Z, Hu Y, Yang B, *et al.* Lignans from the bark of *Zanthoxylum planispinum*[J]. *Helv Chim Acta*, 2009, 92(8): 1657-1664.
- [22] Liu Y A, Zong T Q, Wang M J, *et al.* Chemical constituents from the whole plant of *Odontites vulgaris* Moench and their chemotaxonomic significance[J]. *Biochem Syst Ecol*, 2023, 2024(112): 104764-104769.
- [23] Li X C. Comparative study of 1, 1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical (DPPH) scavenging capacity of the antioxidant xanthenes family[J]. *Chemistryselect*, 2018, 3(46): 13081-13086.
- [24] Li X, Xiao O Y, Rong C, *et al.* 3', 8"-Dimerization enhances the antioxidant capacity of flavonoids: evidence from acacetin and isoginkgetin[J]. *Molecules*, 2019, 24(11): 2039-2045.

玄参一株内生真菌次生代谢产物及其 HepG2 细胞毒活性研究

孙伍慧, 姚思凡, 周小江*, 赵碧清*
(湖南中医药大学, 湖南长沙 410208)

摘要: 目的 鉴定一株玄参内生真菌, 并分析其次生代谢产物及 HepG2 细胞毒活性。方法 采用形态学与分子生物学鉴定菌株 XSZ-1。发酵提取物采用 D101 大孔吸附树脂、硅胶及半制备 HPLC 进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。采用 CCK-8 法评价 HepG2 细胞毒活性。结果 该菌株被鉴定为枝孢霉属真菌 *Cladosporium anthropophilum*。从中分离得到 16 个化合物, 分别鉴定为 vinaceuline (1)、cirrhopetalanthin (2)、桃叶珊瑚苷 (3)、金雀异黄酮 (4)、环(酪氨酸-亮氨酸) (5)、环(脯氨酸-酪氨酸) (6)、环(脯氨酸-苯丙氨酸) (7)、aegyptolidine B (8)、chloramphenicol (9)、环(丙氨酸-异亮氨酸) (10)、环(丙氨酸-亮氨酸) (11)、环(脯氨酸-缬氨酸) (12)、环(脯氨酸-异亮氨酸) (13)、环(脯氨酸-亮氨酸) (14)、对羟基苯乙醇 (15)、2-*p*-acetoxypheylethanol (16)。化合物 5、9 的 IC₅₀ 值分别为 (94.34±4.18)、(80.86±3.21) μmol/L。结论 化合物 1~16 均为首次从该菌株中分离得到, 2~3 为首次从内生真菌中分离。化合物 5、9 具有 HepG2 细胞毒活性。

关键词: 玄参; 内生真菌; 次生代谢产物; 分离鉴定; HepG2 细胞; 毒活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)05-1540-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.05.017

Secondary metabolites of an endophytic fungus from *Scrophularia ningpoensis* and their cytotoxic activity against HepG2 cells

SUN Wu-hui, YAO Si-fan, ZHOU Xiao-jiang*, ZHAO Bi-qing*
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

ABSTRACT: **AIM** To identify an endophytic fungus from *Scrophularia ningpoensis* Hemsl, and to analyze the secondary metabolites and their cytotoxic activity against HepG2 cells. **METHODS** The XSZ-1 strain was identified using morphological and molecular biological method. The fermentation extract was isolated and purified using D101 macroporous adsorption resin, silica gel and semi-preparative HPLC, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. The cytotoxic activity against HepG2

收稿日期: 2025-10-14

基金项目: 湖南省自然科学基金科药联合基金项目 (2024JJ8160)

作者简介: 孙伍慧 (1997—), 女, 硕士, 研究方向为中药有效成分及其质量分析。E-mail: sunwuhui@qq.com

* 通信作者: 周小江 (1968—), 男, 博士, 教授, 研究方向为中药有效成分及其品质评价。E-mail: gale9888@163.com

赵碧清 (1972—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为中药有效成分及其质量分析。E-mail: qingerhn@126.com

cells was evaluated by CCK-8 method. **RESULTS** This strain was identified as *Cladosporium anthropophilum*. Sixteen compounds were isolated and identified as vinaceuline (1), cirrhopetalanthin (2), aucubin (3), genistein (4), cyclo (Tyr-Leu) (5), cyclo (Pro-Tyr) (6), cyclo (Pro-Phe) (7), aegyptolidine B (8), chloramphenicol (9), cyclo (Ala-Ile) (10), cyclo (Ala-Leu) (11), cyclo (Pro-Val) (12), cyclo (Pro-Ile) (13), cyclo (Pro-Leu) (14), 4-hydroxyphenethyl alcohol (15), and 2-*p*-acetoxypheylethanol (16). IC₅₀ values of compounds 5 and 9 were (94.34±4.18), (80.86±3.21) μmol/L, respectively. **CONCLUSION** Compounds 1-16 are isolated from this strain for the first time, 2-3 are first isolated from endophytic fungi. Compounds 5 and 9 have cytotoxic activity against HepG2 cells.

KEY WORDS: *Scrophularia ningpoensis* Hemsl.; endophytic fungus; secondary metabolites; isolation and identification; HepG2 cells; cytotoxic activity

玄参为玄参科植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根, 具有清热凉血、滋阴降火等功效, 其潜在的抗肿瘤活性近年来备受关注。研究表明, 玄参活性成分可通过调控细胞周期、诱导凋亡等机制来显著抑制肿瘤生长^[1-3], 但植物源性活性成分存在含量不稳定、提取效率低等问题, 限制了其开发利用。内生真菌作为植物共生微生物, 能产生与宿主相似的活性物质, 为解决这一问题提供了新途径。自1993年从红豆杉内生真菌中发现紫杉醇以来^[4], 内生真菌已成为天然药物的重要来源, 相较于植物提取, 利用其发酵生产活性成分具有培养周期短、易于工业化等优势。本研究对玄参内生真菌进行属种鉴定, 分析其次生代谢产物及 HepG2 细胞毒活性, 以期对相关抗肿瘤药物开发提供来源, 促进该药材可持续利用。

1 材料

LC-52 中高压制备液相色谱仪 [赛谱锐思 (北京) 科技有限公司]; Avance III 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); Xevo G2-XS QToF 高分辨质谱仪 (美国 Waters 公司); BX53 正置荧光显微镜 (日本奥林巴斯公司); CP214 电子天平 [奥豪斯仪器 (上海) 有限公司]。CHP-20P MCI (日本三菱化学株式会社); Sephadex LH-20 (美国 GE Amersham 公司); HepG2 细胞、MEM 培养基、PBS、胰酶消化液、胎牛血清 (FBS)、双抗 (青链霉素)、顺铂 (长沙艾碧维生物科技有限公司); CCK-8 试剂盒 (日本同仁化学研究所)。甲醇 (色谱纯, 美国天地公司); 其余试剂均为分析纯。

玄参采集于湖南省邵阳市新邵县龙溪铺镇种植基地, 经湖南中医药大学周小江教授鉴定为玄参科植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的新鲜根。内生真菌 XSZ-1 从玄参中分离得到。

2 菌种鉴定

2.1 形态学鉴定 将 XSZ-1 接种至 PDA 培养基平面, 观察菌落形态, 可见它起初呈白色, 成熟后呈橄榄绿色、絮状 (图 1); 采用插片法制备菌丝玻片, 乳酸酚棉兰染色, 镜检菌丝及孢子形态, 发现菌丝发达有隔 (图 2A), 分生孢子呈泪滴状或椭圆形 (图 2B), 参照《真菌鉴定手册》初步鉴定为 *Cladosporium* 属真菌。

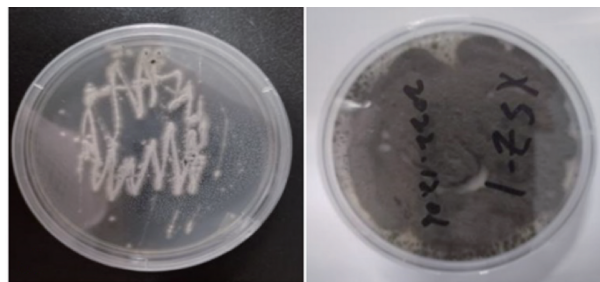


图 1 菌株 XSZ-1 菌落生长形态

Fig. 1 Colony growth pattern of strain XSZ-1

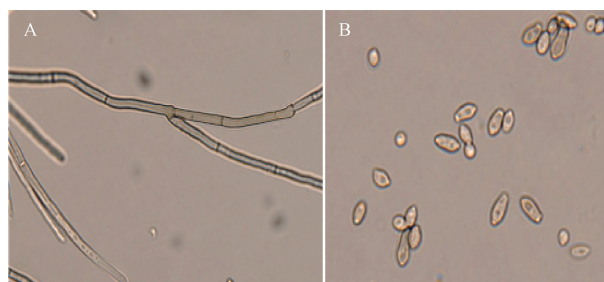


图 2 菌株 XSZ-1 显微特征形态 (10×40)

Fig. 2 Microscopic morphological characteristics of strain XSZ-1 (10×40)

2.2 分子生物学鉴定 选择真菌通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 进行 PCR 扩增, 对纯化后的 DNA 产物进行测序, 结果为 CCGTAGG TGAACCTGCGGAGGGATCATTACAAGTGACCCCG

TCTAACCACCGGATGTTTCATAACCCTTTGTTGTCCG
ACTCTGTTGCCTCCGGGGCGACCCTGCCTTCGGGCG
GGGGCTCCGGGTGGACACTTCAAACCTTTCGCGTAAC
TTTGCAGTCTGAGTAAACATTCGGGGGGGCATGCCTG
TTCGAGCGTCATTTCACTCAAGCCTCGCTTGTA
TTGGGCATCGCGTCCGCCGCGTGCCTCAAATCGAC
CGGCTGGGTCTTCTGTCCCTAAGCGTTGTGAAACT
ATTTCGCTAAAGGCTTTCGGGAGGCTACAATAAGGC

GGAGGA。将XSZ-1的ITS序列在NCBI网站进行BLAST比对,发现它与*Cladosporium anthropophilum*的相似度达99.82%。采用MEGA-X-10.1.7软件,以甜菜生尾孢菌菌株CBS 116456为外群,邻接法构建系统发育树(图3),可知XSZ-1与2株*C. anthropophilum*聚于同一分支(支持率100%),故鉴定为*C. anthropophilum*。

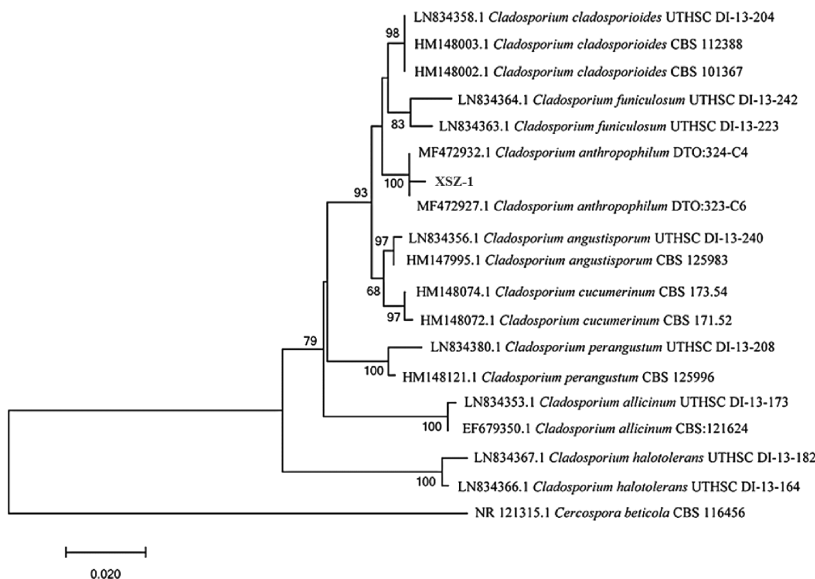


图3 系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree

3 提取与分离

将菌株接种于种子培养基(每1 L水中含麦芽粉15 g、盐20 g),28℃发酵30 d,发酵液用等体积乙酸乙酯萃取6次,浓缩后得69.8 g浸膏,经D101大孔吸附树脂柱分离,以70%~100%甲醇梯度洗脱,得到Fr.1~Fr.5,经TLC检识,对斑点明显的Fr.1~Fr.3继续分离纯化。Fr.1(6.01 g)经MCI分离,以30%~100%甲醇梯度洗脱,得到Fr.1-1~Fr.1-9。Fr.1-2经硅胶柱分离,以二氯甲烷-甲醇(15:1)洗脱,得到Fr.1-2-1~Fr.1-2-2,Fr.1-2-1以二氯甲烷-甲醇(5:1)为展开剂进行TLC制备,得到Fr.1-2-1-1,经半制备HPLC(流动相20%甲醇)分离,得到化合物10(1.1 mg, $t_R = 40.8$ min);Fr.1-2-2经半制备HPLC(检测波长284 nm,流动相10%甲醇)分离,得到化合物6(3.1 mg, $t_R = 51.4$ min)。Fr.1-3经Sephadex LH-20凝胶柱分离,以甲醇洗脱,得到Fr.1-3-1~Fr.1-3-2,经半制备HPLC分离,Fr.1-3-1以18%甲醇洗脱,得到化合物11(19.5 mg, $t_R = 43.2$ min);

Fr.1-3-2以14%甲醇洗脱,得到化合物12(20.6 mg, $t_R = 47.8$ min)。Fr.1-4经硅胶柱分离,以二氯甲烷-甲醇(15:1)洗脱,再以二氯甲烷-甲醇(10:1)为展开剂进行TLC制备,得到Fr.1-4-1~Fr.1-4-2,经半制备HPLC分离,Fr.1-4-1以14%甲醇洗脱,得到化合物15(1.0 mg, $t_R = 27.6$ min);Fr.1-4-2以10%甲醇洗脱,得到化合物16(1.5 mg, $t_R = 46.5$ min)。Fr.1-6以硅胶分离,依次以二氯甲烷-甲醇(5:1)、二氯甲烷-甲醇(15:1)洗脱,得到Fr.1-6-1,经半制备HPLC(流动相5%甲醇)分离,得到化合物3(2.0 mg, $t_R = 36.6$ min)。Fr.1-7经硅胶柱分离,以二氯甲烷-甲醇(12:1)洗脱,得到Fr.1-7-1,经半制备HPLC(流动相10%甲醇)分离,得到化合物5(4.8 mg, $t_R = 51.0$ min)。Fr.1-9经硅胶柱分离,以二氯甲烷-甲醇(15:1)洗脱,得到Fr.1-9-1~Fr.1-9-3,Fr.1-9-1以石油醚-乙酸乙酯-丙酮(2:1:1)为展开剂进行TLC制备,得到Fr.1-9-1-1,经半制备HPLC(检测波长284 nm,流动相30%甲

醇) 分离, 得到化合物 **8** (1.7 mg, $t_R = 36.6$ min); Fr. 1-9-3 经半制备 HPLC (体积流量 2.0 mL/min, 流动相 20% 甲醇) 分离, 得到化合物 **13** (5.6 mg, $t_R = 62.4$ min)、**14** (3.1 mg, $t_R = 67.1$ min)。Fr. 2 (3.78 g) 经 MCI 柱分离, 以 30% ~ 100% 甲醇梯度洗脱, 得到 Fr. 2-1 ~ Fr. 2-6, 再经 Sephadex LH-20 凝胶柱分离, 得到 Fr. 2-2-1、Fr. 2-3-1、Fr. 2-4-1、Fr. 2-6-1, Fr. 2-2-1 经半制备 HPLC (流动相 15% 甲醇) 分离, 得到化合物 **2** (12.5 mg, $t_R = 42.2$ min); Fr. 2-3-1 经硅胶柱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (5 : 1) 洗脱, 再以二氯甲烷-甲醇 (5 : 1) 为展开剂进行 TLC 制备, 得到 Fr. 2-3-1-1, 经半制备 HPLC (流动相 35% 甲醇) 分离, 得到化合物 **1** (5.9 mg, $t_R = 31.0$ min); Fr. 2-4-1 以二氯甲烷-甲醇 (9 : 1) 为展开剂进行 TLC 制备, 经半制备 HPLC (检测波长 273 nm, 流动相 30% 甲醇) 分离, 得到化合物 **9** (12.7mg, $t_R = 52.3$ min); Fr. 2-6-1 以二氯甲烷-甲醇 (5 : 1) 为展开剂进行 TLC 制备, 得到 Fr. 2-6-1-1, 经半制备 HPLC (体积流量 2.0 mL/min, 流动相 35% 甲醇) 分离, 得到化合物 **7** (8.1 mg, $t_R = 31.0$ min)。Fr. 3 (1.72 g) 经硅胶柱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (30 : 1) 洗脱, 经 Sephadex LH-20 凝胶柱分离, 再以二氯甲烷-甲醇 (10 : 1) 为展开剂进行 TLC 制备, 得到 Fr. 3-1, 经半制备 HPLC (流动相 48% 甲醇) 分离, 得到化合物 **4** (1.8 mg, $t_R = 35.2$ min)。半制备 HPLC 体积流量为 3.0 mL/min, 检测波长为 254 nm。

4 结构鉴定

化合物 **1**: 白色晶体 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 423.197 5 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 3.77 (1H, dd, $J = 6.5, 3.4$ Hz, H-5 α), 3.69 (1H, m, H-5 β), 4.11 (1H, q, $J = 5.1$ Hz, H-11), 1.16 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-13), 3.23 (2H, m, H-1'), 7.33 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-3', 7'), 7.28 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-4', 6'), 7.24 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 3.22 (2H, m, H-1''), 7.30 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-3'', 7''), 7.26 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-4'', 6''), 7.23 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5''); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 69.3 (C-2), 168.7 (C-3), 57.5 (C-5), 169.2 (C-6), 62.2 (C-8), 170.5 (C-9), 58.0 (C-11), 170.0 (C-12), 20.0 (C-13), 42.4 (C-1'), 138.0 (C-2'), 131.5 (C-3', 7'), 129.7 (C-4', 6'), 128.5 (C-5'), 40.9 (C-

1'), 136.4 (C-2''), 131.0 (C-3'', 7''), 129.6 (C-4'', 6''), 128.1 (C-5'')。以上数据与文献 [5] 报道基本一致, 故鉴定为 vinaceuline。

化合物 **2**: 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 478.142 9 [M]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.99 (2H, s, H-3, 3'), 9.49 (2H, d, $J = 9.4$ Hz, H-5, 5'), 7.12 (2H, dd, $J = 9.4, 2.8$ Hz, H-6, 6'), 7.07 (2H, brs, H-8, 8'), 7.01 (2H, d, $J = 9.2$ Hz, H-9, 9'), 7.31 (2H, d, $J = 9.2$ Hz, H-10, 10'), 4.18 (6H, s, H-11, 11'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 111.5 (C-1, 1'), 154.6 (C-2, 2'), 100.3 (C-3, 3'), 160.5 (C-4, 4'), 130.5 (C-5, 5'), 117.3 (C-6, 6'), 155.4 (C-7, 7'), 112.1 (C-8, 8'), 128.4 (C-9, 9'), 126.0 (C-10, 10'), 56.1 (C-11, 11'), 117.0 (C-4a, 4a'), 125.8 (C-4b, 4b'), 134.6 (C-8a, 8a'), 135.5 (C-10a, 10a')。以上数据与文献 [6] 报道基本一致, 故鉴定为 cirrhoptalanthin。

化合物 **3**: 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 369.115 8 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 4.96 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1), 6.31 (1H, dd, $J = 6.1, 1.9$ Hz, H-3), 5.10 (1H, dd, $J = 6.1, 3.9$ Hz, H-4), 2.67 (1H, m, H-5), 4.44 (1H, m, H-6), 5.76 (1H, brs, H-7), 2.91 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, H-9), 4.36 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, H-10 α), 4.18 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, H-10 β), 4.68 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 3.39~3.20 (4H, m, H-2'~5'), 3.87 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, H-6' α), 3.66 (1H, dd, $J = 12.0, 5.5$ Hz, H-6' β); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 97.7 (C-1), 141.6 (C-3), 105.7 (C-4), 46.3 (C-5), 82.9 (C-6), 130.2 (C-7), 148.0 (C-8), 47.9 (C-9), 61.4 (C-10), 99.9 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.3 (C-3'), 71.6 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.6 (C-6')。以上数据与文献 [7] 报道基本一致, 故鉴定为桃叶珊瑚苷。

化合物 **4**: 白色固体粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 271.059 9 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.06 (1H, s, H-2), 6.22 (1H, s, H-6), 6.34 (1H, s, H-8), 7.38 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-2', 6'), 6.85 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-3', 5'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 154.7 (C-2), 123.3 (C-3), 182.3 (C-4), 163.8 (C-5), 100.1 (C-6), 165.9 (C-7), 94.8 (C-8), 159.7 (C-9), 106.3 (C-10), 124.8 (C-1'), 131.4 (C-2', 6'),

116.2 (C-3', 5'), 158.7 (C-4')。以上数据与文献 [8] 报道基本一致, 故鉴定为金雀异黄酮。

化合物 5: 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 299.137 0 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 4.24 (1H, m, H-3), 3.67 (1H, m, H-6), 0.91 (2H, m, H-7), 1.47 (1H, m, H-8), 0.76 (6H, m, H-9, 10), 3.21 (1H, dd, $J=14.0, 3.6$ Hz, H-11 α), 2.84 (1H, dd, $J=14.0, 4.7$ Hz, H-11 β), 7.00 (2H, d, $J=8.3$ Hz, H-13, 17), 6.72 (2H, d, $J=8.3$ Hz, H-14, 16); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 170.7 (C-1), 57.6 (C-3), 169.1 (C-4), 54.1 (C-6), 45.2 (C-7), 24.7 (C-8), 21.4 (C-9), 23.4 (C-10), 39.4 (C-11), 127.0 (C-12), 132.8 (C-13, 17), 116.4 (C-14, 16), 158.2 (C-15)。以上数据与文献 [9] 报道基本一致, 故鉴定为环 (酪氨酸-亮氨酸)。

化合物 6: 黄色固体 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 261.123 4 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 4.15 (1H, t, $J=4.4$ Hz, H-2), 3.56 (1H, m, H-5), 2.08 (1H, m, H-6 α), 1.93 (1H, m, H-6 β), 1.68 (2H, m, H-7), 3.33 (1H, m, H-8 α), 3.29 (1H, m, H-8 β), 3.12 (1H, m, H-10 α), 2.89 (1H, m, H-10 β), 6.97 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.72 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3', 5'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 167.6 (C-1), 59.2 (C-2), 171.4 (C-4), 59.9 (C-5), 29.8 (C-6), 22.5 (C-7), 46.1 (C-8), 40.2 (C-10), 126.7 (C-1'), 132.3 (C-2', 6'), 116.5 (C-3', 5'), 158.7 (C-4')。以上数据与文献 [10] 报道基本一致, 故鉴定为环 (脯氨酸-酪氨酸)。

化合物 7: 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 245.127 5 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 4.46 (1H, t, $J=5.0$ Hz, H-3), 3.55 (1H, m, H-6 α), 3.40 (1H, m, H-6 β), 1.80 (1H, m, H-7 α), 1.26 (1H, m, H-7 β), 2.12 (1H, m, H-8 α), 1.82 (1H, m, H-8 β), 4.09 (1H, m, H-9), 3.18 (2H, m, H-10), 7.30~7.22 (5H, m, H-2'~6'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 170.9 (C-1), 57.7 (C-3), 166.9 (C-4), 46.0 (C-6), 22.8 (C-7), 29.4 (C-8), 60.1 (C-9), 38.2 (C-10), 137.3 (C-1'), 131.1 (C-2', 6'), 129.4 (C-3', 5'), 128.1 (C-4')。以上数据与文献 [11] 报道基本一致, 故鉴定为环 (脯氨酸-苯丙氨酸)。

化合物 8: 白色无定形粉末 (甲醇), HR-ESI-

MS m/z : 258.047 3 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.24 (1H, s, H-3), 5.16 (1H, brs, H-4), 3.83 (1H, m, H-5), 3.62 (1H, m, H-6), 7.65 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6'), 8.19 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3', 5'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 166.6 (C-2), 67.4 (C-3), 71.3 (C-4), 58.5 (C-5), 62.2 (C-6), 151.7 (C-1'), 128.4 (C-2', 6'), 124.1 (C-3', 5'), 148.6 (C-4')。以上数据与文献 [12] 报道基本一致, 故鉴定为 aegyptolidine B。

化合物 9: 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 323.016 1 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.17 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2, 6), 7.65 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3, 5), 5.16 (1H, d, $J=2.6$ Hz, H-7), 4.14 (1H, m, H-8), 3.81 (1H, m, H-9 α), 3.63 (1H, m, H-9 β), 6.23 (1H, s, H-11); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 148.6 (C-1), 128.3 (C-2, 6), 124.2 (C-3, 5), 151.6 (C-4), 71.3 (C-7), 58.5 (C-8), 62.2 (C-9), 166.5 (C-10), 67.3 (C-11)。以上数据与文献 [13] 报道基本一致, 故鉴定为 chloramphenicol。

化合物 10: 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 185.128 6 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 4.05 (1H, m, H-3), 3.91 (1H, m, H-6), 1.45 (3H, d, $J=7.0$ Hz, H-7), 1.99 (1H, m, H-8), 1.55 (1H, m, H-9 α), 1.28 (1H, m, H-9 β), 0.97 (3H, t, $J=7.5$ Hz, H-10), 1.03 (3H, d, $J=7.1$ Hz, H-11); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 169.2 (C-1), 51.6 (C-3), 171.3 (C-4), 60.9 (C-6), 20.9 (C-7), 40.2 (C-8), 25.6 (C-9), 12.2 (C-10), 15.5 (C-11)。以上数据与文献 [14] 报道基本一致, 故鉴定为环 (丙氨酸-异亮氨酸)。

化合物 11: 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 185.128 7 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 4.02 (1H, m, H-3), 3.95 (1H, m, H-6), 1.45 (3H, d, $J=7.1$ Hz, H-7), 1.76 (1H, m, H-8 α), 1.66 (1H, m, H-8 β), 1.89 (1H, m, H-9), 0.97 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-10), 0.98 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-11); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 171.0 (C-1), 51.9 (C-3), 171.5 (C-4), 54.6 (C-6), 20.9 (C-7), 45.1 (C-8), 25.3 (C-9), 22.1 (C-10), 23.5 (C-11)。以上数据与文献 [15] 报道基本一致, 故鉴定为环 (丙氨酸-亮

氨酸)。

化合物 **12** : 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 197.128 6 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 4.25 (1H, m, H-3), 3.64 (2H, m, H-6), 1.95 (2H, m, H-7), 2.17 (1H, m, H-8 α), 2.04 (1H, m, H-8 β), 3.51 (1H, m, H-9), 2.37 (1H, m, H-10), 1.03 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-11), 1.00 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-12); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 171.6 (C-1), 59.7 (C-3), 168.0 (C-4), 46.7 (C-6), 22.9 (C-7), 30.3 (C-8), 64.4 (C-9), 34.3 (C-10), 19.4 (C-11), 18.4 (C-12)。以上数据与文献 [16] 报道基本一致, 故鉴定为环 (脯氨酸-缬氨酸)。

化合物 **13** : 无色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 211.144 2 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 4.08 (1H, t, $J=2.1$ Hz, H-3), 3.56 (1H, m, H-6 α), 3.51 (1H, m, H-6 β), 1.93 (1H, m, H-7 α), 1.44 (1H, m, H-7 β), 2.32 (1H, m, H-8 α), 2.03 (1H, m, H-8 β), 4.20 (1H, m, H-9), 2.16 (1H, m, H-10), 1.33 (2H, m, H-11), 0.93 (3H, t, $J=7.5$ Hz, H-12), 1.07 (3H, d, $J=7.2$ Hz, H-13); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 172.4 (C-1), 60.0 (C-3), 167.6 (C-4), 46.2 (C-6), 23.2 (C-7), 29.6 (C-8), 61.3 (C-9), 37.0 (C-10), 25.4 (C-11), 12.6 (C-12), 15.5 (C-13)。以上数据与文献 [16] 报道基本一致, 故鉴定为环 (脯氨酸-异亮氨酸)。

化合物 **14**: 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 211.144 0 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 3.84 (1H, dd, $J=9.6, 5.4$ Hz, H-3), 3.57 (1H, m, H-6 α), 3.49 (1H, m, H-6 β), 2.03 (1H, m, H-7 α), 1.68 (1H, m, H-7 β), 2.36 (1H, m, H-8 α), 1.80 (1H, m, H-8 β), 4.28 (1H, m, H-9), 1.95 (2H, m, H-10), 1.60 (1H, m, H-11), 1.00 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-12), 0.97 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-13); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 171.6 (C-1), 58.9 (C-3), 169.1 (C-4), 46.7 (C-6), 23.0 (C-7), 29.9 (C-8), 59.3 (C-9), 43.6 (C-10), 25.5 (C-11), 23.3 (C-12), 21.9 (C-13)。以上数据与文献 [17] 报道基本一致, 故鉴定为环 (脯氨酸-亮氨酸)。

化合物 **15**: 白色粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 161.053 0 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 3.69 (2H, t, $J=7.2$ Hz, H-1), 2.72

(2H, t, $J=7.2$ Hz, H-2), 6.70 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2', 6'), 7.03 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3', 5'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 64.6 (C-1), 39.4 (C-2), 131.0 (C-1'), 130.9 (C-2', 6'), 116.1 (C-3', 5'), 156.9 (C-4')。以上数据与文献 [18] 报道基本一致, 故鉴定为对羟基苯乙醇。

化合物 **16**: 白色固体粉末 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 203.071 6 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 4.20 (2H, t, $J=7.2$ Hz, H-1), 2.83 (2H, t, $J=7.2$ Hz, H-2), 7.04 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-2', 6'), 6.72 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3', 5'), 2.00 (3H, s, CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 66.6 (C-1), 35.2 (C-2), 130.0 (C-1'), 130.9 (C-2', 6'), 116.2 (C-3', 5'), 157.1 (C-4'), 20.8 (COCH₃), 173.0 (COCH₃)。以上数据与文献 [19] 报道基本一致, 故鉴定为 2-*p*-acetoxyphenylethanol。

5 HepG2 细胞毒活性评价

采用 CCK-8 法对结构复杂、可能具有活性的化合物 **1~3**、**5~14** 进行 HepG2 细胞毒活性实验。取对数生长期 HepG2 细胞, 以 5×10^4 /mL 密度接种于 96 孔板, 每孔 100 μ L, 在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养 24 h 至贴壁。设置 3 个浓度 (20、40、80 μ mol/L) 药物组, 每个浓度 5 个复孔, 以顺铂为阳性对照, 另设正常对照组。细胞分组、干预后继续培养 24 h, 每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液 (完全培养基配制), 孵育 4 h 后测定各孔在 450 nm 波长处的光密度 (OD), 计算细胞抑制率。

结果显示, 化合物 **1~3**、**5**、**7~14** 均可抑制细胞增殖, 并呈浓度依赖性, 趋势与阳性对照一致, 其中 **5**、**9** 更明显, 见图 4。再采用 CCK-8 法测定化合物 **5**、**9** 及顺铂 IC₅₀ 值, 培养基将三者制成 6 个浓度 (60、80、90、100、110、120 μ mol/L) 的溶液, 同法处理, 结果化合物 **5**、**9** 及顺铂 IC₅₀ 值分别为 (94.34 \pm 4.18)、(80.86 \pm 3.21)、(77.63 \pm 7.85) μ mol/L, 表明化合物 **5**、**9** 具有较强的 HepG2 细胞毒活性。

6 讨论与结论

枝孢霉属 *Cladosporium* 真菌在自然界分布广泛, 是玄参内生真菌种群中六大优势真菌属之一^[20], 其次生代谢产物具有丰富的生物活性, 如抗菌、抗病毒、抗肿瘤等^[21], 开发潜力巨大。本研究从 *C. anthropophilum* 代谢物中分离得到 16 个化合物, 均为首次从枝孢霉属真菌中分离得到, 类

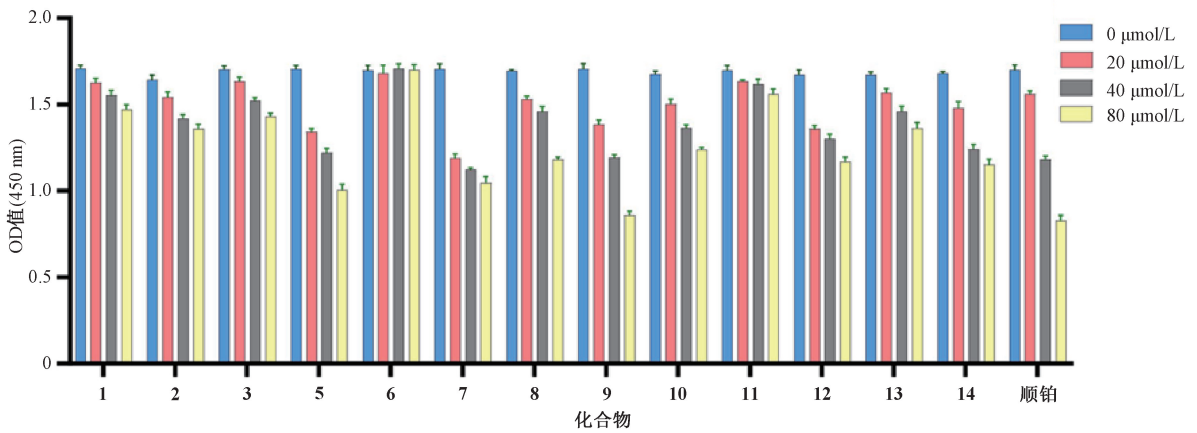


图 4 各化合物对 HepG2 细胞活性的影响

Fig. 4 Effect of each compound on the activity of HepG2 cells

型以环肽类为主，包括 8 个环二肽和 1 个环六肽，环肽是内生真菌常见的代谢物类型之一，也是具有重要研究价值的天然小分子代谢产物^[22]，此外还有环烯醚萜、葱醌、黄酮等。其中，化合物 2、3 首次报道于内生真菌，此前仅从植物中分离得到；3 是玄参主要有效成分，具有抗炎、改善胰岛素抵抗、抗肿瘤等活性；15、16 为玄参化学成分类似物^[23]，这些发现印证了内共生假说，即植物与内生真菌可能通过共生关系来产生相同或相似的活性成分^[24]。HepG2 细胞毒活性实验结果显示，环二肽类化合物（5、7、10~14）均表现出抑制 HepG2 细胞增殖的潜力，其中 5 较强，提示这类结构可作为抗肝癌药物开发的先导分子。此外，酰氨基醇类化合物 9 也表现出较强的活性，其结构可塑性极强^[25]，未来可通过结构修饰来寻找活性更强的药物。

综上所述，本研究不仅丰富了抗 HepG2 细胞的天然化合物库，也为抗肝癌药物的开发提供了新思路。未来可通过结构修饰来优化环二肽及其氯霉素衍生物的活性，并深入探究其作用机制，从而开发高效低毒的相关药物。同时，上述结果证实了内生真菌工业化生产药用成分的可行性，为中药资源的可持续利用提供了新途径。

参考文献:

[1] 邹霞, 易萍, 曹江. 玄参多糖抗肿瘤作用的实验研究[J]. 中国医药指南, 2015, 13(10): 69-70.
[2] 伍庆华, 李龙雪, 宋渺渺, 等. 中药玄参对甲状腺癌 SW579 细胞增殖及 BCL-2 和 C-myc 表达的影响[J]. 江西中医药, 2018, 49(10): 67-69.
[3] Shen X, Ecihhlo T, Greten H, et al. Effects of *Scrophularia*

ningpoensis Hemsl. on inhibition of proliferation, apoptosis induction and NF- κ B signaling of immortalized and cancer cell lines[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2012, 5(2): 189-208.
[4] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of pacific yew[J]. *Science*, 1993, 260(5105): 214-216.
[5] Yang X Q, Yang Y B, Peng T F, et al. A new cyclopeptide from endophytic *Streptomyces* sp. YIM 64018[J]. *Nat Prod Commun*, 2013, 8(12): 1753-1754.
[6] 朱毅, 杜鹃兰的化学成分研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2014.
[7] 梁前程, 李昊东, 陶仙, 等. 杜仲叶环烯醚萜类成分及其抗衰老活性[J]. 食品科学, 2025, 46(11): 235-242.
[8] 邹吉斌, 张鹏, 安巧, 等. 越南槐种子化学成分的分离与鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(1): 165-172.
[9] Kumar N, Gorantla J, Mohandas C, et al. Isolation and antifungal properties of cyclo (D-Tyr-L-Leu) diketopiperazine isolated from *Bacillus* sp. associated with rhabditid entomopathogenic nematode[J]. *Nat Prod Res*, 2013, 27(23): 2168-2172.
[10] 卢辛甜, 邵莉, 赵碧清, 等. 苦笋化学成分及其抗炎活性[J]. 中成药, 2019, 41(11): 2663-2667.
[11] 郭庆丰, 陈林, 尹震花, 等. 大黄鱼共生菌 *Bacillus coagulans* LL1103 的代谢产物研究[J]. 微生物学报, 2020, 60(2): 387-396.
[12] Ibrahim S R M, Mohamed G A, Moharram A M, et al. Aegyptolidines A and B: New pyrrolidine alkaloids from the fungus *Aspergillus aegyptiacus*[J]. *Phytochem Lett*, 2015, 12: 90-93.
[13] Alshabani M M, Jalil J, Sidik N M, et al. Isolation and characterization of cyclo- (tryptophanyl-prolyl) and chloramphenicol from *Streptomyces* sp. SUK 25 with antimethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* activity[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10: 1817-1827.
[14] Lin R F, Zhang D J, Li Y G, et al. A new antifungal cyclic lipopeptide from *Bacillus marinus* B-9987[J]. *Helv Chim Acta*,

- 2010, 93(12): 2419-2425.
- [15] Tian S Z, Yang Y B, Liu K, et al. Antimicrobial metabolites from a novel halophilic actinomycete *Nocardopsis terrae* YIM 90022[J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28(5): 344-346.
- [16] 邱玲, 何鑫, 冯丹, 等. 冬虫夏草中一株内生菌次级代谢产物的化学成分[J]. *应用与环境生物学报*, 2018, 24(6): 1290-1294.
- [17] 张斌, 周学明, 赵婷, 等. 诺丽发酵液的化学成分研究[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(18): 4015-4020.
- [18] 周文双, 张曼莉, 孙云鹏, 等. 毫白芍内生真菌哈茨木霉次级代谢产物研究[J]. *中国药物化学杂志*, 2023, 33(9): 671-678.
- [19] Singh D, Kumar R, Chaudhuri P K. A new phenolic compound from the flowers of *Jasminum multiflorum*[J]. *Chem Nat Comp*, 2014, 50(1): 48-49.
- [20] 沈湛云, 朱波, 张泉龙, 等. 不同产地玄参内生真菌种群结构的比较分析[J]. *中草药*, 2019, 50(4): 957-962.
- [21] 董锦润, 李靖, 陈玉惠, 等. 枝孢属真菌次级代谢产物中化学成分及其生物活性的研究进展[J]. *中草药*, 2021, 52(19): 6076-6087.
- [22] 赵冕, 王磊, 冯子迈, 等. 植物环肽研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(5): 1172-1185.
- [23] 李翎熙, 陈迪路, 周小江. 玄参化学成分、药理活性研究进展及其质量标志物分析预测[J]. *中成药*, 2020, 42(9): 2417-2426.
- [24] Howitz K, Sinclair D. Xenohormesis: sensing the chemical cues of other species[J]. *Cell*, 2008, 133(3): 387-391.
- [25] 安琪, 齐光照, 韩超. 桃叶珊瑚苷抑制人肝癌细胞系 HepG2 增殖[J]. *基础医学与临床*, 2024, 44(3): 333-338.

三白草化学成分及其鼻固有层细胞保护活性研究

高磊, 陈璐璐, 张灵敏, 王俊杰*

(河南省中医院/河南中医药大学第二附属医院, 河南 郑州 450006)

摘要: 目的 研究三白草化学成分及其对鼻固有层细胞的保护活性。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20 进行分离纯化, 根据理化性质和波谱数据鉴定所得化合物的结构。采用 MTT 法评价化合物对鼻固有层细胞的保护活性。结果 从中分离得到 24 个化合物, 分别鉴定为 burselignan (1)、sipandinolide (2)、lawsonicin (3)、对香豆酸乙酯 (4)、4-(4-carboxy-2-methoxyphenoxy)-3, 5-dimethoxybenzoic acid (5)、tachioside (6)、devenyol (7)、4-oxopinonesin (8)、thunalbene (9)、liguhodgsonal (10)、blapindole K (11)、thymine (12)、8-羟基-5, 6, 7-三甲氧基香豆素 (13)、byzantionoside B (14)、atractylenother (15)、4-甲氧基-5-羟基-1-四氢萘酮 (16)、cinnamic acid (17)、acetanilide (18)、2, 4-二羟基-3-甲基苯甲醛 (19)、3, 7-二甲氧基-5, 3', 4'-三羟基黄酮 (20)、5, 7, 4'-三羟基-3'-甲氧基黄酮 (21)、miliusolide (22)、globuxanthone (23)、polybotrin (24)。20 $\mu\text{mol/L}$ 化合物 3、9、10、22、23 干预后, 鼻固有层细胞存活率为 (61.3 \pm 1.6)% ~ (83.1 \pm 1.5)%, 其中化合物 3、10 活性与 *N*-乙酰半胱氨酸相当 ($P>0.05$)。结论 化合物 1~24 为首次从该植物中分离得到。化合物 3、10 对鼻固有层细胞具有良好的保护活性。

关键词: 三白草; 化学成分; 分离鉴定; 鼻固有层细胞; 保护活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)05-1547-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.05.018

Chemical constituents from *Saururus chinensis* and their protective activity against nasal lamina propria cells

GAO Lei, CHEN Lu-lu, ZHANG Ling-min, WANG Jun-jie*

(Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine/The Second Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450006, China)

收稿日期: 2025-08-21

基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题 (2022ZY1071); 郑州市医疗卫生领域科技创新指导计划项目 (2024YLYZDJH102)

作者简介: 高磊 (1989—), 男, 硕士, 主治医师, 研究方向为中西医结合治疗耳鼻咽喉疾病。E-mail: yao333zy@126.com

* 通信作者: 王俊杰 (1979—), 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向为中西医结合治疗耳鼻咽喉疾病。E-mail: hzszyy777@126.com