

虫生真菌棒状紫孢菌 *Purpureocillium clavatum* 的次级代谢产物

王易^{1,2,3}, 张娴^{2,3,5}, 彭兴灿^{2,3,5}, 肖沅嫔^{4,5}, 杨雨^{4,5}, 刘正慧^{2,3}, 黄启凤^{2,3}, 文庭池^{1,2,3*}

1 贵州大学药学院, 贵州 贵阳 550025

2 贵州大学 绿色农药全国重点实验室, 贵州 贵阳 550025

3 贵州大学 西南药用生物资源教育部工程研究中心, 贵州 贵阳 550025

4 贵州理工学院食品药品制造工程学院, 贵州 贵阳 550003

5 皇太后大学 真菌卓越研究中心, 泰国 清莱 57100

摘要: 本研究以虫生真菌棒状紫孢菌 *Purpureocillium clavatum* 为研究对象, 进行大规模发酵, 采用多种现代天然产物分离方法对粗提物进行分离、纯化, 利用核磁、质谱、圆二色谱等多种波谱学方法对化合物进行结构鉴定。最终从虫生真菌棒状紫孢菌 *P. clavatum* 大米发酵提取物的乙酸乙酯层获得 7 个化合物, 包括 1 个新化合物 purcilliumene A (**5**), 4 个甾体类化合物(**1–3**, **6**), 1 个鞘胺醇类化合物(**7**), 1 个其他类化合物(**4**)。通过抗菌活性筛选, 发现化合物 **1**、**2**、**3**、**6**、**7** 对辣椒刺盘孢菌、霉菌寄生菌-I、粉红单端孢菌具有显著的抑制作用。化合物 **2** 和 **7** 对结核分枝杆菌也具有抑制作用。

关键词: 棒状紫孢菌; 次级代谢产物; 抗菌活性; 结核分枝杆菌

[引用本文]

王易, 张娴, 彭兴灿, 肖沅嫔, 杨雨, 刘正慧, 黄启凤, 文庭池, 2025. 虫生真菌棒状紫孢菌 *Purpureocillium clavatum* 的次级代谢产物. 菌物学报, 44(3): 240270

Wang Y, Zhang X, Peng XC, Xiao YP, Yang Y, Liu ZH, Huang QF, Wen TC, 2025. Secondary metabolites of the entomopathogenic fungus *Purpureocillium clavatum* (Ophiocordycipitaceae, Hypocreales). Mycosystema, 44(3): 240270

资助项目: 国家自然科学基金(32060012); 贵州省科学技术基金[(2019)2451-3]

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32060012) and the Science and Technology Foundation of Guizhou Province [(2019)2451-3].

*Corresponding author. E-mail: tingchiwen@yahoo.com

ORCID: WANG Yi (0009-0006-5412-7893)

Received: 2024-09-26; Accepted: 2024-10-25

Secondary metabolites of the entomopathogenic fungus *Purpureocillium clavatum* (Ophiocordycipitaceae, Hypocreales)

WANG Yi^{1,2,3}, ZHANG Xian^{2,3,5}, PENG Xingcan^{2,3,5}, XIAO Yuanpin^{4,5}, YANG Yu^{4,5},
LIU Zhenghui^{2,3}, HUANG Qifeng^{2,3}, WEN Tingchi^{1,2,3*}

1 College of Pharmacy, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

2 State Key Laboratory of Green Pesticide, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

3 The Engineering Research Center of Southwest Bio-Pharmaceutical Resources, Ministry of Education, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China

4 School of Food and Pharmaceutical Engineering, Guizhou Institute of Technology, Guiyang 550003, Guizhou, China

5 Center of Excellence in Fungal Research, Mae Fah Luang University, Chiang Rai 57100, Thailand

Abstract: Large-scale fermentation of rice by the entomopathogenic fungus *Purpureocillium clavatum* was carried out, and the crude extract was separated and purified by several modern natural product separation methods. The structure of the compound was identified by nuclear magnetic resonance (NMR), mass spectrometry (MS), circular dichroism (CD) and other spectroscopic methods. Seven compounds were obtained from the ethyl acetate layer of the rice fermented extract of the entomopathogenic fungus *Purpureocillium clavatum*, including one new compound, purcilliumene A (**5**), four steroid compounds (**1–3**, **6**), one sphingosine compound (**7**), one other compound (**4**). Antimicrobial activity screening revealed that compounds **1**, **2**, **3**, **6**, **7** showed significant inhibitory effects against *Colletotrichum capsici*, *Hypomyces odoratus*-I, and *Trichothecium roseum*. Compounds **2** and **7** also showed inhibitory effect against *Mycobacterium tuberculosis*.

Keywords: *Purpureocillium clavatum*; secondary metabolite; antimicrobial activity; *Mycobacterium tuberculosis*

虫草真菌是一类可以寄生在真菌、昆虫和植物上的真菌，具有营养、保健和医疗作用(Wen *et al.* 2016b; Xiao *et al.* 2023)。虫草作为重要的药用真菌资源在我国已有 2 000 多年的食用历史，采用现代技术手段对冬虫夏草 *Ophiocordyceps sinensis*、蛹虫草 *Cordyceps militaris*、广东虫草 *Cordyceps guangdongensis*，以及蝉花虫草 *Cordyceps chanhua* 的研究最为广泛。部分虫草真菌及其次生代谢产物可以用于药物开发，如中华被毛孢 *Hirsutella sinensis* 的菌丝体被研制成“百令胶囊”，用来治疗哮喘、肾虚肺虚以及用于癌症的辅助治疗；环孢菌素、芬戈莫德作为免疫抑制一线药物应用于临床；金水宝胶囊和至灵胶囊为不同属虫草菌丝体，但含有相同药理活性成

分，具有补肺益肾的功能(刘建兵等 2018)。蛹虫草富含虫草素，这一成分具有促使非小细胞肺癌细胞凋亡、破坏人舌癌细胞的能力，并且能显著抑制新型冠状病毒的复制(Zheng *et al.* 2020; Rabie 2022; 张明等 2024)；中国科学院上海植物生理生态研究所王成树研究组首次发现蛹虫草能够合成抗癌药物——喷司他丁(王鹏 1999)，被用来保护所合成虫草素的结构稳定性(Xia *et al.* 2017)；蝉花虫草(Araújo *et al.* 2021)可以延长戊巴比妥钠和水合氯醛所致睡眠时间，对肿瘤患者来说，可以减轻癌症带来的疼痛，消除或者减轻放疗引起的脱发、厌食等副作用(陈露和安利国 2009; 陈安徽等 2015)；从新古尼虫草 *Keithomyces neogunnii* 中发现 3 种新的酪氨酸酶

抑制剂(Lu *et al.* 2014),能有效抑制肿瘤细胞的生长和增殖。近年来,研究者陆续从虫草真菌中分离得到骨架结构新颖的活性成分,如 *Papiliomyces* sp.中分离出一种新的具有 5/5/5/6 环体系的四环二萜类化合物 papilone A(1),且对 RAW264.7 细胞中脂多糖诱导的一氧化氮产生具有中等程度的抑制活性(Sun *et al.* 2022);从 *Ophiocordyceps* spp.和 *Purpureocillium* spp.中分离得到 4 种亮氨酸抑制素类似物(Kil *et al.* 2020),且可以选择性地阻止 mTORC1 信号传导并抑制 LAR 亚型细胞的生长;从 *Ophiocordyceps sobolifera* 中分离得到一种新型多糖结构 PS-T80,具有良好的抗氧化活性(Le *et al.* 2022);从蛹虫草子实体的甲醇水溶液中分离得到一个新的脑苷脂(Chiu *et al.* 2016),能抑制 LPS 刺激的 RAW264.7 巨噬细胞中促炎性 iNOS 蛋白的积累,并降低 COX-2 蛋白的表达。由于虫草真菌和昆虫之间的相互作用,它们也是重要的生物防治材料(徐志鸿 2020)。*Purpureocillium lilacinum* 分泌的丝氨酸蛋白酶、几丁质酶等,导致线虫表皮蛋白质和几丁质成分的降解,是一类很强的生防菌,有利于真菌的入侵和细胞成分的破坏(郝泽婷等 2018; Chen & Hu 2021);可见虫草真菌活性成分具有极高的应用潜力。

本研究对虫生真菌棒状紫孢菌 *P. clavatum* (Xiao *et al.* 2025)的化学成分进行了深入研究,通过硅胶柱层析、凝胶色谱、半制备 HPLC 等手

段分离纯化棒状紫孢菌大米培养基提取物,得到 7 个次级代谢产物,采用核磁(NMR)、质谱(MS)、圆二色谱(CD)等方法鉴定其结构,并对分离得到的化合物进行了抗菌活性实验。以期通过对其化学成分的分离纯化和活性筛选,为进一步开发虫草真菌资源提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

棒状紫孢菌菌株从贵州省习水县采集,保存在贵州大学食用菌研究院。抗植物病原菌和结核分枝杆菌实验所用菌株由贵州大学生化工程中心和贵州大学药学院提供,具体信息见表 1。

1.1.2 材料和试剂

C18 反向硅胶(UniSil 30-120 C-18);葡聚糖凝胶 LH-20 (北京索莱宝科技有限公司);柱层析硅胶和薄层色谱(青岛海洋化工有限公司);氘代甲醇试剂、氘代二甲基亚砜(DMSO)试剂、氘代二氯甲烷试剂(宁波萃英化学技术有限公司);甲醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、石油醚(四川轻化);乙腈、氯仿、正丁醇(天津市富宇精细化工有限公司);五常大米(黑龙江拉林河畔食品有限公司);蛋白胨(山东东宸生物科技有限公司)。

1.1.3 设备和仪器

旋转蒸发仪(Heidolph Hei-VAP-Core);高效液相色谱(Agilent Technologies 1260);紫外线分

表 1 所试病原菌的主要信息

Table 1 Main information of test pathogens

菌种编号 Strains	病原菌名称 Pathogens	引发的病害 Diseases caused
GZUSH5-1	立枯丝核菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	水稻纹枯病 Rice sheath blight disease
GZUSH2-1	辣椒刺盘孢菌 <i>Colletotrichum capsici</i>	辣椒炭疽病 Pepper anthracnose
GZU1-1	霉菌寄生菌- I <i>Hypomyces odoratus</i> - I	羊肚菌蛛网病 Cobweb disease of <i>Morchella sextelata</i>
Tr.G8	粉红单端孢菌 <i>Trichothecium roseum</i>	红粉病 Pink colouring
FGZU1-1	禾谷镰孢菌 <i>Fusarium graminearum</i>	小麦纹枯病 Sharp eyespot
GZQZ49-2	木霉菌 <i>Trichoderma</i> sp.	腐烂病 Decay
BJWNU7	霉菌寄生菌- II <i>Hypomyces odoratus</i> - II	羊肚菌蛛网病 Cobweb disease of <i>Morchella sextelata</i>
H37Rv	结核分枝杆菌 <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	结核病 Tuberculosis

析仪(广州瑞彬科技 ZF-36X); 红外光谱仪(Thermo NICOLET iS10); 紫外光谱(Agilent Cary60); 核磁共振波谱仪(Bruker DRX-600/AVANCE NEO-400); 数控超声清洗器(昆山超声仪器 KQ-500DE); 高分辨质谱(Agilent HP5973); 电子天平(Sartorius BSA124S); 圆二色谱(Chirascan v.470194); 中压制备液相制备仪(TAUTO TBD2000); DH3600 型电热恒温培养箱(天津市泰斯特仪器有限公司); HH B11 420 电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械厂), 手提式压力蒸汽灭菌器(江苏登冠医疗器械有限公司), HD-650 桌上型(水平送风)超净工作台(北京尚净生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 棒状紫孢菌的活化及大规模发酵培养

将保存于 4 °C 冰箱中的棒状紫孢菌菌株接种到 PDA 培养基中, 25 °C 培养 14 d。将活化好的菌株以 5% (体积比) 的接种量接种到 PDB 培养基中, 在 25 °C、250 r/min 的摇床中培养 4 d, 最后将培养好的液体种子以每瓶 5 mL 的体积加入大米固体培养基(含 40 g 大米, 0.12 g 蛋白胨, 60 mL 去离子水)中, 在 25 °C 黑暗环境中培养 30 d, 共发酵 508 瓶(Wen *et al.* 2016a)。

1.2.2 次级代谢产物的分离、提取和纯化

将培养好的大米培养物取出捣碎, 用一定量的甲醇、乙醇浸泡并振摇, 乙酸乙酯反复萃取 5 次后减压浓缩至蒸干, 得到粗提物 118.2 g。采用正相硅胶柱(200–300 目), 以二氯甲烷-甲醇(100:1、80:1、50:1、20:1、0:1, 体积比)为洗脱剂梯度洗脱, 用薄层色谱(TLC)检测并显色, 合并相似组分后, 得到 8 个组分(Fr.1–Fr.8)。

Fr.2 继续拌样, 使用反相硅胶柱色谱进行分离, 甲醇-水(100:1、80:1、60:1、40:1、20:1、0:1, 体积比)进行梯度洗脱得到 5 个组分(Fr.2.1–2.5)。Fr.2.5 使用正相分析色谱柱进行分离, 二氯甲烷-甲醇(100:1、50:1、20:1、0:1, 体积比)进行梯度洗脱, Fr.2.5.3 有无色针尖状晶体析出, 经过核磁数据分析为化合物 1 (20 mg)。

Fr.2.4 通过半制备高效液相色谱梯度进行洗脱(乙腈-水 5:92–160:0, 体积比, 3 mL/min), 分离得到化合物 2 (2 mg, t_R = 29.20 min)。Fr.2.3 继续进行梯度洗脱(二氯甲烷-甲醇=50:1、40:1、20:1、0:1), 分离得到化合物 3 (15.7 mg) 和化合物 4 (1.0 mg)。Fr.3 继续拌样, 使用正相硅胶柱色谱进行分离, 二氯甲烷-甲醇(80:1、60:1、40:1、20:1、0:1)进行梯度洗脱, 得到 5 个组分。Fr.3.2 段的溶剂挥干后有白色粉末析出, 经过核磁数据分析, 得到化合物 5 (2 mg)。Fr.3.4 继续使用正相色谱柱进行分离, 石油醚-二氯甲烷(5:1、3:1、2:1、0:1, 体积比)进行梯度洗脱, 分离得到化合物 6 (10.5 mg) 和化合物 7 (12.6 mg)。

1.2.3 次级代谢产物的结构鉴定

对分离到的化合物, 选择氘代甲醇、二甲基亚砜(DMSO)、氘代氯仿为溶剂溶解, 对其进行 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 、高分辨质谱及 CD 谱分析, 通过与唐官美等(2024)的数据对比鉴定单体化合物结构。

1.2.4 抗菌活性实验

抗病原菌活性实验。采用立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani*、辣椒刺盘孢菌 *Colletotrichum capsici*、霉菌寄生菌-I *Hypomyces odoratus*-I、粉红单端孢菌 *Trichothecium roseum*、禾谷镰孢菌 *Fusarium graminearum*、木霉菌 *Trichoderma* sp.、霉菌寄生菌-II *Hypomyces odoratus*-II, 共 7 株病原菌, 测试单体化合物的抗菌活性。将以上 7 株病原菌在 PDA 培养基上至少活化一次, 立枯丝核菌、霉菌寄生菌-II 生长速度较快, 在 25 °C 下培养 3–4 d 即可; 其余 5 株菌株均在 25 °C 下培养 7 d, 所有菌株均在黑暗条件下培养。准确称取化合物 1、2、3、6、7 这 5 个样品, 并用 DMSO 将其配制成 10 mg/mL 的母液; 配制 5% 的 DMSO 待用, 为阴性对照组。在菌落边缘取直径为 5 mm 的新鲜菌饼, 接种至含不同浓度的 5 个化合物的平板上(每个化合物配制的浓度为 20、40、80 $\mu\text{g/mL}$)。在黑暗条件下,

立枯丝核菌、霉菌寄生菌-II, 在 25 °C 培养 3 d 后测量菌落直径并拍照; 其余 5 株菌株培养 7 d 后, 测量菌落直径并拍照, 按公式(1)计算生长速率。每个浓度进行 3 次重复实验(许蓉等 2019)。

$$\text{生长速率(mm/d)} = \frac{\text{菌落直径} - 5}{\text{培养天数} \times 2} \quad (1)$$

抗结核分枝杆菌活性测试。首先制备 Middlebrook 7H9 培养基备用。准确称取化合物 1、2、3、6、7 并用 DMSO 配制成 4 mg/mL 的母液, 加入 Middlebrook 7H9 培养基, 配制成 40、80 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度, 每种浓度的样品溶液分装 3 管, 进行 3 次平行实验。5% 的 DMSO 为阴性对照组, 阳性对照组为 0.25 $\mu\text{g/mL}$ 的异烟肼。使用无菌接种环和新鲜培养的结核分枝杆菌, 在超净工作台内取适量菌种置于无菌水中充分研磨, 并将菌液浊度调为麦氏比浊管 1 号浊度(约 3×10^8 CFU/mL)。在向无菌试管培养基中加入 20 μL 菌悬液, 置于 37 °C 的恒温培养箱中培养 7 d, 观察菌落生长情况(Dong *et al.* 2024)。

2 结果与分析

2.1 棒状紫孢菌的次级代谢产物

2.1.1 新化合物的解析

化合物 5, 白色粉末, 结构式见图 1, 易溶于甲醇、二氯甲烷等溶液, 基于高分辨质谱(HRESIMS)数据 m/z 275.161 766 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{Na}^+$ 的计

算值 275.161 92), 具有 4 个不饱和度。该分子在 3 379、3 000、2 962、1 673、1 449、1 028 cm^{-1} 处的红外吸收说明分子中存在羟基、甲基、烯烃质子。根据氢谱结果得出, 2 个烯烃质子信号在 δ_{H} 5.23 (1H, d, $J=10.2$ Hz, H-4) 和 5.01 (1H, t, $J=8.2$ Hz, H-8); 4 个单峰的甲基质子信号 [δ_{H} 0.67 (3H, s), 1.14 (3H, s), 1.70 (3H, s), 1.72 (3H, s)], 2 个次甲基质子信号 [δ_{H} 4.16 (1H, s), 4.08 (1H, s)], 2 个亚甲基质子信号 [δ_{H} 2.51, 2.08 (m), 2.66 (dd, $J=12.5$, 4.1), 1.52 (dd, $J=12.5$, 9.7)]。根据碳谱结果显示, 化合物共有 15 个碳信号, 其中含有 2 组双键碳信号 (δ_{C} 126.97, 141.39, 124.91, 134.20), 2 个连氧碳信号 (δ_{C} 73.08, 78.66), 4 个单峰甲基 (δ_{C} 25.49, 13.08, 10.36, 17.82), 2 个亚甲基 (δ_{C} 32.81, 42.94), 3 个季碳 (δ_{C} 141.39, 134.20, 40.36)。

两组双键占据 2 个不饱和度, 剩下的不饱和度表明存在 2 个环。 ^1H - ^1H COSY 谱中显示出 3 个相关片段, H-1/H-11/H₂-10、H-3/H-4 和 H-6/H-7/H-8。C-1 和 C-11 为含氧次甲基, 结合 1D NMR, 推测存在一个三元氧环; 因此剩下一个不饱和度, 推测存在一个大环结构。结合 HMBC 谱中 H₃-12 与 C-1, C2 和 C3 相关可确定 CH₃-12 与 C-2 相连; H₃-13 与 C-1, C2 和 C3 相关可确定 CH₃-13 也与 C-2 相连; H₃-14 与 C4, C5 和 C6

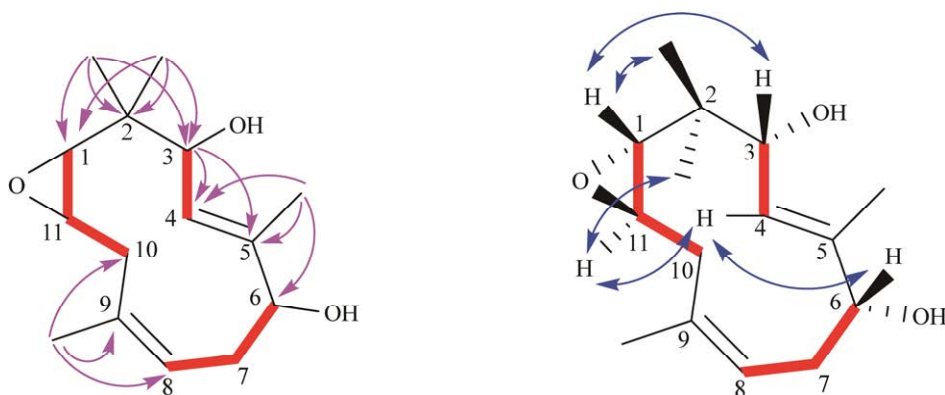


图 1 化合物 5 的主要 ^1H - ^1H COSY (—), HMBC (—) 和 NOESY (—) 的关键信号

Fig. 1 The key ^1H - ^1H COSY (—), HMBC (—) and NOESY (—) correlations of compound 5.

的相关可确定 CH₃-14 与 C5 相连; H₃-15 与 C9, C10 和 C8 的相关可确定 CH₃-15 与 C9 相连; 结合 ¹H-¹H COSY 谱中的相关, 得出化合物 **5** 的平面结构是含有 2 个双键的十一元环。

我们发现化合物 **5** 结构与 humulene-monoepoxides **6** (Abraham *et al.* 1989) 具有类似的平面结构, 唯一的差距在于化合物 **5** 的六位被羟基取代。通过 NOESY 谱发现 H₃-14 与 H-4, H₃-15 与 H-8 没有相关, 确定其为反式双键。同时发现 H-1 和 H-3, H-1 和 H₃-12, H-4 和 H-6 相关, 说明这些质子在同侧, 为 β-构型; H₃-13 和 H-11 相关证明在分子平面的另一边为 α-构型。又由氢谱结果得知, 6 号位氢的耦合常数是 10.3 和 6.8, 并结合模拟该结构的 3D 模型, 当六号位上的羟基为 V5-B 构型, 羟基上的氢与相邻 2 个氢的二面角相似, 其耦合常数应该近似。当六号位上的羟基为 V5-A 构型, 其中有一个二面角接近 180°, 会出现一个大于 10 的耦合常数, 确定化合物的相对构型为 V5-A 结构(图 2)。通过比较实验和模拟的 ECD 谱, 从而确定 **5** 的绝对构型为 1R, 3R, 4E, 6R, 8Z, 11R。

因此, 化合物 **5** 的结构被推断为 (1R, 3R, 4E, 6R, 8Z, 11R)-2, 2, 5, 9-tetramethyl-12-oxabicyclo [9.1.0]dodeca-4, 8-diene-3, 6-diol, 将其命名为 purcilliumene A, 核磁谱图数据见表 2。

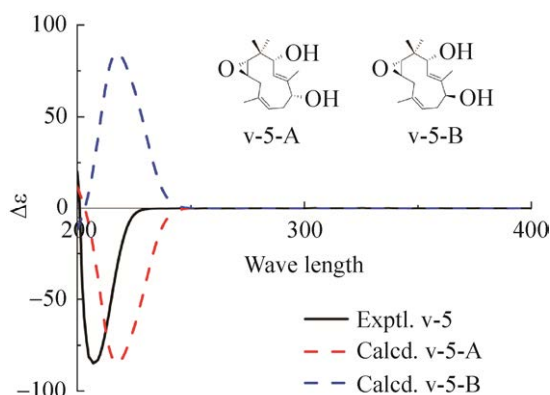


图 2 化合物 **5** 的 ECD 谱计算

Fig. 2 Structure of calculation of ECD spectrum of compound **5**.

表 2 化合物 **5** 的核磁数据

Table 2 ¹H (400 MHz) and ¹³C (100 MHz) NMR data for compound **5**

No.	(Methanol-d ₄)		HMBC
	δ _C	δ _H (J in Hz)	
1	65.01, CH	2.24, d (2.4)	
2	40.36, C		
3	73.08, CH	4.16, d (10.2)	C4, C5
4	126.97, CH	5.23, d (10.2)	
5	141.39, C		
6	78.66, CH	4.08, dd (10.3, 6.8)	
7	32.81, CH ₂	2.51, m	
		2.08, m	
8	124.91, CH	5.01, t (8.2)	
9	134.20, C		
10	42.94, CH ₂	2.66, dd (12.5, 4.1)	
		1.52, dd (12.5, 9.7)	
11	57.98, CH	3.02, ddd (9.7, 4.1, 2.4)	
12	25.49, CH ₃	1.14, s	C2, C1, C3
13	13.08, CH ₃	0.67, s	C2, C1, C3
14	10.36, CH ₃	1.70, s	C6, C5, C8
15	17.82, CH ₃	1.72, s	C9, C10, C8

2.1.2 新化合物的理化性质及波谱数据

Purcilliumene A (化合物 **5**), 白色粉末, $[\alpha]_D^{25}$ 0.286 (c 0.7, CH₃OH); UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ) 364.9 (2.80) nm; IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3 379, 3 000, 2 962, 1 673, 1 449, 1 028 cm⁻¹; ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) 和 ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz) 数据见表 2; (+)-HRESIMS $[M+Na]^+$ m/z 275.161 766 (calcd for C₁₅H₂₄O₃Na⁺, 275.161 766)。

2.1.3 已知化合物的理化性质及波谱数据

化合物 **1**, 透明针状晶体, C₂₈H₄₄O, 结构见图 3, ESI-MS: 419.3 m/z $[M+Na]^+$, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ_H 5.55 (1H, dd, J =5.6, 2.4 Hz, H-7), 5.36 (1H, dt, J =5.7, 2.7 Hz, H-6), 5.21 (1H, dd, J =8.2, 6.8 Hz, H-23), 3.63 (1H, m, H-3), 1.02 (3H, d, J =6.7 Hz, H₃-21), 0.95 (3H, s, H₃-19), 0.91 (3H, d, J =6.9 Hz, H₃-28), 0.87 (3H, d, J =4.5 Hz, H₃-27), 0.62 (3H, s, H₃-18); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ_C 141.53 (C-8), 139.94 (C-5), 135.73 (C-22), 132.13 (C-23), 119.74 (C-6), 116.44 (C-7), 70.62 (C-3), 55.88 (C-17), 54.72 (C-14), 46.40 (C-9), 42.98 (C-13), 40.96 (C-4), 40.58 (C-20), 39.24 (C-12), 38.53 (C-1), 37.19 (C-10), 33.25

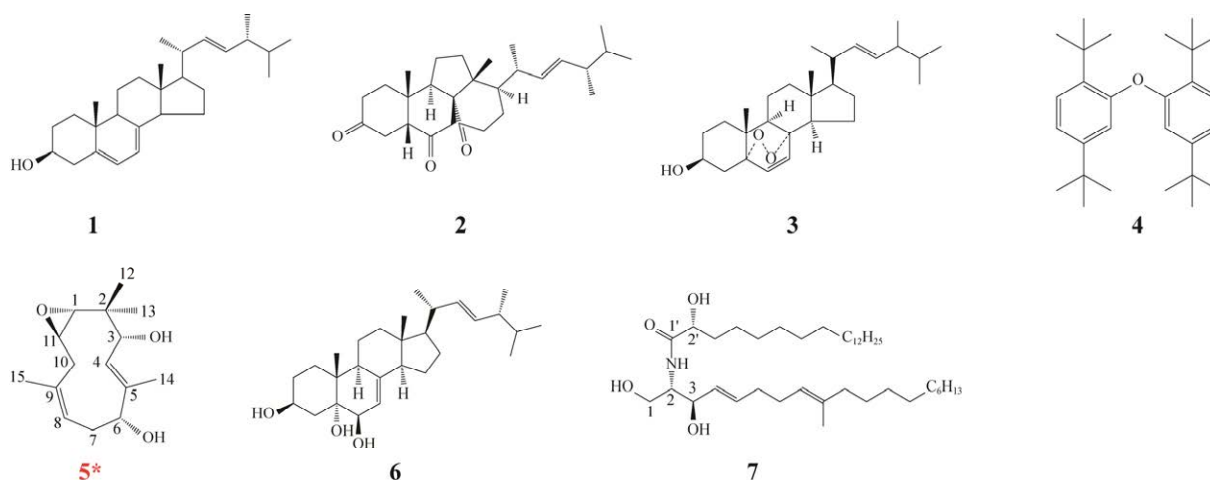


图3 化合物1-7的结构图

Fig. 3 The structures of compounds 1-7.

(C-25), 32.15 (C-2), 30.0 (C-21), 28.45 (C-16), 23.15 (C-15), 21.4 (C-11) 21.26 (C-15), 20.11 (C-27), 19.80 (C-26), 17.76 (C-19), 16.44 (C-28), 12.21 (C-18)。以上化学位移值与 Min *et al.* (2014)报道的化合物 ergosterol 结构数据一致。

化合物 **2**, 白色粉末, $C_{28}H_{42}O_3$, 结构见图 3, ESI-MS: 449.1 m/z $[M+Na]^+$, 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ_H 5.23–5.21 (2H, m, H_2 -22, 23), 3.03 (1H, dd, $J=10.8, 8.9$ Hz, H-9), 2.94 (2H, dd, $J=13.0, 1.9$ Hz, H_2 -7), 2.88 (1H, dd, $J=5.8, 2.7$ Hz, H-5), 2.86–2.76 (2H, m, H_2 -4), 2.42 (1H, t, $J=6.8$ Hz, H-20), 2.37–2.32 (1H, m, H-19), 2.32 (2H, m, H_2 -11), 2.24–2.20 (1H, m, H-5), 2.14 (2H, m, H_2 -20), 2.00 (1H, dt, $J=6.3, 3.1$ Hz, H-17), 1.97–1.92 (2H, m, H_2 -16), 1.88–1.80 (1H, m, H-24), 1.69–1.60 (2H, m, H_2 -11), 1.54 (2H, ddd, $J=18.7, 12.8, 6.2$ Hz, H_2 -1), 1.44 (1H, m, H-25), 1.34–1.29 (1H, m, H-9), 1.26 (3H, s, H_3 -19), 1.14 (3H, d, $J=7.1$ Hz, H_3 -21), 0.87 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H_3 -27), 0.79 (3H, dd, $J=6.8$ Hz, H_3 -26), 0.75 (3H, s, H_3 -18). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ_C 215.1 (C-14), 208.9 (C-6), 208.0 (C-3), 135.4 (C-22), 132.2 (C-23), 65.8 (C-8), 60.3 (C-13), 53.4 (C-9), 50.2 (C-5), 45.6 (C-17), 43.4 (C-24), 40.7 (C-10), 40.2 (C-7), 38.7 (C-15), 37.1 (C-20), 37.0 (C-2), 36.0 (C-4), 34.2 (C-12), 33.2 (C-25), 32.9 (C-1),

27.4 (C-16), 25.7 (C-11), 24.3 (C-21), 23.5 (C-19), 20.2 (C-27), 19.9 (C-26), 17.8 (C-28), 15.4 (C-18)。以上化学位移值与 Amagata *et al.* (2007)报道的化合物 dankasterone B 的结构一致。

化合物 **3**, 白色晶体, $C_{28}H_{46}O_3$, 结构见图 3, ESI-MS: 451.3 m/z $[M+Na]^+$, 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ_H 6.48 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-7), 6.24 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-6), 5.22–11.07 (2H, m, H-22, 23), 3.94 (1H, tt, $J=11.5, 5.0$ Hz, H-3), 2.09 (1H, ddd, $J=13.8, 5.1, 2.0$ Hz, H-4), 2.03–1.92 (2H, m, H_2 -12), 1.87–1.78 (2H, m, H_2 -2), 1.70 (2H, ddd, $J=13.5, 3.4, 3.4$, H_2 -24), 1.50–1.40 (4H, m, H_2 -15, 16), 1.40–1.28 (2H, m, H_2 -11), 0.98 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H_3 -21), 0.91–0.86 (6H, m, H_3 -18, 19), 0.83 (3H, s, H_3 -26), 0.82 (3H, m, H_3 -27). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ_C 135.41 (C-6), 135.21 (C-22), 132.31 (C-23), 130.75 (C-7), 82.16 (C-5), 79.43 (C-8), 77.34 (C-3), 66.48 (C-3), 56.20 (C-17), 51.69 (C-14), 51.09 (C-9), 44.57 (C-13), 42.78 (C-24), 39.74 (C-20), 39.34 (C-12), 36.97 (C-4), 36.93 (C-10), 34.69 (C-1), 33.07 (C-25), 30.13 (C-2), 28.65 (C-16), 23.40 (C-11), 20.88 (C-21), 20.64 (C-15), 19.95 (C-26), 19.64 (C-27), 18.18 (C-19), 17.56 (C-28), 12.88 (C-18)。以上波谱数据与 Kobori *et al.* (2006)的报道一致, 故确定该化合物为 5 α ,8 α -epidioxy-(20S,22E,24R)-

ergosta-6,22-diene-3 β -ol。

化合物 **4**，白色针尖状晶体， $C_{28}H_{42}O$ ，结构见图 3，ESI-MS: 417.1 m/z $[M+Na]^+$ ， 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ_H 7.35 (2H, d, $J=2.5$ Hz, H-6, 6'), 7.29 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-5), 7.09 (2H, dd, $J=8.5, 2.5$ Hz, H-3, 3'), 1.38 (18H, s, $H_3-12, 13, 14, 12', 13', 14'$), 1.30 (18H, d, $J=8.4$ Hz, $H_3-8, 9, 10, 8', 9', 10'$)。 ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ_C 149.21 (C-2, 2'), 149.17 (C-1, 1'), 138.93 (C-4, 4'), 124.38 (C-3, 3'), 123.49 (C-5, 5'), 118.86 (C-6, 6'), 34.99 (C-7, 7'), 34.46 (C-11, 11'), 31.52 (C-8, 9, 10, 8', 9', 10'), 30.15 (C-12, 13, 14, 12', 13', 14')。以上波谱数据与孙变娜等(2014)的报道一致，故确定该化合物为 2,2'-oxybis(1,4)-di-tert-butylbenzene。

化合物 **6**，白色粉末，分子式为 $C_{28}H_{46}O_3$ ，结构见图 3，ESI-MS: 453.3 m/z $[M+Na]^+$ ， 1H NMR (400 MHz, DMSO): δ_H 5.30–5.26 (1H, m, H-7), 5.23 (1H, dd, $J=9.3, 5.7$ Hz, H-23), 4.02–3.95 (1H, m, H-3), 3.58 (1H, bs, H-6), 1.98 (1H, dd, $J=12.4, 6.7$ Hz, H-20), 1.83–1.76 (2H, m, H_2-4), 1.72 (1H, ddd, $J=13.3, 4.8, 2.0$ Hz, H-24), 1.64 (1H, d, $J=3.9$ Hz, H-25), 1.56–1.42 (4H, m, $H_2-1, 15$), 1.41–1.38 (1H, m, H-17), 1.08 (3H, s, H_3-19), 1.06 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H_3-21), 0.96 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H_3-28), 0.87 (6H, dd, $J=11.8, 6.8$ Hz, $H_3-26, 27$), 0.66 (3H, s, H_3-18)。 ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO): δ_C 142.39 (C-8), 135.63 (C-22), 131.83 (C-23), 117.64 (C-7), 75.56 (C-5), 72.81 (C-6), 67.00 (C-3), 55.98 (C-17), 54.51 (C-14), 43.6 (C-13), 43.30 (C-9), 42.97 (C-24), 40.45 (C-4), 39.32 (C-20), 39.08 (C-12), 36.74 (C-10), 32.99 (C-2), 32.52 (C-25), 30.35 (C-1), 27.80 (C-16), 22.63 (C-15), 21.64 (C-11), 20.28 (C-21), 19.09 (C-26), 18.70 (C-27), 17.53 (C-19), 16.84 (C-28), 11.43 (C-18)。以上化学位移值与 Piccialli & Sica (1987) 的报道一致，故确定该化合物为 cerevisterol。

化合物 **7**，白色粉末， $C_{40}H_{77}NO_4$ ，结构见图 3，ESI-MS: 683.0 m/z $[M+Na]^+$ ， 1H NMR

(600 MHz, $CDCl_3$): δ_H 7.22 (1H, d, $J=7.9$ Hz, N-H), 5.79 (1H, dt, $J=15.4, 6.1$ Hz, H-5), 5.52 (1H, dd, $J=15.4, 6.4$ Hz, H-4), 5.09 (1H, t, $J=6.5$ Hz, H-8), 4.32–4.25 (1H, m, H-3), 4.12 (1H, dd, $J=8.1, 3.7$ Hz, H-2'), 1.39–1.32 (m, 4H), 1.32–1.20 (多个 H, m), 0.88 (6H, t, $J=6.9$ Hz)。 ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): δ_C 175.1 (C-1'), 136.3 (C-9), 134.1 (C-5), 128.7 (C-4), 123.1 (C-8), 74.2 (C-3) 72.5 (C-2'), 62.2 (C-1), 54.3 (C-2), 39.7 (C-10), 34.7 (C-3'), 32.5 (C-6), 31.9 (C-17, C-18'), 29.8 (C-13), 29.7 (C-12), 29.6 (C-14~15, C-6'~16'), 29.58 (C-17', C-16), 29.5 (C-11), 29.4 (C-5'), 28.0 (C-7), 27.52 (C-4'), 22.72 (C-18, C-19'), 16.03 (C-20), 14.15 (C-19, C-20')。以上化学位移值与何细新等(2007)的报道一致，故确定该化合物为 (2S,3R,2'R,4E,8E)-N-(2'-hydroxyeicosanosyl)-9-methyl-1,3-dihydroxy-2-amino-4,8-nonadecadiene。

2.2 抗菌活性实验

2.2.1 抗病原菌活性实验

将立枯丝核菌、辣椒刺盘孢菌、霉菌寄生菌-I、粉红单端孢菌、禾谷镰孢菌、木霉菌、霉菌寄生菌-II 接种到含有不同浓度的 5 个化合物的平板后进行暗光培养 3–7 d，观察其菌丝生长情况(图 4)。实验结果表明，化合物 **1**、**2**、**3**、**6**、**7** 对辣椒刺盘孢菌、霉菌寄生菌-I、粉红单端孢菌的菌丝生长具有显著的抑制作用，处理浓度分别为 80、40、20 $\mu g/mL$ ；对立枯丝核菌、霉菌寄生菌-II 无抑制作用，对其余病原菌的抑制较弱。通过观察病原菌的生长情况，测量其菌落直径大小，活性结果见表 3。

2.2.2 抗结核分枝杆菌活性实验

为验证这 5 种化合物是否有抗结核分枝杆菌活性，本实验采用刃天青显色法，使用 Middlebrook 7H9 培养基对 5 个化合物进行活性测试，配制的药物浓度为 40 $\mu g/mL$ 和 80 $\mu g/mL$ 。化合物 **2** 的 MIC 值为 80 $\mu g/mL$ ，化合物 **7** 的 MIC 值为 40 $\mu g/mL$ (表 4)，实验结果表明，化合物 **2** 和 **7** 的抗结核分枝杆菌活性最佳(图 5)。

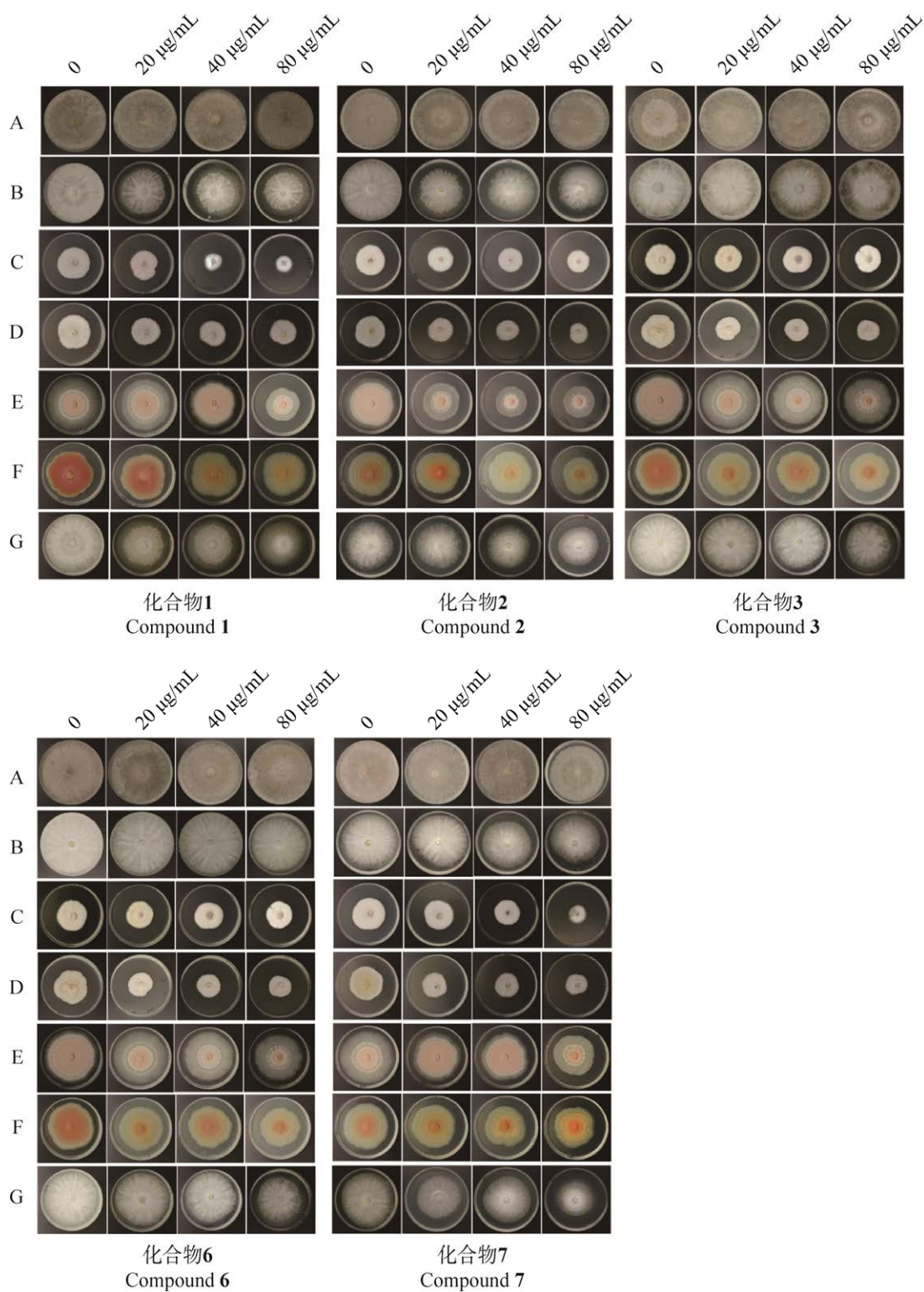


图 4 5 个化合物对立枯丝核菌(A)、霉菌寄生菌-II(B)、辣椒刺盘孢菌(C)、霉菌寄生菌-I(D)、粉红单端孢菌(E)、禾谷镰孢菌(F)、木霉菌(G)的菌丝生长抑制情况

Fig. 4 Inhibition of mycelial growth by five compounds against *Rhizoctonia solani* (A), *Hypomyces odoratus*-II (B), *Colletotrichum capsici* (C), *Hypomyces odoratus*-I (D), *Trichothecium roseum* (E), *Fusarium graminearum* (F), *Trichoderma* sp. (G).

表 3 化合物的抗菌活性

化合物	1	2	3	6	7
Compounds					
立枯丝核菌	-	-	-	-	-
<i>Rhizoctonia solani</i>					
霉菌寄生菌- II	-	-	-	-	-
<i>Hypomyces odoratus</i> - II					
辣椒刺盘孢菌	++ ^②	+ ^③	-	-	++ ^③
<i>Colletotrichum capsici</i>					
霉菌寄生菌- I	++ ^②	++ ^①	++ ^①	++ ^②	+ ^③
<i>Hypomyces odoratus</i> - I					
粉红单端孢菌	++ ^③	++ ^②	++ ^②	+ ^③	+ ^③
<i>Trichothecium roseum</i>					
禾谷镰孢菌	+ ^③	+ ^①	+ ^③	+ ^③	+ ^③
<i>Fusarium graminearum</i>					
木霉菌 <i>Trichoderma</i> sp.	-	-	+ ^③	+ ^③	+ ^③

注：++代表有活性，+代表活性较弱，-为无活性。①代表 20 μg/mL，②代表 40 μg/mL，③代表 80 μg/mL

Note: ++ is regarded as having activity, + is regarded as having weak activity, - is regarded as having no activity. ① is regarded as 20 μg/mL, ② is regarded as 40 μg/mL, ③ is regarded as 80 μg/mL.

表 4 化合物对结核分枝杆菌的抑制活性

化合物	活性测试结果	
Compounds	Activity test results	
	40 μg/mL	80 μg/mL
1	-	-
2	-	+
3	-	-
6	-	-
7	+	+
阴性对照	-	
(5% DMSO)		
Negative control		
(5% DMSO)		
阳性对照	+	
(0.25 μg/mL 异烟肼)		
Positive control		
(0.25 μg/mL isoniazid)		

注：+为有抑菌活性，-为无抑菌活性

Note: + is regarded as having antibacterial activity, - is regarded as having no antibacterial activity.

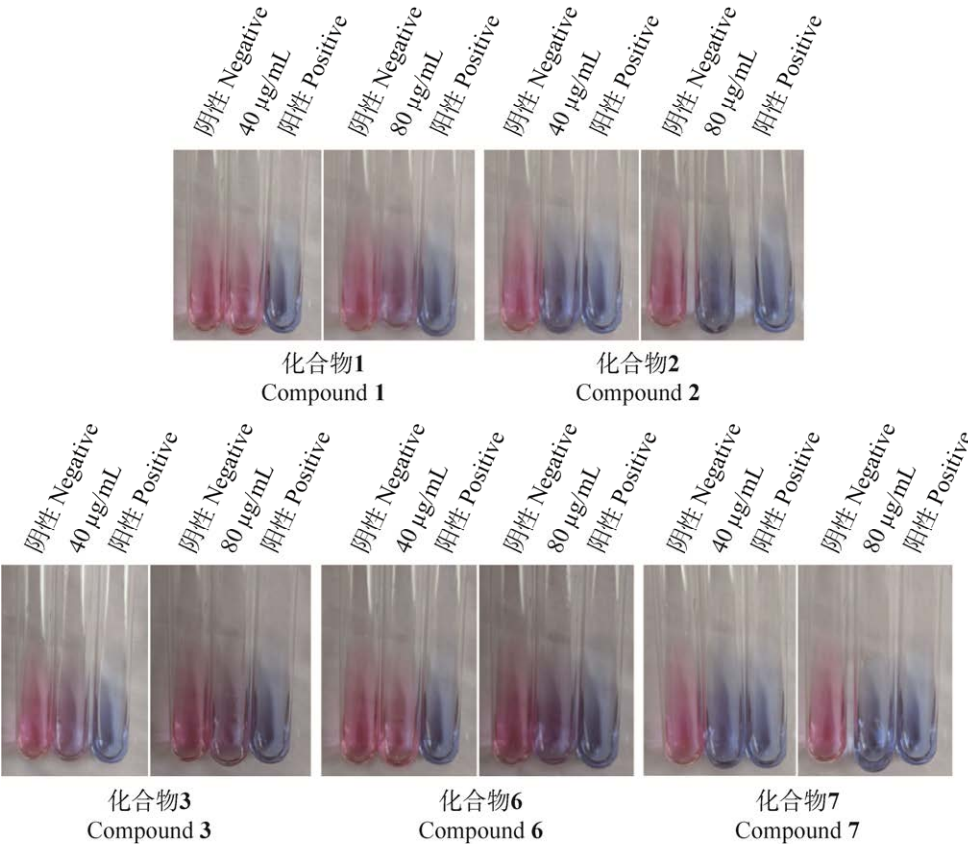


图 5 5 个化合物对结核分枝杆菌的抑制活性结果

Fig. 5 Results of inhibitory activity of five compounds against *Mycobacterium tuberculosis*.

3 讨论

本研究利用多种色谱及现代波谱技术对虫生真菌棒状紫孢菌 *Purpureocillium clavatum* 的次级代谢产物进行研究,首次从该菌株中分离得到 7 个化合物。包含 4 个甾体类化合物,分别是 ergosterol (1)、dankasterone B (2)、5 α ,8 α -epidioxy-(20S,22E,24R)-ergosta-6,22-diene-3 β -ol (3)、cerevisterol (6); 甾体类化合物为第二大上市药物 (Hu *et al.* 2017), 其衍生药物被广泛用于治疗风湿病、肺病、免疫学和传染病,并在器官移植的免疫抑制治疗 (Klein *et al.* 2001) 中发挥了重要作用。1 个鞘胺醇类化合物: (2S,3R,2'R,4E,8E)-N-(2'-hydroxyeicosanosyl)-9-methyl-1,3-dihydroxy-2-amino-4,8-nonadecadiene (7); 化合物 7 是从海洋生物乌绿草虫软珊瑚中分离得到的鞘胺醇-正十六碳酰胺,对癌细胞系 KA3IT (IC₅₀≈10 μ g/mL) 均表现出明显的活性,并且对正常细胞 NIH3T3 的细胞毒性较小 (Ayyad *et al.* 2009)。1 个其他类化合物为 2,2'-oxybis(1,4)-di-tert-butylbenzene (4); 从棒状紫孢菌中分离得到的化合物 4 (2,2-氧代双-1,4-二叔丁苯) 是一种新型抗菌药物,对海洋病原副溶血弧菌的 T3SS 基因表达具有显著的抑制作用,且不影响病原菌生长,但能有效降低其致病性 (王慧等 2022); 1 个萜类新化合物: purcilliumene A (5); 萜类化合物种类繁多,广泛存在于自然界。萜类是许多植物的重要化学成分,也是众多微生物的次级代谢产物。已经被作为抗肿瘤、抗菌以及许多通用型药物 (Hanson 2012; 滕李铭等 2021; 曾凡清等 2023; 周一鸣等 2023; 郭晓宇等 2024)。

本研究对 5 个化合物进行了抗菌活性实验,结果显示,化合物 1、2、3、6、7 对在水稻上引起水稻纹枯病的立枯丝核菌无抑制效果,对引起羊肚菌蛛网病的霉菌寄生菌-II 病原菌也无抑制作用; 但化合物 1 对在辣椒、羊肚菌、小麦上引发的辣椒刺盘孢菌、霉菌寄生菌-I、粉红单端

孢菌、禾谷镰孢菌、木霉菌均有抑制作用,其中对辣椒刺盘孢菌、霉菌寄生菌-I 病原菌的菌丝生长抑制效果显著,且处理浓度均在 40 μ g/mL; 当化合物 2 的处理浓度分别为 20 μ g/mL 和 40 μ g/mL 时,显著抑制羊肚菌上出现的霉菌寄生菌-I、粉红单端孢菌病原菌的菌丝生长; 化合物 3、6 对霉菌寄生菌-I 的抑制作用最为明显,且抑制浓度分别为 20 μ g/mL 和 40 μ g/mL,对小麦、辣椒上的病原菌的抑制作用甚微; 化合物 7 对辣椒刺盘孢菌、霉菌寄生菌-I、粉红单端孢菌、禾谷镰孢菌、木霉菌、霉菌寄生菌-II 均有抑制作用。化合物 2 和 7 对结核分枝杆菌均有抑制作用,其 MIC 值分别为 80 μ g/mL 和 40 μ g/mL。初步的实验结果表明,棒状紫孢菌在人类用药和生物防治方面值得深入研究。未来的研究将聚焦于挖掘其生物活性化合物的医药应用潜力,以及提高其在农业领域的生物防治效果,为人类健康和农业生产带来更多的益处。

作者贡献

王易: 论文构思与撰写、实验、数据管理; 张娴: 解析新化合物、论文修改; 彭兴灿: 提供菌种、论文修改; 肖沅婷: 提供菌种; 杨雨: 提供菌种; 刘正慧: 提供菌种、论文修订; 黄启凤: 提供菌种; 文庭池: 论文修订。

利益冲突

作者声明,该研究不存在任何潜在利益冲突的商业或财务关系。

[REFERENCES]

- Abraham WR, Ernst L, Stumpf B, Arfmann HA, 1989. Microbial hydroxylations of bicyclic and tricyclic sesquiterpenes. *Journal of Essential Oil Research*, 1: 19-27
- Amagata T, Tanaka M, Yamada T, Doi M, Minoura K, Ohishi H, Yamori T, Numata A, 2007. Variation in cytostatic constituents of a sponge-derived *Gymnascella*

- dankaliensis* by manipulating the carbon source. Journal of Natural Products, 70(11): 1731-1740
- Araújo JPM, Moriguchi MG, Uchiyama S, Kinjo N, Matsuura Y, 2021. *Ophiocordyceps salganeicola*, a parasite of social cockroaches in Japan and insights into the evolution of other closely-related blattodea-associated lineages. IMA Fungus, 12: 3
- Ayyad SEN, Bahaffi SOS, Hashish NE, 2009. Isolation and structure determination of the biologically active sphingolipids from marine sponge *Haliclona* species. Natural Product Research, 23(1): 44-50
- Chen AH, Shao Y, Li JW, Jiang ZZ, Chen HW, 2015. Antitumor activity of artificially cultivated *Isaria cicadae*. Food Science, 36: 194-197 (in Chinese)
- Chen L, An LG, 2009. Immunomodulatory effects of *Cordyceps* polysaccharides and their antitumor activities. Journal of Shandong Normal University (Natural Science Edition), 24: 109-112 (in Chinese)
- Chen W, Hu QB, 2021. Secondary metabolites of *Purpureocillium lilacinum*. Molecules, 27: 18
- Chiu CP, Liu SC, Tang CH, Chan Y, El-Shazly M, Lee CL, Du YC, Wu TY, Chang FR, Wu YC, 2016. Anti-inflammatory cerebroside from cultivated *Cordyceps militaris*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64(7): 1540-1548
- Dong HM, Chen JX, Cai YX, Tian LX, Yang ZC, 2024. Compounds derived from 5-fluoropyridine and benzo [b] thiophene: killing *Mycobacterium tuberculosis* and reducing its virulence. Chemistry & Biodiversity, 21: e202401191
- Guo XY, Cheng CL, Teng LM, Yuan Y, Zhang JS, Pan XH, Pan F, Dai YC, Feng N, 2024. Triterpenoids identified from the fermented mycelia of *Ganoderma tsugae* (Polyporales, Basidiomycota). Mycosystema, 43(7): 230364 (in Chinese)
- Hanson JR, 2012. Diterpenoids of terrestrial origin. Natural Product Reports, 29(8): 890-898
- Hao ZT, Hao XH, Yan J, Xie BY, Liang LQ, 2018. Progress in the study of secondary metabolites of *Purpureocillium lilacinum*. Biotechnology Bulletin, 34(10): 11 (in Chinese)
- He XX, Yan SJ, Su JY, Zeng LM, 2007. The secondary metabolite of the soft coral *Cespitularia cocerulea* May (II). Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 46(4): 116-118 (in Chinese)
- Hu Z, Wu Y, Xie S, Sun W, Guo Y, Li XN, Liu JJ, Li H, Wang JP, Luo ZW, Xue Y, Zhang Y, 2017. Phomosterones A and B, two functionalized ergostane-type steroids from the endophytic fungus *Phomopsis* sp. TJ507A. Organic Letters, 19(1): 258-261
- Kil YS, Risinger AL, Petersen CL, Mooberry SL, Cichewicz RH, 2020. Leucinostatins from *Ophiocordyceps* spp. and *Purpureocillium* spp. demonstrate selective antiproliferative effects in cells representing the luminal androgen receptor subtype of triple negative breast cancer. Journal of Natural Products, 83(6): 2010-2024
- Klein NC, Go CH, Cunha BA, 2001. Infections associated with steroid use. Infectious Disease Clinics of North America, 15(2): 423-432
- Kobori M, Yoshida M, Ohnishi-Kameyama M, Takei T, Shinmoto H, 2006. 5 α ,8 α -epidioxy-22E-ergosta-6,9(11), 22-trien-3 β -ol from an edible mushroom suppresses growth of HL60 leukemia and HT29 colon adenocarcinoma cells. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 29(4): 752-759
- Le TH, Thi Tran TV, Tran VK, Vu Ho XA, Tran TM, Chau Nguyen DG, Chuong Nguyen TH, Varma RS, Trinh TK, Ho TT, Hac Nguyen TB, Ahamad T, Nguyen CC, Le QV, 2022. Structural characterization of mannoglucan isolated from *Ophiocordyceps sobolifera* and its antioxidant activities. ACS Omega, 7(11): 9397-9405
- Liu JB, Liu K, Liu CY, Qi M, Du YR, Hu KH, Fu JS, 2018. Identification of seven wild cordycipitoid fungal strains and inhibiting activities of their mycelium ethanol extract against HepG2 cells. Mycosystema, 37(8): 1044-1053 (in Chinese)
- Lu RL, Liu XX, Gao S, Zhang WC, Peng F, Hu FL, Huang B, Chen LY, Bao GH, Li CR, Li ZZ, 2014. New tyrosinase inhibitors from *Paecilomyces gunnii*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62(49): 11917-11923
- Min JY, Park SY, Shim SH, 2014. Chemical constituents from marine-derived fungus *Penicillium glabrum*. Korean Journal of Pharmacognosy, 45(2): 101-106
- Piccialli V, Sica D, 1987. Four new trihydroxylated sterols from the sponge *Spongionella gracilis*. Journal of Natural Products, 50(5): 912-1220
- Rabie AM, 2022. Potent inhibitory activities of the adenosine analogue cordycepin on SARS-CoV-2 replication. ACS Omega, 7: 2960-2969
- Sun BN, Shen HD, Wu HX, Cui F, Yao LX, Cheng ZQ, Diao Y, 2014. Chemical constituents of *Onchidium struma* from Chongming island, Shanghai. Natural Product Research and Development, 26(7): 987-989 (in Chinese)
- Sun Y, Yuan CM, Xu SY, Li YY, Yang XB, Wen TC, Zhou K, 2022. An unprecedented tetracyclic diterpenoid with anti-inflammatory activity from *Papiliomyces* sp. Tetrahedron Letters, 93: 153680
- Tang GM, Zhang L, Wei Y, Fu J, Chen HQ, Zhang XQ, Mei WL, Dai HF, Guo ZY, 2024. Alkaloid secondary metabolites from a plant endophytic fungus *Purpureocillium lilacinum*. Mycosystema, 43(4): 230282

- (in Chinese)
- Teng LM, Tian XM, Wu F, Dai YC, 2021. A comparison of triterpenoids and polysaccharides in 13 species of wild *Ganoderma*. *Mycosystema*, 40: 1811-1819 (in Chinese)
- Wang H, Cai RL, Feng H, Gan YL, Chen YL, 2022. Preparation and application of 2,2-oxybis (1,4-ditertbutylbenzene): CN115028518. 2022-06-30 (in Chinese)
- Wang P, 1999. Anti-tumor drugs—pentostatin. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 34: 680 (in Chinese)
- Wen TC, Kang C, Wang F, Liang DQ, Kang JC, 2016a. Enhanced polysaccharide production in mycelium of *Ganoderma atrum* by solid-state fermentation. *Mycosphere*, 7(6): 757-765
- Wen TC, Wei DP, Long FY, Zeng XY, Kang JC, 2016b. Multigene phylogeny and HPLC analysis reveal fake *Ophiocordyceps sinensis* in markets. *Mycosphere*, 7(6): 844-857
- Xia YL, Luo FF, Shang YF, Chen PL, Lu YZ, Wang CS, 2017. Fungal cordycepin biosynthesis is coupled with the production of the safeguard molecule pentostatin. *Cell Chemical Biology*, 24: 1479-1489
- Xiao YP, Eleni G, Hyde KD, Kang JC, Lu YZ, Yang Y, Brooks S, Wei DP, Zhou SX, Sun JZ, Luo ZL, Long FY, Wen TC, 2025. Monograph of *Ophiocordycipitaceae*. *Mycosphere* (In press)
- Xiao YP, Wang YB, Hyde KD, Eleni G, Sun JZ, Yang Y, Meng J, Yu H, Wen TC, 2023. Polyccephalomycetaceae, a new family of clavicipitoid fungi segregates from *Ophiocordycipitaceae*. *Fungal Diversity*, 120: 1-76
- Xu R, Liu ZH, Fu YP, Li Y, 2019. Identification and biological characteristics of *Cladobotryum mycophilum* causing cobweb disease on *Ganoderma lingzhi*. *Mycosystema*, 38(5): 669-678 (in Chinese)
- Xu ZH, 2020. Taxonomy and phylogeny of the genus *Nematoda* in Vietnam. MS Thesis, Yunnan University, Kunming. 1-96 (in Chinese)
- Zeng FQ, Lü ML, Xue ZW, Feng N, 2023. Analysis of 18 main triterpenoids in basidiomata of *Ganoderma lingzhi* by HPLC. *Mycosystema*, 42(11): 2309-2319 (in Chinese)
- Zhang M, Huang KL, Lu J, Gui MY, Sheng J, Ma X, 2024. Mechanisms of proliferation, migration and apoptosis of 786-O and ACHN renal carcinoma cell lines stimulated by cordycepin. *Mycosystema*, 43(4): 230217 (in Chinese)
- Zheng QW, Sun J, Li WL, Li SN, Zhang K, 2020. Cordycepin induces apoptosis in human tongue cancer cells *in vitro* and has antitumor effects *in vivo*. *Archives of Oral Biology*, 118: 104846
- Zhou YM, Qi JZ, Duan YC, Zhao M, Liu CW, 2023. Research progress of the biosynthesis of diterpenoids in macro-basidiomycetes. *Mycosystema*, 42(1): 101-117 (in Chinese)
- [附中文参考文献]
- 陈安徽, 邵颖, 李继武, 蒋昭志, 陈宏伟, 2015. 人工培育蝉花虫草的抗肿瘤活性. *食品科学*, 36: 194-197
- 陈露, 安利国, 2009. 虫草多糖的免疫调节作用及其抗肿瘤活性的研究. *山东师范大学学报(自然科学版)*, 24: 109-112
- 郭晓宇, 程池露, 滕李铭, 员媛, 张劲松, 潘新华, 潘峰, 戴玉成, 冯娜, 2024. 松杉灵芝发酵菌丝体中的三萜化合物. *菌物学报*, 43(7): 230364
- 郝泽婷, 郝晓慧, 阎婧, 谢丙炎, 梁雨琴, 2018. 淡紫拟青霉次级代谢产物的研究进展. *生物技术通报*, 34(10): 11
- 何细新, 闫素君, 苏镜娱, 曾陇梅, 2007. 乌绿草虫软珊瑚的次生代谢物研究(II). *中山大学学报(自然科学版)*, 46(4): 116-118
- 刘建兵, 刘昆, 刘城移, 戚梦, 杜苑如, 胡开辉, 傅俊生, 2018. 7 株野生虫草菌的鉴定及其菌丝体醇提取物对 HepG2 细胞的抑制活性. *菌物学报*, 37(8): 1044-1053
- 孙变娜, 沈和定, 吴洪喜, 崔峰, 姚理想, 程知庆, 刁亚, 2014. 崇明岛瘤背石磺的化学成分研究. *天然产物研究与开发*, 26(7): 987-989
- 唐官美, 张丽, 韦媛, 付姣, 陈惠琴, 张雪晴, 梅文莉, 戴好富, 郭志勇, 2024. 植物内生真菌 *Purpureocillium lilacinum* 的生物碱类次级代谢产物. *菌物学报*, 43(4): 230282
- 滕李铭, 田雪梅, 吴芳, 戴玉成, 2021. 13 种野生灵芝菌丝体中胞内三萜与多糖含量的比较. *菌物学报*, 40: 1811-1819
- 王慧, 蔡润林, 冯浩, 甘永亮, 陈悦蓉, 2022. 2,2 氧代双-1,4-二叔丁苯的制备及应用: CN115028518. 2022-06-30
- 王鹏, 1999. 抗肿瘤药——喷司他丁. *中国药学杂志*, 34: 680
- 许蓉, 刘正慧, 付永平, 李玉, 2019. 灵芝蛛网病病原菌及其生物学特性. *菌物学报*, 38(5): 669-678
- 徐志鸿, 2020. 越南线虫草属分类与系统发育研究. 云南大学硕士论文, 昆明. 1-96
- 曾凡清, 吕明亮, 薛振文, 冯娜, 2023. 灵芝子实体中 18 种主要三萜成分的高效液相分析. *菌物学报*, 42(11): 2309-2319
- 张明, 黄开兰, 卢娟, 桂明英, 盛军, 马啸, 2024. 虫草素对 786-O 和 ACHN 肾癌细胞系增殖、迁移和凋亡机制探究. *菌物学报*, 43(4): 230217
- 周一鸣, 祁建钊, 段应策, 赵敏, 刘成伟, 2023. 大型担子菌中二萜化合物生物合成研究进展. *菌物学报*, 42(1): 101-117