



國立臺灣大學生命科學院漁業科學研究所

博士論文

Institute of Fisheries Science

College of Life Science

National Taiwan University

Doctoral Dissertation

濱海藥用植物馬氏濱藜 (*Atriplex maximowicziana*) 之衍生真菌  
菌株的活性成分和天然物之策略開發

Bioactive constituents from littoral medicinal herb *Atriplex*  
*maximowicziana*-derived fungi and the strategic development of  
natural products

張家豪

Chia-Hao Chang

指導教授：李宗徽 博士

Advisor: Tzong-Huei Lee, Ph.D.

中華民國 114 年 1 月

January, 2025

國立臺灣大學碩(博)士學位論文  
口試委員會審定書



DOCTORAL DISSERTATION ACCEPTANCE CERTIFICATE  
NATIONAL TAIWAN UNIVERSITY

濱海藥用植物馬氏濱藜 (*Atriplex maximowicziana*) 之衍生真菌株的活性成分和

天然物之策略開發

Bioactive constituents from littoral medicinal herb *Atriplex maximowicziana*-derived  
fungus and the strategic development of natural products

本論文係 張家豪 (姓名) f07b45008 (學號) 在國立臺灣大學 漁業科學  
研究 (系/所/學位學程) 完成之博士學位論文，於民國 114 年 1 月 17 日

承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明。

The undersigned, appointed by the Department / Graduate Institute of Fisheries Science  
on 17 (date) Jan. (month) 2025 (year) have examined a Doctoral Dissertation  
entitled above presented by Chia-Hao Chang  
(name) f07b45008 (student ID) candidate and hereby certify that it is worthy of  
acceptance.

口試委員 Oral examination committee:

李宗徽 陳日榮 張麗冠

(指導教授 Advisor)

李慶國 蕭哲志 王士維

李慶國

系(所、學位學程)主管 Director:

李宗徽



## 致謝

時光荏苒，一路從漁科所碩班並逕升博班就讀的日子裡，在李宗徽老師門下學習已然過了七年，不論是在學術研究乃至待人接物上，宗徽老師皆會給予不遺餘力的指教與提攜，不管是在實驗上遇到狀況、在生活上身體抱病微恙、參加舉辦在愛爾蘭的國際研討會甚至是在瑞士日內瓦大學藥學系學術交流的半年裡，宗徽老師總是替我瞻前顧後，協助我解決遇到的難題，能夠師從這樣一位光風霽月且亦師亦父的老師，實屬是我人生中莫大的福氣。


由衷感謝研究生涯上相互扶持的伙伴們，在我尚未正式入學前，向采艷學姊討教取經，采艷學姊從實驗原理、步驟流程和可能碰到的狀況皆鉅細靡遺地傾囊相授；在共同計畫的執行上，孟炫學長給予實驗設計和軟體使用的提點；在實驗設備需要外援之際，勝嘉學長鼎力相助；在個人設備更新所需，和澄學長慷慨解囊；在各種學術交流研討會，素容學姊提供相關資料；在核磁共振實驗操作和資料處理，家瑋學姊盡心盡力給予支援；在實驗室資料溯源，渤維學長、明憲學長和信樺學長將來龍去脈一一告知；在求「食」若渴的日子裡，同窗的浩銘一同探索；在活性平台試驗之操作和數據產出，姝容不辭辛勞協助進行；在分子網絡的操作與創建，子緯總是指點迷津；在生活的自得其樂，逸潔、曉陽、亮毅、本叡、敬安和敏儀你們的共同參與，增添了許多樂趣；在實驗室環境維護和打理，慧蓮、致萱、淑媛、翊扉和芸榕的共同協助，使之井然有序。尤其是逸潔和芸榕，感謝妳們和我一同將馬氏濱藜之衍生真菌株的研究加深加廣，使得有豐碩的成果。

謝謝台北醫學大學生藥學研究所李慶國老師和藥理學科蕭哲志老師、國立金門大學食品科學系季偉瓊老師、國立陽明交通大學藥學系陳日榮老師、馬偕醫學院王士維老師和國立臺灣大學生化科技學系張麗冠老師撥冗前來擔任我的口試委員，給予寶貴的經驗、見解和指教，使我的論文愈臻完善。最後對於家人們自始至終給予的包容和支持，讓我能夠專心致志於讀研的路上，實屬千思萬謝！

## 中文摘要



從台灣金門和彰化海岸採集的濱海藥用植物—馬氏濱藜 (*Atriplex maximowcziana* Makino) 中，分離並純化出 1,534 株真菌。接著以紙錠擴散法 (disk-diffusion method)，從真菌株粗萃物中篩選具有抗人體致病菌—金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* YC981)、白色念珠菌 (*Candida albicans* SC5314)、大腸桿菌 (*Escherichia coli* DH5 $\alpha$ ) 及新型隱球菌 (*Cryptococcus neoformans* H99) 等致病菌活性的化合物，結果發現，其中 39 株在 1 mg/mL 的濃度下具有顯著的抗菌活性，進一步挑選具開發潛力的真菌株進行後續研究，首先以 DNA 定序確認真菌株的分類位階，已初步完成 32 株真菌的鑑種，並由後續各種活性平台的評估，例如：抗病毒、抗發炎、抗血管新生、細胞毒性等，發現 *Curvularia intermedia* Km0855 和 *Chaetomium globosum* Km1226 具有抑制第四型人類皰疹病毒活性，其抑制百分比分別為 4%和 17%；*C. intermedia* Km0855、*Fusarium* sp. Km1163、*C. globosum* Km1226、*Alternaria* sp. Km1934、*Cochliobolus* sp. Km1956、*Fusarium* sp. Km 2117 和 *Fusarium* sp. Km 2277 具有抑制人類內皮源細胞血管新生活性，其抑制百分比分別為 1%、<0%、<0%、4%、<0%、2%和 4%；在小鼠神經膠質 BV-2 細胞上，*Neocamarosporium* sp. Km1910 和 *Cochliobolus* sp. Km1996 並無細胞毒性，且具有顯著抑制 NO 產生的活性，其抑制百分比分別為 35%和 78%，藉由這些數據的呈現，決定以一株多化合物策略 (one strain-many compounds, OSMAC) 對其中具潛力的 100 株真菌株進行小量培養，再針對其發酵所含之代謝產物以液相層析串聯質譜儀 (LC-MS/MS) 進一步分析，並使用 MZmine、全球天然物社群分子網絡 (GNPS) 和 Cytoscape 建立可視化和註釋非靶向質譜數據的分子網絡 (MN)，繪製複雜樣本的化學空間圖，以促進有潛力真菌株和分子的發現，依序將 *C. globosum* Km1226、*C. intermedia* Km0855 和 *Stemphylium lycopersici* Km1578 以 OSMAC 策略進行大量培養，再針對其發酵液所含之代謝產物以管柱 (CC) 和高效液相層析



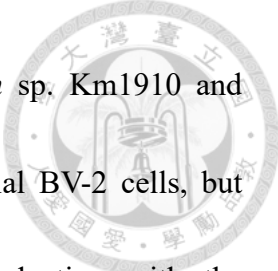
儀 (HPLC) 進行分析、分離與純化，接著以核磁共振儀 (NMR) 作為主要的工具確認化合物的分子結構，搭配質譜 (MS)、紅外光譜 (IR)、結晶繞射 (X-ray) 和紫外光譜 (UV) 等數據佐證結構的正確性，共得到 24 種聚酮體 (polyketide)、4 種大環內脂 (macrocyclic lactone) 和 7 種生物鹼 (alkaloid)，包含 3 個新化合物 aureonitol C (**1**) 和 mollipilins G 和 H (**2** 和 **3**)，以及 32 個已知化合物 aureonitol (**4**)、mollipilins A 和 F (**5** 和 **6**)、aureonitol A (**7**)、chaetoglobosins A–F (**8–13**)、aureochaetoglobosins B 和 C (**14** 和 **15**)、dihydrocoarctatin (**16**)、coarctatin (**17**)、chaetoviridin A (**18**)、chaetomugilin A (**19**)、chaetomugilin D (**20**)、11-epichaetomugilin A (**21**)、12 $\beta$ -hydroxychaetoviridin C (**22**)、(+)-(11*S*, 15*R*)-11-hydroxycurvularin (**23**)、(+)-(11*R*, 15*R*)-11-hydroxycurvularin (**24**)、(*S*)-dehydrocurvularin (**25**)、curvularin (**26**)、lunatin (**27**)、rheomodol (**28**)、3,11 $\alpha$ ,12 $\beta$ ,13 $\beta$ ,16-pentahydroxy-11,12-dihydroperylene-6(13*H*)-one (**29**)、altersolanol A (**30**)、auxarthrol C (**31**)、infectopyrone (**32**)、stemphyloxin II (**33**)、stemphyloxin I (**34**) 和 stemphyperyleneol (**35**)，其中化合物 **5** 在小鼠神經膠質 BV-2 細胞上具有顯著抑制 NO 產生的效果，其半抑制濃度 (IC<sub>50</sub>) 為 0.7 ± 0.1  $\mu$ M；化合物 **8** 在人類大腸直腸癌 HCT-116 細胞上具有顯著細胞毒性，其 IC<sub>50</sub> 為 3.0 ± 0.1  $\mu$ M；化合物 **11** 在人類內皮源細胞上具有顯著抗血管新生活性，其 IC<sub>50</sub> 為 0.8 ± 0.3  $\mu$ M；化合物 **23–25** 在 EBV 上具有抑制效果，其 EC<sub>50</sub> 值介於 1.6 至 3.5  $\mu$ M，且化合物 **23** 的選擇指數 (SI) 為 8.5；化合物 **29** 在 *Staphylococcus aureus* NEWMAN 具有顯著的抑制作用，其最低抑菌濃度測定 (MIC) 值為 4.0  $\mu$ g/mL。

關鍵詞：馬氏濱藜、內生真菌、一株多化合物策略、分子網絡、抗發炎、抗血管新生、抗病毒

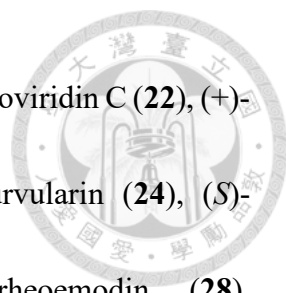
## 英文摘要



1,534 fungal strains were isolated from the littoral medicinal herb *Atriplex maximowicziana* Makino collected from Kinmen and Changhua coast, Taiwan. Using disk-diffusion method for the screening of antimicrobial activities from the ethyl acetate extract of the bioactivities of fungal strains against *Staphylococcus aureus* YC981, *Escherichia coli* DH5 $\alpha$ , *Candida albicans* SC5314 and *Cryptococcus neoformans* H99. The 39 fungal strains were found to exhibit significant antimicrobial activities at a concentration of 1 mg/mL, and selected the more potential fungal strains for in-depth study. Firstly, by using polymerase chain reaction to determine the fungal strains DNA sequences, 32 fungal strains already have been determined their taxonomy. In order to develop leading drug candidates, various biological activities (anti-virus, anti-inflammatory activity, anti-angiogenesis and cytotoxicity etc.) tests were practiced. *Curvularia intermedia* Km0855 and *Chaetomium globosum* Km1226 exhibited significant human herpesvirus 4 (HHV-4) inhibitory activity with the percentage of inhibition were 4% and 17%, respectively; *C. intermedia* Km0855, *Fusarium* sp. Km1163, *C. globosum* Km1226, *Alternaria* sp. Km1934, *Cochliobolus* sp. Km1956, *Fusarium* sp. Km 2117 and *Fusarium* sp. Km 2277 exhibited significant anti-angiogenesis activity in human endothelial progenitor cells with the percentage of inhibition were 1%、<0%、



<0%、4%、<0%、2% and 4%, respectively; *Neocamarosporium* sp. Km1910 and *Cochliobolus* sp. Km1996 showed no cytotoxicity toward microglial BV-2 cells, but exhibited significant inhibitory activity of LPS-induced NO production with the percentage of inhibition were 35% and 78%, respectively. Therefore, potential 100 fungal strains were investigated intensively by applying OSMAC strategy. The secondary metabolites contained in the fermentation were further analyzed using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The MS<sup>2</sup> data were generated by MZmine, Global Natural Product Social Molecular Networking (GNPS) and Cytoscape to build molecular networking (MN) for visualizing and annotating non-targeted mass spectrometry data. It was used to map the chemical space of complex samples to facilitate the discovery of potential fungal strain and new molecule. The fungal strain *C. globosum* Km1226, *C. intermedia* Km0855 and *Stemphylium lycopersici* Km1578 were further cultured by OSMAC strategy for scale-up, resulted in the isolation of compounds **1–35**. Their structures were determined by spectroscopic analysis as 24 polyketides, 4 macrocyclic lactone and 7 alkaloids, including three previously undescribed C<sub>13</sub>-polyketides, namely aureonitol C (**1**), mollipilins G and H (**2** and **3**), along with thirty-two known compounds, aureonitol (**4**)、mollipilins A and F (**5** and **6**), aureonitol A (**7**), chaetoglobosins A–F (**8–13**), aureochaeglobosins B and C (**14** and **15**), dihydrocoarctatin (**16**), coarctatin (**17**), chaetoviridin A (**18**), chaetomugilin A (**19**),



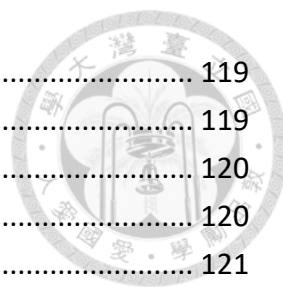
chaetomugilin D (**20**), 11-epichaetomugilin A (**21**), 12 $\beta$ -hydroxychaetoviridin C (**22**), (+)-(11*S*,15*R*)-11-hydroxycurvularin (**23**), (+)-(11*R*,15*R*)-11-hydroxycurvularin (**24**), (*S*)-dehydrocurvularin (**25**), curvularin (**26**), lunatin (**27**), rheoemodin (**28**), 3,11 $\alpha$ ,12 $\beta$ ,13 $\beta$ ,16-pentahydroxy-11,12-dihydroperylene-6(13*H*)-one (**29**), altersolanol A (**30**), auxarthrol C (**31**), infectopyrone (**32**), stemphyloxin II (**33**), stemphyloxin I (**34**), stemphyperyleneol (**35**). Among these, **6** exhibited significant LPS-induced NO production inhibitory activity with an IC<sub>50</sub> value of 0.7  $\pm$  0.1  $\mu$ M in microglial BV-2 cells; **8** showed potent cytotoxic activity with an IC<sub>50</sub> value of 3.0  $\pm$  0.1  $\mu$ M in HCT-116; **11** exhibited significant anti-angiogenesis activity with an IC<sub>50</sub> value of 0.8  $\pm$  0.3  $\mu$ M in human endothelial progenitor cells; **23–25** showed good antiviral activities against EBV with the EC<sub>50</sub> values of 1.6 to 3.5  $\mu$ M, especially selectivity index of **23** was 8.5; **29** exhibited significant antimicrobial activity with minimum inhibitory concentration value of 4.0  $\mu$ g/mL against *Staphylococcus aureus* NEWMAN.

Keywords: *Atriplex maximowcziana*, endophytic fungi, OSMAC, molecular networking, anti-inflammation; anti-angiogenesis, antiviral

# 目次



口試委員會審定書 .....	i
中文摘要 .....	iii
英文摘要 .....	v
圖次 .....	xi
表次 .....	xiv
縮寫表 .....	xv
第一章 緒論與研究目的 .....	1
1.1 緒論 .....	1
1.2 研究目的 .....	9
第二章 文獻回顧 .....	17
2.1 球毛殼菌 ( <i>Chaetomium globosum</i> ) 分類學與來源介紹 .....	17
2.2 球毛殼菌 ( <i>Chaetomium globosum</i> ) 真菌成分 .....	17
第三章 實驗結果 .....	62
3.1 真菌二次代謝產物萃取與分離流程 .....	62
3.1.1 <i>Chaetomium globosum</i> Km1226 之培養與分離流程 .....	62
3.2 一株多化合物策略運用與潛力二次代謝產物開發流程 .....	66
3.2.1 <i>Chaetomium globosum</i> Km1226 之基於培養方式改變 .....	66
3.2.2 <i>Chaetomium globosum</i> Km1226 之基於培養成分修改 .....	68
3.2.3 <i>Chaetomium globosum</i> Km1226 之添加表觀遺傳修飾劑 .....	70
3.2.4 具潛力菌株 <i>Curvularia intermedia</i> Km0855 之應用 .....	75
3.3 天然物結構解析 .....	84
3.3.1 Aureonitol C (1) 之結構解析 .....	84
3.3.2 Mollipilin G (2) 之結構解析 .....	93
3.3.3 Mollipilin H (3) 之結構解析 .....	102
3.3.4 Aureonitol (4) 之結構數據 .....	108
3.3.5 Mollipilin A (5) 之結構數據 .....	109
3.3.6 Mollipilin F (6) 之結構數據 .....	110
3.3.7 Aureonitol A (7) 之結構數據 .....	111
3.3.8 Chaetoglobosin A (8) 之結構數據 .....	112
3.3.9 Chaetoglobosin B (9) 之結構數據 .....	113
3.3.10 Chaetoglobosin C (10) 之結構數據 .....	114
3.3.11 Chaetoglobosin D (11) 之結構數據 .....	115
3.3.12 Chaetoglobosin E (12) 之結構數據 .....	116
3.3.13 Chaetoglobosin F (13) 之結構數據 .....	117
3.3.14 Aureochaeglobosin B (14) 之結構數據 .....	118



3.3.15 Aureochaeglobosin C (15) 之結構數據	119
3.3.16 Dihydrocoarctatin (16) 之結構數據	119
3.3.17 Coarctatin (17) 之結構數據	120
3.3.18 Chaetoviridin A (18) 之結構數據	120
3.3.19 Chaetomugilin A (19) 之結構數據	121
3.3.20 Chaetomugilin D (20) 之結構數據	121
3.3.21 11- <i>Epichaetomugilin</i> A (21) 之結構數據	122
3.3.22 12 $\beta$ -Hydroxychaetoviridin C (22) 之結構數據	122
3.3.23 (+)-(11 <i>S</i> ,15 <i>R</i> )-11-Hydroxycurvularin (23) 之結構數據	123
3.3.24 (+)-(11 <i>R</i> ,15 <i>R</i> )-11-Hydroxycurvularin (24) 之結構數據	124
3.3.25 ( <i>S</i> )-Dehydrocurvularin (25) 之結構數據	125
3.3.26 Curvularin (26) 之結構數據	126
3.3.27 Lunatin (27) 之結構數據	127
3.3.28 Rheoemodin (28) 之結構數據	128
3.3.29 3,11 $\alpha$ ,12 $\beta$ ,13 $\beta$ ,16-Pentahydroxy-11,12-dihydroperylene-6(13 <i>H</i> )-one (29) 之結構數據	129
3.3.30 Altersolanol A (30) 之結構數據	129
Figure 86. 化合物 30 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 150 MHz)	130
3.3.31 Auxarthrol C (31) 之結構數據	130
Figure 87. 化合物 31 之氫譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 600 MHz)	130
3.3.32 Infectopyrone (32) 之結構數據	131
Figure 89. 化合物 32 之氫譜 (pyridine- <i>d</i> <sub>5</sub> , 600 MHz)	131
3.3.33 Stemphyloxin II (33) 之結構數據	132
Figure 91. 化合物 33 之氫譜 (chloroform- <i>d</i> , 600 MHz)	132
3.3.34 Stemphyloxin I (34) 之結構數據	133
3.3.35 Stemphyperyleneol (35) 之結構數據	134
<b>3.4 化合物 1-3 之物理數據</b>	135
<b>3.5 化合物活性平台測試</b>	136
3.5.1 一氧化氮抑制與細胞存活率之實驗結果	136
3.5.2 抗血管增生試驗	139
3.5.3 抗病毒之實驗結果	141
<b>第四章 實驗部分</b>	143
<b>4.1 儀器設備與試劑</b>	143
4.1.1 化合物之物理性質測定儀器	143
4.1.2 高效能液相層析系統	143
4.1.3 管柱層析膠體	144
4.1.3 薄層層析片	144
4.1.4 試劑與溶劑	144

4.1.5	培養基 .....	144
<b>4.2</b>	<b>實驗材料 .....</b>	<b>145</b>
4.2.1	真菌材料 .....	145
4.2.2	菌種 DNA 鑑定 .....	145
4.2.4	真菌菌株篩選 .....	148
<b>4.3</b>	<b>分子網絡建立 .....</b>	<b>150</b>
<b>4.4</b>	<b>真菌擴量培養與成分分離 .....</b>	<b>152</b>
4.4.1	培養基配製 .....	152
4.4.2	<i>Chaetomium globosum</i> Km1226 液態發酵液萃取 (by flask).....	152
4.4.3	<i>Chaetomium globosum</i> Km1226 液態發酵液萃取 (by bottle) .....	153
4.4.4	<i>Chaetomium globosum</i> Km1226 固態發酵萃取 .....	153
4.4.5	<i>Chaetomium globosum</i> Km1226 液態發酵液萃取 (OSMAC) .....	153
4.4.6	<i>Curvularia intermedia</i> Km0855 液態發酵液萃取 (by flask).....	154
4.4.7	<i>Curvularia intermedia</i> Km0855 液態發酵液萃取 (OSMAC) .....	154
4.4.8	<i>Stenphylium lycopersici</i> Km1578 液態發酵液萃取 (by flask) .....	154
4.4.9	<i>Chaetomium globosum</i> Km1226 液態發酵液 (by flask) 之成分分離與 純化 .....	155
4.4.11	<i>Chaetomium globosum</i> Km1226 固態發酵萃取之成分分離與純化 .....	158
4.4.12	<i>Chaetomium globosum</i> Km1226 液態發酵液萃取 (OSMAC) 之成分 分離與純化 .....	160
4.4.13	<i>Curvularia intermedia</i> Km0855 液態發酵液萃取 (by flask) 之成分 分離與純化 .....	161
4.4.14	<i>Curvularia intermedia</i> Km0855 液態發酵液萃取 (OSMAC) 之成分 分離與純化 .....	162
4.4.15	<i>Stenphylium lycopersici</i> Km1578 液態發酵液萃取之成分分離與純 化 .....	163
<b>4.5</b>	<b>抗發炎活性評估 .....</b>	<b>165</b>
4.5.1	細胞培養 .....	165
4.5.2	Griess reagent assay.....	165
4.5.3	MTT assay .....	165
<b>4.6</b>	<b>抗血管增生活性評估 .....</b>	<b>166</b>
4.6.1	細胞培養 .....	166
<b>4.7</b>	<b>抗病毒活性評估 .....</b>	<b>166</b>
4.7.1	細胞培養 .....	167
<b>第五章</b>	<b>討論 .....</b>	<b>168</b>
<b>第六章</b>	<b>參考文獻 .....</b>	<b>171</b>

## 圖 次



Figure 1. 1981-2019 年間小分子新藥的來源組成 .....	4
Figure 2. 100 株真菌乙酸乙酯層粗萃物的分子網絡圖 .....	13
Figure 3. <i>Chaetomium globosum</i> Km1226 搖瓶發酵液粗萃物分離流程圖 .....	63
Figure 4. <i>Chaetomium globosum</i> Km1226 曝氣發酵液粗萃物分離流程圖 .....	67
Figure 5. <i>Chaetomium globosum</i> Km1226 固態發酵玄米粗萃物分離流程圖 .....	69
Figure 6. <i>Chaetomium globosum</i> Km1226 搖瓶發酵液含各種氨基酸組別比較層析圖 .....	71
Figure 7. <i>Chaetomium globosum</i> Km1226 搖瓶發酵液含抗生素組別比較層析圖 .....	71
Figure 8. <i>Chaetomium globosum</i> Km1226 曝氣發酵液含半胱氨酸粗萃物分離流程圖 .....	73
Figure 9. <i>Curvularia intermedia</i> Km0855 搖瓶發酵液粗萃物分離流程圖 .....	76
Figure 10. <i>Curvularia intermedia</i> Km0855 搖瓶發酵液粗萃物組別比較層析圖 .....	78
Figure 11. <i>Curvularia intermedia</i> Km0855 曝氣發酵液含半胱氨酸粗萃物分離流程圖 .....	79
Figure 12. <i>Stemphylium lycopersici</i> Km1578 搖瓶發酵液粗萃物分離流程圖 .....	81
Figure 13. <i>Stemphylium lycopersici</i> Km1578 搖瓶發酵液粗萃物組別比較層析圖 .....	83
Figure 14. 化合物 1 之紫外光譜 .....	88
Figure 15. 化合物 1 之高解析電灑游離質譜 .....	88
Figure 16. 化合物 1 之紅外光譜 .....	89
Figure 17. 化合物 1 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 600 MHz) .....	89
Figure 18. 化合物 1 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 150 MHz) .....	90
Figure 19. 化合物 1 之 HSQC 圖譜 .....	91
Figure 20. 化合物 1 之 COSY 圖譜 .....	91
Figure 21. 化合物 1 之 HMBC 圖譜 .....	92
Figure 22. 化合物 1 之 NOESY 圖譜 .....	92
Figure 23. 化合物 1 和 4 之 CD 光譜 .....	92
Figure 24. 化合物 2 之紫外光譜 .....	97
Figure 25. 化合物 2 之高解析電灑游離質譜 .....	97
Figure 26. 化合物 2 之紅外光譜 .....	98
Figure 27. 化合物 2 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 600 MHz) .....	98
Figure 28. 化合物 2 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 150 MHz) .....	99
Figure 29. 化合物 2 之 HSQC 圖譜 .....	99
Figure 30. 化合物 2 之 COSY 圖譜 .....	100
Figure 31. 化合物 2 之 HMBC 圖譜 .....	100
Figure 32. 化合物 2 之 NOESY 圖譜 .....	101

Figure 33. 化合物 2、3 和 5 之 CD 光譜 .....	101
Figure 34. 化合物 3 之紫外光譜 .....	104
Figure 35. 化合物 3 之高解析電灑游離質譜 .....	104
Figure 36. 化合物 3 之紅外光譜 .....	105
Figure 37. 化合物 3 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 600 MHz) .....	105
Figure 38. 化合物 3 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 150 MHz) .....	106
Figure 39. 化合物 3 之 HSQC 圖譜 .....	106
Figure 40. 化合物 3 之 COSY 圖譜 .....	107
Figure 41. 化合物 3 之 HMBC 圖譜 .....	107
Figure 42. 化合物 4 之氫譜 (chloroform- <i>d</i> , 600 MHz) .....	108
Figure 43. 化合物 4 之碳譜 (chloroform- <i>d</i> , 150 MHz) .....	108
Figure 44. 化合物 5 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 600 MHz) .....	109
Figure 45. 化合物 5 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 150 MHz) .....	109
Figure 46. 化合物 6 之氫譜 (chloroform- <i>d</i> , 600 MHz) .....	110
Figure 47. 化合物 6 之碳譜 (chloroform- <i>d</i> , 150 MHz) .....	110
Figure 48. 化合物 7 之氫譜 (chloroform- <i>d</i> , 600 MHz) .....	111
Figure 49. 化合物 7 之碳譜 (chloroform- <i>d</i> , 150 MHz) .....	111
Figure 50. 化合物 8 之氫譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 600 MHz).....	112
Figure 51. 化合物 8 之碳譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 150 MHz).....	112
Figure 52. 化合物 9 之氫譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 600 MHz).....	113
Figure 53. 化合物 9 之碳譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 150 MHz).....	113
Figure 54. 化合物 10 之氫譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 600 MHz).....	114
Figure 55. 化合物 10 之碳譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 150 MHz).....	114
Figure 56. 化合物 11 之氫譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 600 MHz).....	115
Figure 57. 化合物 11 之碳譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 150 MHz).....	115
Figure 58. 化合物 12 之氫譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 600 MHz).....	116
Figure 59. 化合物 12 之碳譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 150 MHz).....	116
Figure 60. 化合物 13 之氫譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 600 MHz).....	117
Figure 61. 化合物 13 之碳譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 150 MHz).....	117
Figure 62. 化合物 14 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 600 MHz) .....	118
Figure 63. 化合物 14 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 150 MHz) .....	118
Figure 64. 化合物 15 之氫譜 (chloroform- <i>d</i> , 600 MHz) .....	119
Figure 65. 化合物 16 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 600 MHz) .....	119
Figure 66. 化合物 17 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 600 MHz) .....	120
Figure 67. 化合物 18 之氫譜 (chloroform- <i>d</i> , 600 MHz) .....	120
Figure 68. 化合物 19 之氫譜 (chloroform- <i>d</i> , 600 MHz) .....	121
Figure 69. 化合物 20 之氫譜 (chloroform- <i>d</i> , 600 MHz) .....	121
Figure 70. 化合物 21 之氫譜 (chloroform- <i>d</i> , 600 MHz) .....	122

Figure 71. 化合物 <b>22</b> 之氫譜 (chloroform- <i>d</i> , 600 MHz) .....	122
Figure 72. 化合物 <b>23</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 600 MHz) .....	123
Figure 73. 化合物 <b>23</b> 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 150 MHz) .....	123
Figure 74. 化合物 <b>24</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 600 MHz) .....	124
Figure 75. 化合物 <b>24</b> 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 150 MHz) .....	124
Figure 76. 化合物 <b>25</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 600 MHz) .....	125
Figure 77. 化合物 <b>25</b> 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 150 MHz) .....	125
Figure 78. 化合物 <b>26</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 600 MHz) .....	126
Figure 79. 化合物 <b>26</b> 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 150 MHz) .....	126
Figure 80. 化合物 <b>27</b> 之氫譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 MHz).....	127
Figure 81. 化合物 <b>27</b> 之碳譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 125 MHz).....	127
Figure 82. 化合物 <b>28</b> 之氫譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 500 MHz).....	128
Figure 83. 化合物 <b>28</b> 之碳譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 125 MHz).....	128
Figure 84. 化合物 <b>29</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 500 MHz) .....	129
Figure 85. 化合物 <b>30</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 600 MHz) .....	129
Figure 86. 化合物 <b>30</b> 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 150 MHz) .....	130
Figure 87. 化合物 <b>31</b> 之氫譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 600 MHz).....	130
Figure 88. 化合物 <b>31</b> 之氫譜 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 150 MHz).....	131
Figure 89. 化合物 <b>32</b> 之氫譜 (pyridine- <i>d</i> <sub>5</sub> , 600 MHz).....	131
Figure 90. 化合物 <b>32</b> 之碳譜 (pyridine- <i>d</i> <sub>5</sub> , 150 MHz).....	132
Figure 91. 化合物 <b>33</b> 之氫譜 (chloroform- <i>d</i> , 600 MHz) .....	132
Figure 92. 化合物 <b>33</b> 之碳譜 (chloroform- <i>d</i> , 150 MHz) .....	133
Figure 93. 化合物 <b>34</b> 之氫譜 (chloroform- <i>d</i> , 600 MHz) .....	133
Figure 94. 化合物 <b>35</b> 之氫譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 600 MHz) .....	134
Figure 95. 化合物 <b>35</b> 之碳譜 (methanol- <i>d</i> <sub>4</sub> , 150 MHz) .....	134
Figure 96. 化合物 <b>1-8</b> 、 <b>10</b> 、 <b>11</b> 、 <b>14</b> 、 <b>15</b> 、 <b>18</b> 和 <b>19</b> 對 LPS 刺激 BV-2 細胞一氧化氮生成之影響 .....	137
Figure 97. 化合物 <b>1-8</b> 、 <b>10</b> 、 <b>11</b> 、 <b>14</b> 、 <b>15</b> 、 <b>18</b> 和 <b>19</b> 對 BV-2 細胞存活之影響 ...	137
Figure 98. 化合物 <b>23-26</b> 在不同濃度下對 P3HR1 細胞的 EBV 再活化 Rta、Zta、EA-D 和 tubulin 表現之影響 .....	141
Figure 99. 100 株真菌代謝產物產物主成分分析.....	169

## 表 次



Table 1. 預實驗 100 株內生真菌的分類與活性數據 .....	11
Table 2. 49 株內生真菌的分類與活性數據 .....	12
Table 3. <i>Chaetomium globosum</i> 之二次代謝產物文獻回顧 .....	18
Table 4. 化合物 1 之 $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ 和 2D NMR 數據 ( $\delta$ in ppm, $J$ in Hz) .....	87
Table 5. 化合物 2 之 $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ 和 2D NMR 數據 ( $\delta$ in ppm, $J$ in Hz) .....	96
Table 6. 化合物 2 和 3 之 $^1\text{H}$ 和 $^{13}\text{C}$ 數據比較 ( $\delta$ in ppm, $J$ in Hz) .....	103
Table 7. 化合物 5、14、15 及薑黃素 (curcumin) 之半抑制濃度.....	138
Table 8. 化合物 1–8、10、11、14、15、18 和 19 在不同濃度下對 EPCs 細胞存活 之影響 .....	139
Table 9. 化合物 5、8、10、11、14 和 15 及索拉非尼 (sorafenib) 之半抑制濃度 .....	140
Table 10. 化合物 23–26 對 P3HR1 細胞的 EBV 再活化之半效應濃度、50%細胞毒 性濃度以及選擇指數 .....	142

## 縮寫表



ACN	acetonitrile
$[\alpha]$	specific rotation
BGS	biosynthetic gene cluster
br	broad
calcd.	calculated
CC	column chromatography
CD	circular dichroism
COSY	correlation spectroscopy
$\delta$	chemical shift
d	doublet
EBV	Epstein-Barr virus
EtOAc	ethyl acetate
$\epsilon$	extinction coefficient
FA	formic acid
FBMN	feature-based molecular networking
GNPS	Global Natural Product Social Molecular Networking
HCA	hierarchical clustering analysis
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HPLC	high performance/pressure liquid chromatography
HRESIMS	high-resolution electrospray ionization mass spectrometry
HSQC	heteronuclear single quantum coherence
HTS	high-throughput screening
IR	infrared
$J$	coupling constant
$m/z$	mass-to-charge ratio
MeOH	methanol
MN	molecular networking
$Ms^2$	tandem mass
m	multiplet
NMR	nuclear magnetic resonance
NOESY	nuclear <i>Overhauser</i> effect spectroscopy
NRPS	non-ribosomal peptide synthetase
OSMAC	one strain many compounds
q	quartet
RiPPs	ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides

PKS	polyketide synthase
PCA	principal components analysis
RI	refractive index
s	singlet
SAR	structure-activity relationship
TLC	thin-layer chromatography
t	triplet
UV	ultraviolet





# 第一章 緒論與研究目的

## 1.1 緒論

自古以來人類就曉得利用天然物來預防和治療疾病，根據考古記錄顯示，大約六萬年前的舊石器時代，生活在現今伊拉克的尼安德塔人就會使用蜀葵、歐耆草和洋甘菊等植物作為藥物使用<sup>1,2</sup>，而關於藥用植物的書面記錄則可以追溯到西元前2,600年前，兩河文明泥板記載約一千多種植物源藥物組成的藥物系統，其中包括源自地中海柏樹和沒藥所產的油，用於緩解咳嗽、感冒和發炎並沿用至今<sup>3-6</sup>。


天然物是生物體出於防禦或適應目的而產生的次級代謝物(基因表現的最終產物)<sup>7</sup>，對於物種的繁殖、生長或發育不是必需的，是新藥開發的重要來源之一<sup>8</sup>，源自於動物、植物、海洋生物、微生物和礦物等。在眾多來源中，以植物萃取物的應用範圍最廣<sup>9</sup>。在世界各地實踐了幾百年乃至數千年的傳統醫學仍發揮關鍵的作用，像是中國的中醫、日本的漢方醫學、韓國的韓醫學和印度的阿育吠陀和尤納尼等醫學形式<sup>10,11</sup>，皆已發展成井然有序的系統。中醫現在在中國仍舉足輕重，且不斷地發展，中醫以5,000年的醫學實踐和經驗為基礎，並有豐富的「臨床實驗」數據保證其有效性和功效<sup>12</sup>，它們的各種形式(多成分混合物)可能存在某些缺陷，使得現代醫學認為此類系統缺乏可信度<sup>11</sup>，但它們仍然是人類知識的貴重寶庫。

西元1805年，德國藥劑師Friedrich Sertürner從植物罌粟中分離了第一種具有藥理活性的化合物，有鎮痛和誘導睡眠效果的生物鹼，以希臘夢之神Morpheus命名的藥物－嗎啡<sup>13,14</sup>。隨後，無數的活性化合物被從天然物中分離出來，「現代」藥物時代開始了。自此科學家將目光鎖定在其它草藥的研究上，陸續從多種植物中分離出了奎寧(quinine)(36)<sup>15</sup>、咖啡因(caffeine)(37)<sup>16</sup>、尼古丁(nicotine)(38)<sup>16</sup>、可待因(codeine)(39)<sup>17</sup>、阿托品(atropine)(40)<sup>18</sup>、秋水仙鹼(colchicine)(41)<sup>19</sup>、可卡因(cocaine)(42)<sup>20</sup>和辣椒素(capsaicin)(43)<sup>21</sup>等生物鹼化合物。並且隨著傳統醫學為大多數現代醫學提供了基礎，天然物激發了有機化學的許多發展，導致合成方法的

進步，並有可能製造具有改進的藥理學或藥物特性的原始先導化合物的類似物<sup>22</sup>，例如西元 1853 年首次透過化學合成的天然物衍生物是阿斯匹靈 (aspirin)(44)，它是源自柳樹樹皮中的水楊苷 (salicin)(45) 乙醯化而得的抗發炎藥物<sup>23</sup>，以優化生產、提高品質並降低成本。

植物源天然物的多樣性為加速藥物發現和解決緊迫的人類健康問題提供了豐富的資源<sup>2, 5, 10</sup>，然而獲取和培養來源物種的挑戰以及代謝物結構的複雜性和普遍的低豐度給開發植物源藥物帶來了相當大的障礙<sup>24</sup>，儘管許多植物源天然物已被分離和表徵<sup>25</sup>，但可用的化合物數量通常不足以測試廣泛的生物活性，例如西元 1960 年到 1981 年美國國家癌症研究所收集並篩選了約 35,000 種植物的抗癌活性<sup>26-28</sup>，也僅發現太平洋紅豆杉是具有潛力的候選植物。雖然初始藥理評估通常需要少量的植物材料，但透過表徵其成分的藥理活性需要大量的植物材料，當生物活性植物來源的天然產物被確定具有非常有前途的生物活性並成為先導化合物時，有限的可用性變得更加棘手<sup>24, 29</sup>，像是治療瘧疾的標準藥物奎寧<sup>30</sup>，是在西元 1638 年由秘魯的西班牙殖民者發現飲用金雞納樹皮萃取物可以治癒他們的瘧疾症狀，隨之而來大量的商業獲取幾乎導致了原產地金雞納樹的滅絕<sup>15, 30</sup>，另一個典型的例子是抗癌藥物紫杉醇 (paclitaxel)(46)，首次從太平洋紅豆杉樹皮中分離出來<sup>26</sup>，由於杉樹僅能在針葉林氣候的環境中生長且生長緩慢，從樹皮組織中分離紫杉醇具有破壞性，將導致過度採伐，並沒有能提供可持續的資源，且僅產生少量的紫杉醇<sup>2</sup>，以至於一些歷史上用於商業提取的紅豆杉物種已被國際自然保護聯盟列入瀕危物種名單<sup>31</sup>，據統計，世界上超過 20% 的藥用植物物種都受到不同程度的威脅<sup>24</sup>，目前使用的估計 50,000 種藥用植物物種中，三分之二是從野外採集的<sup>32</sup>，這引發了人們對種群數量減少、遺傳多樣性喪失、局部滅絕和棲息地退化等問題的擔憂，再者從這些植物中提取生物活性分子是費力、昂貴且耗時的。因此迫切需要一些替代來源和策略來生產這些類似植物來源的生物活性分子<sup>29</sup>。

在 1928 年英國藥理學家 Alexander Fleming 偶然在受污染的培養皿中發現了



青黴素 (penicillin)(47)，自此開啟了微生物藥物時代<sup>33</sup>。隨之美國生化科學家 Selman A. Waksman 開始對微生物作為抗菌化合物的生產者進行了系統性的研究，他將抗生素定義為「由微生物產生的用於消滅其他微生物的化合物」<sup>34</sup>，並發現土壤中的絲狀放線菌是抗菌化合物的多產生者<sup>35</sup>。卡納黴素 (kanamycin)(48)<sup>36</sup>、四環黴素 (tetracycline)(49)<sup>37</sup>、頭孢菌素 (cephalosporin)(50)<sup>38</sup>、氯黴素 (chloramphenicol)(51)<sup>39</sup> 和紅黴素 (erythromycin)(52)<sup>40</sup> 等抗生素陸續從微生物中被分離純化出來，在西元 1950 年代中期達到頂峰，是抗生素發現的黃金時代，現今這些抗生素大多仍在臨床上使用，拯救了無數生命，是二十世紀最偉大的醫學突破<sup>41</sup>，然而在西元 1980 至 2000 年間，製藥業對天然物的追求有所下降，轉而傾向於採用基於組合化學和高通量 (HTS) 合成的藥物開發<sup>42</sup>，當時對天然物研究興趣下降的原因有很多，包括：難以取得足夠的生物起始材料來生產藥物、低產量、測試時間冗長、高額成本、分離和純化困難和已知分子的重複發現等<sup>7</sup>，因此化學合成有望克服上述所有問題和限制，促使大幅提升新藥的發現，然而事與願違，根據 1981 年至 2019 年間被批准的 1,394 種小分子新藥的統計，只有 31% 是純合成的 (Figure 1)<sup>43</sup>，更具體地說，從 1981 年至 2002 年間被批准的小分子新藥中有 61% 是來自天然來源的分子、衍生物或類似物<sup>44</sup>，因此化學合成結果的失敗是顯而易見的，上述統計數據重新激發了研究人員對天然物研究的興趣<sup>45</sup>。

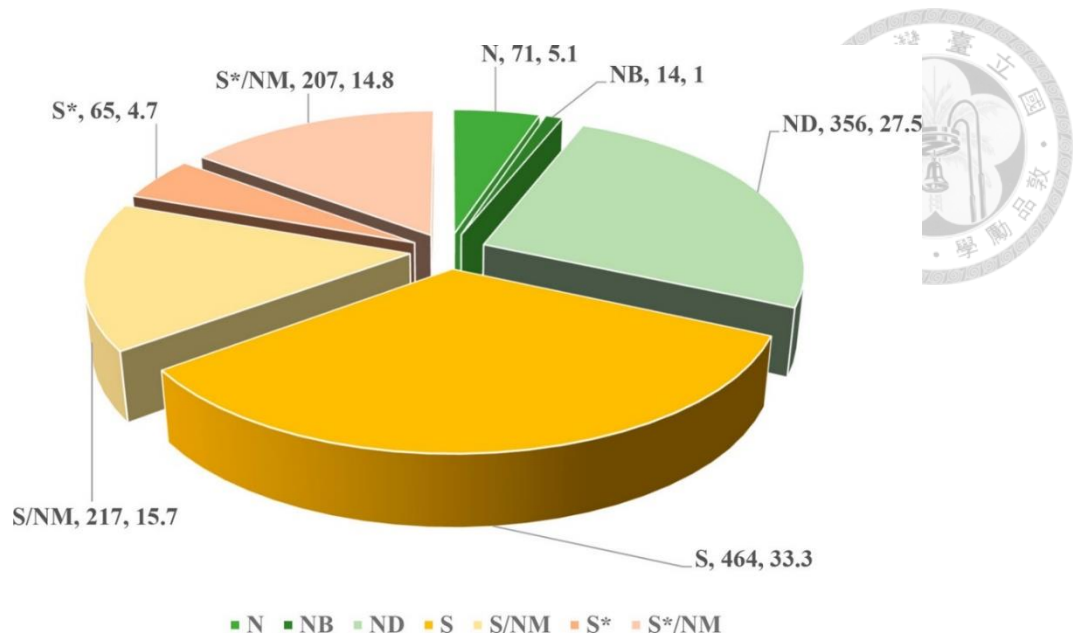



Figure 1. 1981-2019 年間小分子新藥的來源組成

$n = 1,349$ ; N: 純天然物; NB: 植物藥; ND: 天然物衍生物; S: 合成化合物; S/NM: 有天然物抑制競爭效果的合成化合物; S\*: 有天然物藥效團之合成化合物; S\*/NM: 有天然物藥效團及天然物抑制競爭效果之合成化合物

自西元 1809 年德國植物學家 Johann Heinrich Friedrich Link 首次描述內生菌 (endophyte) 以來，內生菌的定義已經被修改了很長一段時間，最終被廣泛接受它們是一群生活在宿主植物的健康組織內度過部分或全部生命週期，且不會對宿主造成明顯的病害症狀的微生物<sup>46-50</sup>。內生真菌以共生關係受到宿主植物的養分供給和保護，作為回報，微生物產生具有生物活性的次級代謝物，以保護植物免受病原體和食草動物的侵害或加速宿主的生長<sup>51, 52</sup>。特別是生活在極端環境中的寄主植物可能會促使內生真菌激活沉默基因並誘導獨特的生物合成基因表達，從而產生具有新穎結構和特定機制的獨特次級代謝產物，以在脅迫環境下生存<sup>53, 54</sup>，甚至一些內生真菌可能與宿主在演化過程中發生基因重組而能產生宿主特有或相似的化學物質<sup>29, 42, 55</sup>。內生真菌無所不在，存在於不同的植物類群，包括隱花植物(藻類、苔蘚和蕨類)和種子植物(裸子植物和被子植物)<sup>56</sup>，從熱帶、溫帶、寒帶和旱地的水生和陸生植物中皆可以發現其蹤跡<sup>57</sup>，來自獨特生態位的內生真菌作為先導化合物的來源越來越受到天然物研究者的關注<sup>58, 59</sup>。



近年來，隨著分析儀器和人工智慧技術的快速發展，蛋白質組學 (proteomics)、基因組學 (genomics)、代謝組學 (metabolomics) 和轉錄組學 (transcriptomics) 都取得了卓越的成果，大幅促進和影響了次級代謝物的發展<sup>60</sup>。一般而言，次級代謝物是由共定位基因編碼的酶產生的，形成所謂的生物合成基因簇 (BGC)，範圍從聚酮合成酶 (PKS) 和非核糖體勝肽合成酶 (NRPS) 到鐵載體、翻譯後修飾的勝肽 (RiPPs)、萜烯等<sup>61</sup>。預測真菌全基因組序列數據的生物資訊工具已經開發出，這些預測表明到目前為止，已測序的真菌含有約 15 至 50 個生物合成基因簇，但在某些基因組中也預測了多達 80 多個生物合成基因簇<sup>62</sup>。基因組定序和生物資訊學 (bioinformatics) 的技術進步大大增加了已定序的真菌基因組的數量，基因組資訊進一步揭示了編碼次級代謝物產生的基因簇數量與從測定真菌中分離出的天然物實際數量之間的不一致<sup>63</sup>。次級代謝物的產生如同電池般，真菌製造它並不是沒有成本的，驅動生物合成酶、分子前驅物的製備以及最終化合物的組裝、衍生和修飾都需要投入能源和資源<sup>64</sup>，因此次級代謝物的合成受到嚴格調控，並被認為會根據特定的環境條件而被活化，可能有助於提高生產生物體的適應性<sup>65</sup>。因此大部分微生物基因簇在標準實驗室條件下被沉默(不表達)，這些基因簇被描述為「沉默」、「孤兒」和「神秘」，並蘊藏著大量用於藥物發現的新型生物活性成分<sup>66</sup>。


基於培養參數修改的一株多化合物 (OSMAC) 方法已被證明是發現神秘新穎天然物的強大策略，最初是由 Zeeck 等人於西元 2002 年提出的概念<sup>67, 68</sup>。根據這種方法，任一真菌株都有可能產生多種化合物，但在特定的生長條件下僅產生這些化合物的子集，利用培養參數的變化，例如培養基組成、溫度、pH 值、微量元素、鹽度、光照或黑暗、氧氣濃度、容器類型、靜態或振動條件、共培養、表觀遺傳修飾劑和生物合成前驅物等<sup>29, 65, 67, 69-71</sup>，以促進真菌中特定代謝物的產生並開發新穎的活性次級代謝物及其類似物，因此一株多化合物策略被廣泛應用於研究化學多樣性，上述策略的主要缺點之一是其「經驗」性質，它們是相當勞動密集的<sup>72</sup>，換句話說，需要進行大量的實驗來驗證培養實踐中的哪些修改會引發神秘代謝物的



合成，另一方面，從實際角度來看，這種方法雖耗時但又具有挑戰性，因為培養參數的潛在變化數量是巨大的，且無需定序和基因操作，一株多化合物策略已成為天然物研究人員的熱門選擇<sup>69</sup>。

新的天然物首先必須進行結構解析，與具有重複單元的 DNA 和蛋白質不同，天然物可能擁有近乎無限的結構多樣性，這使得對其結構的預測和闡明具有挑戰性<sup>73,74</sup>。大約在西元 1960 年代以前，天然物結構解析是一項極其困難和漫長的任務，需要進行許多化學合成和降解反應，綜合所有的線索，方得以確認結構，如今經典的分析技術如：核磁共振光譜學 (NMR)<sup>75</sup>、X 射線晶體學 (X-ray)<sup>76</sup>、紫外-可見光譜學 (UV-visible)<sup>77</sup>、傅立葉式紅外光譜學 (FTIR)<sup>78</sup> 和質譜學 (MS)<sup>79</sup>，已在天然物結構解析中得到廣泛應用。生物測定引導 (bioassay-guided) 的分級分離通常處理包括「提取-測試-分級-測試-純化-闡明-測試」循環<sup>80</sup>，長期以來一直是天然物研究的黃金標準，並導致了重要藥物的發現，包括紫杉醇、喜樹鹼、青蒿素和長春花鹼，但現在被認為在時間和成本方面效益不高，特別是如果最終僅分離已知化合物的話<sup>81</sup>，為了避免重複分離已被描述的分離，研究人員長期以來一直導入「去重複」的評估步驟，去重複旨在檢測天然物萃取物中已知的生物活性化合物，最好是在開始深入研究之前即已排除<sup>82</sup>，曾經多數製藥業減少了對基於天然物的藥物發現計劃的依賴，部分原因是分離過程後期高重新發現率背後的成本<sup>83</sup>，若能在天然物工作流程的早期進行刪除重複或已知成分的識別可以最大限度地減少時間、精力和成本的浪費<sup>82</sup>，現在許多新型生物資訊學工具正在解決重新分離已知結構的問題，這些工具可以有效地處理和分析從複雜提取物中獲取的質譜和核磁共振數據，並協助去重複過程<sup>84</sup>，尤其這些工具與資料庫相結合，可以實現在已知化合物分離之前提供其結構信息，甚至通過計算機預測對以前未報告的代謝物進行註釋<sup>84</sup>，在研究的早期階段擁有此類數據可以僅針對未被描述或所需骨架的分離。


超高效液相層析-高分辨率質譜 (UHPLC-HRMS) 已用於研究複雜的混合物，利用其高靈敏的檢測以及高色譜分離能力和質量分辨率，已被應用在單次分析運



行中預先識別已知化合物<sup>83</sup>，這在去重複過程中特別令人感興趣。自西元 2012 年引入代謝組學領域以來，它已成功應用於有益的藥物發現管道，用於識別新型活性因子和天然物<sup>85</sup>。特別是質譜透過提供精確的分子量測定、檢測多種分子的高靈敏度和高通量以及透過串聯質譜 (MS/MS) 進行結構闡明，在表徵化合物方面發揮關鍵作用<sup>86</sup>。一次質譜和基於串聯質譜的去重複的基本假設是結合結構體系、化學穩定性和官能基起來，透過氣相中碰撞誘導解離來決定反應性，因此串聯質譜碎片模式的相似性可以當作化學相似性的指紋圖譜<sup>82</sup>。因此這些串聯質譜給予的資訊比一次質譜更具歧異性，基於串聯質譜的去重複或從頭識別策略對於在純化過程的早期靶向活性化合物是必要的，因為非靶向代謝物分析方法會產生數以萬計的變量，具體取決於分析工作的流程<sup>83</sup>。基於串聯質譜的分子網絡 (MN) 已成為一種越來越流行和有吸引力的天然物研究工具，它結合了質譜的靈敏度、高通量和穩定性的優點以及分子網絡組織和分析的能力<sup>87</sup>。這只是天然產物藥物發現的第一步，因為該網絡僅假設哪些化合物必須具有生物活性<sup>88</sup>，需要進一步的分離和結構闡明來證實這些發現。

抗生素抗藥性對現代醫學構成日益嚴重的威脅，抗藥性病例呈指數級增長<sup>29, 89</sup>，預估到西元 2050 年，抗生素抗藥性每年可能導致 1,000 萬人死亡<sup>90</sup>，根據世界衛生組織 (WHO) 的說法，抗生素抗藥性已成為 21 世紀最關鍵的公共衛生問題之一，特別是  $\beta$ -lactam(全世界使用最廣泛的一類抗生素藥物)的抗藥性的上升，改變了對其他多種抗生素的成本效益分析，這些抗生素以前被認為毒性太大，不適合一般使用，例如黏菌素 (colistin)(53) 和達托黴素 (daptomycin)(54)，但現在是最後手段的重要臨床抗生素<sup>91</sup>，因此迫切需要新的抗生素藥物來解決「超級細菌」的出現和跨大陸傳播<sup>92</sup>。

Epstein-Barr virus (EBV) 是一種  $\gamma$  皰疹病毒，感染全球 90% 以上的人口<sup>93</sup>，大多數人在感染第四型人類皰疹病毒後，可獲得後天性免疫 (adaptive immunity)，病毒則潛伏於人體的 B-cell<sup>94</sup>，在未明的狀況下(懷疑可能與心理壓力相關)，病毒有可



能再度被活化，進入裂解期 (lytic cycle) 而大量增生，造成各種慢性自體免疫疾病，例如系統性紅斑性狼瘡 (systemic lupus erythematosus)、類風溼性關節炎 (rheumatoid arthritis)、多發性硬化 (multiple sclerosis) 等<sup>95</sup>，甚至變異淋巴細胞，導致人類惡性相關腫瘤產生<sup>94</sup>，例如霍奇金淋巴瘤 (Hodgkin's lymphoma)、B-cell 和 T-cell 淋巴瘤 (lymphomas) 和噬血球性淋巴組織球增生症 (hemophagocytic lymphohistiocytosis) 等<sup>94, 96, 97</sup>。目前臨床上沒有任何對治療 EBV 感染的特效藥取得藥證，而是使用其他抗病毒藥物，例如阿昔洛韋 (acyclovir)(55)、更昔洛韋 (ganciclovir)(56) 和顯更昔洛韋 (valganciclovir)(57) 等<sup>98</sup>，EBV 的防治並非迫在眉睫，但與之相關的疾病和癌症仍需防範，針對該病毒進行藥物開發仍有必要。

馬氏濱藜 (*Atriplex maximowicziana* Makino) 分佈於中國東南部、日本南部和台灣西南部的沙質土壤和珊瑚岩海岸，它長期以來被用作治療類風溼性關節炎的民間藥物<sup>99, 100</sup>。對於生長在濱海的馬氏濱藜而言，為了適應於惡劣的緊迫環境，例如日夜溫差、鹽度、潮汐和酸鹼值等改變，推測可能與其多樣的共生真菌有著密不可分的關係。



## 1.2 研究目的

本研究以金門蓮湖(衛星定位於 24°27'04.0"N, 118°15'06.5"E)和彰化王功漁港(衛星定位於 23°58'05.3"N, 120°19'28.2"E)所採集之馬氏濱藜為研究對象，經單離和純化所獲得真菌株，共計 1,534 株真菌(編號 Km0430-Km2424 和 NTU1657-NTU1941)，搭配抗菌(與日內瓦大學微生物與分子醫學系 Köhler 教授實驗室合作)和抗病毒(與國立台灣大學生化科技系張麗冠教授實驗室合作)平臺進行活性評估(Table 1 和 2)，篩選具顯著活性的菌株再進行後續的鑑種和天然物研究。

本研究有兩個目標，尋找：(1)具有生態或藥用活性的天然物；(2)未被描述的成分(特別是具有新骨架的化合物)以擴大化學多樣性。當發現天然萃取物具有生物活性時，通常會進行生物測定引導的分餾，通常包括以下步驟：(1)使用溶劑從生物質中萃取二次代謝物，(2)透過層析法對所得萃取物進行分餾，(3)每個分級生物活性的測定篩選，(4)從生物活性分級中分離分子，以及(5)鑑定分離的分子並評估其生物活性。然而，這些過程非常耗時，因為天然萃取物的成分可能很複雜。還存在冗餘結果的風險，例如分離已知化合物或在操作過程中喪失生物活性。造成這些缺陷的一些原因是(1)生物活性化合物在純化過程中被降解，(2)生物活性化合物濃度太低而無法有效分離，(3)生物活性是由於生物活性化合物之間的協同效應造成的。

隨著 GNPS 網絡平台 (<http://gnps.ucsd.edu>) 的推出，用戶可以在線上上傳和儲存高解析串聯質譜數據，產生分子網絡，獲得個人或社群的網絡知識，並添加樣本資訊和用於理解網絡的其他元數據。我們分子網絡的實施(與日內瓦大學藥學系 Wolfender 教授實驗室合作)分為四個基本步驟。(1)收集 100 株真菌(包括液態和瓊脂發酵)的粗萃物的 MS<sup>2</sup> 數據。(2)使用特徵檢測和對齊工具 MZmine 進行預處理，產生「餘弦分數」，從而可以確定光譜之間的相似程度(範圍從 0 到 1，1 代表相同的光譜)，(3)在開源平台 Cytoscape 中操作整合 MN 的可視化，在 Cytoscape 中調整分子網路的屬性來幫助資料解釋，例如邊緣厚度，它可以與餘弦分數、節點大小成正比，也可以與前體離子強度或節點顏色相關，可用於繪製與樣本相關的各種元

資料，(4)按照任何給定化合物組的分子相關性(化學相似性)的可視化來分析分子網絡 (Figure 2)。

因此，本研究旨在選擇具有產生新化學實體潛力的真菌菌株，並嘗試透過改變培養基，特別是透過添加可能調節基因表現的化學物質來調整其次生代謝。在已知影響真菌生理功能的化學物質中，早期研究發現半胱氨酸具有調節莢膜組織胞漿菌 (*Histoplasma capsulatum*) 粒線體活性和型態改變的特性<sup>101</sup>。另一篇文章指出，半胱氨酸可以誘導樺褐孔菌 (*Inonotus obliquus*) 產生麥角甾醇及其衍生物，這與培養基中半胱氨酸的濃度有關<sup>102</sup>。然而迄今為止，利用半胱氨酸修飾真菌二次代謝產物的文獻還很少。

Table 1. 預實驗 100 株內生真菌的分類與活性數據

Strain No.	Taxonomy <sup>a</sup>	Antimicrobial activity <sup>b</sup>	Strain No.	Taxonomy <sup>a</sup>	Antimicrobial activity <sup>b</sup>
Km0452	–	S.a. (1.9) <sup>d</sup>	Km1578	<i>Stemphylium lycopersici</i>	S.a. (1.6) <sup>e</sup>
Km0459	–	S.a. (1.8) <sup>d</sup>	Km1585	–	S.a. (1.4) <sup>e</sup>
Km0494	–	S.a. (1.2) <sup>d</sup>	Km1590	–	S.a. (1.5) <sup>e</sup>
Km0575	–	S.a. (1.2) <sup>d</sup>	Km1593	<i>Alternaria</i> sp.	S.a. (1.5) <sup>e</sup>
Km0642	–	S.a. (1.2) <sup>d</sup>	Km1594	–	S.a. (1.5) <sup>e</sup>
Km0688	–	S.a. (1.8) <sup>d</sup>	Km1600	–	S.a. (1.3) <sup>e</sup>
Km0776	–	S.a. (1.0) <sup>d</sup>	Km1603	–	S.a. (1.0) <sup>e</sup>
Km0813	<i>Alternaria</i> sp.	S.a. (1.2) <sup>d</sup>	Km1617	–	S.a. (2.3) <sup>e</sup>
Km0855	<i>Curvularia intermedia</i>	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>	Km1622	–	S.a. (1.4) <sup>e</sup>
Km0872	–	S.a. (1.0) <sup>d</sup>	Km1624	–	S.a. (1.4) <sup>e</sup>
Km0892	–	S.a. (1.2) <sup>d</sup>	Km1625	<i>Fusarium</i> sp.	S.a. (1.7) <sup>e</sup>
Km0901	<i>Fusarium</i> sp.	S.a. (1.2) <sup>e</sup>	Km1629	<i>Fusarium</i> sp.	S.a. (1.3) <sup>e</sup>
Km0965	–	S.a. (1.2) <sup>d</sup>	Km1631	–	S.a. (1.5) <sup>e</sup>
Km0984	–	S.a. (1.2) <sup>d</sup>	Km1639	–	S.a. (1.2) <sup>e</sup>
Km0997	–	S.a. (1.2) <sup>d</sup>	Km1666	–	S.a. (1.5) <sup>e</sup>
Km1003	–	S.a. (1.0) <sup>d</sup>	Km1704	–	S.a. (1.4) <sup>e</sup>
Km1037	–	S.a. (1.0) <sup>d</sup>	Km1735	–	Antiviral activity
Km1069	<i>Epicoccum sorghinum</i>	S.a. (1.5) <sup>e</sup>	Km1737	<i>Alternaria</i> sp.	S.a. (2.3) <sup>e</sup> , E.coli (1.1) <sup>f</sup>
Km1132	–	S.a. (1.0) <sup>e</sup>	Km1757	<i>Stemphylium lycopersici</i>	Antiviral activity
Km1150	<i>Fusarium</i> sp.	S.a. (1.0) <sup>e</sup>	Km1785	–	S.a. (1.6) <sup>e</sup>
Km1150.1	<i>Fusarium</i> sp.	S.a. (1.0) <sup>e</sup>	Km1876	–	S.a. (–) <sup>f</sup> weak <sup>e</sup>
Km1158	–	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>d</sup>	Km1885	–	S.a. (–) <sup>f</sup> weak <sup>e</sup>
Km1163	<i>Fusarium</i> sp.	S.a. (1.4) <sup>e</sup>	Km1887	<i>Curvularia intermedia</i>	Antiviral activity
Km1173	–	S.a. (1.7) <sup>d</sup>	Km1888	–	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>
Km1211	–	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup> , C.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup> , C.n. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>	Km1904	<i>Diaporthe</i> sp.	S.a. (1.5) <sup>e</sup>
Km1218	–	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup> , C.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup> , C.n. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>	Km1910	<i>Neocamarosporium</i> sp.	E.t. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>
Km1225	–	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup> , C.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup> , C.n. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>	Km1934	<i>Alternaria</i> sp.	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup> , L.g. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>
Km1226	<i>Chaetomium globosum</i>	S.a. (2.3) <sup>e</sup> , C.a. (1.4) <sup>e</sup> , C.n. (2.0) <sup>e</sup>	Km1945	–	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>
Km1289	–	Antiviral activity	Km1948	–	S.a. (1.0) <sup>d</sup> , L.g. (–) <sup>f</sup> weak <sup>d</sup>
Km1348	–	Antiviral activity	Km1950	<i>Alternaria</i> sp.	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup> , L.g. (–) <sup>f</sup> weak <sup>e</sup>
Km1398	–	S.a. (1.0) <sup>d</sup>	Km1962	<i>Alternaria</i> sp.	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>
Km1398.1	–	S.a. (1.4) <sup>d</sup>	Km1965	<i>Alternaria</i> sp.	Antiviral activity
Km1454	–	S.a. (1.3) <sup>e</sup>	Km1989	–	S.a. (–) <sup>f</sup> weak <sup>e</sup>
Km1457	–	S.a. (1.3) <sup>e</sup>	Km2003	<i>Cochliobolus</i> sp.	S.a. (1.7) <sup>d</sup> , C.a. (1.4) <sup>d</sup> , C.n. (2.1) <sup>d</sup>
Km1466	–	S.a. (1.4) <sup>e</sup>	Km2012	–	Antiviral activity
Km1483	–	S.a. (1.6) <sup>e</sup>	Km2093	<i>Cochliobolus</i> sp.	S.a. (1.2) <sup>d</sup> , C.n. (1.2) <sup>d</sup>
Km1487	–	S.a. (1.4) <sup>e</sup>	Km2117	<i>Fusarium</i> sp.	S.a. (1.8) <sup>e</sup> C.a. (1.0) <sup>e</sup> , L.g. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>
Km1505	–	S.a. (1.4) <sup>e</sup>	Km2117.1	–	S.a. (1.7) <sup>e</sup> , L.g. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>
Km1507	–	S.a. (3.5 weak) <sup>e</sup>	Km2196	–	L.g. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>
Km1517	–	S.a. (1.7) <sup>e</sup>	Km2206	–	S.a. (1.0) <sup>d</sup>
Km1519	–	S.a. (1.3) <sup>e</sup>	Km2243	–	S.a. (1.0) <sup>d</sup>
Km1525	–	S.a. (1.5) <sup>e</sup>	Km2247	–	S.a. (–) <sup>f</sup> weak <sup>e</sup>
Km1526	<i>Cladosporium</i> sp.	S.a. (2.4) <sup>e</sup>	Km2250	<i>Alternaria</i> sp.	S.a. (1.7) <sup>d</sup> , C.n. (2.1) <sup>d</sup>
Km1528	<i>Cladosporium</i> sp.	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>	Km2264	–	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>
Km1530	<i>Didymocyrtis brachylaenae</i> <sup>g</sup>	S.a. (2.0) <sup>e</sup>	Km2265	–	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup> , L.g. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>
Km1539	<i>Fusarium</i> sp.	S.a. (1.8) <sup>e</sup>	Km2269	–	S.a. (–) <sup>f</sup> weak <sup>e</sup> , L.g. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>
Km1543	<i>Fusarium</i> sp.	S.a. (2.0) <sup>e</sup>	Km2286	<i>Alternaria alstroemeriae</i> <sup>g</sup>	Antiviral activity
Km1547	–	S.a. (1.1) <sup>e</sup>	Km2292	–	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>
Km1549	<i>Fusarium</i> sp.	S.a. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup> , C.n. (–) <sup>f</sup> <sup>e</sup>	Km2308	<i>Alternaria</i> sp.	S.a. (–) <sup>f</sup> weak <sup>e</sup>
Km1559	–	S.a. (1.7) <sup>e</sup>	Km2367	–	S.a. (–) <sup>f</sup> weak <sup>e</sup>

<sup>a</sup> 使用 18S rRNA 序列鑑定真菌株，並將其與 NCBI 資料庫進行比對。<sup>b</sup> S.a.: *Staphylococcus aureus* YC981; C.a.: *Candida albicans* SC5314; C.n.: *Cryptococcus neoformans* H99; E.coli: *Escherichia coli* DH5 $\alpha$ ; E.t.: *Edwardsiella tarda* ATCC15947; L.g.: *Lactococcus garvieae* MT2055。<sup>c</sup> 粗萃物濃度為 100 ppm。<sup>d</sup> 粗萃物濃度為 1,000 ppm。<sup>e</sup> 粗萃物濃度為 10,000 ppm。<sup>f</sup> 未記錄。<sup>g</sup> 使用 28S rRNA 序列鑑定真菌株，並將其與 NCBI 資料庫進行比對。

Table 2. 49 株內生真菌的分類與活性數據



Strain No.	Taxonomy <sup>a</sup>	MIC (liquid) <sup>b</sup>	MIC (solid) <sup>b</sup>	compound dereplicated (liquid) <sup>c</sup>
Km0452	–	16	16	equisetin
Km0459	–	8	32	equisetin
Km0494	–	64	256	altersetin
Km0575	–	64	256	altersetin
Km0642	–	64	256	altersetin
Km0688	–	16	16	equisetin
Km0776	–	16	128	altersetin
Km0813	<i>Alternaria</i> sp.	16	64	altersetin
Km0855	<i>Curvularia intermedia</i>	32	64	curvularin-related compounds
Km0892	–	64	128	–
Km0901	<i>Fusarium</i> sp.	4	64	equisetin
Km0965	–	32	256	altersetin
Km0984	–	32	256	altersetin
Km0997	–	64	16	altersetin
Km1132	–	4	32	equisetin
Km1150	<i>Fusarium</i> sp.	8	8	equisetin
Km1150.1	<i>Fusarium</i> sp.	8	256	equisetin
Km1158	–	16	32	equisetin
Km1163	<i>Fusarium</i> sp.	4	32	equisetin
Km1173	–	8	64	equisetin
Km1211	–	>128	64	–
Km1348	–	32	64	–
Km1398	–	16	32	equisetin
Km1398.1	–	32	64	equisetin
Km1457	–	32	256	altersetin
Km1519	–	64	256	altersetin
Km1525	–	64	256	altersetin
Km1539	<i>Fusarium</i> sp.	16	64	equisetin
Km1543	<i>Fusarium</i> sp.	32	64	equisetin
Km1549	<i>Fusarium</i> sp.	4	32	–
Km1593	<i>Alternaria</i> sp.	16	16	altersetin
Km1594	–	>128	32	–
Km1600	–	64	256	–
Km1617	–	64	8	equisetin
Km1625	<i>Fusarium</i> sp.	64	16	equisetin
Km1666	–	>128	64	–
Km1704	–	>128	16	–
Km1735	–	>128	16	–
Km1737	<i>Alternaria</i> sp.	>128	32	–
Km1885	–	16	256	altersetin
Km1887	<i>Curvularia intermedia</i>	16	256	curvularin-related compounds
Km1888	–	>128	64	–
Km1948	–	32	256	altersetin
Km1950	<i>Alternaria</i> sp.	8	32	altersetin
Km1965	<i>Alternaria</i> sp.	64	256	curvularin-related compounds
Km2117.1	–	16	32	equisetin
Km2196	–	16	32	altersetin
Km2265	–	16	256	altersetin
Km2269	–	64	256	altersetin

<sup>a</sup> 使用 18S rRNA 序列鑑定真菌株，並將其與 NCBI 資料庫進行比對。<sup>b</sup> 針對 *Staphylococcus aureus* NEWMAN 的抗菌活性 (MIC, µg/mL)。<sup>c</sup> 粗萃物中含有的生物活性化合物

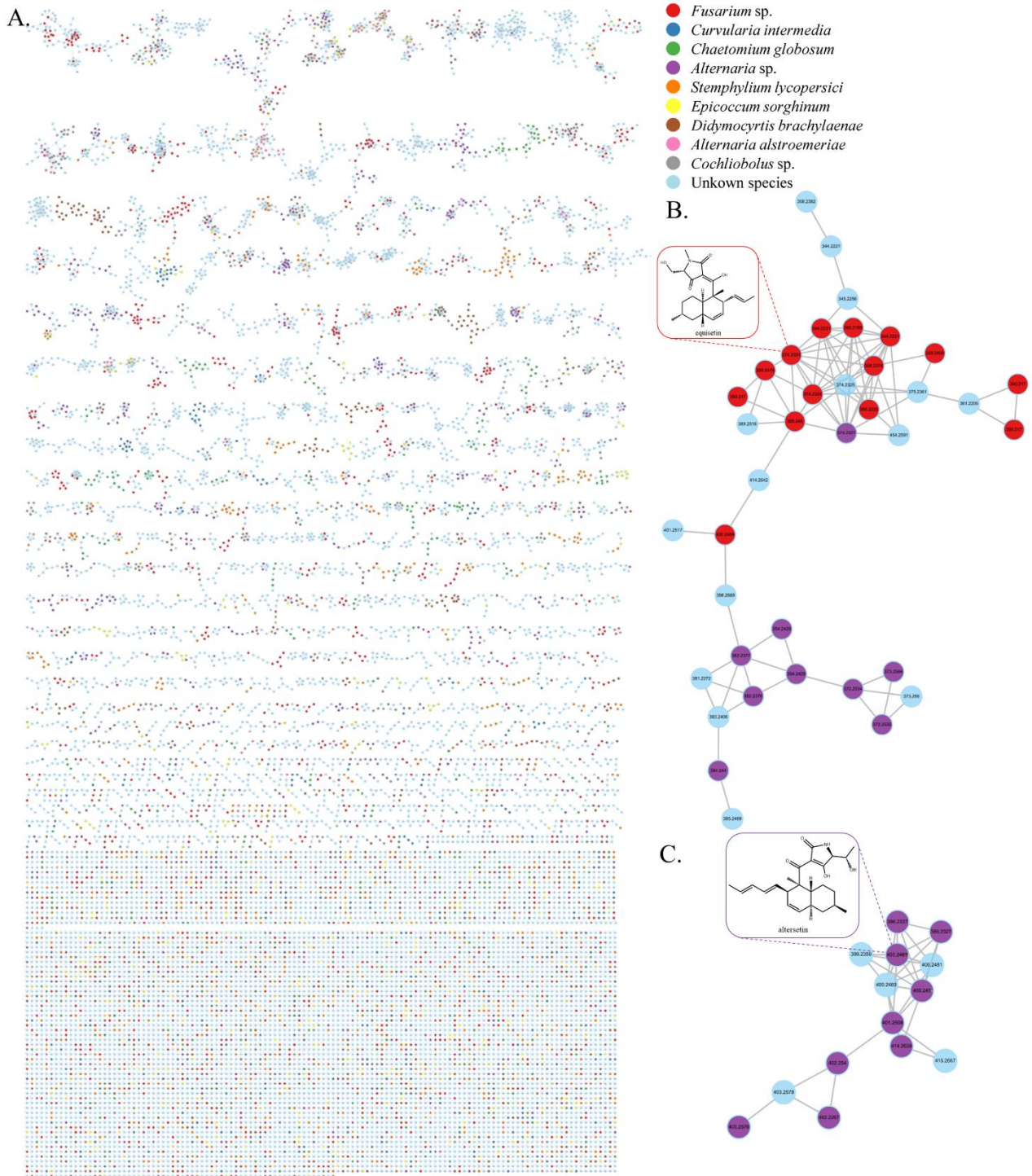
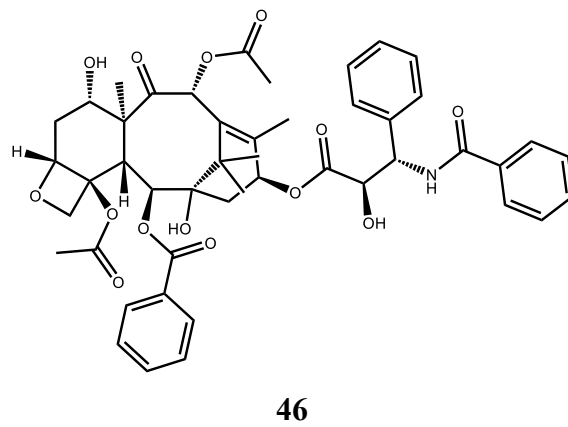
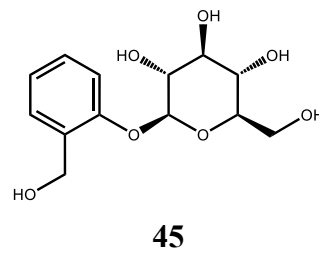
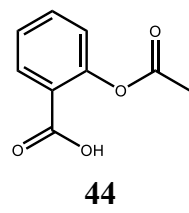
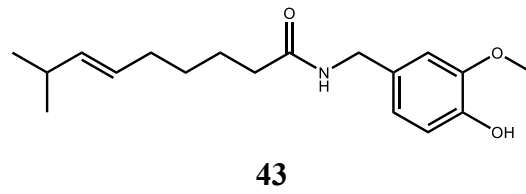
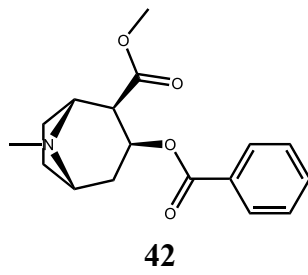
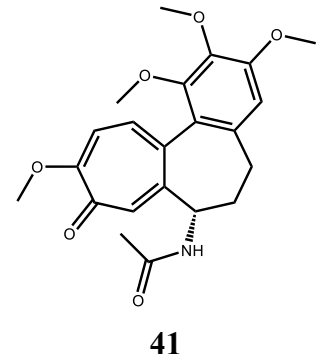
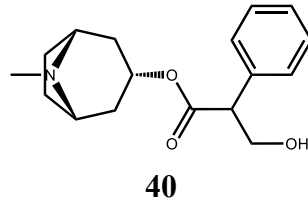
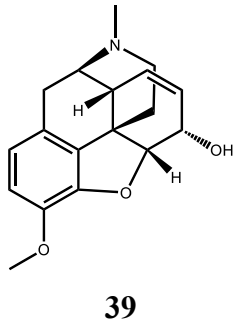
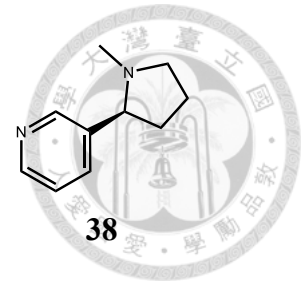
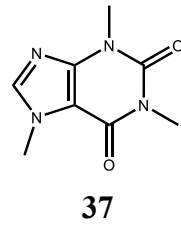
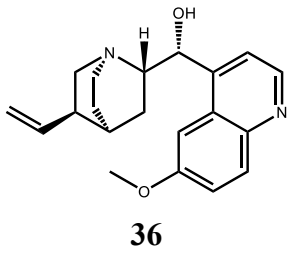
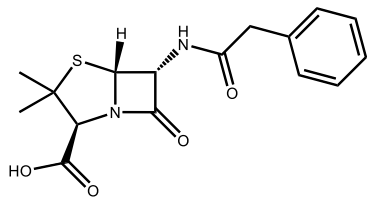


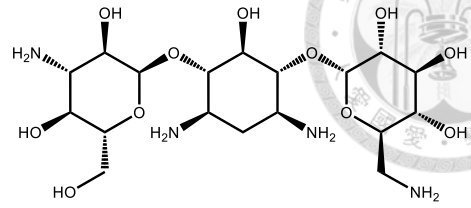
Figure 2. 100 株真菌乙酸乙酯層粗萃物的分子網絡圖

A：分子網絡全圖；B：equisetin 的訊號註釋；C：altersetin 的訊號註釋

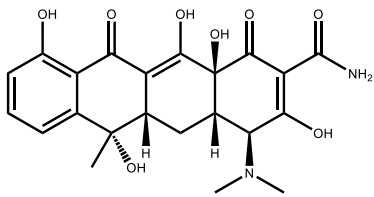




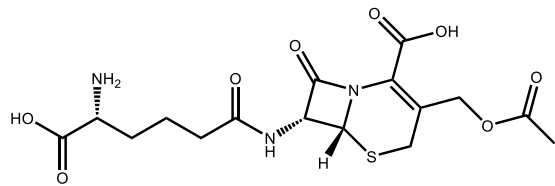
47



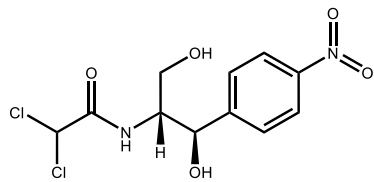
48



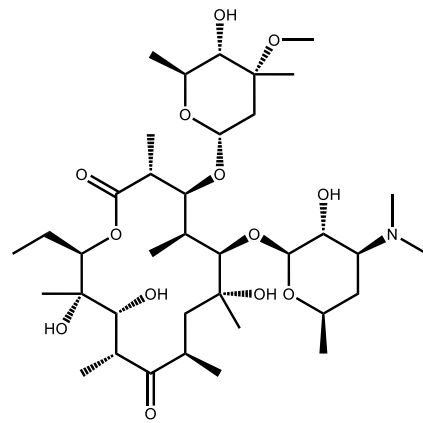
49



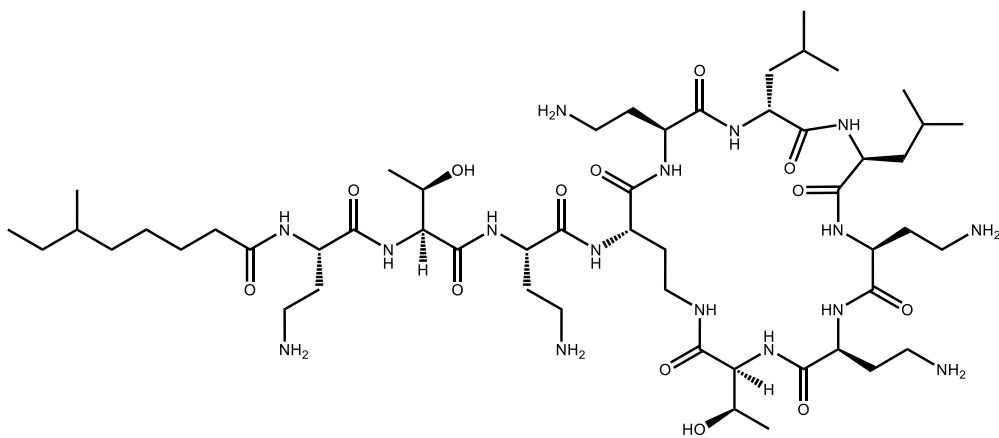
50



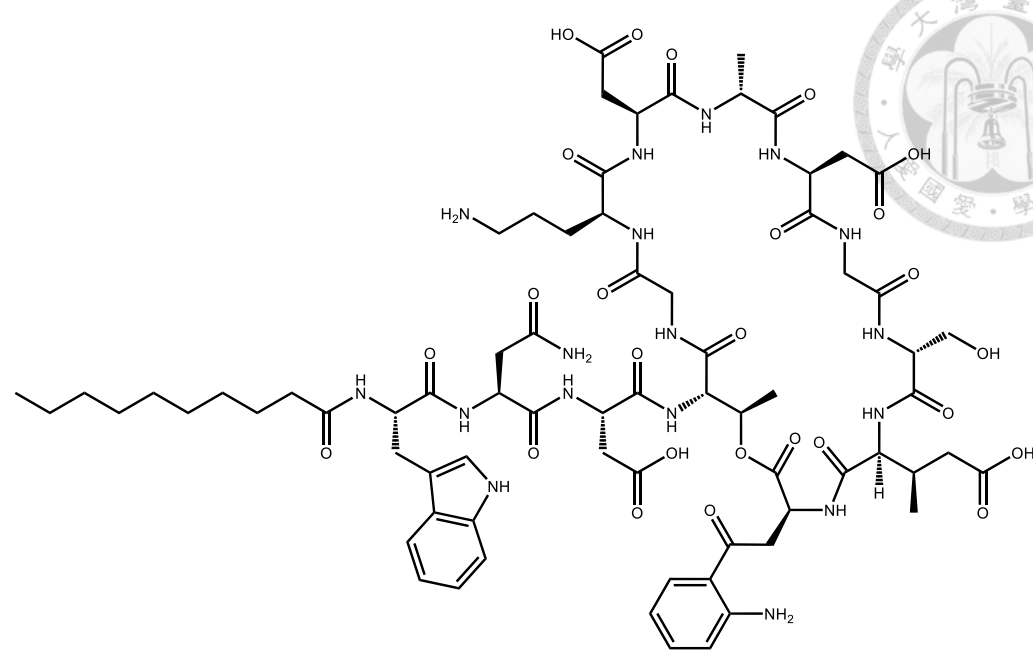
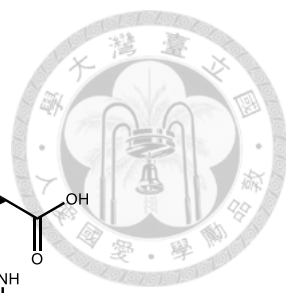
51



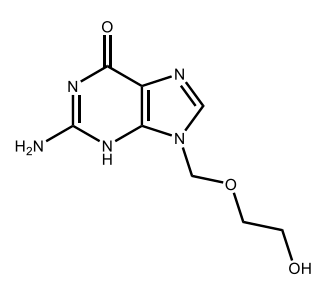
52



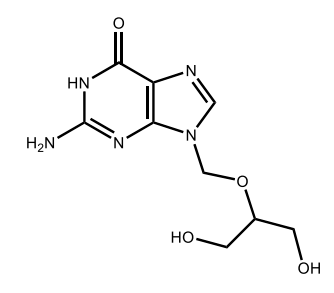
53



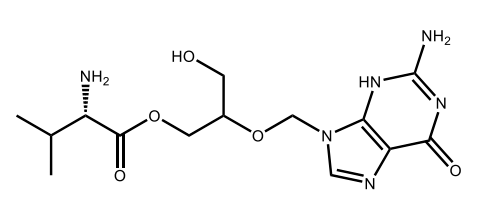
54



55



56



57



## 第二章 文獻回顧


### 2.1 球毛殼菌 (*Chaetomium globosum*) 分類學與來源介紹

*Chaetomium globosum* Km1226 屬真菌界 (Fungi)、子囊菌門 (Ascomycota)、囊殼菌綱 (Sordariomycetes)、囊殼菌目 (Sordariales)、毛殼菌科 (Chaetomiaceae)、毛殼菌屬 (*Chaetomium*)。

球毛殼菌是毛殼菌科著名的嗜溫成員，它是一種腐生真菌，廣泛分佈於植物、土壤、稻草和糞便中，也在木製品和海洋底泥中發現其蹤跡<sup>103-105</sup>，作為許多植物的內生真菌，其能增加宿主對金屬毒性的耐受性<sup>106</sup>，也在蘋果樹中發現，接種它的子囊孢子可降低細菌性疾病症狀，例如蘋果黑星病、種子枯萎病和凋萎病<sup>107</sup>。

### 2.2 球毛殼菌 (*Chaetomium globosum*) 真菌成分

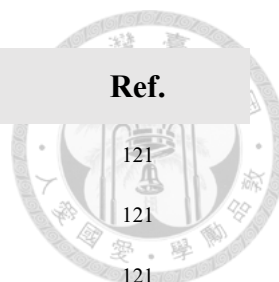
毛殼屬真菌是具有重要意義、新穎的次級代謝物的豐富來源<sup>108</sup>。自西元 1936 年起就陸續從該屬真菌中分離出各種二次代謝產物，如細胞鬆弛素 (cytochalasan)、二酮哌嗪 (dioxopiperazine)、吲哚生物鹼 (indole alkaloid)、氮菲酮 (azaphilone)、咕噸酮 (xanthone)、蔥醌 (anthraquinone)、色酮 (chromone)、萜 (terpenoid) 和類固醇 (steroid) 等化合物，表現出抗腫瘤 (antitumor)、細胞毒性 (cytotoxicity)、抗瘧疾 (antimalarial)、酶抑制 (enzyme inhibitory)、抗發炎 (anti-inflammatory) 和抗生素等多種生物活性<sup>105, 108-111</sup>，以 Reaxys、Scifinder、Google scholar 和 Pudmed 作為搜尋平台，統計球毛殼真菌所產生之次級代謝產物，經文獻回顧至西元 2024 年 12 月底前，總計有 343 個已發表之化合物，依其代謝物種類、名稱、菌種編號、來源和參考文獻分類整理於 Table 3。

Table 3. *Chaetomium globosum* 之二次代謝產物文獻回顧


名稱	編號	來源	Ref.
<b>Cytochalasans</b>			112, 117, 120, 123,
Chaetoglobosin A (58)	Kunz ex Fries	食品	125, 129, 130, 138, 157, 163, 182, 185, 192, 202, 204-206
Chaetoglobosin B (59)	Kunz ex Fries	食品	112, 117, 129, 130, 137, 138, 192, 206, 207
Chaetoglobosin C (60)	Kunz ex Fries	食品	113, 114, 118, 120, 131, 136, 138, 141, 144, 163, 167, 182, 202, 204-206
Chaetoglobosin D (61)	Kunz ex Fries	食品	113, 114, 117, 129, 138, 141, 202, 206, 207
Chaetoglobosin E (62)	Kunz ex Fries	食品	113, 114, 118, 120, 124, 128-131, 138, 140, 141, 182, 191, 193, 202, 206, 207
Chaetoglobosin F (63)	Kunz ex Fries	食品	113, 114, 118, 120, 128, 130-132, 138, 140, 157, 182, 191, 205, 208
Chaetoglobosin G (64)	Kunz ex Fries	食品	115, 120, 123, 124, 131, 137, 138, 140, 141, 167, 182, 201, 202
Chaetoglobosin J (65)	Kunz ex Fries	食品	115, 133, 141, 143, 177
19- <i>O</i> -Acetylchaetoglobosin A (66)	Lederle H-124	-	116, 209
19- <i>O</i> -Acetylchaetoglobosin B (67)	Lederle H-124	-	116
19- <i>O</i> -Acetylchaetoglobosin D (68)	Lederle H-124	-	116
Cytochalasin G (69)	Lederle H-124	-	116

名稱	編號	來源	Ref.
Chaetoglobosin Q (70)	CANUN60	鹽砂	117
Chaetoglobosin R (71)	CANUN60	鹽砂	117, 170, 202
Chaetoglobosin T (72)	CANUN60	鹽砂	117, 136, 144, 170
Prochaetoglobosins I (73)	CANUN60	鹽砂	117
Prochaetoglobosins II (74)	CANUN60	鹽砂	117
Chaetoglobosin U (75)	IFB-E019	白茅	118, 125, 132, 163
Penochalasin A (76)	IFB-E019	白茅	118, 127
Cytoglobosin A (77)	QEN-14	石蓴	119, 131, 132
Cytoglobosin B (78)	QEN-14	石蓴	119, 124, 128, 131, 143
Cytoglobosin C (79)	QEN-14	石蓴	119, 124, 126, 128, 131, 140
Cytoglobosin D (80)	QEN-14	石蓴	119
Cytoglobosin E (81)	QEN-14	石蓴	119, 126
Cytoglobosin F (82)	QEN-14	石蓴	119
Cytoglobosin G (83)	QEN-14	石蓴	119
Isochaetoglobosin D (84)	QEN-14	石蓴	119, 124, 128, 131, 138, 140, 141, 175, 201
Chaetoglobosin V (85)	IFB-E041	黃花蒿	120, 123, 129, 132, 133, 140, 141, 182,
Chaetoglobosin W (86)	IFB-E041	黃花蒿	120, 126, 140, 144
Chaetoglobosin F <sub>ex</sub> (87)	IFB-E041	黃花蒿	120, 119, 124, 128, 130, 131, 137, 138, 140, 141, 182, 210
5'-F-chaetoglobosin A (88)	1C51	德氏石斑魚	121
5'-Cl-chaetoglobosin A (89)	1C51	德氏石斑魚	121
5'-Br-chaetoglobosin A (90)	1C51	德氏石斑魚	121
5'-F-chaetoglobosin B (91)	1C51	德氏石斑魚	121
5'-Cl-chaetoglobosin B (92)	1C51	德氏石斑魚	121
5'-Br-chaetoglobosin B (93)	1C51	德氏石斑魚	121

名稱	編號	來源	Ref.
5'-F-chaetoglobosin J (94)	1C51	德氏石斑魚	121
5'-Cl-chaetoglobosin J (95)	1C51	德氏石斑魚	121
5'-Br-chaetoglobosin J (96)	1C51	德氏石斑魚	121
Chaetoglobosin V <sub>b</sub> (97)	NM0066	銀杏	123, 131, 136, 138, 140, 182, 206
Chaetoglobosin S (98)	NM0066	銀杏	123
Chaetoglobosin M (99)	NM0066	銀杏	123
Chaetoglobosin Y (100)	No. 64-5-8-2	短根條梅衣	124, 132, 138
Armochaeglobine A (101)	TW1-1	尋常球鼠婦	125
Armochaeglobine B (102)	TW1-1	尋常球鼠婦	125
Armochaeglobine C (103)	TW1-1	尋常球鼠婦	125
Armochaetoglobin A (104)	TW1-1	尋常球鼠婦	126
Armochaetoglobin B (105)	TW1-1	尋常球鼠婦	126
Armochaetoglobin C (106)	TW1-1	尋常球鼠婦	126
Armochaetoglobin D (107)	TW1-1	尋常球鼠婦	126
Armochaetoglobin E (108)	TW1-1	尋常球鼠婦	126, 133
Armochaetoglobin F (109)	TW1-1	尋常球鼠婦	126
Armochaetoglobin G (110)	TW1-1	尋常球鼠婦	126, 138, 141, 144
Armochaetoglobin H (111)	TW1-1	尋常球鼠婦	126
Armochaetoglobin I (112)	TW1-1	尋常球鼠婦	126
Armochaetoglobin J (113)	TW1-1	尋常球鼠婦	126, 140
Isochaetoglobosin J (114)	TW1-1	尋常球鼠婦	126
Armochaetoglobin K (115)	TW1-1	尋常球鼠婦	127
Armochaetoglobin L (116)	TW1-1	尋常球鼠婦	127
Armochaetoglobin M (117)	TW1-1	尋常球鼠婦	127
Armochaetoglobin N (118)	TW1-1	尋常球鼠婦	127
Armochaetoglobin O (119)	TW1-1	尋常球鼠婦	127
Armochaetoglobin R (120)	TW1-1	尋常球鼠婦	127
Penochalasin B (121)	TW1-1	尋常球鼠婦	127



名稱	編號	來源	Ref.
Penochalasin C (122)	TW1-1	尋常球鼠婦	127
Cytoglobosins H (123)	MCCC3A00607	深海沉積物	128, 140
Cytoglobosin I (124)	MCCC3A00607	深海沉積物	128
Chaetoglobosin O (125)	CBS148.51	棉花	129, 143
Chaetoglobosin Z (126)	CBS148.51	棉花	129, 144
Penochalasin G (127)	-	三七	130, 138, 141
Penochalasin F (128)	-	三七	130
Cytoglobosin A <sub>b</sub> (129)	SNSHI-5	生化池	131, 211
Isochaetoglobosin D <sub>b</sub> (130)	SNSHI-5	生化池	131, 211
Armochaetoglobin S (131)	TW1-1	尋常球鼠婦	132, 140
7-O-Acetylarmochaetoglobin S (132)	TW1-1	尋常球鼠婦	132
Armochaetoglobin T (133)	TW1-1	尋常球鼠婦	132
Armochaetoglobin U (134)	TW1-1	尋常球鼠婦	132
Armochaetoglobin V (135)	TW1-1	尋常球鼠婦	132
Armochaetoglobin W (136)	TW1-1	尋常球鼠婦	132
Armochaetoglobin X (137)	TW1-1	尋常球鼠婦	132
Armochaetoglobin Y (138)	TW1-1	尋常球鼠婦	132, 136
Armochaetoglobin Z (139)	TW1-1	尋常球鼠婦	132
Armochaetoglasin A (140)	TW1-1	尋常球鼠婦	133
Armochaetoglasin B (141)	TW1-1	尋常球鼠婦	133
Armochaetoglasin C (142)	TW1-1	尋常球鼠婦	133
Armochaetoglasin D (143)	TW1-1	尋常球鼠婦	133
Armochaetoglasin E (144)	TW1-1	尋常球鼠婦	133, 144
Armochaetoglasin F (145)	TW1-1	尋常球鼠婦	133, 143
Armochaetoglasin G (146)	TW1-1	尋常球鼠婦	133
Armochaetoglasin H (147)	TW1-1	尋常球鼠婦	133
Armochaetoglasin I (148)	TW1-1	尋常球鼠婦	133
Aureochaeglobosin A (149)	-	-	134
Aureochaeglobosin B (150)	-	-	134, 138

名稱	編號	來源	Ref.
Aureochaeglobosin C (151)	-	-	134
Yamchaetoglobosin A (152)	YNH-16	水鯿	135
Armochaetoglosin A (153)	TW1-1	尋常球鼠婦	136
Armochaetoglosin B (154)	TW1-1	尋常球鼠婦	136
Armochaetoglosin C (155)	TW1-1	尋常球鼠婦	136
Prochaetoglobosin I (156)	TW1-1	尋常球鼠婦	136, 138
Cytoglobosin X (157)	E-C-2	仿刺參	137
6-O-Methyl-chaetoglobosin Q (158)	C2F17	細枝鹿角珊瑚	138
Aureochaeglobosin D (159)	-	-	139
Cytoglobosin J (160)	-	-	139
Cytoglobosin K (161)	-	-	139
Cytoglobosin L (162)	-	-	139
Armochaetoglasin J (163)	-	寬體金線蛭	140
Armochaetoglasin K (164)	-	寬體金線蛭	140
Chaetoglobosin A <sub>b</sub> (165)	-	寬體金線蛭	140
Phychaetoglobin A (166)	kz-19	角果木	141
Phychaetoglobin B (167)	kz-19	角果木	141
Phychaetoglobin C (168)	kz-19	角果木	141
Phychaetoglobin D (169)	kz-19	角果木	141
Penochalasin J (170)	kz-19	角果木	141
Prochaetoglobosin III <sub>ed</sub> (171)	kz-19	角果木	141, 143
Armochaetoglasin L (172)	-	(節肢動物)	142
Armochaetoglasin M (173)	-	(節肢動物)	142
Marchaetoglobin A (174)	162105	掘海綿	143
Marchaetoglobin B (175)	162105	掘海綿	143
Marchaetoglobin C (176)	162105	掘海綿	143
Marchaetoglobin D (177)	162105	掘海綿	143
Marcytoglobosin A (178)	162105	掘海綿	144
Marcytoglobosin B (179)	162105	掘海綿	144

名稱	編號	來源	Ref.
<b>Azaphilones</b>			
Chaetoviridin A (180)	var. flavo-viride	-	145, 137, 154, 156, 157, 160, 162, 166, 170, 172, 185, 205, 212
Chaetoviridin B (181)	var. flavo-viride	-	145, 137, 154, 185, 193, 201
Chaetoviridin C (182)	var. flavo-viride	-	145, 149, 154, 172
Chaetoviridin D (183)	var. flavo-viride	-	145, 154
Chaetoglobin A (184)	IFB-E019	白茅	146, 185
Chaetoglobin B (185)	IFB-E019	白茅	146, 163
Chaetomugilin A (186)	OUPS-T106B-6	鰻魚	147-149, 130, 137, 151, 152, 160, 161, 163, 165, 172, 193, 201, 204, 213
Chaetomugilin B (187)	OUPS-T106B-6	鰻魚	147
Chaetomugilin C (188)	OUPS-T106B-6	鰻魚	147, 161
Chaetomugilin D (189)	OUPS-T106B-6	鰻魚	148, 130, 149, 151, 157-160, 172, 204, 213, 214
Chaetomugilin E (190)	OUPS-T106B-6	鰻魚	148, 158
Chaetomugilin F (191)	OUPS-T106B-6	鰻魚	148, 158
Chaetomugilin G (192)	OUPS-T106B-6	鰻魚	149
Chaetomugilin H (193)	OUPS-T106B-6	鰻魚	149
Chaetomugilin I (194)	OUPS-T106B-6	鰻魚	150, 153, 163, 172, 191, 193, 213
Chaetomugilin J (195)	OUPS-T106B-6	鰻魚	150, 158, 172, 193, 213, 214
Chaetomugilin K (196)	OUPS-T106B-6	鰻魚	150
Chaetomugilin L (197)	OUPS-T106B-6	鰻魚	150
Chaetomugilin M (198)	OUPS-T106B-6	鰻魚	150
Chaetomugilin N (199)	OUPS-T106B-6	鰻魚	150, 158

名稱	編號	來源	Ref.
Chaetomugilin O (200)	OUPS-T106B-6	鰻魚	150, 163, 165, 172, 213
<i>Seco</i> -chaetomugilin A (201)	OUPS-T106B-6	鰻魚	151
<i>Seco</i> -chaetomugilin D (202)	OUPS-T106B-6	鰻魚	151
11- <i>Epichaetomugilin</i> A (203)	OUPS-T106B-6	鰻魚	152, 153, 159, 160
4'- <i>Epichaetomugilin</i> A (204)	OUPS-T106B-6	鰻魚	152
Chaetomugilin P (205)	OUPS-T106B-6	鰻魚	153
Chaetomugilin Q (206)	OUPS-T106B-6	鰻魚	153, 159, 163, 172, 193, 213
Chaetomugilin R (207)	OUPS-T106B-6	鰻魚	153
11- <i>Epichaetomugilin</i> I (208)	OUPS-T106B-6	鰻魚	153, 158
5'- <i>Epichaetoviridin</i> A (209)	-	<i>Viguiera robusta</i>	154
4'- <i>Epichaetoviridin</i> F (210)	-	<i>Viguiera robusta</i>	154
12 $\beta$ -Hydroxychaetoviridin C (211)	-	<i>Viguiera robusta</i>	154
Chaetoviridin G (212)	-	<i>Viguiera robusta</i>	154, 190, 191
Chaetoviridin H (213)	-	<i>Viguiera robusta</i>	154, 160
Chaetoviridin I (214)	-	<i>Viguiera robusta</i>	154, 164
Chaetoviridin E (215)	-	<i>Viguiera robusta</i>	154, 137, 156, 162, 165, 172
4'- <i>Epichaetoviridin</i> A (216)	-	<i>Viguiera robusta</i>	154
Chaetomugilin S (217)	OUPS-T106B-6	鰻魚	155, 156, 159, 213
Dechloro-chaetomugilin A (218)	OUPS-T106B-6	鰻魚	155, 172
Dechloro-chaetomugilin D (219)	OUPS-T106B-6	鰻魚	155, 172
Chaetomugilide A (220)	TY1	銀杏	156, 163
Chaetomugilide B (221)	TY1	銀杏	156
Chaetomugilide C (222)	TY1	銀杏	156

名稱	編號	來源	Ref.
4'-Epi-N-2-hydroxyethyl-azachaetoviridin A (223)	DAOM 240359	空氣(室內)	157, 185
N-2-Butyric-azochaetoviridin E (224)	DAOM 240359	空氣(室內)	157
Isochromophilone XIII (225)	DAOM 240359	空氣(室內)	157
Chaetoviridin J (226)	-	<i>Wikstroemia uva-ursi</i>	158, 164, 193
Chaetoviridin K (227)	-	<i>Wikstroemia uva-ursi</i>	158
Chaephilone A (228)	TW1-1	尋常球鼠婦	159, 163
Chaephilone B (229)	TW1-1	尋常球鼠婦	159
Cochliodone A (230)	CBS148.51	-	160, 185
Cochliodone B (231)	CBS148.51	-	160
Chaetoviridin F (232)	CBS148.51	-	160
N-Glutarylchaetoviridin A (233)	HDN151398	深海沉積物	161
N-Glutarylchaetoviridin B (234)	HDN151398	深海沉積物	161
N-Glutarylchaetoviridin C (235)	HDN151398	深海沉積物	161
N-(3,7-Dimethyl-2,6-octadienyl)-2-aza-2-deoxychaetoviridin A (236)	MP4-S01-7	深層海水	162
4'-Epi-N-(3,7-dimethyl-2,6-octadienyl)-2-aza-2-deoxychaetoviridin A (237)	MP4-S01-7	深層海水	162
N-(3-Methyl-2-butenyl)-2-aza-2-deoxychaetoviridin A (238)	MP4-S01-7	深層海水	162
4'-Epi-N-(3-methyl-2-butenyl)-2-aza-2-deoxychaetoviridin A (239)	MP4-S01-7	深層海水	162
N-(3,7-Dimethyl-2,6-octadienyl)-2-aza-2-deoxychaetoviridin E (240)	MP4-S01-7	深層海水	162
N-(3-Methyl-2-butenyl)-2-aza-2-deoxychaetoviridin E (241)	MP4-S01-7	深層海水	162
4',5'-Dinor-5'-deoxy-N-(3,7-dimethyl-2,6-octadienyl)-2-aza-2-deoxychaetoviridin A (242)	MP4-S01-7	深層海水	162
4'5'-Dinor-5'-deoxy-N-(3-methyl-2-butenyl)-2-aza-2-	MP4-S01-7	深層海水	162

名稱	編號	來源	Ref.
deoxychaetoviridin A (243)			
Chaephilone C (244)	TY-2	黃精	163
Chaetofanixin A (245)	YP-106	海水	164
Chaetofanixin B (246)	YP-106	海水	164
Chaetofanixin C (247)	YP-106	海水	164
Chaetofanixin D (248)	YP-106	海水	164
Chaetofanixin E (249)	YP-106	海水	164
Chaetoviridin L (250)	YP-106	海水	165
Chaephilone D (251)	YP-106	海水	165
<i>N</i> -Butyl-2-aza-2-deoxychaetoviridin A (252)	2020HZ23	鼠尾藻	166
<i>N</i> -Hexyl-2-aza-2-deoxychaetoviridin A (253)	2020HZ23	鼠尾藻	166

### Indole alkaloids

2-Methyl-3-hydroxy indole (254)	L18	溫鬱金	122
Chaetogline A (255)	1C51	德氏石斑魚	168
Chaetogline B (256)	1C51	德氏石斑魚	168
Chaetogline C (257)	1C51	德氏石斑魚	168
Chaetogline D (258)	1C51	德氏石斑魚	168
Chaetogline E (259)	1C51	德氏石斑魚	168
Chaetogline F (260)	1C51	德氏石斑魚	168
Chaetogline G (261)	1C51	德氏石斑魚	168
Chaetogline H (262)	1C51	德氏石斑魚	168
Chaetoglobinol A (263)	-	土壤	169, 172
Cochliodinol (264)	-	土壤	169, 137, 172, 179, 185, 186
Semicochliodinol A (265)	-	土壤	169
Chaetoindolin A (266)	CDW7	-	170
Chaetoindolone A (267)	1C51	德氏石斑魚	171
Chaetoindolone B (268)	1C51	德氏石斑魚	171

名稱	編號	來源	Ref.
Chaetoindolone C (269)	1C51	德氏石斑魚	171
Chaetoindolone D (270)	1C51	德氏石斑魚	171
19- <i>O</i> -Demethylchaetogline A (271)	1C51	德氏石斑魚	171
20- <i>O</i> -Demethylchaetogline F (272)	1C51	德氏石斑魚	171
5-Methoxyhydroperoxycochliodinol (273)	BCC71876	-	172
5-(3',3'-Dimethylallyl)indole-3-oxoacetic acid (274)	BCC71876	-	172
5-Dimethylallylindole-3-carboxylic acid (275)	BCC71876	-	172
Prenisatin (276)	Kunze:Fr.	土壤	179

### Diketopiperazines

Chetomin (277)	-	土壤	173, 169, 177, 184
Dethiotetra(methylthio)chemotin (278)	HINZE ex FR.	土壤	174, 177, 178, 184
Echinuline (279)	KMITL-N0802	-	175
Neoechinulin A (280)	CCTCC AF206003	<i>Polysiphonia urceolata</i>	176
Fumitremorgin C (281)	NM0066	銀杏	167
Gliotoxin (282)	NM0066	銀杏	167
Bisdethiobis(methylthio)gliotoxin (283)	NM0066	銀杏	167
Chaetocochin G (284)	-	土壤	169
Chaetocochin H (285)	-	土壤	169
Chaetocochin I (286)	-	土壤	169
Chaetocochin D (287)	-	土壤	169
Chaetocochin J (288)	-	土壤	169
Chetoseminudin A (289)	-	土壤	169
Chetoseminudin B (290)	HG423571	燕麥	177, 178
Chetoseminudin C (291)	HG423571	燕麥	177, 178
Demethylchaetocochin C (292)	7951	三七	178

名稱	編號	來源	Ref.
Chaetoperazine A (293)	7951	三七	178
Chaetocochin C (294)	7951	三七	178
<b>Alkaloids</b>			
Cerebroside B (295)	ZY-22	銀杏	180
Cerebroside C (296)	ZY-22	銀杏	180
Allantoin (297)	ZY-22	銀杏	180
Chaetoglocin C (298)	IFB-E036	狗牙根	181
Chaetoglocin D (299)	IFB-E036	狗牙根	181
Pseurotin A (300)	NM0066	銀杏	167
Fumigaclavine B (301)	-	銀杏	182
<b>Anthraquinones</b>			
Chaetomanone (302)	KMITL-N0802	土壤	175
Chrysophanol (303)	KMITL-N0802	土壤	175, 178
Erythroglaucin (304)	CCTCC AF206003	<i>Polysiphonia urceolata</i>	176
Parietin (305)	CCTCC AF206003	<i>Polysiphonia urceolata</i>	176
Chrysazin (306)	Ames	蟹爪蘭	183
1,3,6,8-Tetrahydroxyanthraquinone (307)	Ames	蟹爪蘭	183
Emodin (308)	7951	三七	178
Alatinone (309)	7951	三七	178
<b>Xanthenones</b>			
Globosuxanthone A (310)	Ames	蟹爪蘭	183
Globosuxanthone B (311)	Ames	蟹爪蘭	183
Globosuxanthone C (312)	Ames	蟹爪蘭	183
Globosuxanthone D (313)	Ames	蟹爪蘭	183
2-Hydroxyvertexanthone (314)	Ames	蟹爪蘭	183
Xanthoquinodin B9 (315)	7s-1	越南棕竹	184
Xanthoquinodin A1 (316)	7s-1	越南棕竹	184

名稱	編號	來源	Ref.
Xanthoquinodin A3 (317)	7s-1	越南棕竹	184
<b>Pyranones</b>			
Chaetoglocin A (318)	IFB-E036	狗牙根	181, 185
Chaetoglocin B (319)	IFB-E036	狗牙根	181
Dihydrocoarctatin (320)	-	-	185
Coarctatin (321)	-	-	185
<b>Polyketides</b>			
Alternariol monomethyl ether (322)	KMITL-N0802	土壤	175
Flavipin (323)	Kunze ex Steud	大豆胞囊線蟲	187, 130, 192, 215, 216
Trichodion (324)	-	麻黃	188
Chaetopyranin (325)	CCTCC AF206003	<i>Polysiphonia urceolata</i>	176
2-(2',3-Epoxy-1',3'-heptadienyl)-6-hydroxy-5-(3-methyl-2-butenyl)benzaldehyde (326)	CCTCC AF206003	<i>Polysiphonia urceolata</i>	176
Isotetrahydroauroglaucin (327)	CCTCC AF206003	<i>Polysiphonia urceolata</i>	176
2,3,4-Trimethyl-5,7-dihydroxy-2,3-dihydrobenzofuran (328)	NM0066	銀杏	167
3,4-Dihydroxyphenylacetic acid (329)	NM0066	銀杏	167
Chaetoglobosin X (330)	L18	溫鬱金	122
Aureonitol (331)	-	-	185, 193
Mollipilin A (332)	-	-	185
Mollipilin B (333)	-	-	185
Epicoccone (334)	-	三七	130
3-Methoxyepicoccone (335)	-	三七	130, 192
Epicocolide A (336)	-	三七	130
Epicocolide B (337)	-	三七	130
Xylariol A (338)	RA07-3	<i>Anthogorgia ochracea</i>	189

名稱	編號	來源	Ref.
(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> )-6,8-Dihydroxy-3,4,5-trimethylisochroman-1-one (339)	RA07-3	<i>Anthogorgia ochracea</i>	189
2,5,8-Benzotrioxacycloundecin-1,9-dione (340)	RA07-3	<i>Anthogorgia ochracea</i>	189
Musanahol (341)	-	-	190
3- <i>Epi</i> aureonitol (342)	-	-	190
10,11-Dihydroxylaureonitol (343)	YNH-16	水蠶	135
Aureonitol A (344)	XL-1198	丹參	191
Aureonitol B (345)	XL-1198	丹參	191
4, 5, 6-Trihydroxy-7-methylphthalide (346)	YSC5	-	192
Chaetoglobol acid (347)	TY1	銀杏	193
13- <i>Epi</i> -higginsianin C (348)	-	黃連	194
Higginsianin B (349)	-	黃連	194
2',3'-Dihydroxy-4,5',4''-trimethoxy- <i>p</i> -terphenyl (350)	BCC71876	-	172
Chaetoketoic A (351)	SD-347	深海沉積物	195
Chaetoketoic B (352)	SD-347	深海沉積物	195

### Orsellides

Globosumone A (353)	-	麻黃	188
Globosumone B (354)	-	麻黃	188
Globosumone C (355)	-	麻黃	188
Orsellinic acid (356)	-	麻黃	188
Orcinol (357)	-	麻黃	188

### Asperentin derivatives

Asperentin (358)	CCTCC AF206003	<i>Polysiphonia urceolata</i>	176
5'-Hydroxy-asperentin-8-methyl ether (359)	CCTCC AF206003	<i>Polysiphonia urceolata</i>	176
Asperentin-8-methyl ether (360)	CCTCC AF206003	<i>Polysiphonia urceolata</i>	176
4'-Hydroxyasperentin (361)	CCTCC	<i>Polysiphonia</i>	176

名稱	編號	來源	Ref.
	AF206003	<i>urceolata</i>	
5'-Hydroxyasperentin (362)	CCTCC AF206003	<i>Polysiphonia</i> <i>urceolata</i>	176

### Tetramic acids

Sch 210971 (363)	ATCC 74489	(常綠植物)	196
Sch 210972 (364)	ATCC 74489	(常綠植物)	196
Sch 213766 (365)	ATCC 74489	(常綠植物)	197
Equisetin (366)	XL-1198	丹參	191

### Terpenoids

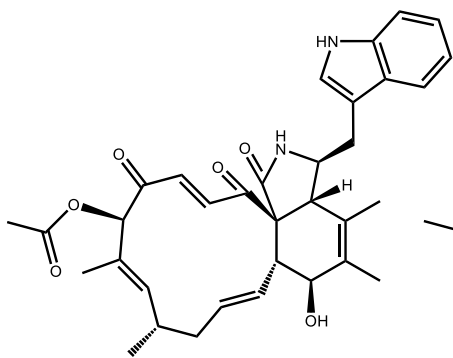
Heptelidic acid (367)	SANK13379	土壤	198, 217
Squalene (368)	NM0066	銀杏	167
Pseudolaric acid I (369)	IFFI 2445	-	199
Pseudolaric acid F (370)	IFFI 2445	-	199
Pseudolaric acid B 18-oyl-alanine (371)	IFFI 2445	-	199
Pseudolaric acid B 18-oyl-glycine (372)	IFFI 2445	-	199
Pseudolaric acid B 18-oyl-serine (373)	IFFI 2445	-	199
Punctaporonin T (374)	TC2-041	岩高蘭	200
Punctaporonin U (375)	TC2-041	岩高蘭	200
Punctaporonin A (376)	TC2-041	岩高蘭	200
Punctaporonin B (377)	TC2-041	岩高蘭	200
Punctaporonin C (378)	TC2-041	岩高蘭	200
Sesterchaetin A (379)	SD-347	深海沉積物	195
Sesterchaetin B (380)	SD-347	深海沉積物	195

### Steroids

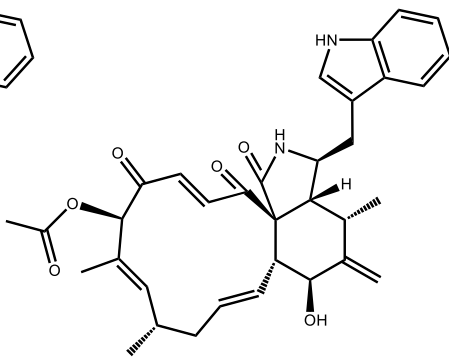
Ergosterol (381)	KMITL-N0802	土壤	175, 122, 178, 201, 202
Ergosteryl palmitate (382)	KMITL-N0802	土壤	175
Globosterol (383)	ZY-22	銀杏	180

名稱	編號	來源	Ref.
(22 <i>E</i> ,24 <i>R</i> )-Ergosta-7,22-diene-3β,5α,6β,9α-tetraol (384)	ZY-22	銀杏	180, 167
Ergosterol peroxide (385)	NM0066	銀杏	167, 122, 201
15β-Hydroxyl-(22 <i>E</i> ,24 <i>R</i> )-ergosta-3,5,8,22-tetraen-one (386)	Z1	構樹	201
3β,15β-Dihydroxyl-(22 <i>E</i> ,24 <i>R</i> )-ergosta-5,8(14),22-trien-7-one (387)	Z1	構樹	201
Chaetglotone (388)	-	黃連	194
(22 <i>E</i> ,24 <i>R</i> )-Ergoster-5,7,22-triene-3β-ol (389)	-	黃連	194
<b>Other N-containing compounds</b>			
4-Aminophenylacetic acid (390)	NM0066	銀杏	167
Allantoin (391)	No.04	銀杏	202
5-(Hydroxymethyl)-1 <i>H</i> -pyrrole-2-carbaldehyde (392)	-	銀杏	182
4-Formyl- <i>N</i> -(3'-hydroxypyridin-2'-yl)benzamide (393)	7951	三七	178
Cyclo(L-Pro-L-Trp) (394)	TY1	銀杏	193
<b>Nucleobases</b>			
Uracil (395)	No.04	銀杏	202
2'- <i>O</i> -Methyladenosine (396)		銀杏	182
5'-Deoxy-5'-methylamino-adenosine (397)		銀杏	182
<b>Isocoumarin</b>			
Prochaetoviridin A (398)	CDW7	-	170
<b>Flavonoid</b>			
Chrysin (399)	PG 1.6	<i>Chaetomorpha media</i>	203

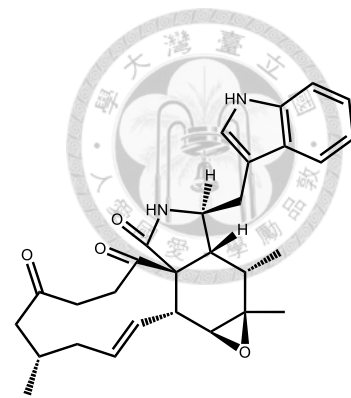




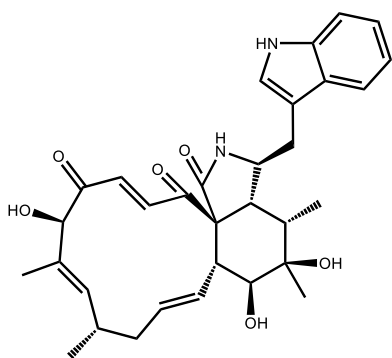
67



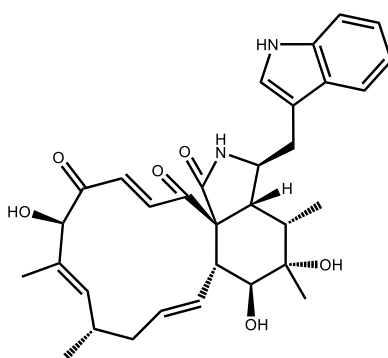
68



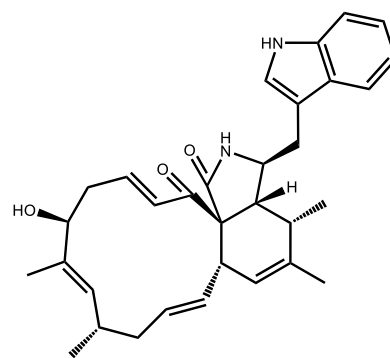
69



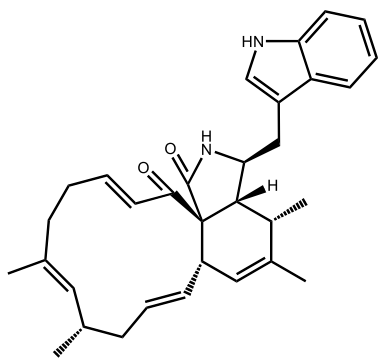
70



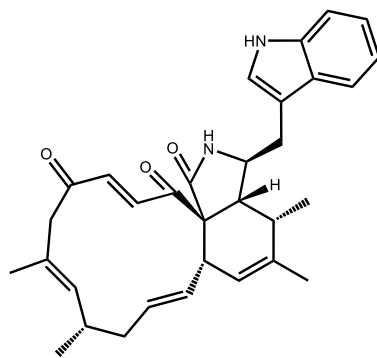
71



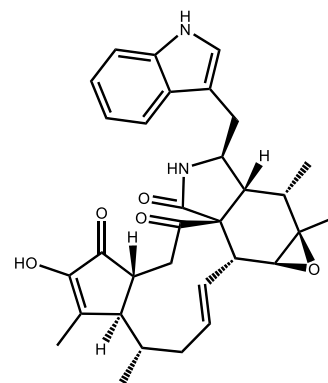
72



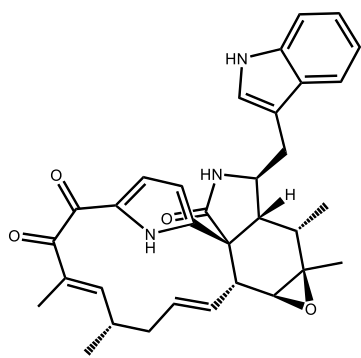
73



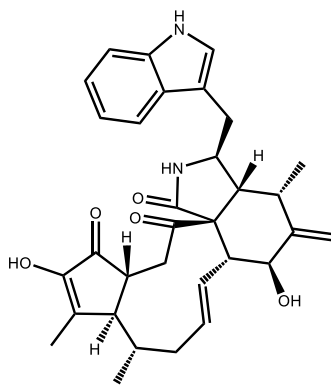
74



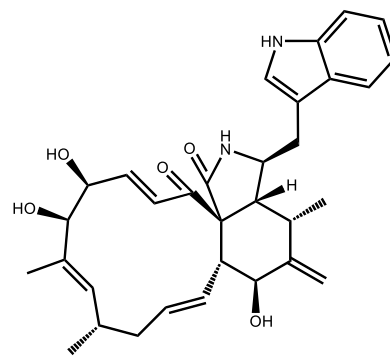
75



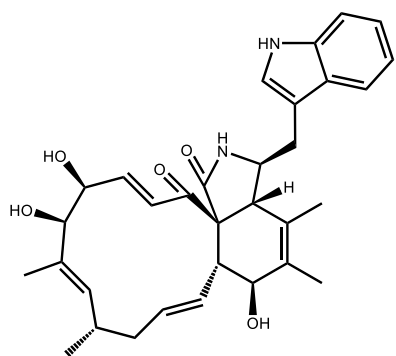
76



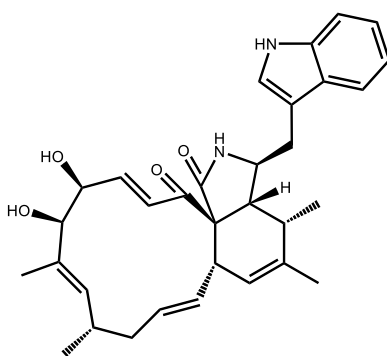
77



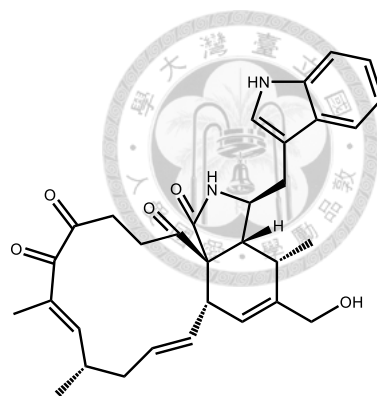
78



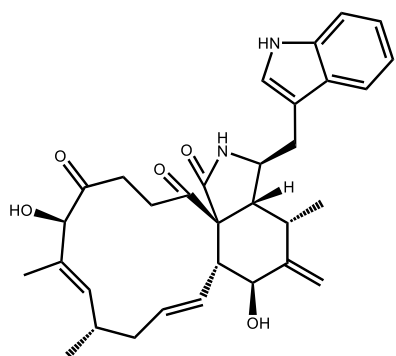
**79**



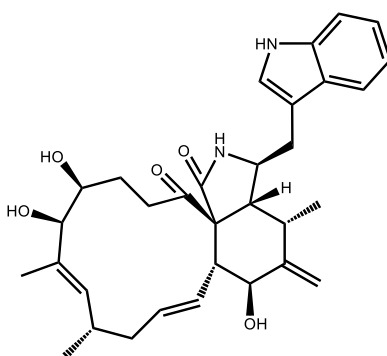
**80**



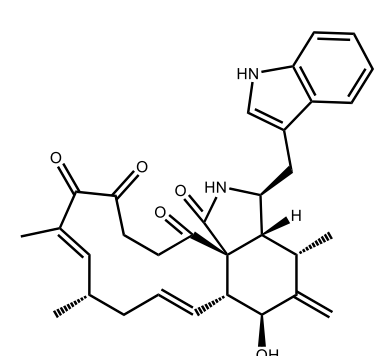
**81**



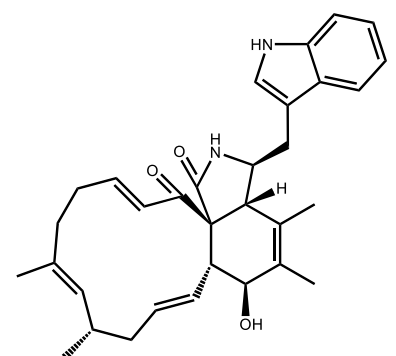
**82**



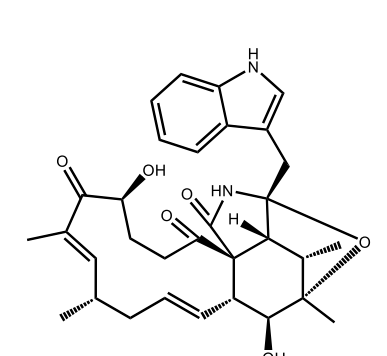
**83**



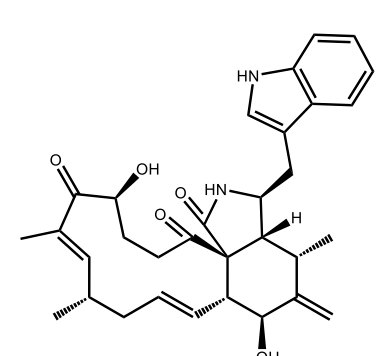
**84**



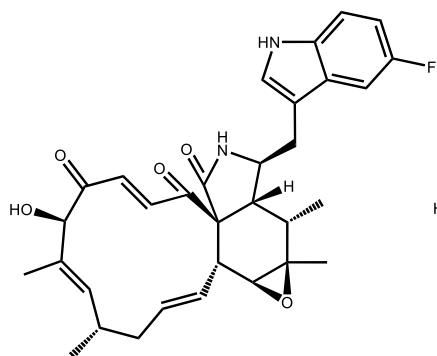
**85**



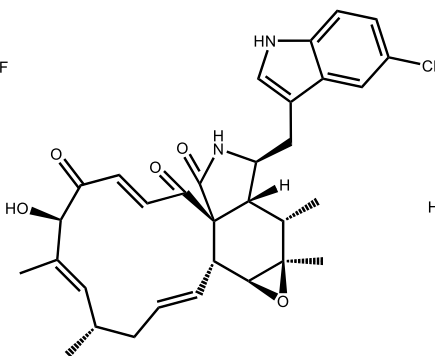
**86**



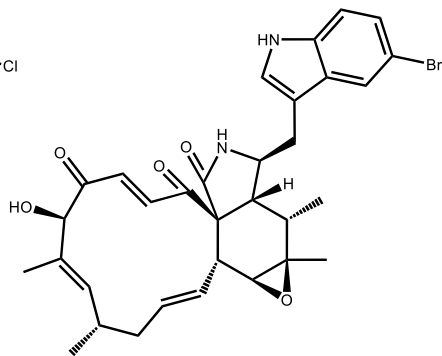
**87**



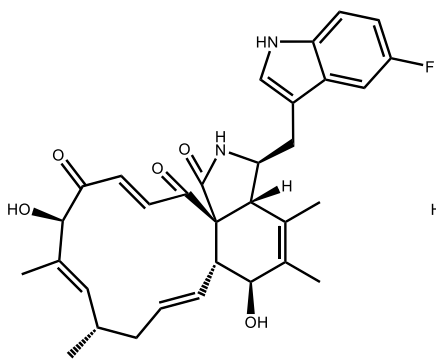
**88**



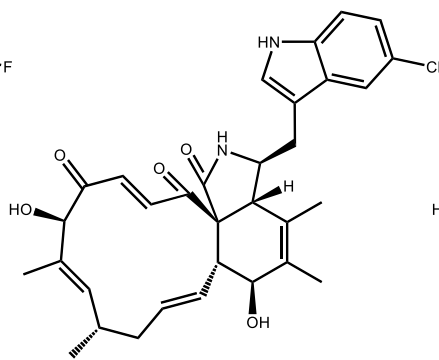
**89**



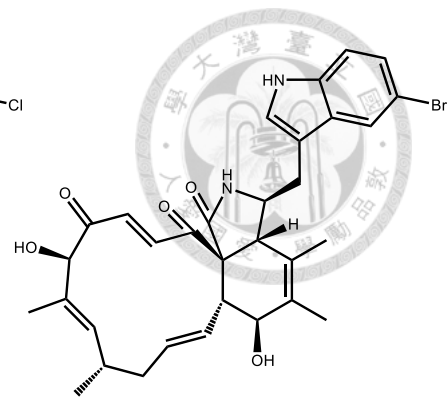
**90**



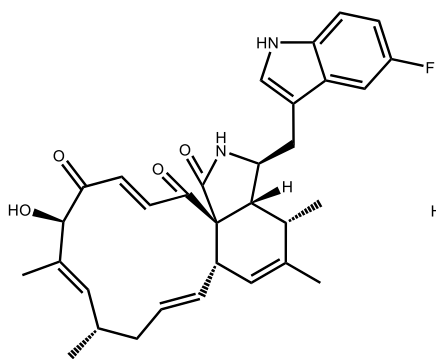
**91**



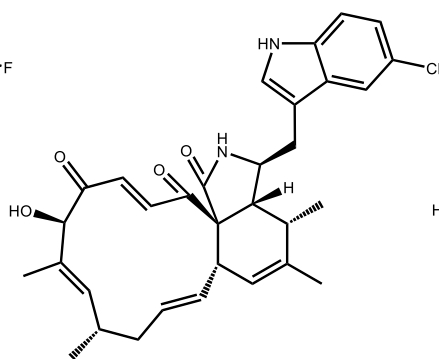
**92**



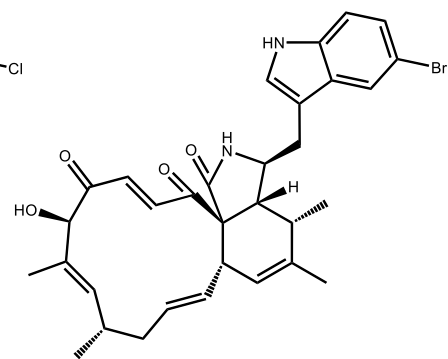
**93**



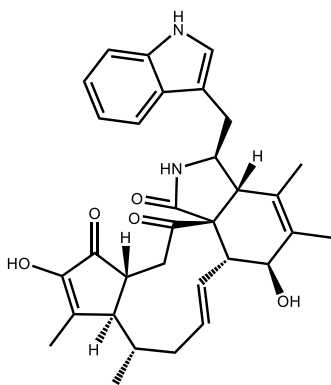
**94**



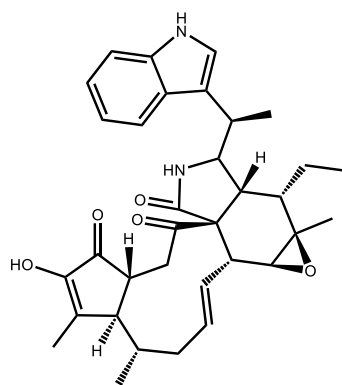
**95**



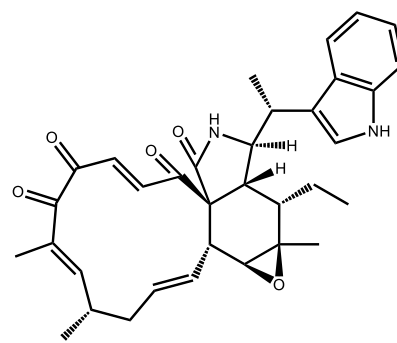
**96**



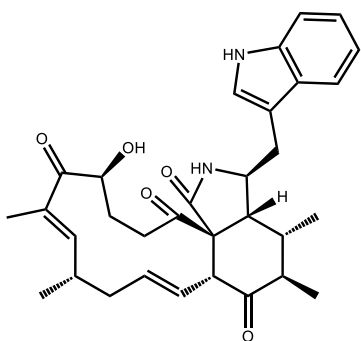
**97**



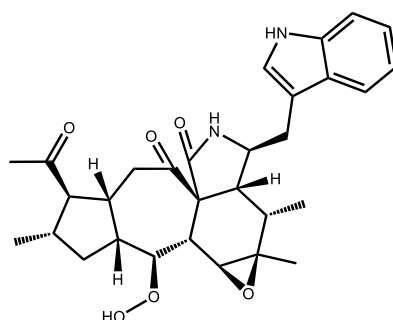
**98**



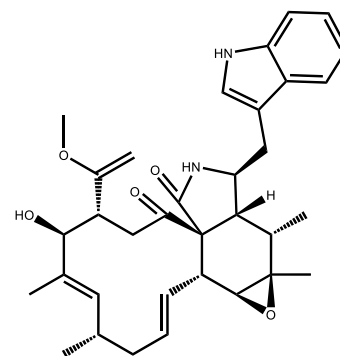
**99**



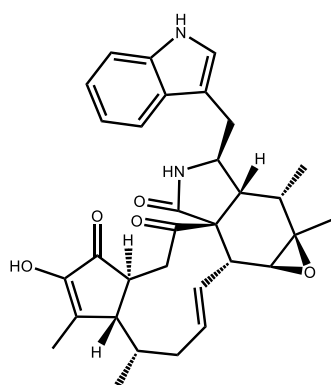
**100**



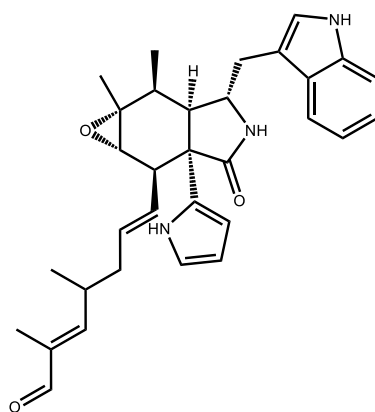
**101**



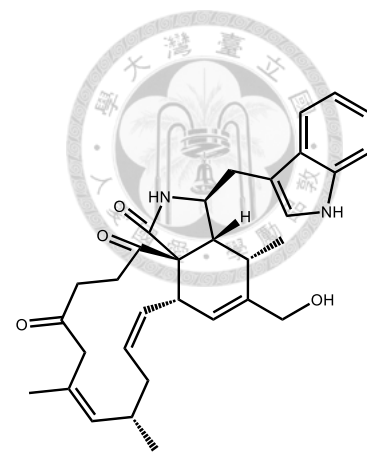
**102**



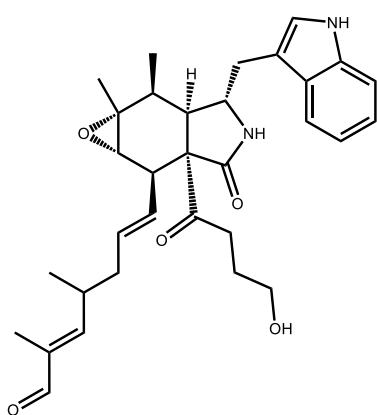
103



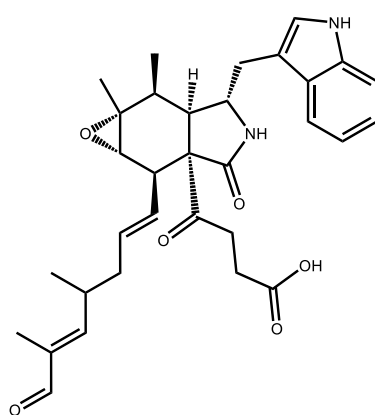
104



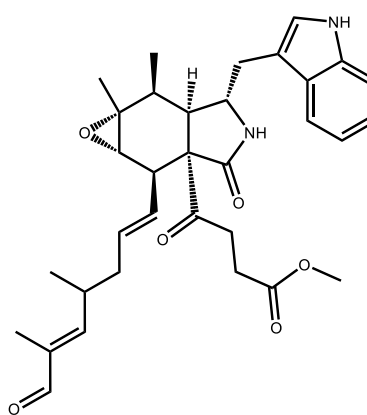
105



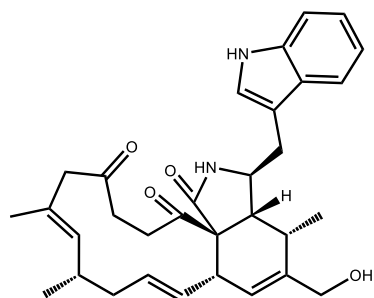
106



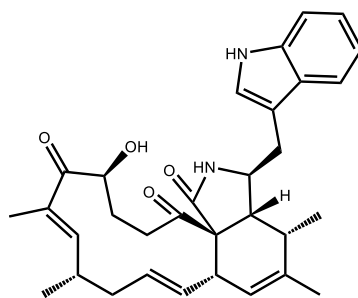
107



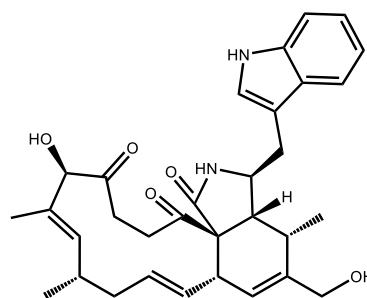
108



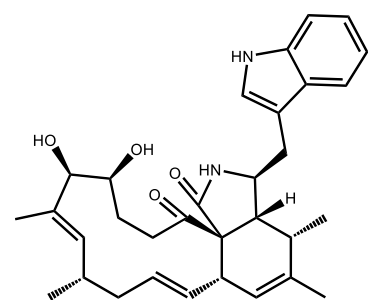
109



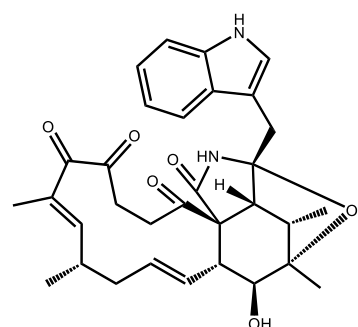
110



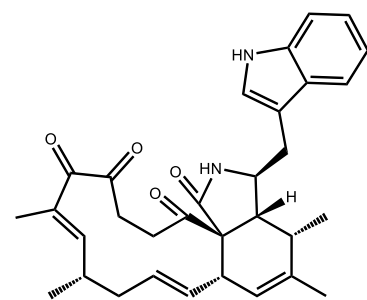
111



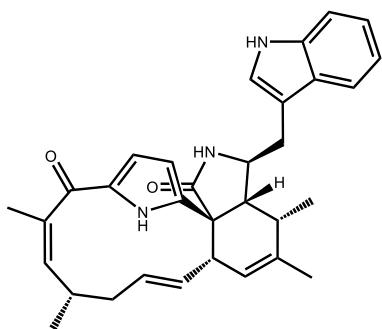
112



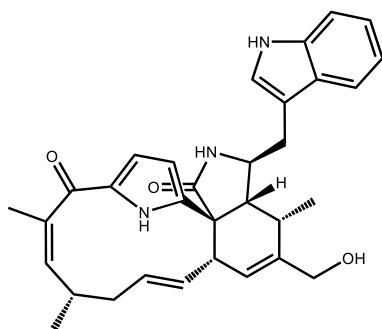
113



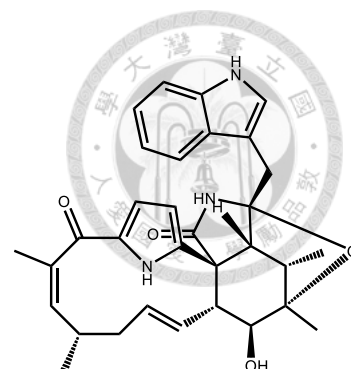
114



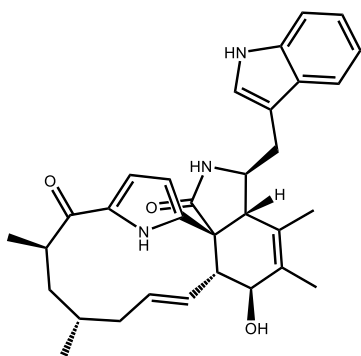
**115**



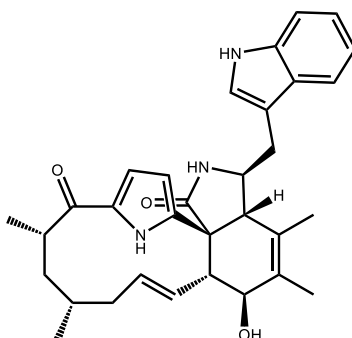
**116**



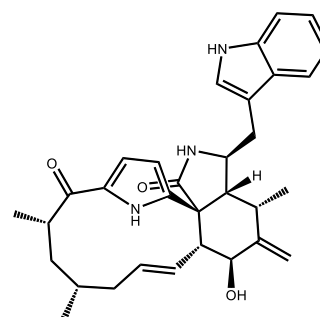
**117**



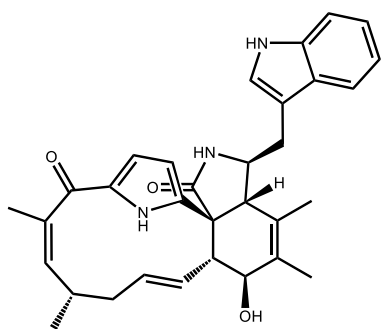
**118**



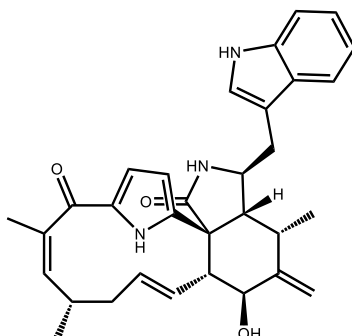
**119**



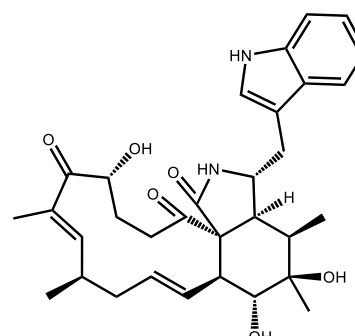
**120**



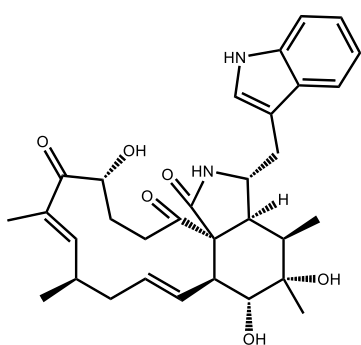
**121**



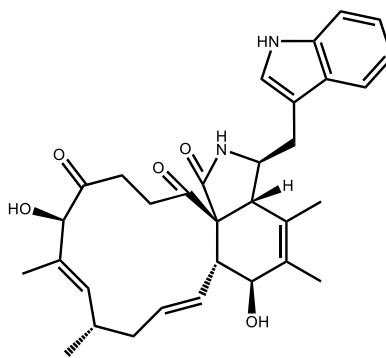
**122**



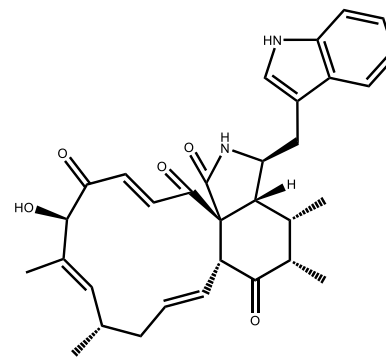
**123**



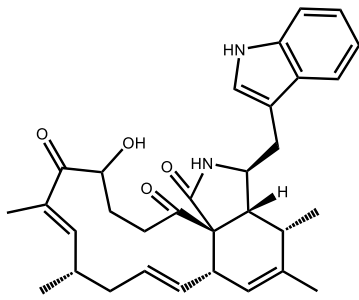
**124**



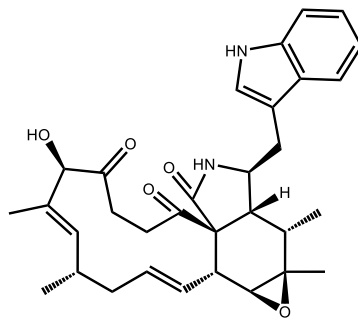
**125**



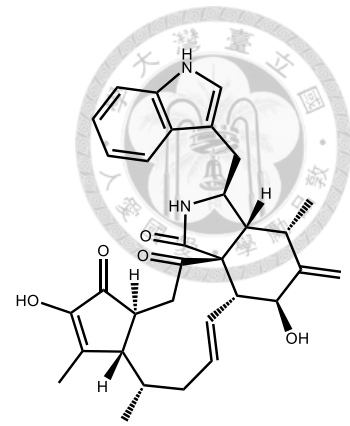
**126**



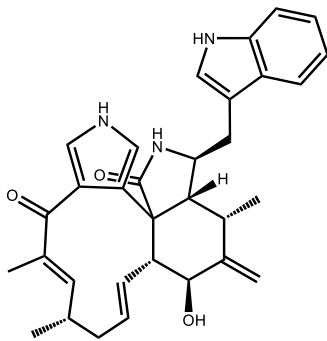
127



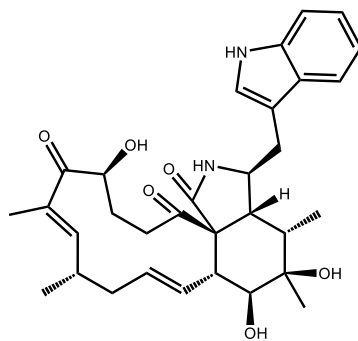
128



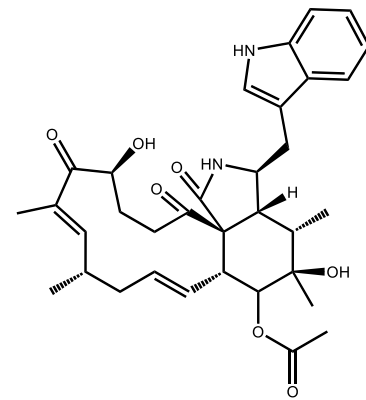
129



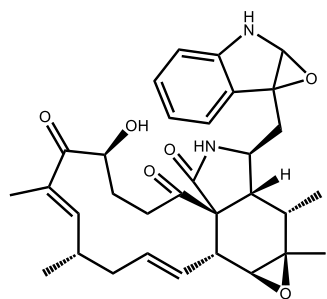
130



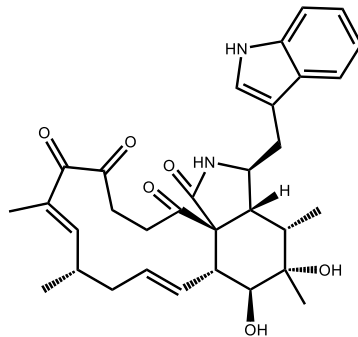
131



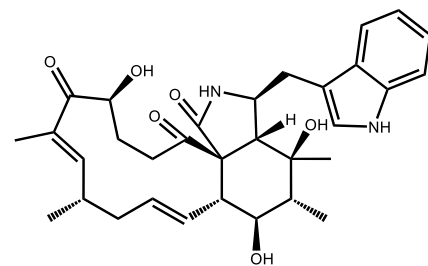
132



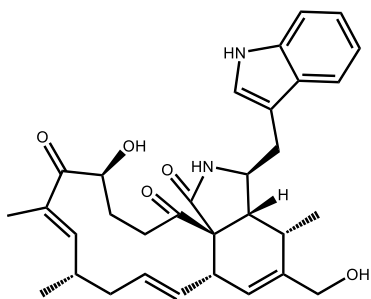
133



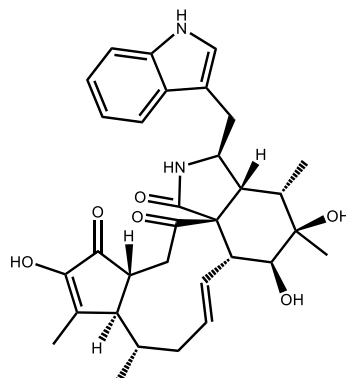
134



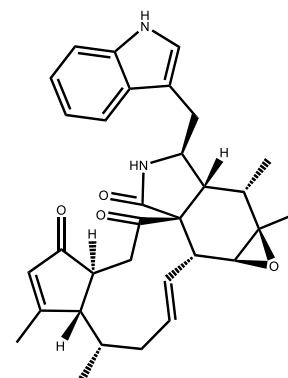
135



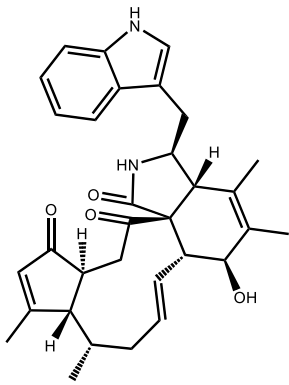
136



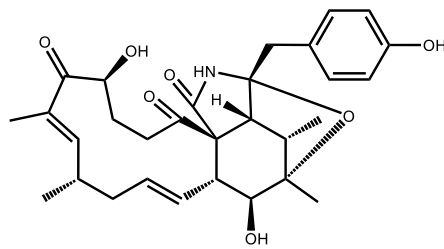
137



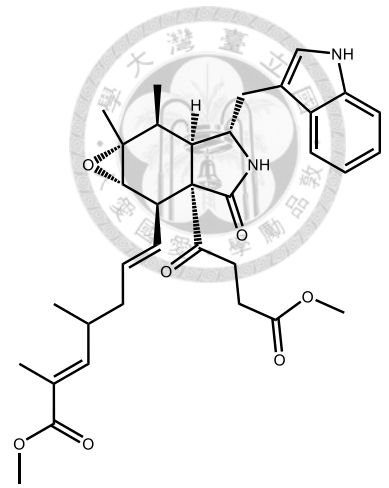
138



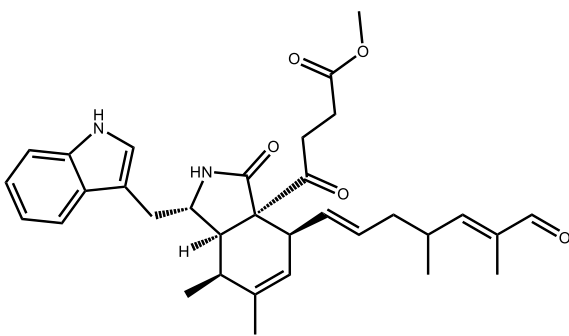
139



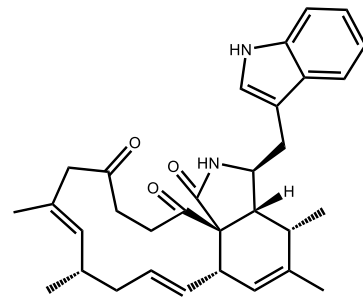
140



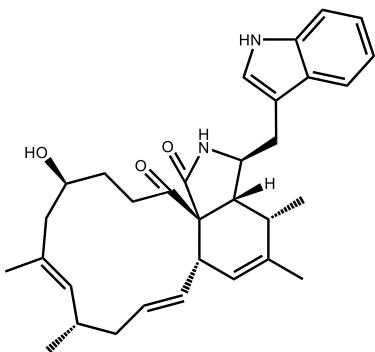
141



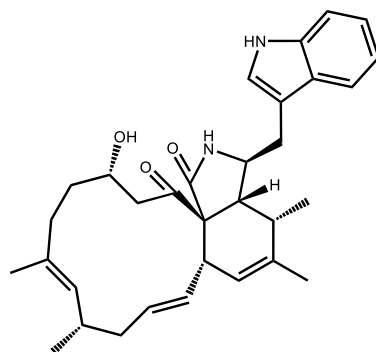
142



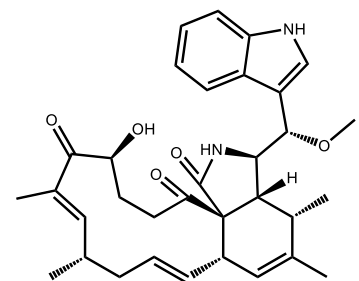
143



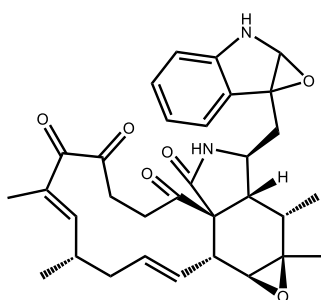
144



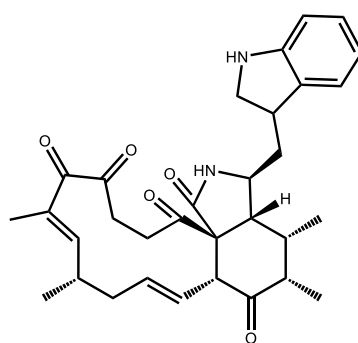
145



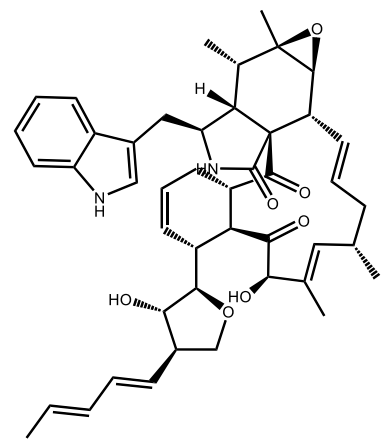
146



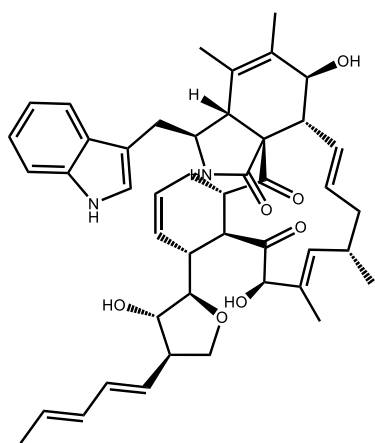
147



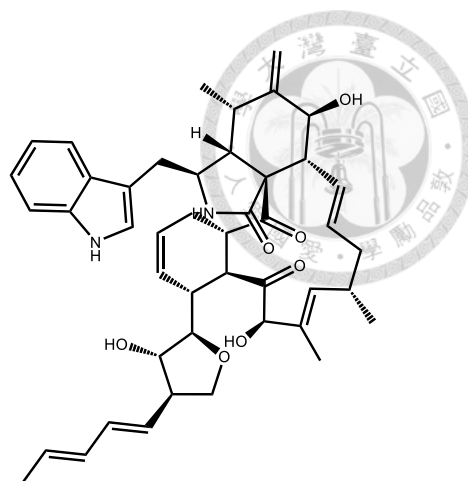
148



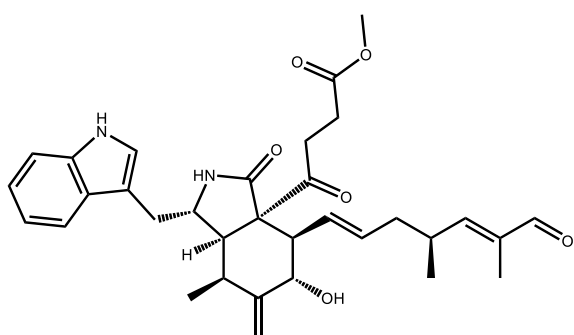
149



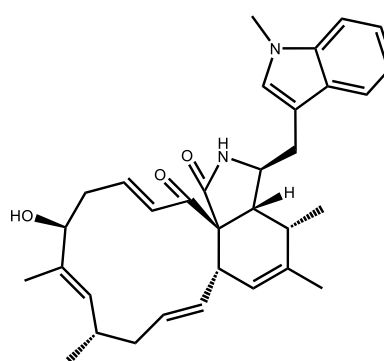
150



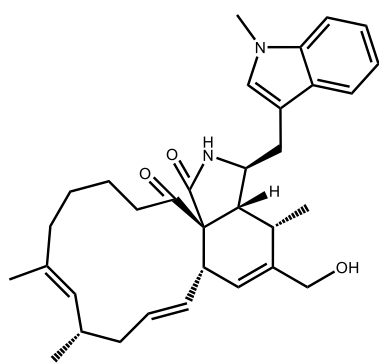
151



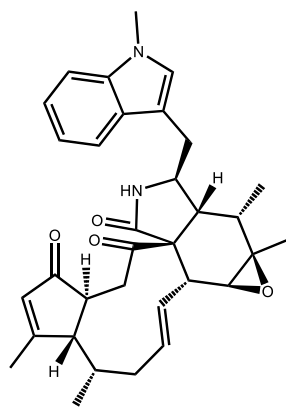
152



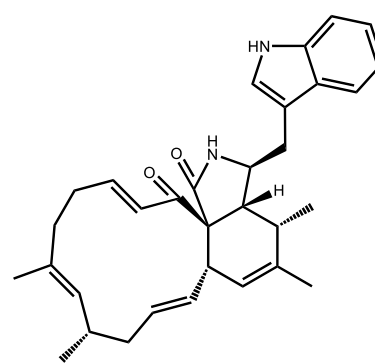
153



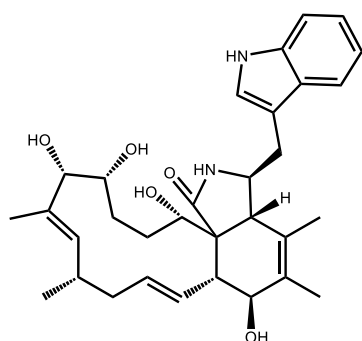
154



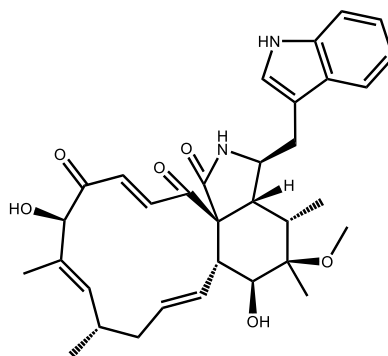
155



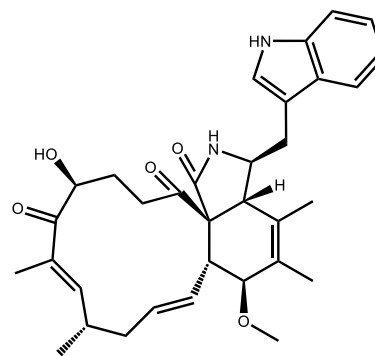
156



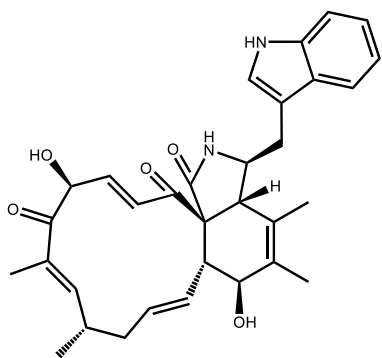
157



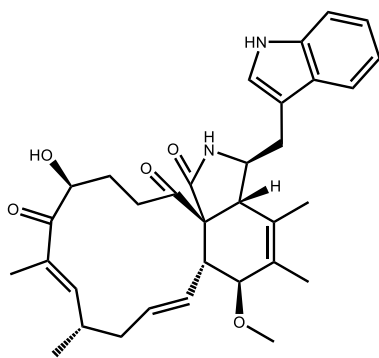
158



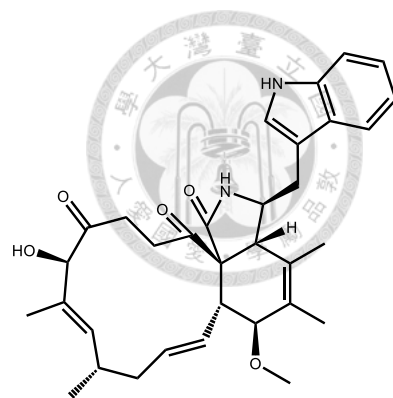
159



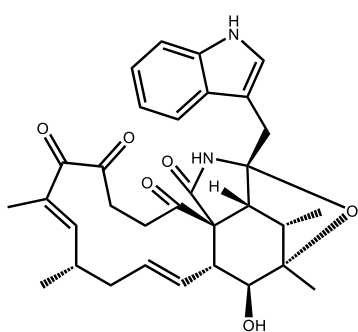
160



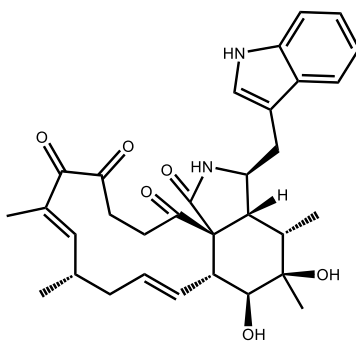
161



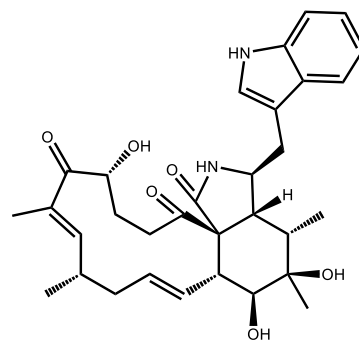
162



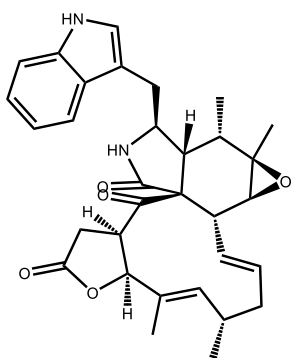
163



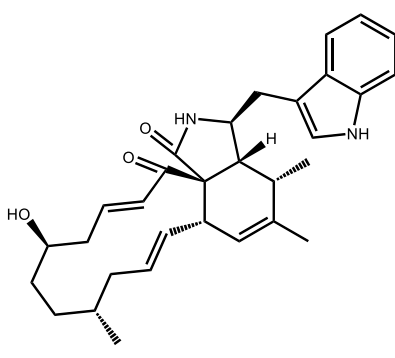
164



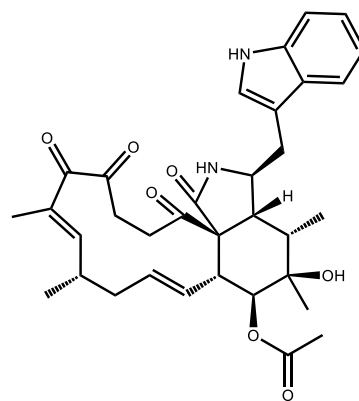
165



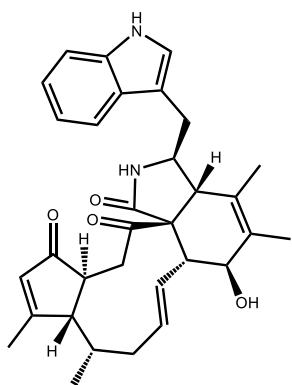
166



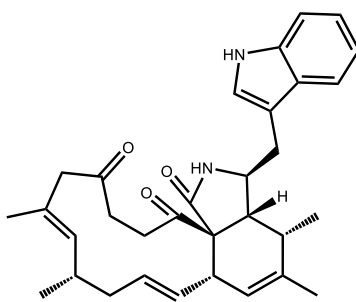
167



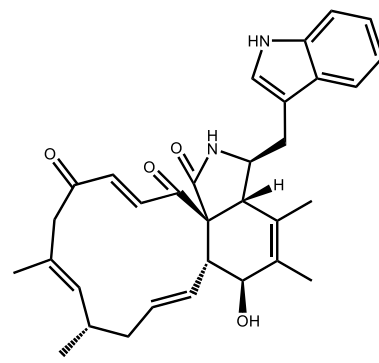
168



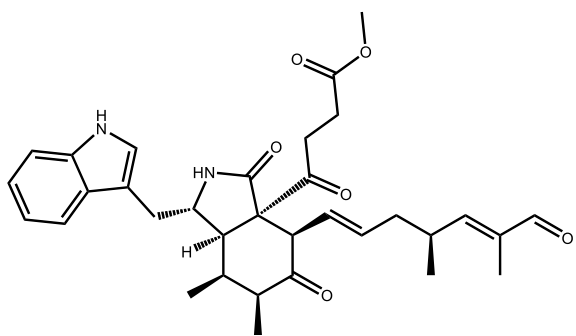
169



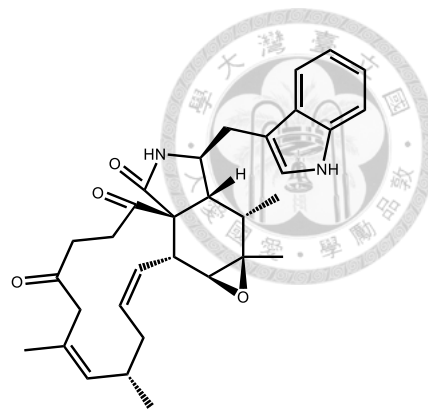
170



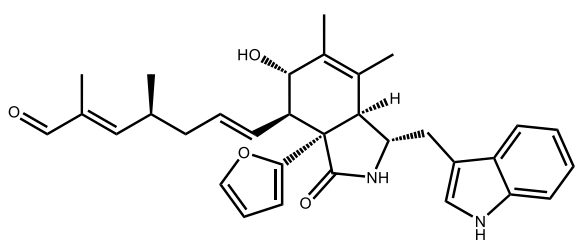
171



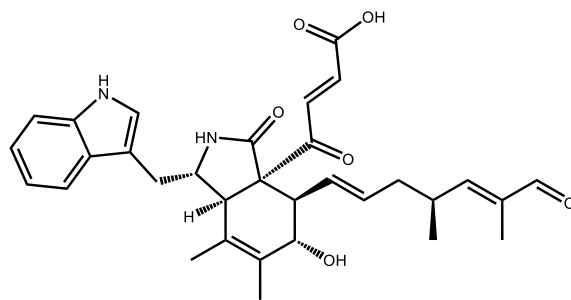
172



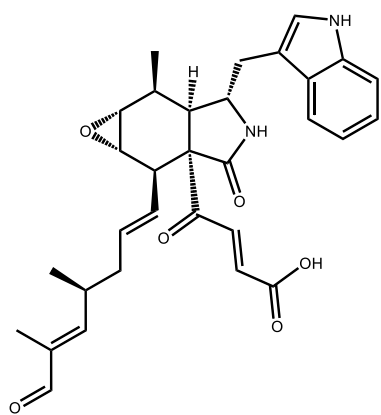
173



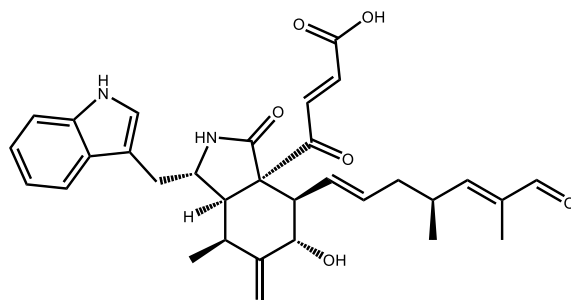
174



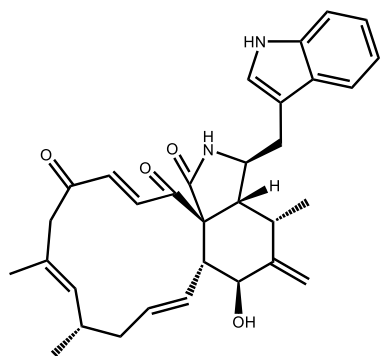
175



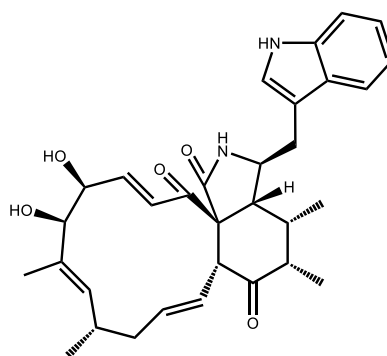
176



177

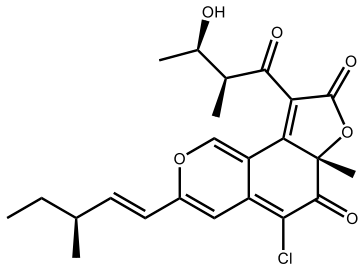
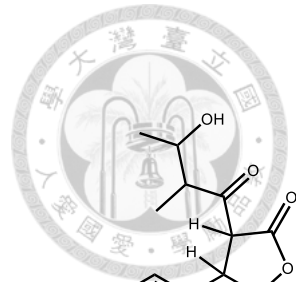


178

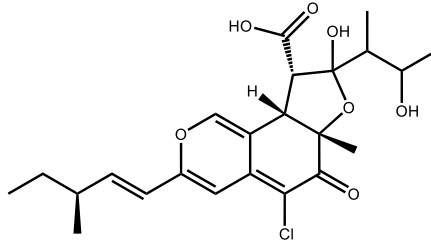


179

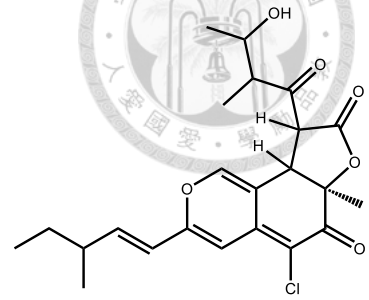
## Azaphilones



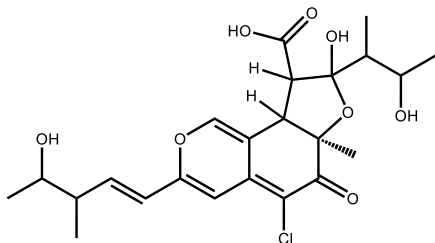
180



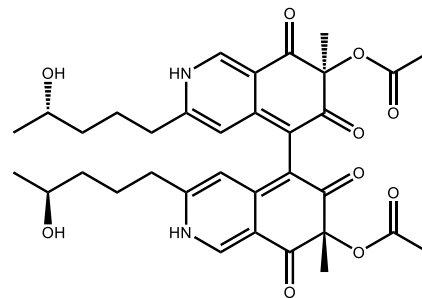
181



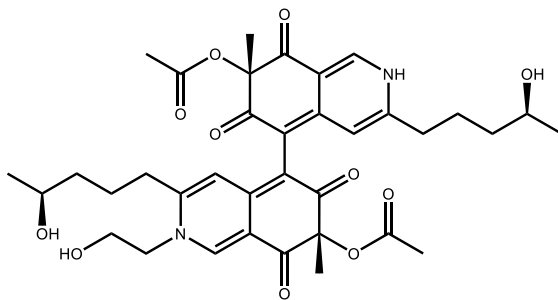
182



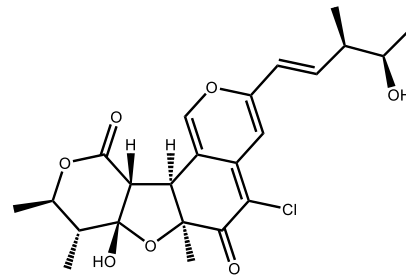
183



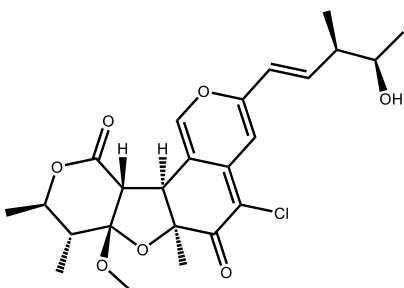
184



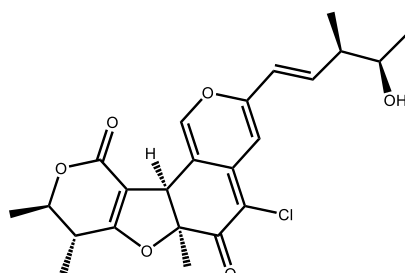
185



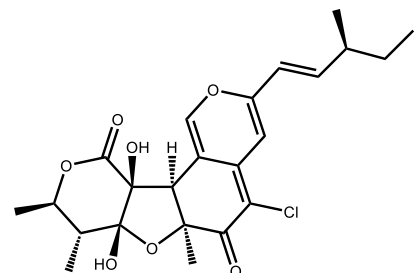
186



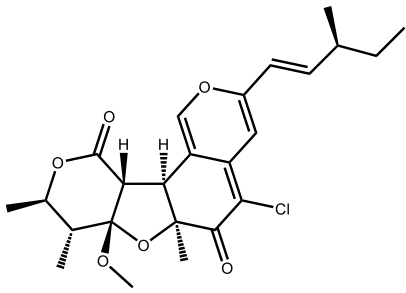
187



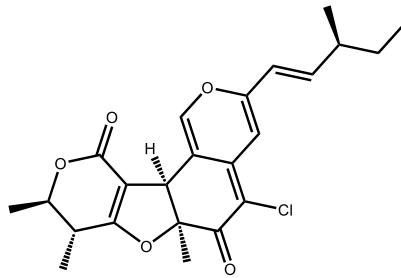
188



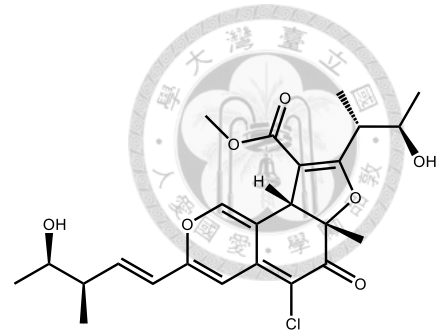
189



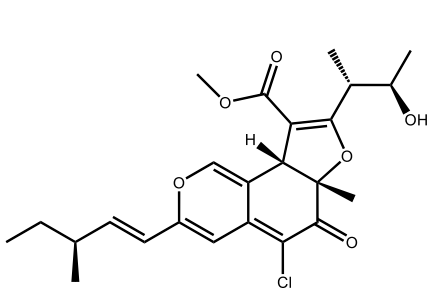
190



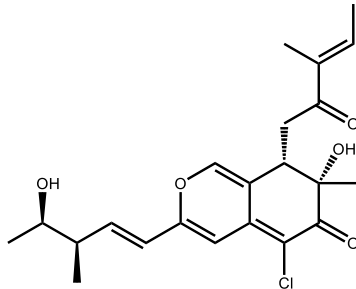
191



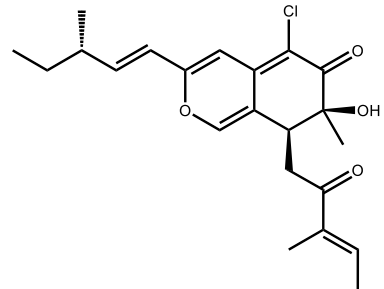
192



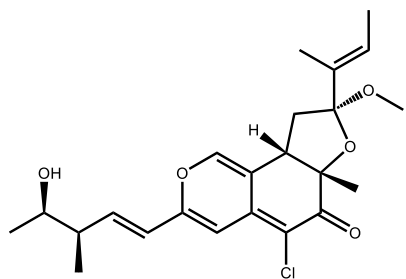
193



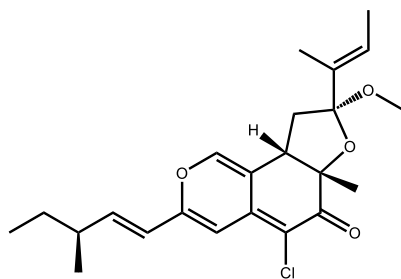
194



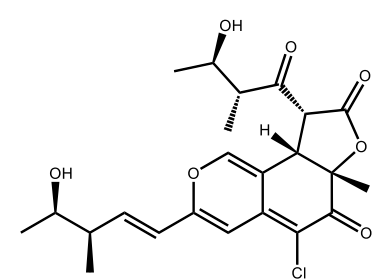
195



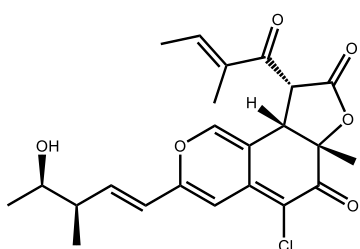
196



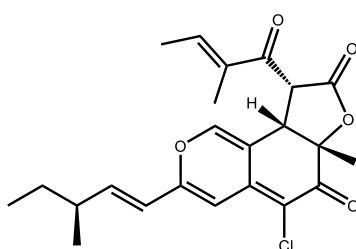
197



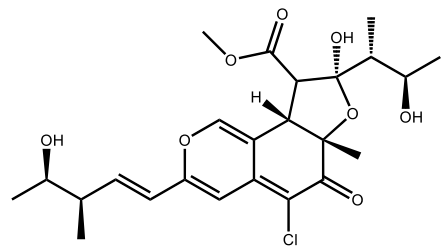
198



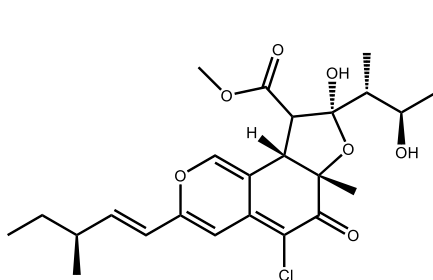
199



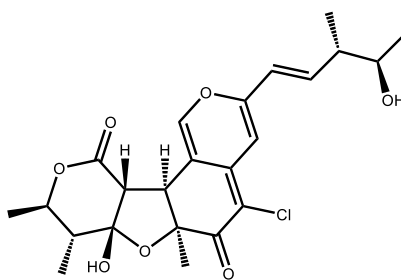
200



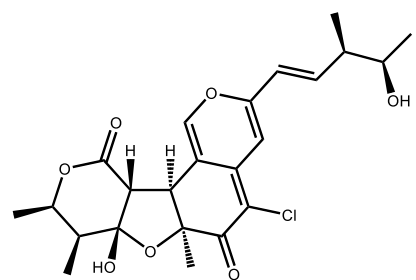
201



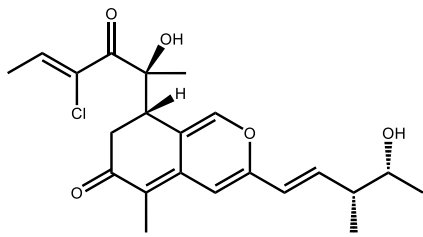
202



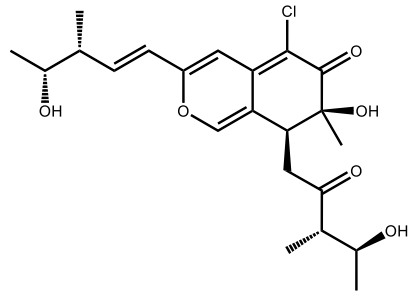
203



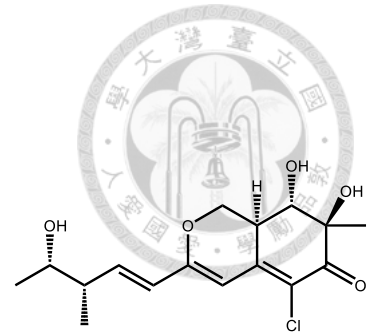
204



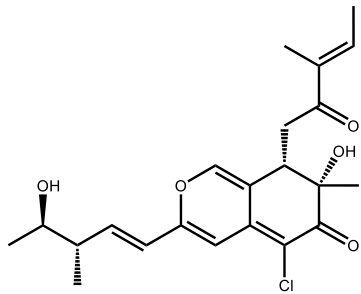
205



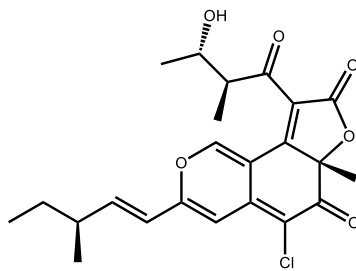
206



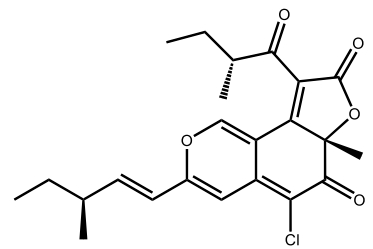
207



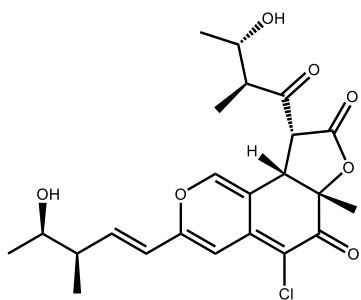
208



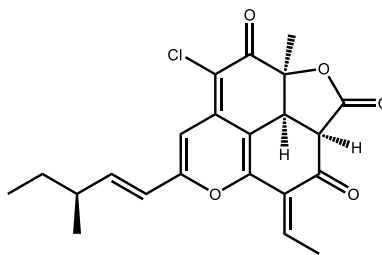
209



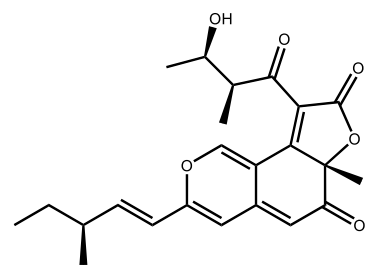
210



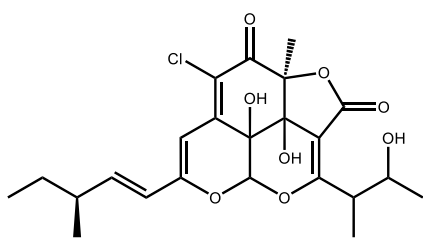
211



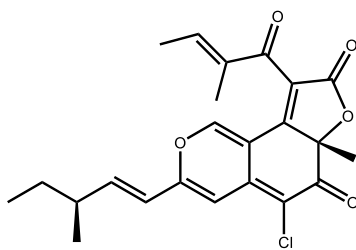
212



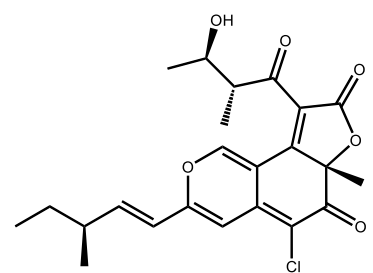
213



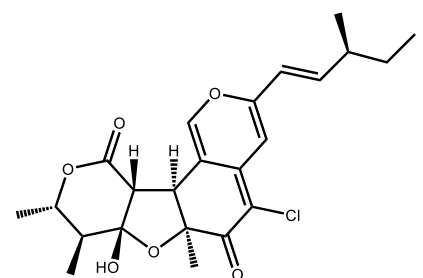
214



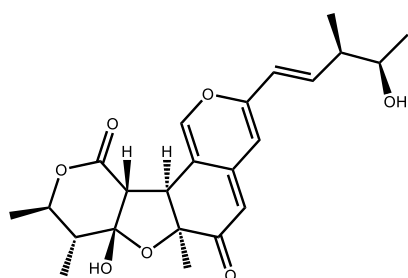
215



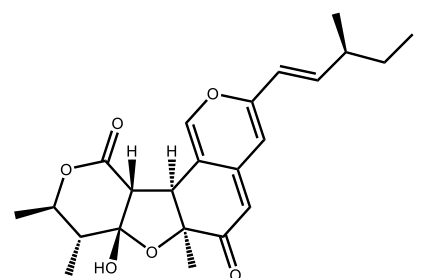
216



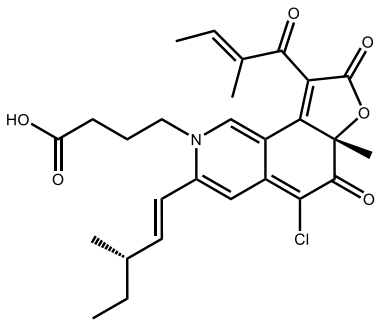
217



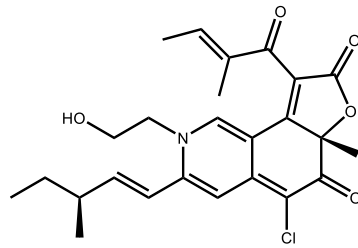
218



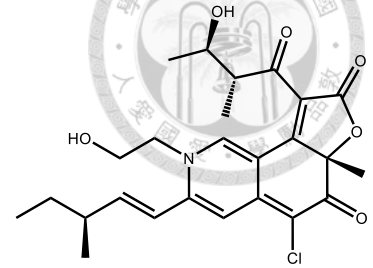
219



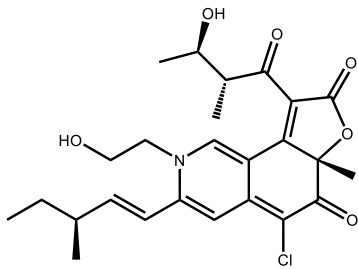
220



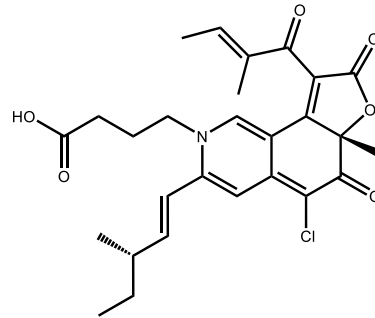
221



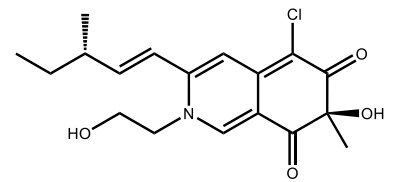
222



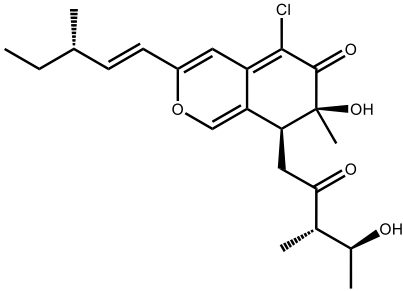
223



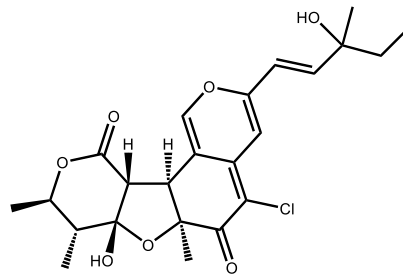
224



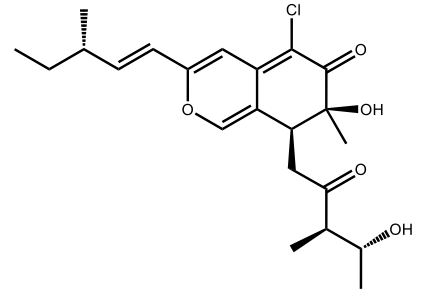
225



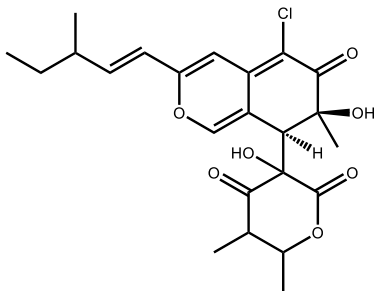
226



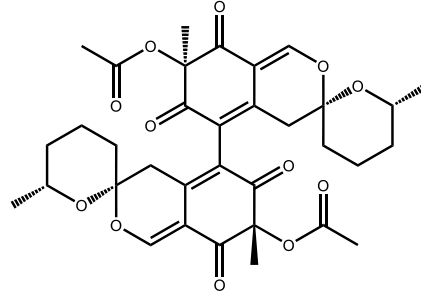
227



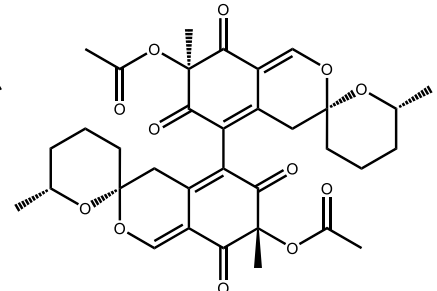
228



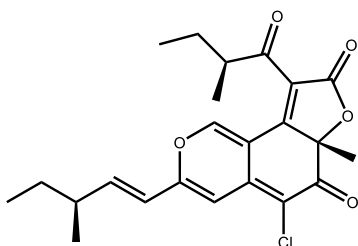
229



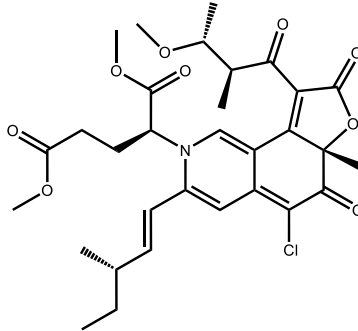
230



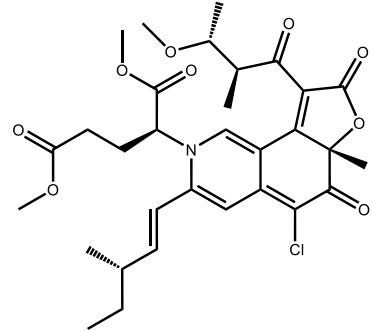
231



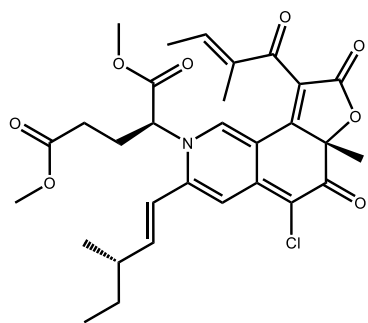
232



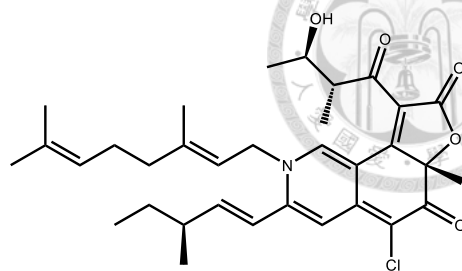
233



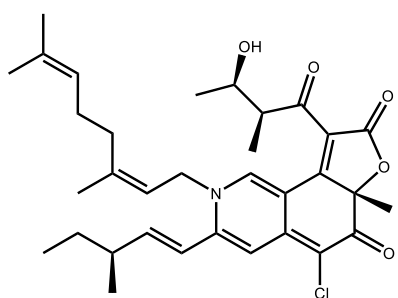
234



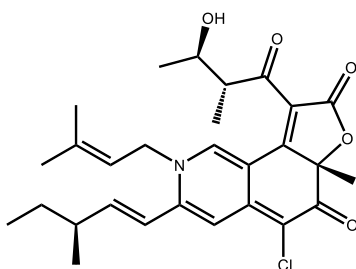
235



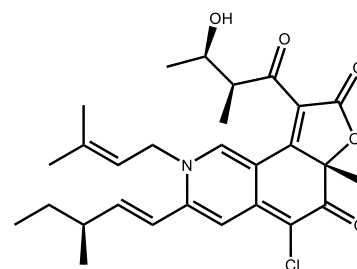
236



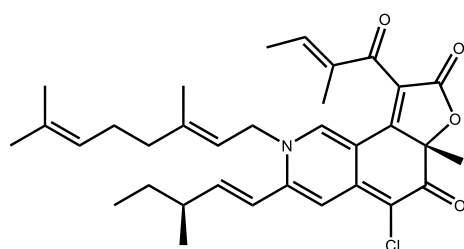
237



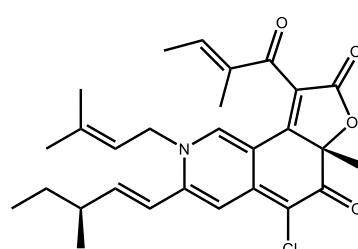
238



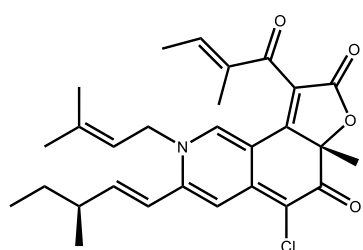
239



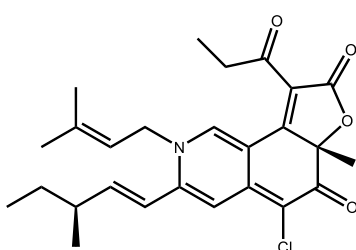
240



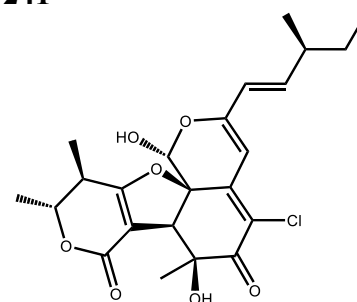
241



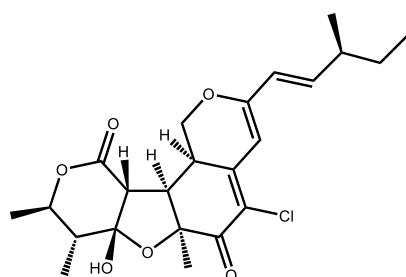
242



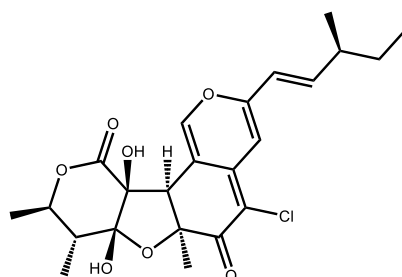
243



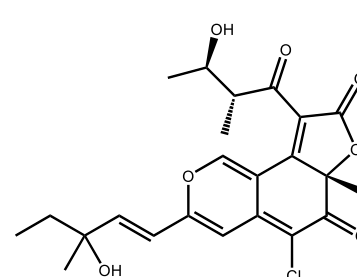
244



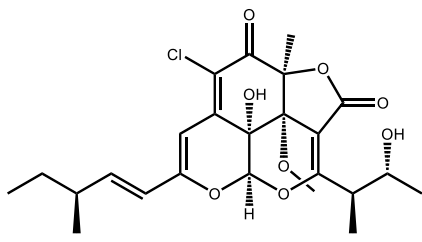
245



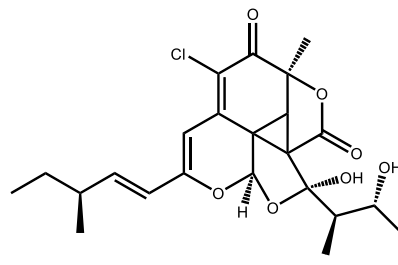
246



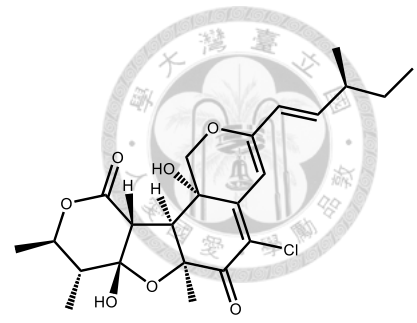
247



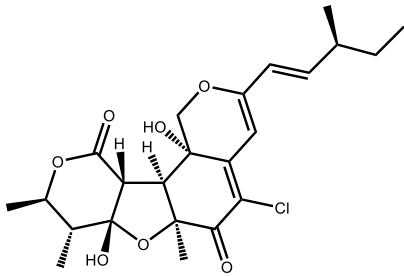
**248**



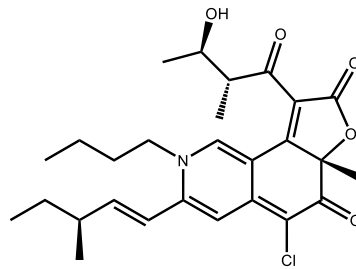
**249**



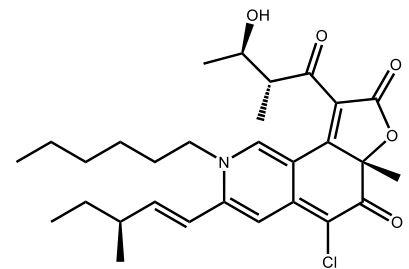
**250**



**251**

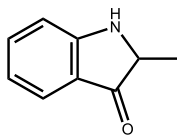


**252**

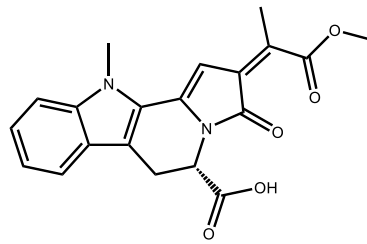


**253**

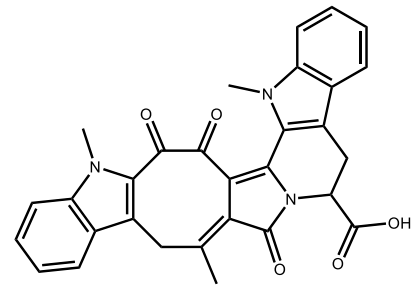
**Indole alkaloids**



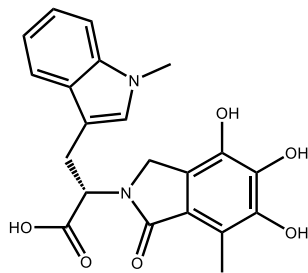
**254**



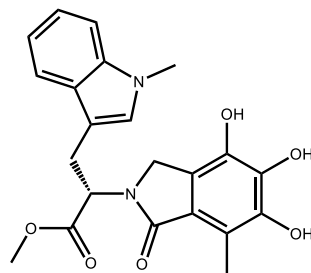
**255**



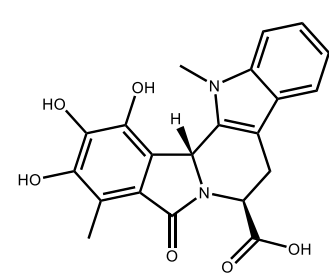
**256**



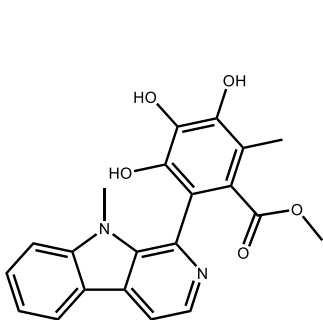
**257**



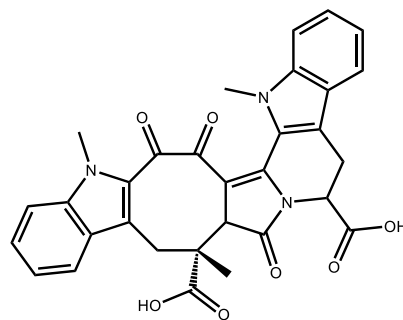
**258**



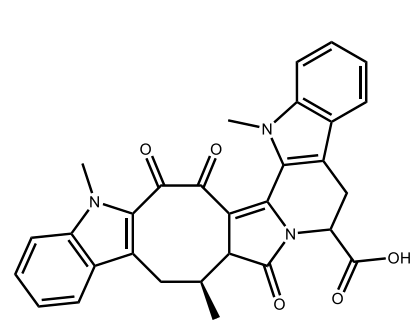
**259**



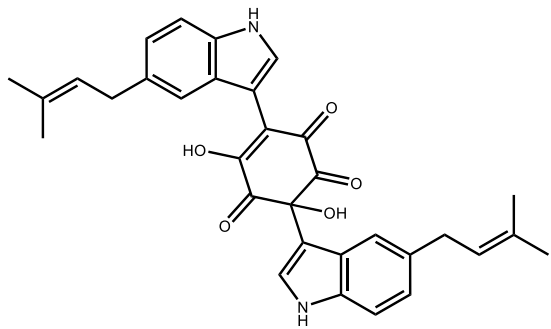
**260**



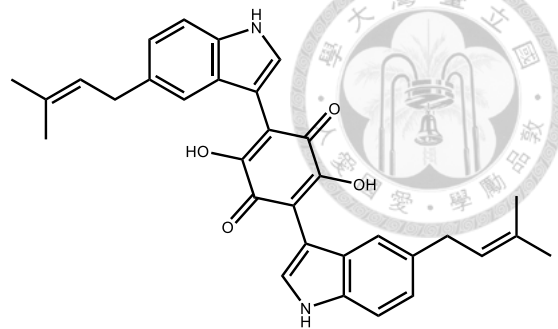
**261**



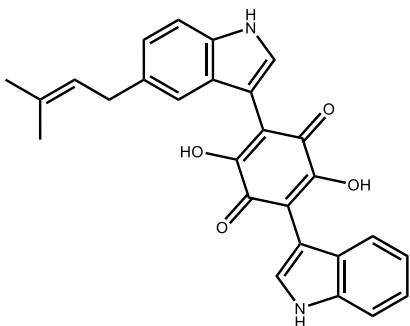
**262**



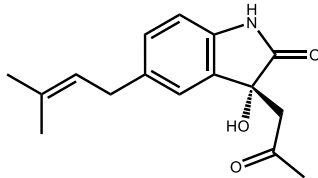
**263**



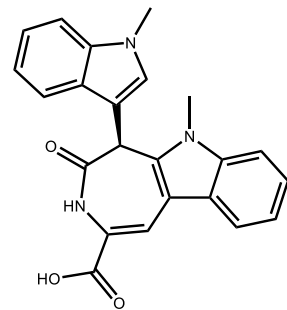
**264**



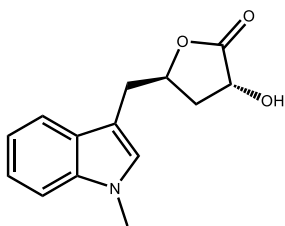
**265**



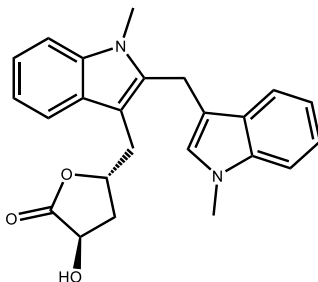
**266**



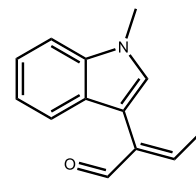
**267**



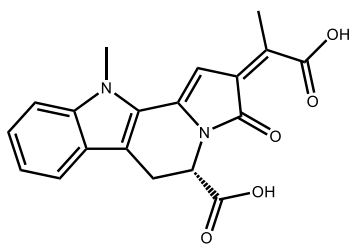
**268**



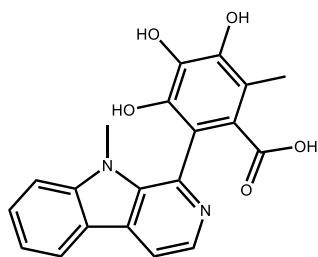
**269**



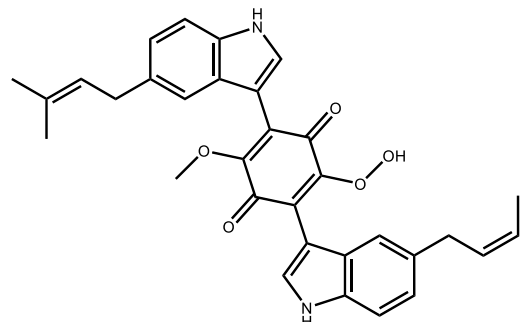
**270**



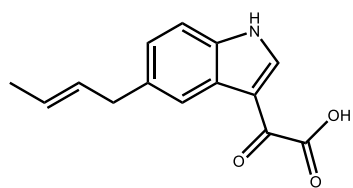
**271**



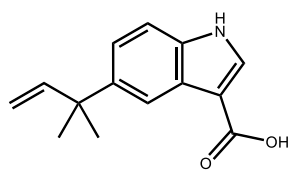
**272**



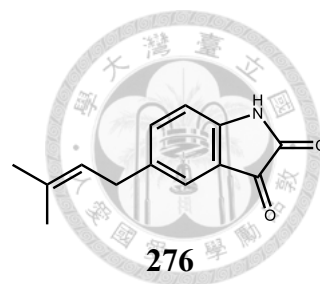
**273**



274

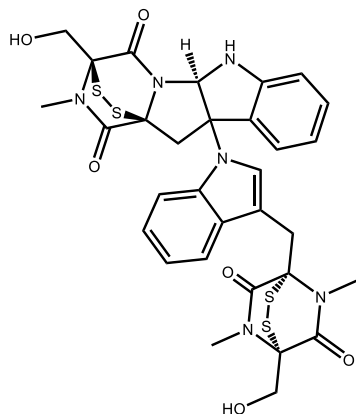


275

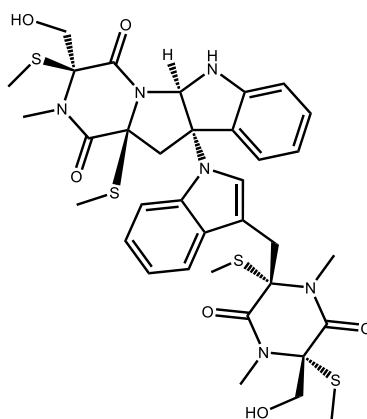


276

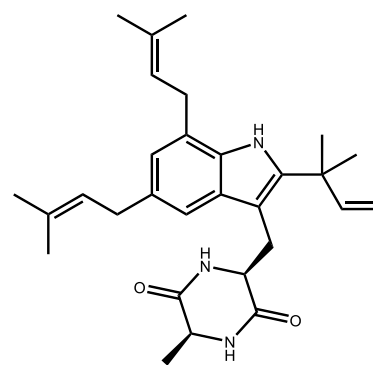
### Diketopiperazines



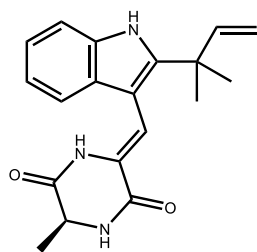
277



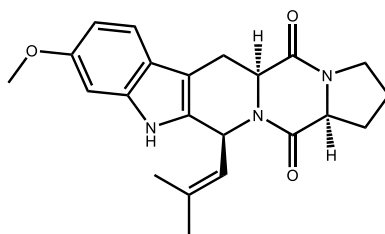
278



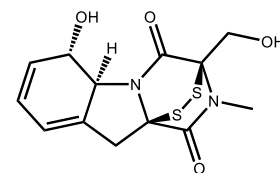
279



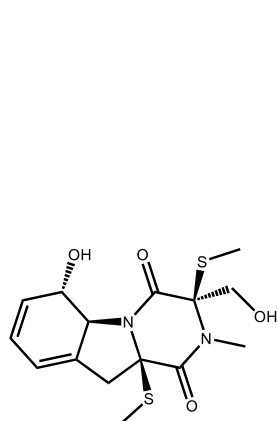
280



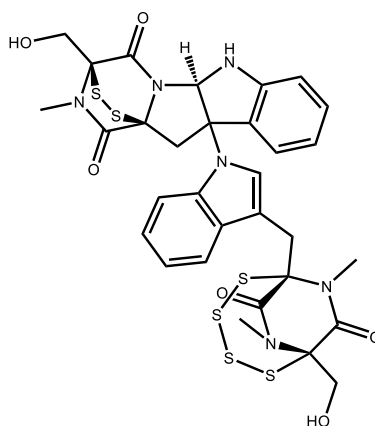
281



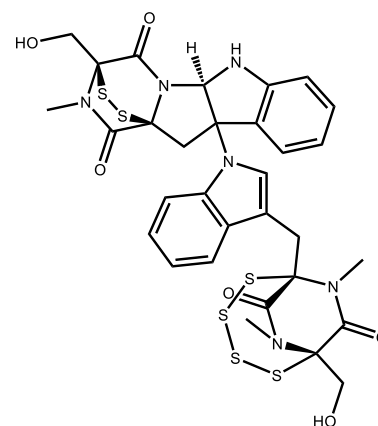
282



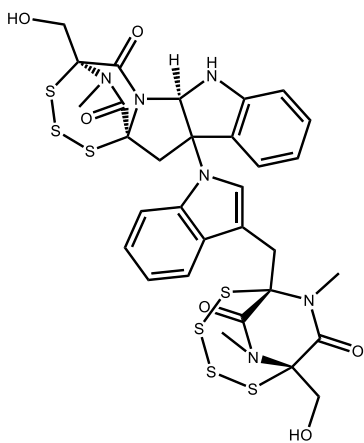
283



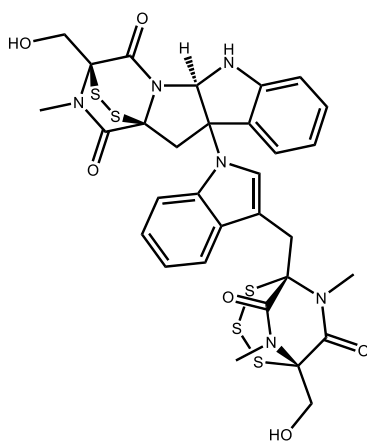
284



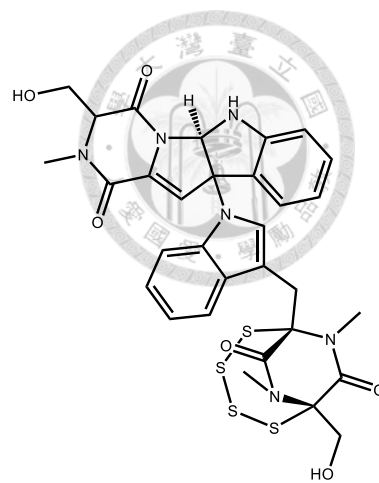
285



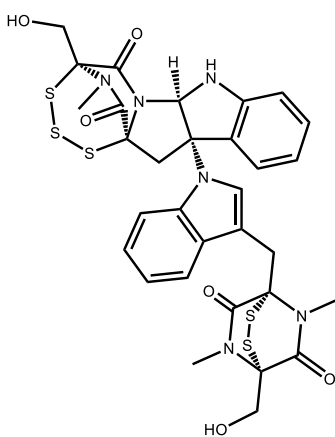
**286**



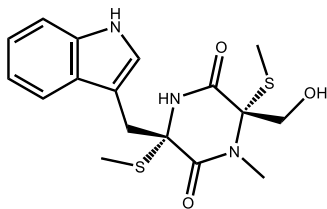
**287**



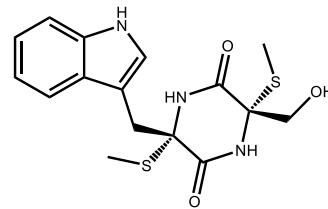
**288**



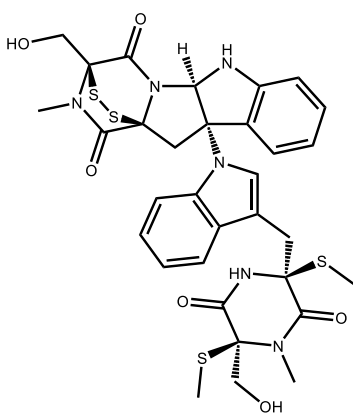
**289**



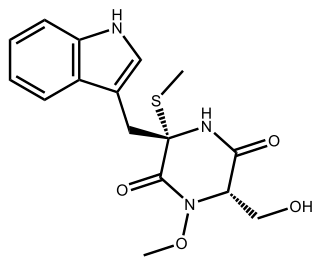
**290**



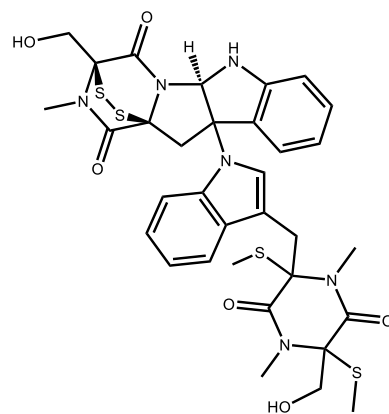
**291**



**292**

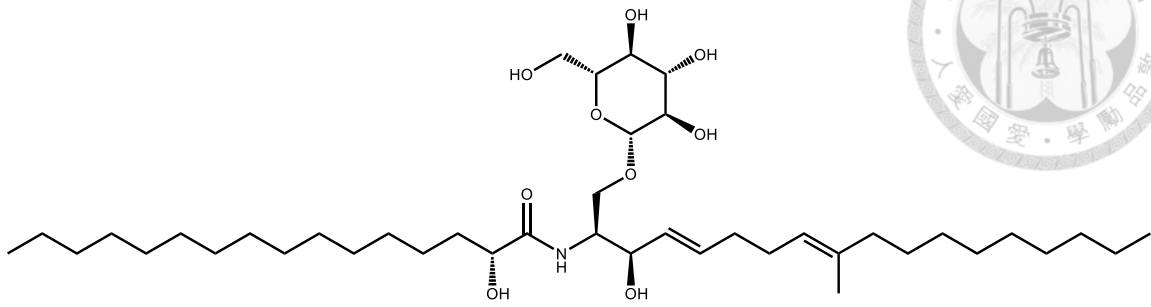


**293**

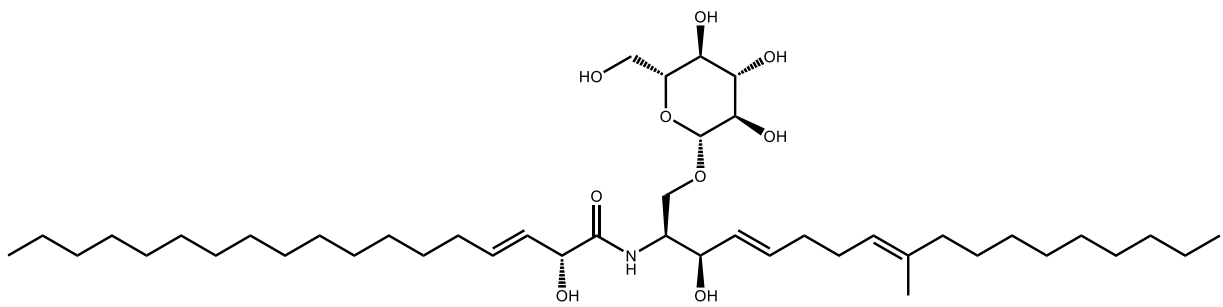


**294**

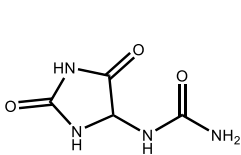
## Alkaloids



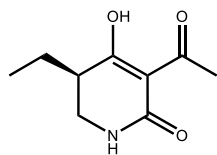
295



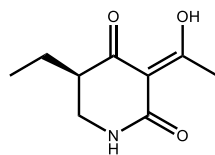
296



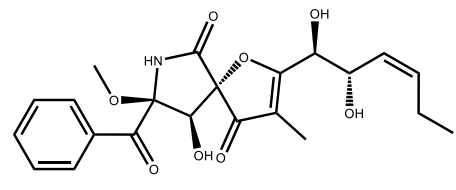
297



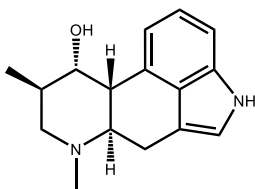
298



299

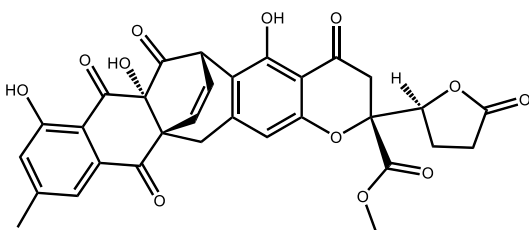


300

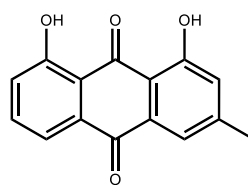


301

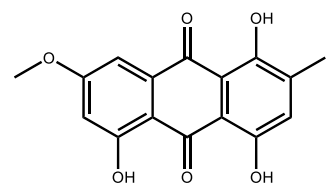
## Anthraquinones



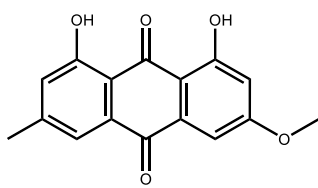
302



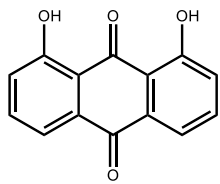
303



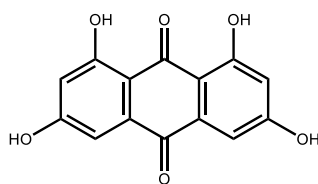
304



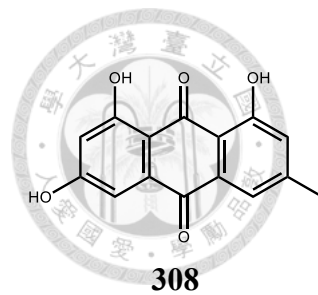
305



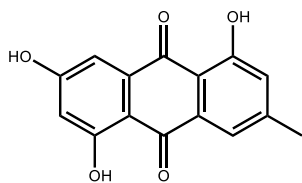
306



307

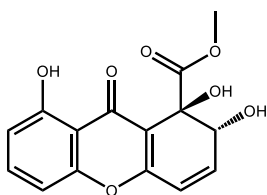


308

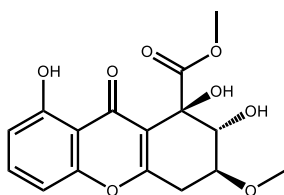


309

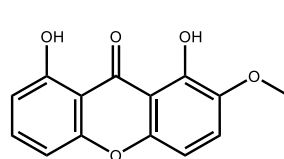
### Xanthenones



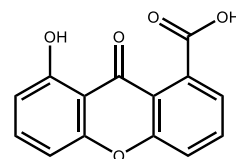
310



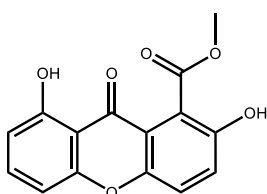
311



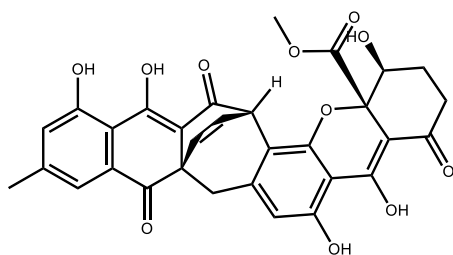
312



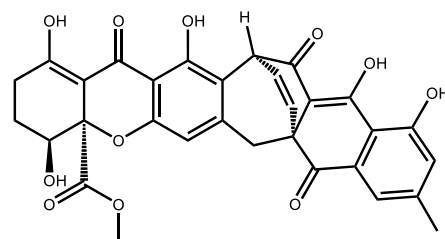
313



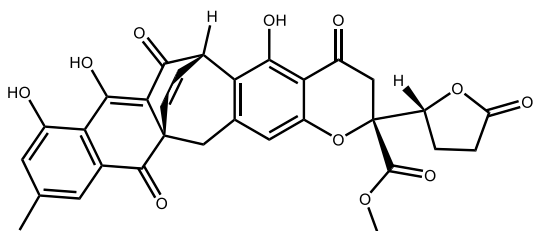
314



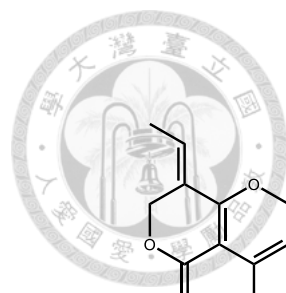
315



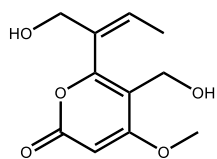
316



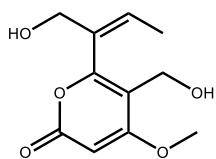
317



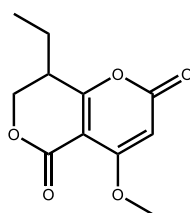
## Pyranones



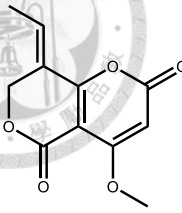
318



319

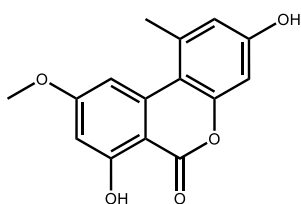


320

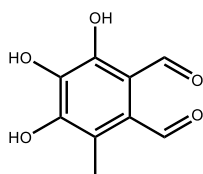


321

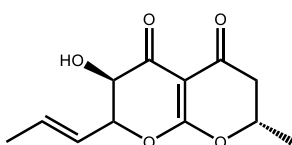
## Polyketides



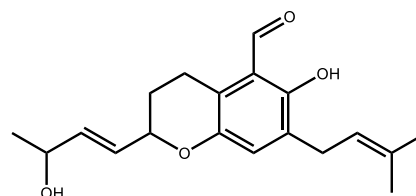
322



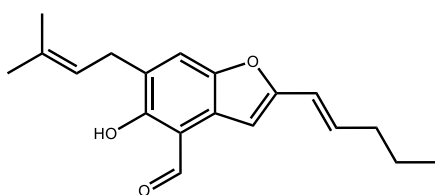
323



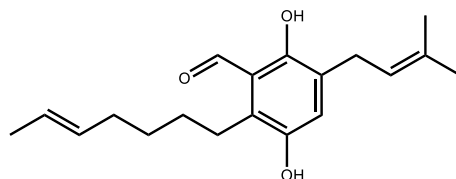
324



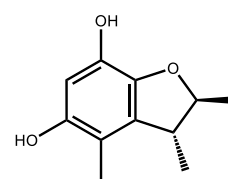
325



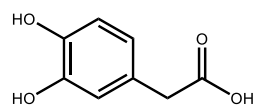
326



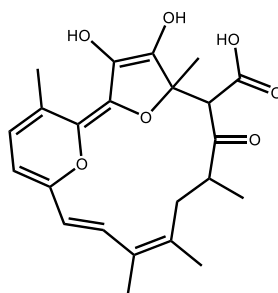
327



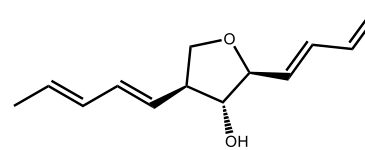
328



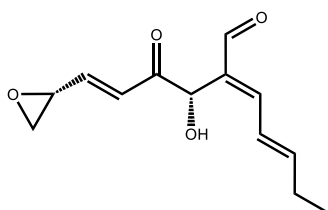
329



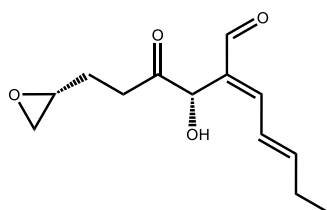
330



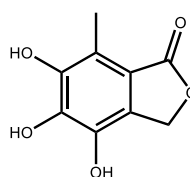
331



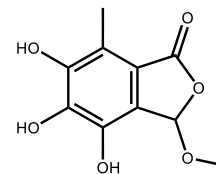
332



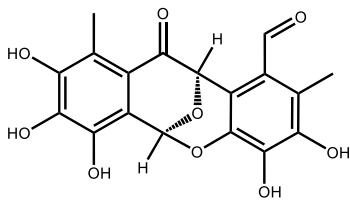
333



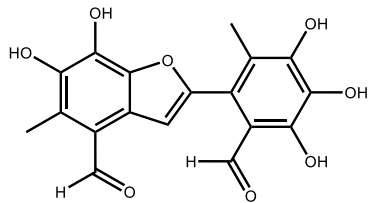
334



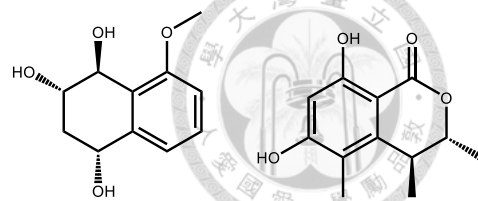
335



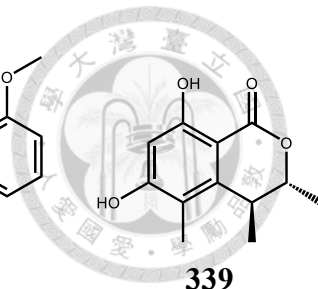
336



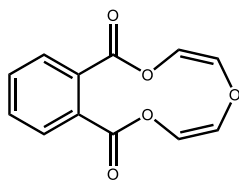
337



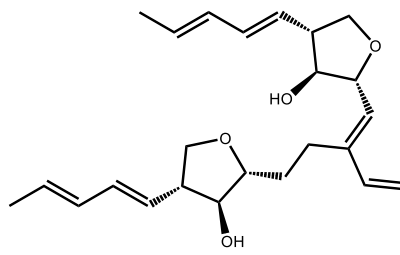
338



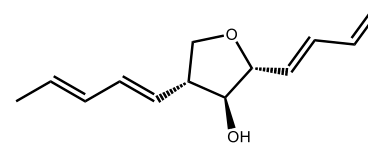
339



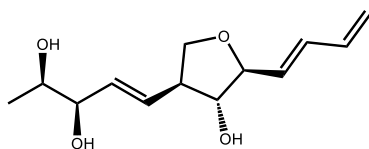
340



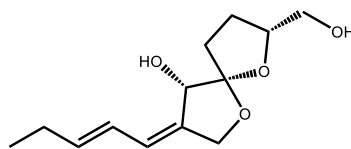
341



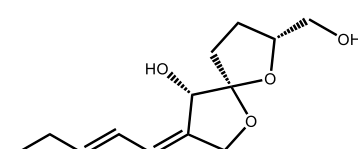
342



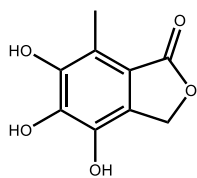
343



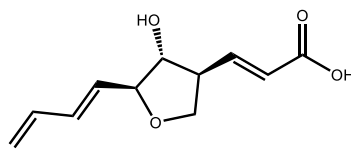
344



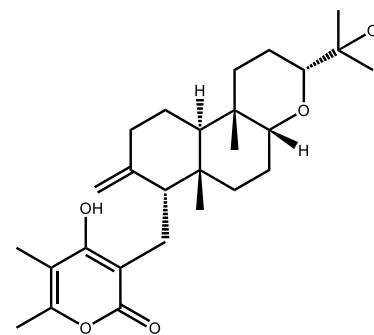
345



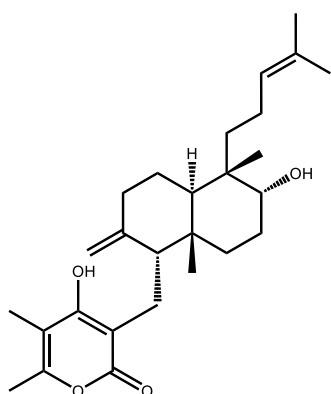
346



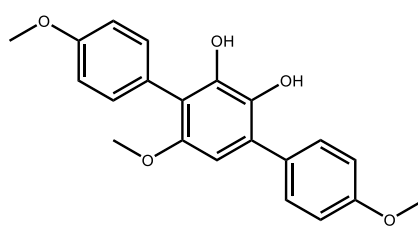
347



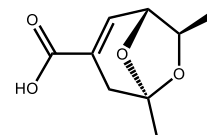
348



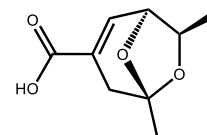
349



350

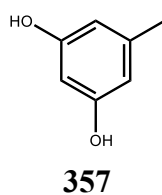
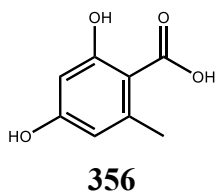
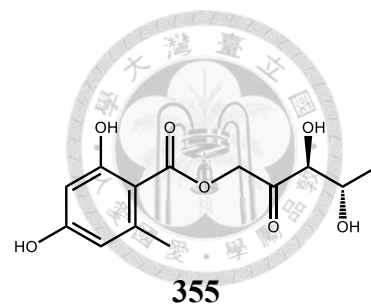
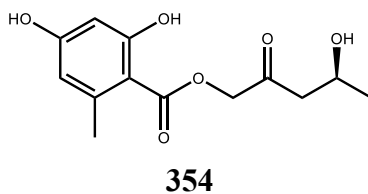
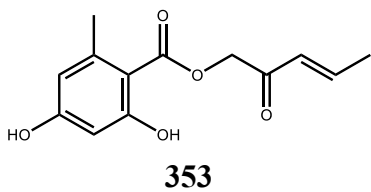


351

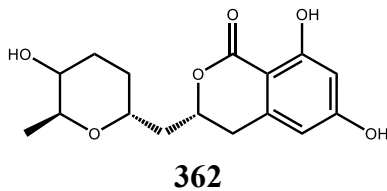
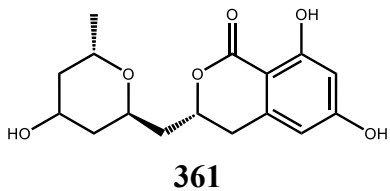
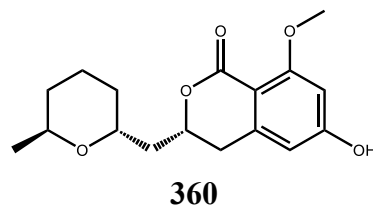
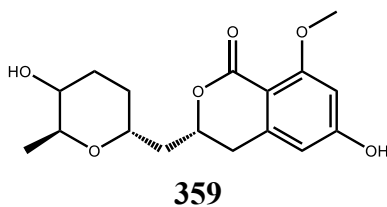
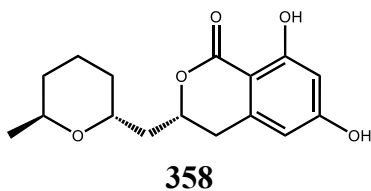


352

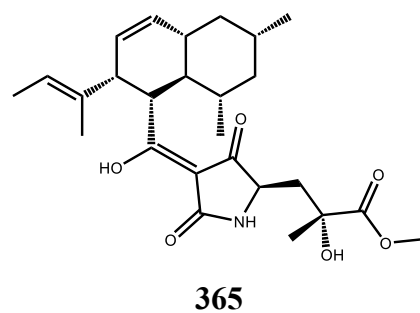
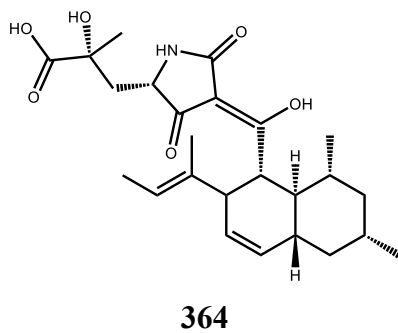
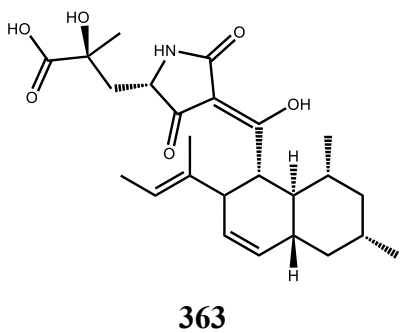
## Orsellides

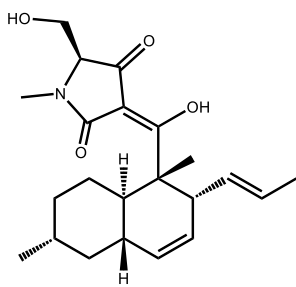


## Asperentin derivatives



## Tetramic acids

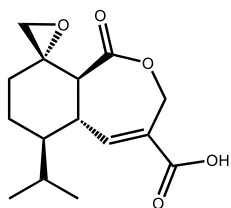




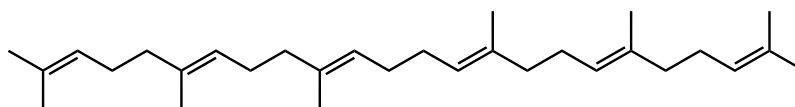
**366**



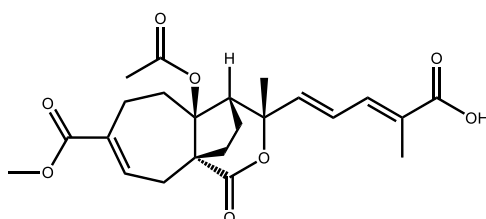
### Terpenoids



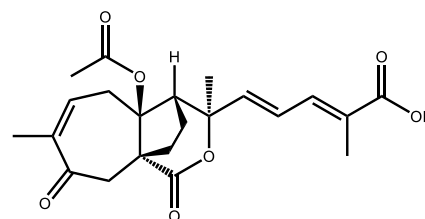
**367**



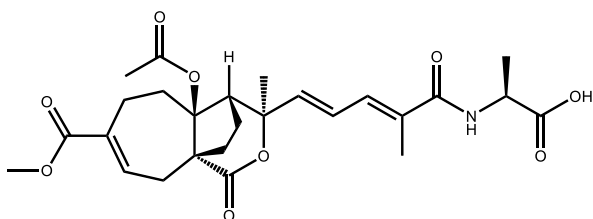
**368**



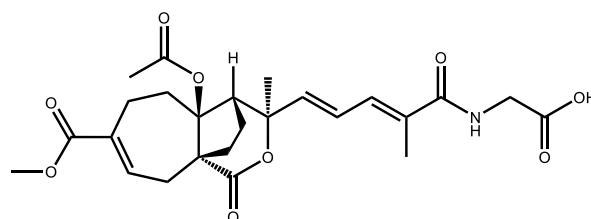
**369**



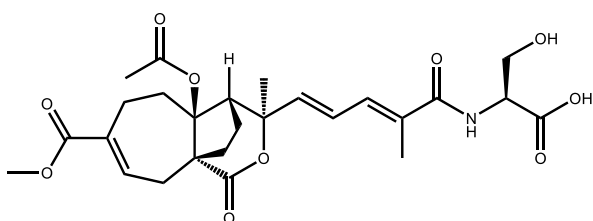
**370**



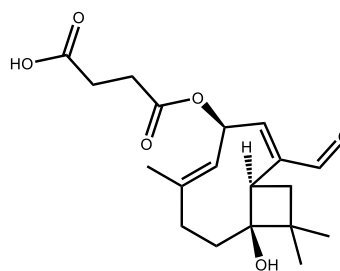
**371**



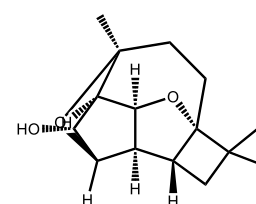
**372**



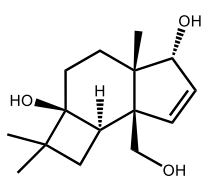
**373**



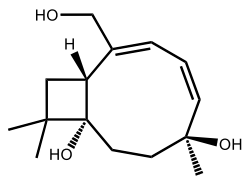
**374**



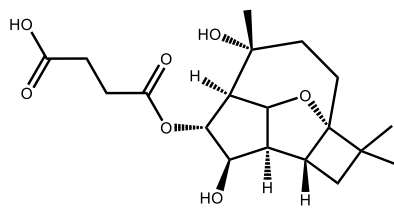
**375**



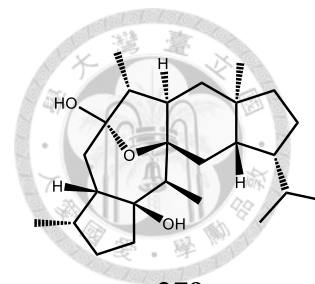
376



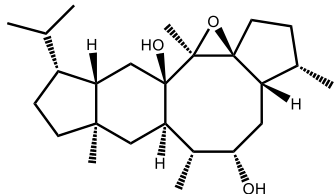
377



378

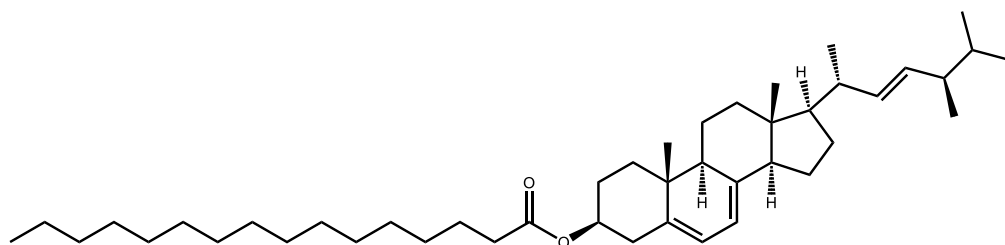


379

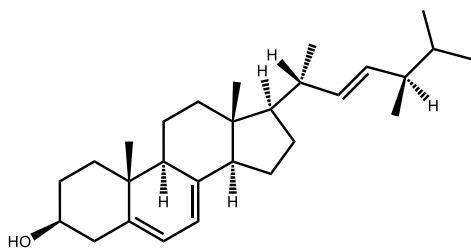


380

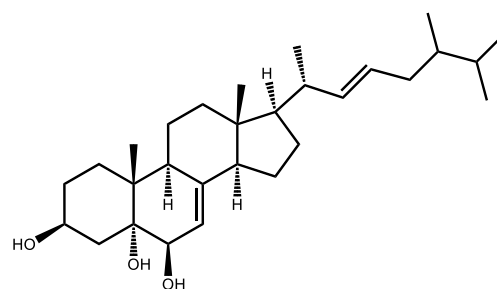
## Steroids



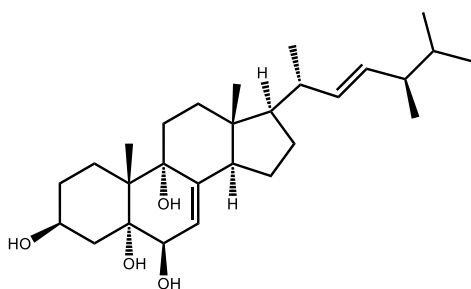
382



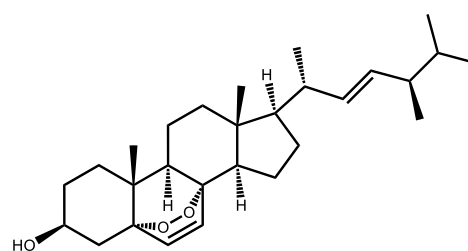
381



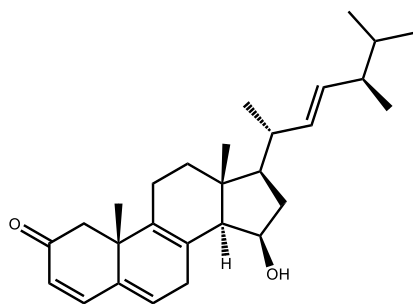
383



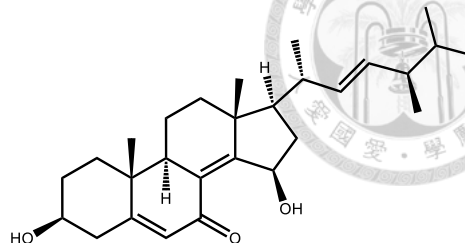
384



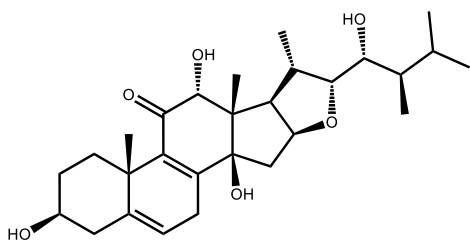
385



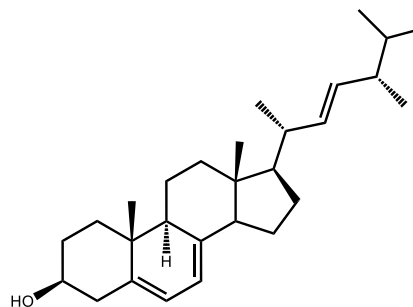
386



387

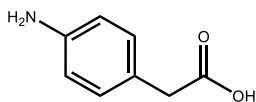


388

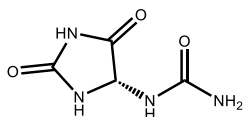


389

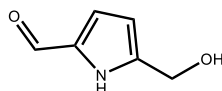
### Other N-containing compounds



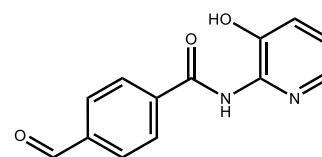
390



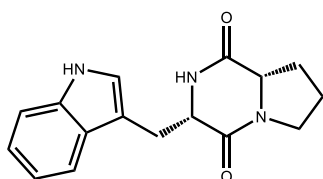
391



392

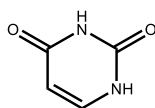


393

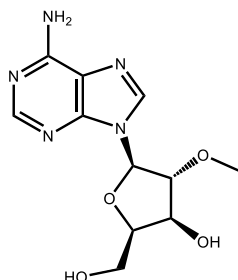


394

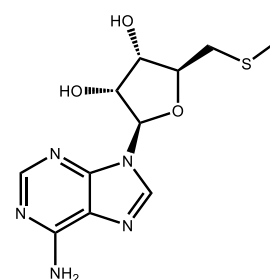
### Nucleobases



395

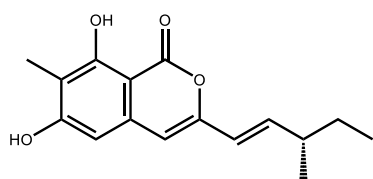


396



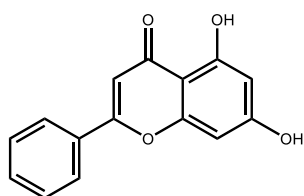
397

## Isocoumarin



398

## Flavonoid



399





## 第三章 實驗結果

### 3.1 真菌二次代謝產物萃取與分離流程

#### 3.1.1 *Chaetomium globosum* Km1226 之培養與分離流程

將具抗菌活性之菌株 *Chaetomium globosum* Km1226 接種於 1/2 PDA 洋菜膠培養基上，於 29°C 的環境中培養 10 天。將長滿菌絲的洋菜膠培養基切成 0.5 cm<sup>3</sup> 的菌塊並接種於 144 瓶含有 100 mL PDY (containing 10 g of dextrose, 2 g of peptone and 1 g of yeast extract in 1 L of distilled water) 液態培養基的 250 mL 錐形瓶中，在 26°C 的環境中進行搖瓶發酵 14 天，培養的總體積為 14.4 L。

培養 14 天後，再利用抽氣過濾裝置分離菌絲體和發酵菌液，接著以 1:1.3 體積比例的發酵菌液與乙酸乙酯溶劑進行分配萃取，重複二次，所得萃取液經減壓濃縮獲得乙酸乙酯層粗萃物約 4.2 g。

以甲醇將乙酸乙酯層粗萃物回溶，並以濾紙做初步過濾，再以 100% 甲醇作為沖提液進行 Sephadex LH-20 (54 × 2.5 cm i.d.) 管柱層析，其流速為 2.5 mL/min，每 10 分鐘收集 1 試管，一共收集 46 管，所得分液依照其薄層層析 (TLC) 分析結果合併，最後獲得 10 組分液 (Fractions I-X)。

將 Fraction IV 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 1 - 5、8、11、14、15、18 和 19。以上分離流程如 Figure 3 所示。

The liquid-state fermentation (by flask) of *Chaetomium globosum* Km1226 (14.4 L)

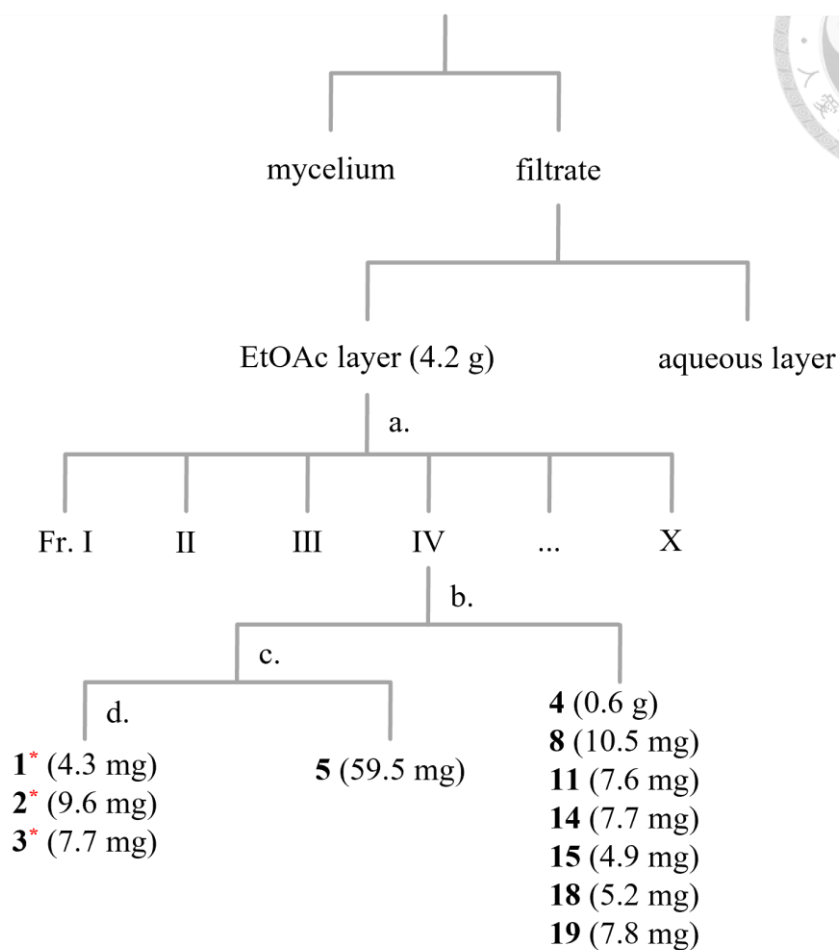


Figure 3. *Chaetomium globosum* Km1226 搖瓶發酵液粗萃物分離流程圖

a. CC, Sephadex LH-20, 54 × 2.5 cm i.d., 100% MeOH

b. HPLC, Phenomenex Luna 5 μ PFP (250 × 10 mm), 70% MeOH

c. HPLC, SunFire®C18 OBDTM (250 × 10 mm), 30% ACN

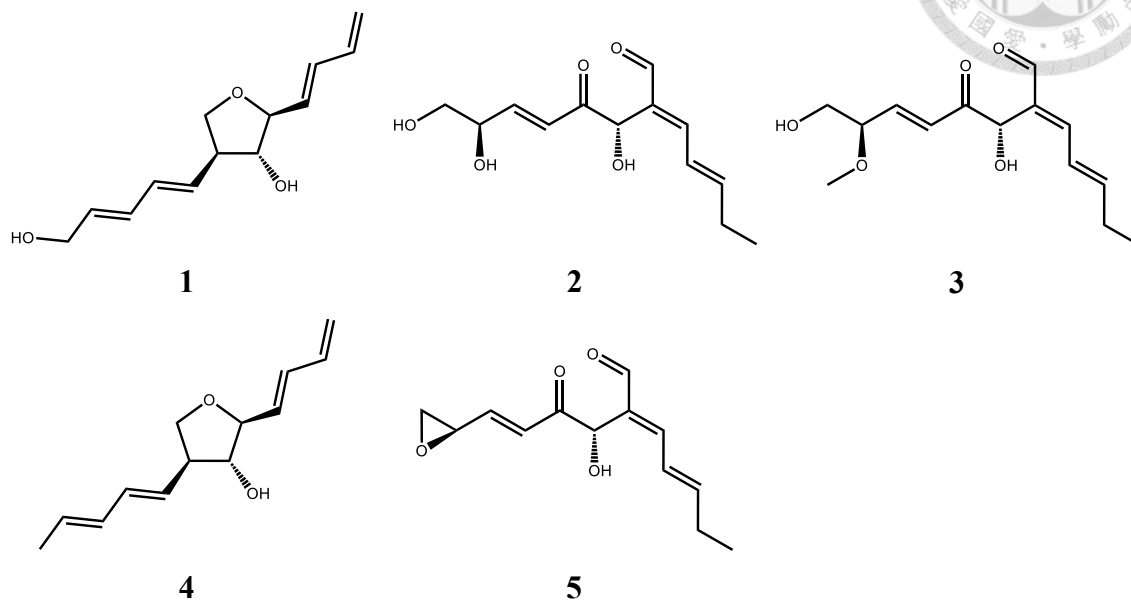
d. HPLC, Gemini® 5 μm C18 110 Å (250 × 4.6 mm), 45% MeOH + 0.1% FA

\* New compound

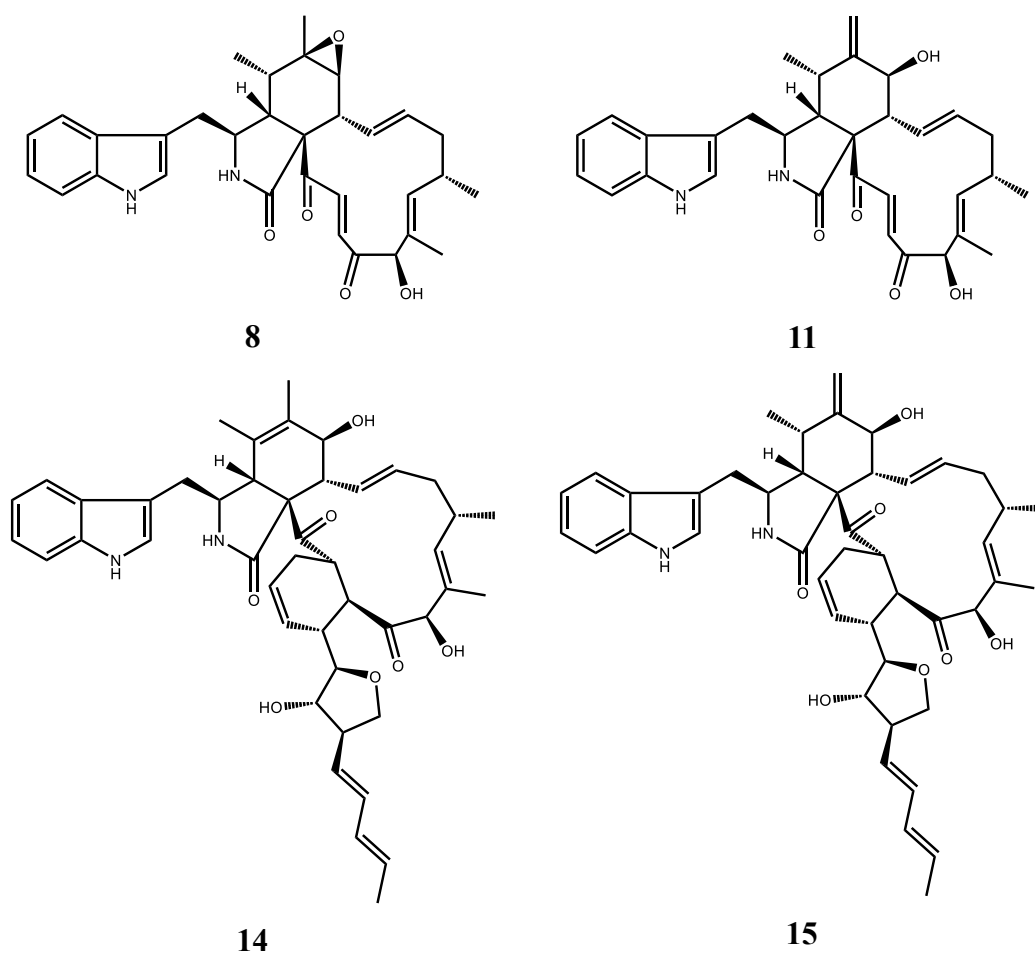
3.1.2 化合物 1 - 5、8、11、14、15、18 和 19 之骨架分類



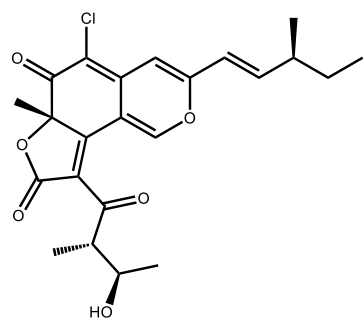
**Polyketides**



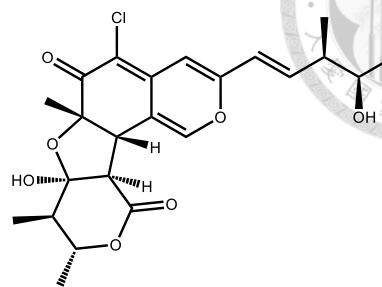
**Cytochalasans**



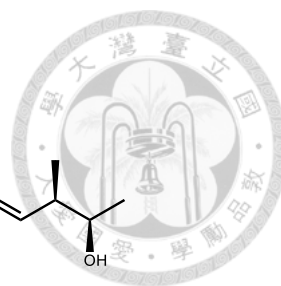
## Azaphilones



**18**



**19**





## 3.2 一株多化合物策略運用與潛力二次代謝產物開發流程

### 3.2.1 *Chaetomium globosum* Km1226 之基於培養方式改變

將 *Chaetomium globosum* Km1226 接種於 1/2 PDA 洋菜膠培養基上，於 29°C 的環境中培養 10 天。將長滿菌絲的洋菜膠培養基切成 0.5 cm<sup>3</sup> 的菌塊並接種於 2 瓶含有 3.5 L PDY (containing 10 g of dextrose, 2 g of peptone and 1 g of yeast extract in 1 L of distilled water) 液態培養基的 5 L 血清瓶中，在 26°C 的環境中進行曝氣發酵 14 天，培養的總體積為 7.0 L。

培養 14 天後，再利用抽氣過濾裝置分離菌絲體和發酵菌液，接著以 1:1.3 體積比例的發酵菌液與乙酸乙酯溶劑進行分配萃取，重複二次，所得萃取液經減壓濃縮獲得乙酸乙酯層粗萃物約 1.0 g。

以甲醇將乙酸乙酯層粗萃物回溶，並以濾紙做初步過濾，再以 100% 甲醇作為沖提液進行 Sephadex LH-20 (54 × 2.5 cm i.d.) 管柱層析，其流速為 2.5 mL/min，每 10 分鐘收集 1 試管，一共收集 32 管，所得分液依照其薄層層析 (TLC) 分析結果合併，最後獲得 7 組分液 (Fractions I-VII)。

將 Fraction III 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 4、6 和 7。以上分離流程如 Figure 4 所示。

The liquid-state fermentation (by bottle) of *Chaetomium globosum* Km1226 (7.0 L)

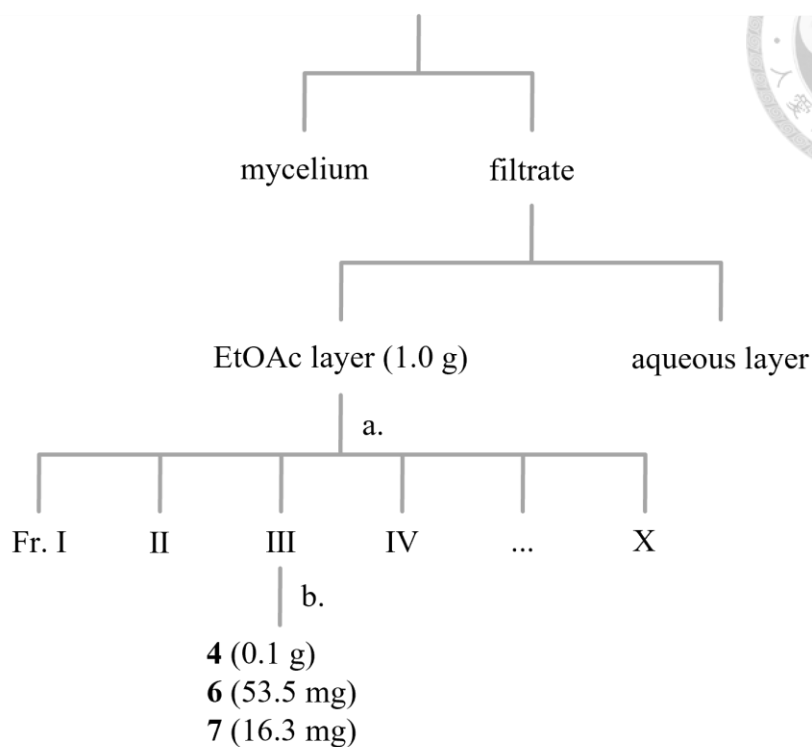


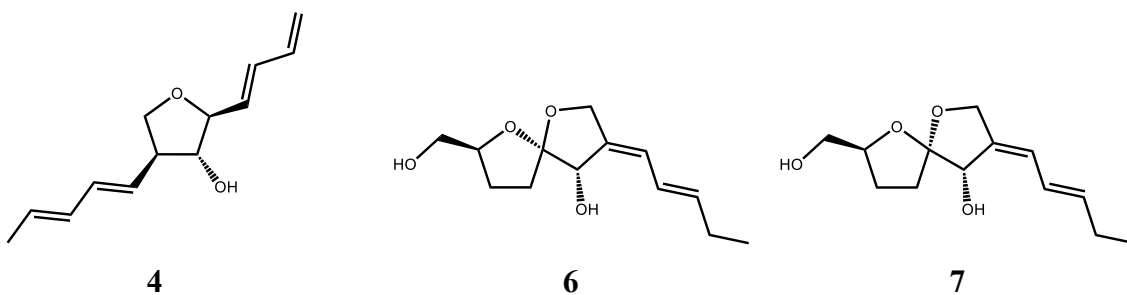
Figure 4. *Chaetomium globosum* Km1226 曝氣發酵液粗萃物分離流程圖

a. CC, Sephadex LH-20, 54 × 2.5 cm i.d., 100% MeOH

b. HPLC, Phenomenex Luna 5 μ PFP (250 × 10 mm), 65% MeOH

### 3.2.1.1 化合物 4、6 和 7 之骨架分類

#### Furanes



### 3.2.2 *Chaetomium globosum* Km1226 之基於培養成分修改

將 *Chaetomium globosum* Km1226 接種於 1/2 PDA 洋菜膠培養基上，於 29°C 的環境中培養 10 天。將長滿菌絲的洋菜膠培養基切成 0.5 cm<sup>3</sup> 的菌塊並接種於 15 瓶含有 20 g 有機發芽玄米且含有 10 mL PDY 培養液之固態培養基的 250 mL 錐形瓶中，在 26°C 的環境中進行靜置發酵 28 天。

培養 28 天後，再利用冷凍乾燥機將樣本凍乾，接著以粉碎機將之進行均質，以 1:1 體積比例的將獲得的粉末與甲醇溶劑進行萃取，重複四次，所得萃取液經減壓濃縮獲得粗萃物約 18.7 g。

將粗萃物回溶於 250 mL 水溶液的狀態 (MeOH : H<sub>2</sub>O = 1 : 9)，並依序與正己烷、乙酸乙酯、正丁醇分配萃取兩次，並移除溶媒，從而得到正己烷層粗萃物、乙酸乙酯層粗萃物、正丁醇層粗萃物和水層粗萃物。

以甲醇將乙酸乙酯層粗萃物回溶，並以濾紙做初步過濾，再以 100% 甲醇作為沖提液進行 Sephadex LH-20 (50 × 2.5 cm i.d.) 管柱層析，其流速為 2.5 mL/min，每 10 分鐘收集 1 試管，一共收集 40 管，所得分液依照其薄層層析 (TLC) 分析結果合併，最後獲得 4 組分液 (Fractions I-IV)。

將 Fraction III 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **8-13**。以上分離流程如 Figure 5 所示。

The fermented brown rice (300 g) of *Chaetomium globosum* Km1226

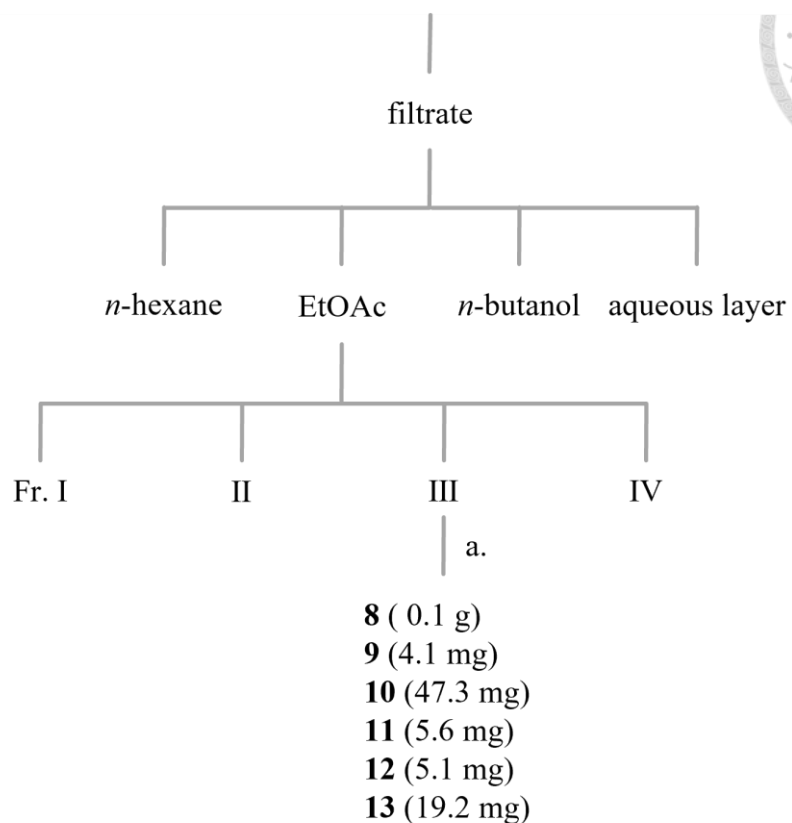


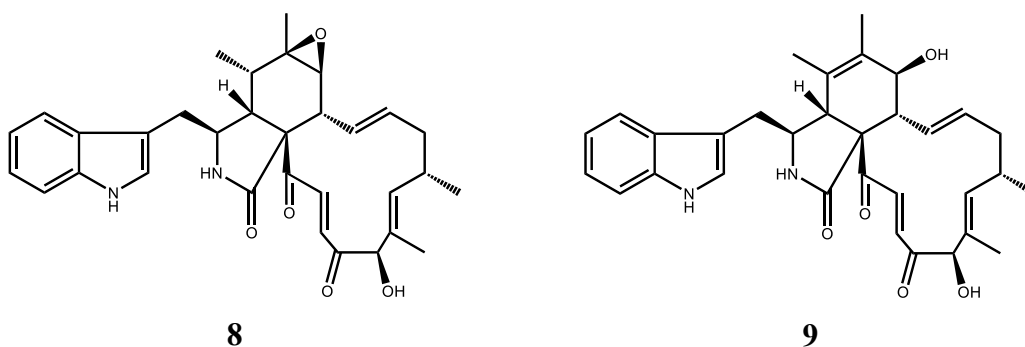
Figure 5. *Chaetomium globosum* Km1226 固態發酵玄米粗萃物分離流程圖

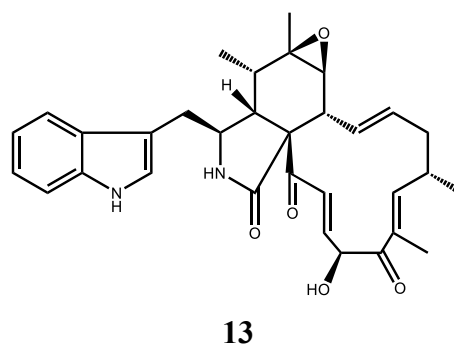
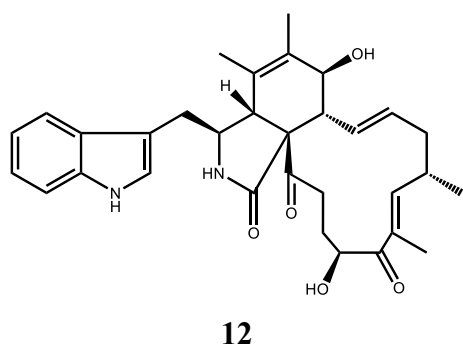
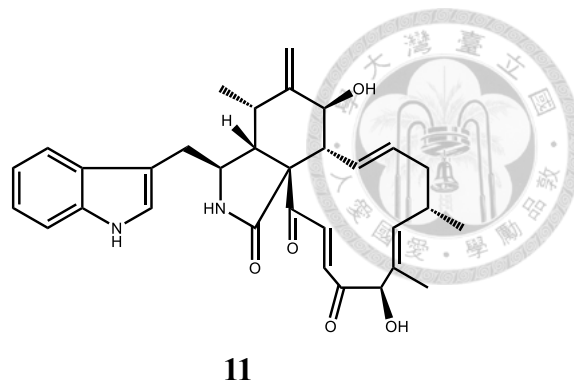
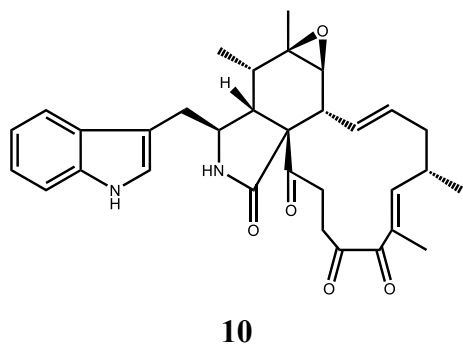
a. CC, Sephadex LH-20, 50 × 2.5 cm i.d., 100% MeOH

b. HPLC, Phenomenex Luna 5 μ PFP (250 × 10 mm), 50% ACN + 0.1% FA

### 3.2.2.1 化合物 **8-13** 之骨架分類

#### Cytochalasans





### 3.2.3 *Chaetomium globosum* Km1226 之添加表觀遺傳修飾劑

在預實驗中，選擇 12 種不同的胺基酸和 3 種抗生素作為額外添加劑於 PDY 液態培養基中，在 *Chaetomium globosum* Km1226 中進行小規模試驗，並以 HPLC 分析比較成分差異。結果如 Figure 6 和 Figure 7 所示。

發現半胱胺酸可能可以調節 *Chaetomium globosum* Km1226 基因表現，從而改變其二次代謝產物的產生。

**Chaetomium globosum Km1226 (PDY medium with 20 ppm amino acid)**

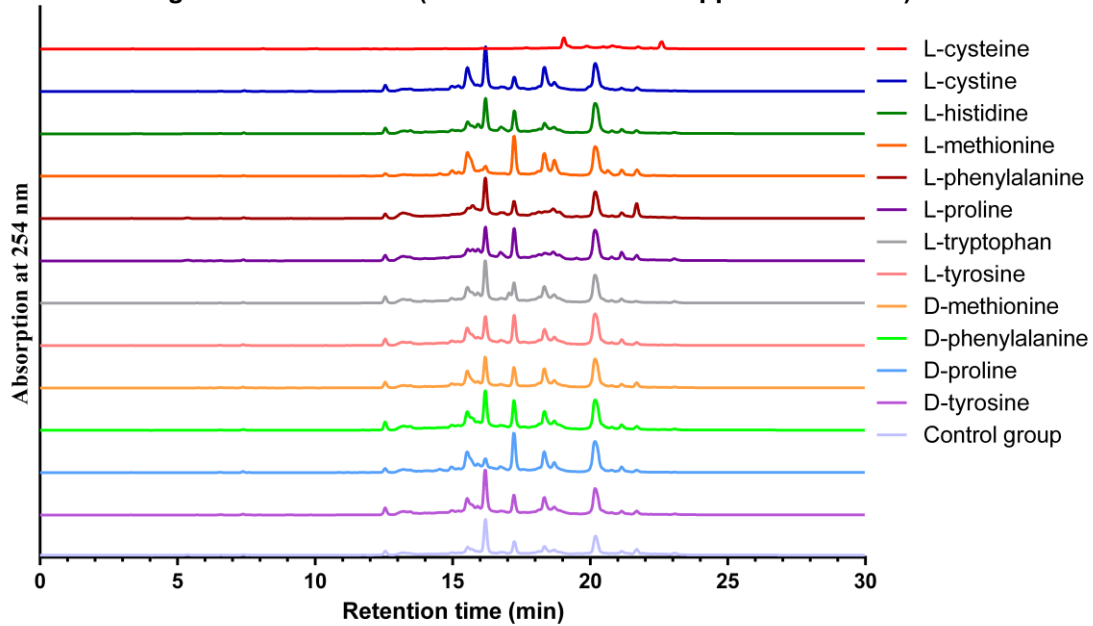


Figure 6. *Chaetomium globosum* Km1226 搖瓶發酵液含各種氨基酸組別比較層析圖

Column: Luna® 5 µm PFP(2) 100 Å, 250 × 4.6 i.d. mm.

Mobile phase: a, MeOH + 0.1% formic acid; b, H<sub>2</sub>O + 0.1% formic acid. Gradient program: 5% a (0 min) → 100% a (20 min) → 100% a (35 min) → 5% a (40 min) → 5% a (50 min).

Flow rate: 1 mL/min. Detector: UV 254 nm.

**Chaetomium globosum Km1226 (PDY medium with antibiotic)**

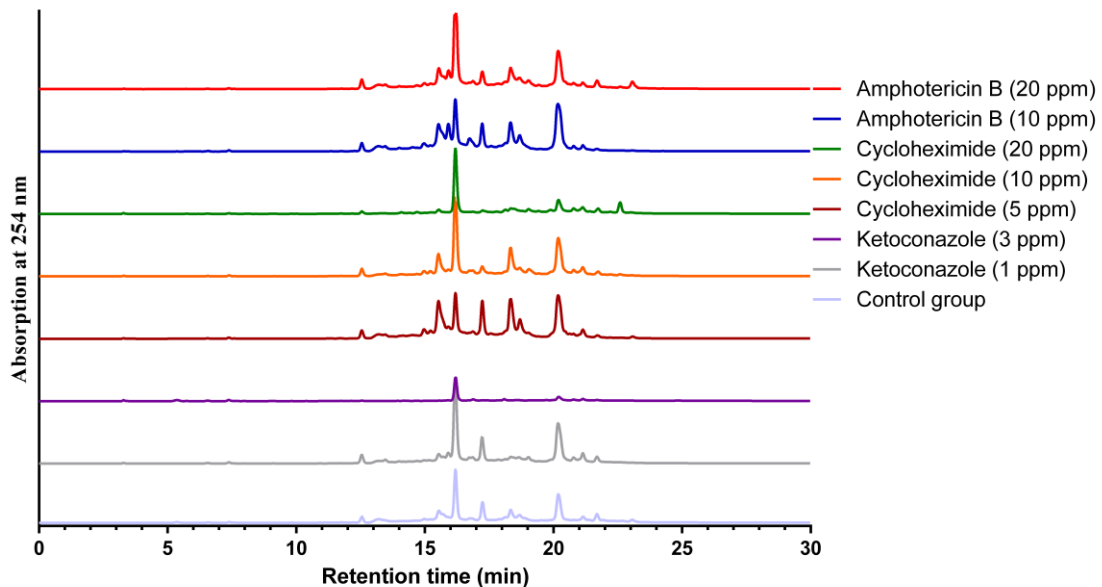


Figure 7. *Chaetomium globosum* Km1226 搖瓶發酵液含抗生素組別比較層析圖

Column: Luna® 5 µm PFP(2) 100 Å, 250 × 4.6 i.d. mm.

Mobile phase: a, MeOH + 0.1% formic acid; b, H<sub>2</sub>O + 0.1% formic acid. Gradient program: 5% a (0 min) → 100% a (20 min) → 100% a (35 min) → 5% a (40 min) → 5% a (50 min).

Flow rate: 1 mL/min. Detector: UV 254 nm.



將 *Chaetomium globosum* Km1226 接種於 1/2 PDA 洋菜膠培養基上，於 29°C 的環境中培養 10 天。將長滿菌絲的洋菜膠培養基切成 0.5 cm<sup>3</sup> 的菌塊並接種於 1 瓶含有 70 mg 半胱氨酸和 3.5 L PDY (containing 10 g of dextrose, 2 g of peptone and 1 g of yeast extract in 1 L of distilled water) 液態培養基的 5 L 血清瓶中，在 26°C 的環境中進行曝氣發酵 14 天，培養的總體積為 3.5 L。

培養 14 天後，再利用抽氣過濾裝置分離菌絲體和發酵菌液，接著以 1 : 1.3 體積比例的發酵菌液與乙酸乙酯溶劑進行分配萃取，重複二次，所得萃取液經減壓濃縮獲得乙酸乙酯層粗萃物約 0.8 g。

以甲醇將乙酸乙酯層粗萃物回溶，並以濾紙做初步過濾，再以 100% 甲醇作為沖提液進行 Sephadex LH-20 (54 × 2.5 cm i.d.) 管柱層析，其流速為 2.5 mL/min，每 10 分鐘收集 1 試管，一共收集 32 管，所得分液依照其薄層層析 (TLC) 分析結果合併，最後獲得 8 組分液 (Fractions I-VIII)。

將 Fraction VI 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **16** 和 **17**；Fraction IV 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **18 - 22**。以上分離流程如 Figure 8 所示。

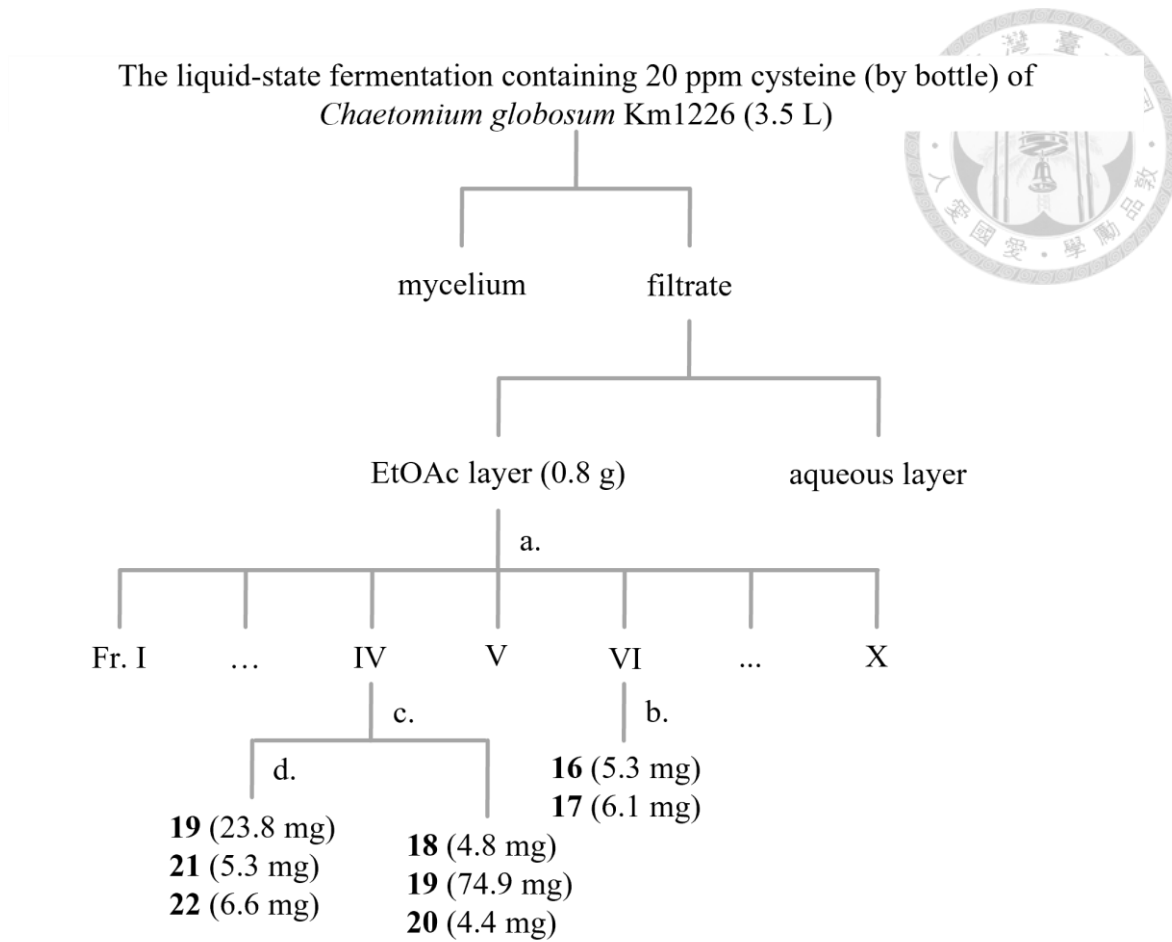
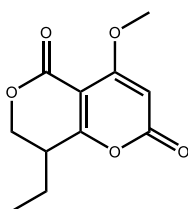


Figure 8. *Chaetomium globosum* Km1226 曝氣發酵液含半胱氨酸粗萃物分離流程圖

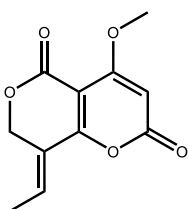
- a. CC, Sephadex LH-20, 60 × 2.5 cm i.d., 100% MeOH  
 b. HPLC, Phenomenex Luna 5 μ PFP (250 × 10 mm), 50% MeOH + 0.1% FA  
 c. HPLC, Phenomenex Luna 5 μ PFP (250 × 10 mm), 85% MeOH + 0.1% FA  
 d. HPLC, Gemini® 5 μm C18 110 Å (250 × 4.6 mm), 35% ACN + 0.1% FA

### 3.2.3.1 化合物 16-22 之骨架分類

#### Pyranones

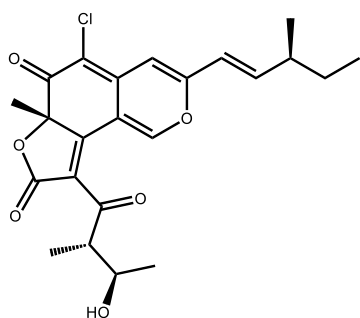


16

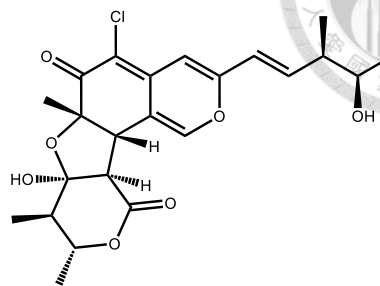


17

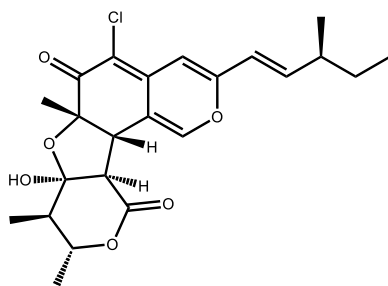
## Azaphilones



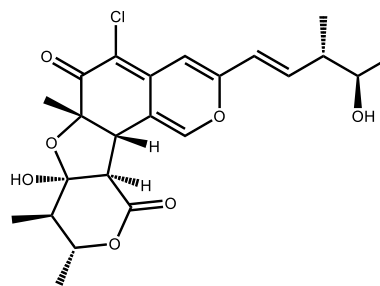
18



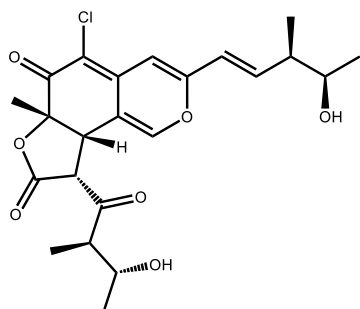
19



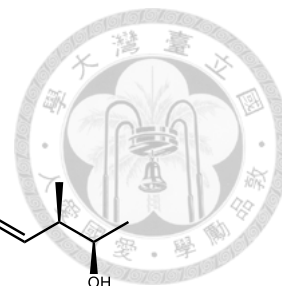
20



21



22





### 3.2.4 具潛力菌株 *Curvularia intermedia* Km0855 之應用

將具抗菌和抗病毒活性之菌株 *Curvularia intermedia* Km0855 接種於 1/2 PDA 洋菜膠培養基上，於 29°C 的環境中培養 10 天。將長滿菌絲的洋菜膠培養基切成 0.5 cm<sup>3</sup> 的菌塊並接種於 36 瓶含有 100 mL PDY (containing 10 g of dextrose, 2 g of peptone and 1 g of yeast extract in 1 L of distilled water) 液態培養基的 250 mL 錐形瓶中，在 26°C 的環境中進行搖瓶發酵 14 天，培養的總體積為 3.6 L。

培養 14 天後，再利用抽氣過濾裝置分離菌絲體和發酵菌液，接著以 1:1.3 體積比例的發酵菌液與乙酸乙酯溶劑進行分配萃取，重複二次，所得萃取液經減壓濃縮獲得乙酸乙酯層粗萃物約 1.0 g。

以甲醇將乙酸乙酯層粗萃物回溶，並以濾紙做初步過濾，再以 100% 甲醇作為沖提液進行 Sephadex LH-20 (54 × 2.5 cm i.d.) 管柱層析，其流速為 2.5 mL/min，每 10 分鐘收集 1 試管，一共收集 68 管，所得分液依照其薄層層析 (TLC) 分析結果合併，最後獲得 8 組分液 (Fractions I-VIII)。

將 Fraction III 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **23-26**。以上分離流程如 Figure 9 所示。



The liquid-state fermentation (by flask) of *Curvularia intermedia* Km0855 (3.6 L)

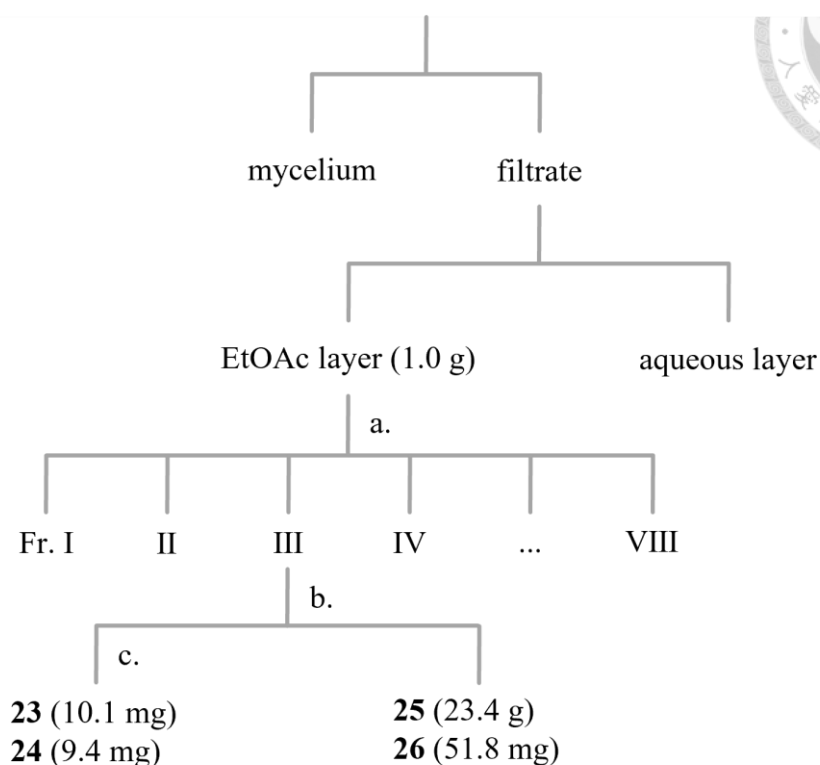
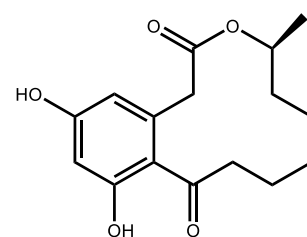
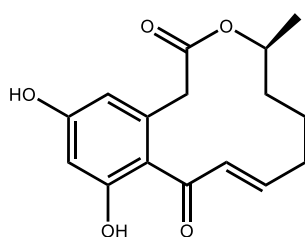
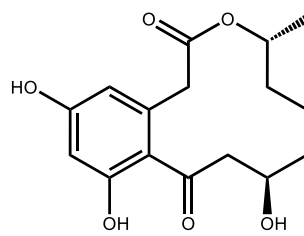
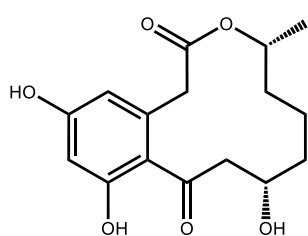


Figure 9. *Curvularia intermedia* Km0855 搖瓶發酵液粗萃物分離流程圖

- a. CC, Sephadex LH-20, 54 × 2.5 cm i.d., 100% MeOH
- b. HPLC, Phenomenex Luna 5 μ PFP (250 × 10 mm), 65% MeOH
- c. HPLC, Hypersil™ ODS C18 (250 × 10 mm), 30% CAN

### 3.2.4.1 化合物 23-26 之骨架分類

#### Macrolides



#### 3.2.4.2 *Curvularia intermedia* Km0855 之基於培養成分修改

在預實驗中，選擇 3 種不同的培養基(PDY、ME 和 PDB)和 3 種溶媒(去離子水、半淡海水和海水)作為培養組合，並添加半胱胺酸 (0.2 g/L) 到各組合進行對照，在 *Curvularia intermedia* Km0855 中進行小規模試驗，並以 HPLC 分析比較成分差異。結果如 Figure 10 所示。

發現若是碳源源自葡萄糖，*Curvularia intermedia* Km0855 能夠利用葡萄糖由聚酮合成酶 (PKS) 從乙醯輔酶 A 產生聚酮生物合成反應，並經過不同的作用和機制(例如烷基化、脫羧或醇醛化等)，最終導致大環內酯化合物的產生，而碳源源自麥芽糖則無法進入該模式，進而改變生物合成途徑，產生先前我們未瞭解的化合物，甚至在加了半胱胺酸的組別中(BMC 和 SMC)，增加了微量化合物 ( $t_R = 24.7$  min) 的產生。

將 *Curvularia intermedia* Km0855 接種於 1/2 PDA 洋菜膠培養基上，於 29°C 的環境中培養 10 天。將長滿菌絲的洋菜膠培養基切成 0.5 cm<sup>3</sup> 的菌塊並接種於 8 瓶含有 3.5 L SM (containing 20 g of malt extract in 1 L of seawater) 液態培養基的 5 L 血清瓶中，在 26°C 的環境中進行曝氣發酵 14 天，培養的總體積為 28.0 L。

培養 14 天後，再利用抽氣過濾裝置分離菌絲體和發酵菌液，接著以 1:1.3 體積比例的發酵菌液與乙酸乙酯溶劑進行分配萃取，重複二次，所得萃取液經減壓濃縮獲得乙酸乙酯層粗萃物約 0.8 g。

以甲醇將乙酸乙酯層粗萃物回溶，並以濾紙做初步過濾，再以 100% 甲醇作為沖提液進行 Sephadex LH-20 (60 × 2.5 cm i.d.) 管柱層析，其流速為 2.5 mL/min，每 10 分鐘收集 1 試管，一共收集 44 管，所得分液依照其薄層層析 (TLC) 分析結果合併，最後獲得 10 組分液 (Fractions I-X)。

將 Fraction VII 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **27**；將 Fraction IX 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **28** 和 **29**。以上分離流程如 Figure 11 所示。

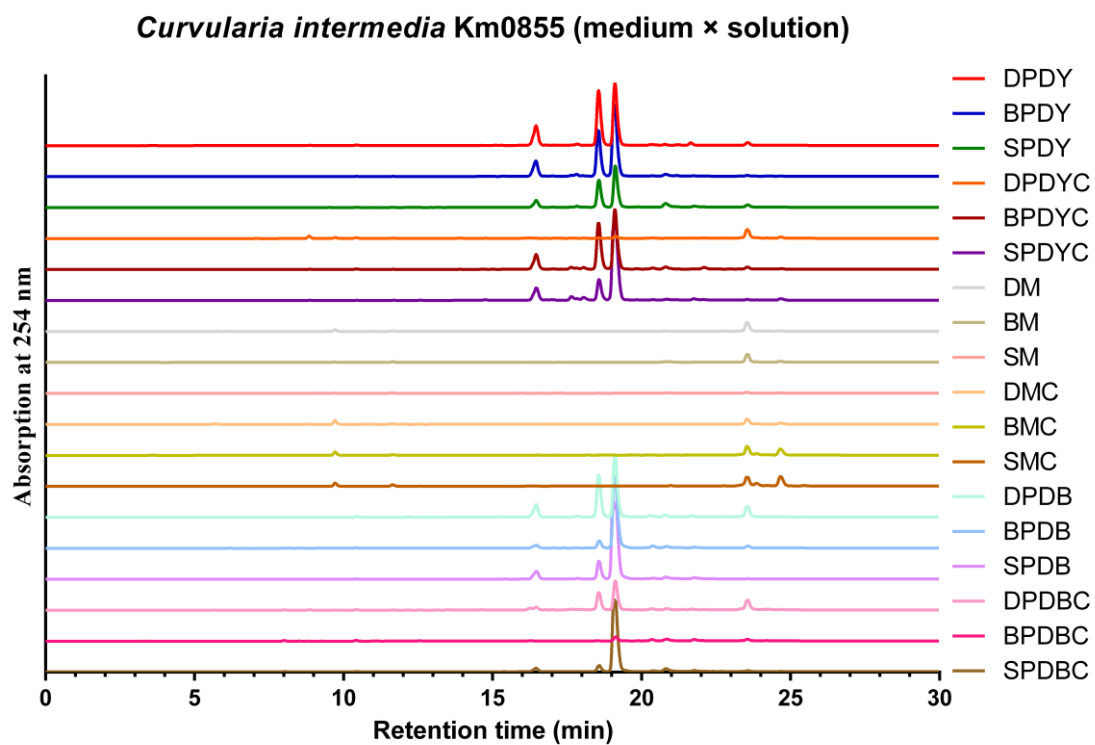


Figure 10. *Curvularia intermedia* Km0855 搖瓶發酵液粗萃物組別比較層析圖

首位字母 D : distilled water ; B : brackish water ; S : seawater

PDY : Peptone Dextrose Yeast Broth ; M : Malt Broth ; PDB : Potato Dextrose Broth

C : 加入半胱胺酸 (0.2 g/L)

Column: Luna® 5 µm PFP(2) 100 Å, 250 × 4.6 i.d. mm.

Mobile phase: a, MeOH + 0.1% formic acid; b, H<sub>2</sub>O + 0.1% formic acid. Gradient program: 5% a (0 min) → 100% a (20 min) → 100% a (35 min) → 5% a (40 min) → 5% a (50 min).

Flow rate: 1 mL/min. Detector: UV 254 nm.

The liquid-state fermentation containing 20 ppm cysteine (by bottle) of  
*Curvularia intermedia* Km0855 (28.0 L)

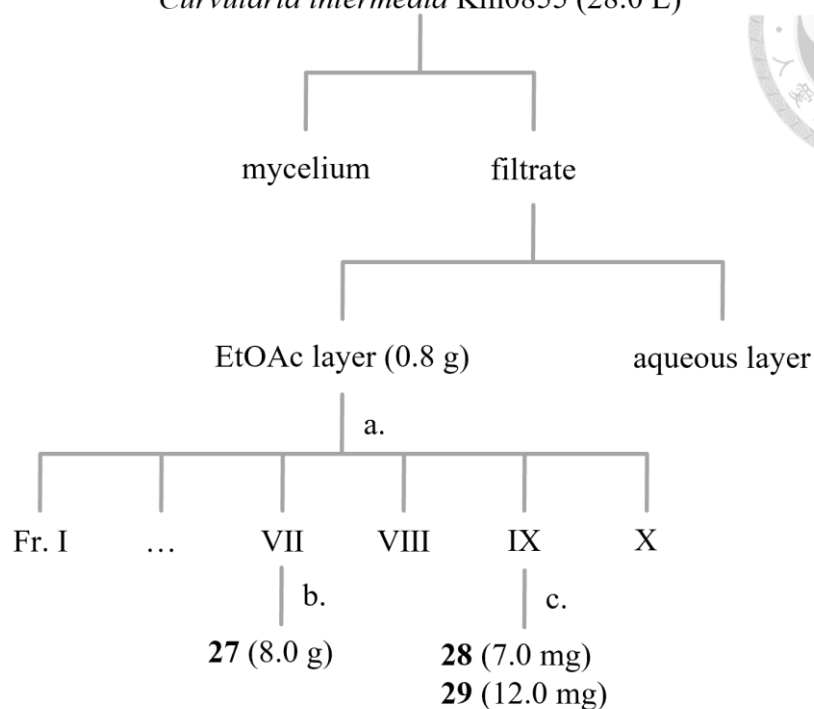


Figure 11. *Curvularia intermedia* Km0855 曝氣發酵液含半胱氨酸粗萃物分離流程圖

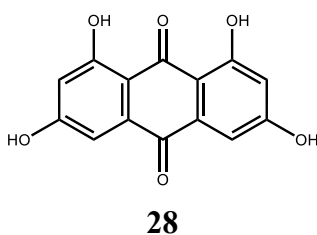
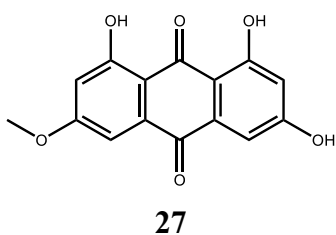
a. CC, Sephadex LH-20, 54 × 2.5 cm i.d., 100% MeOH

b. HPLC, Phenomenex Luna 5 μ PFP (250 × 10 mm), 95% MeOH

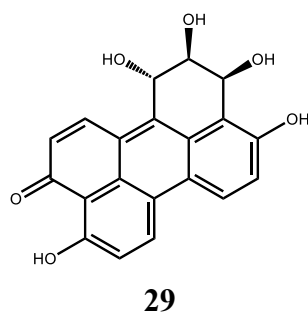
c. HPLC, Phenomenex Luna 5 μ PFP (250 × 10 mm), 80% MeOH + 0.1% FA

### 3.2.4.2 化合物 27-29 之骨架分類

#### Anthraquinones



#### Perylenequinone



### 3.2.5 具潛力菌株 *Stemphylium lycopersici* Km1578 之應用

將具抗病毒活性之菌株 *Stemphylium lycopersici* Km1578 接種於 1/2 PDA 洋菜膠培養基上，於 29°C 的環境中培養 10 天。將長滿菌絲的洋菜膠培養基切成 0.5 cm<sup>3</sup> 的菌塊並接種於 250 瓶含有 100 mL PDY (containing 10 g of dextrose, 2 g of peptone and 1 g of yeast extract in 1 L of distilled water) 液態培養基的 250 mL 錐形瓶中，在 26°C 的環境中進行搖瓶發酵 14 天，培養的總體積為 25.0 L。

培養 14 天後，再利用抽氣過濾裝置分離菌絲體和發酵菌液，接著以 1:1.3 體積比例的發酵菌液與乙酸乙酯溶劑進行分配萃取，重複二次，所得萃取液經減壓濃縮獲得乙酸乙酯層粗萃物約 3.2 g。

以甲醇將乙酸乙酯層粗萃物回溶，並以濾紙做初步過濾，再以 100% 甲醇作為沖提液進行 Sephadex LH-20 (67 × 2.5 cm i.d.) 管柱層析，其流速為 2.5 mL/min，每 10 分鐘收集 1 試管，一共收集 55 管，所得分液依照其薄層層析 (TLC) 分析結果合併，最後獲得 15 組分液 (Fractions I-XV)。

將 Fraction VII 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **30**、**31**、**33** 和 **34**；將 Fraction V 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **32**；將 Fraction XI 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **35**。以上分離流程如 Figure 12 所示。

The liquid-state fermentation (by flask) of *Stemphylium lycopersici* Km1578 (25.0 L)

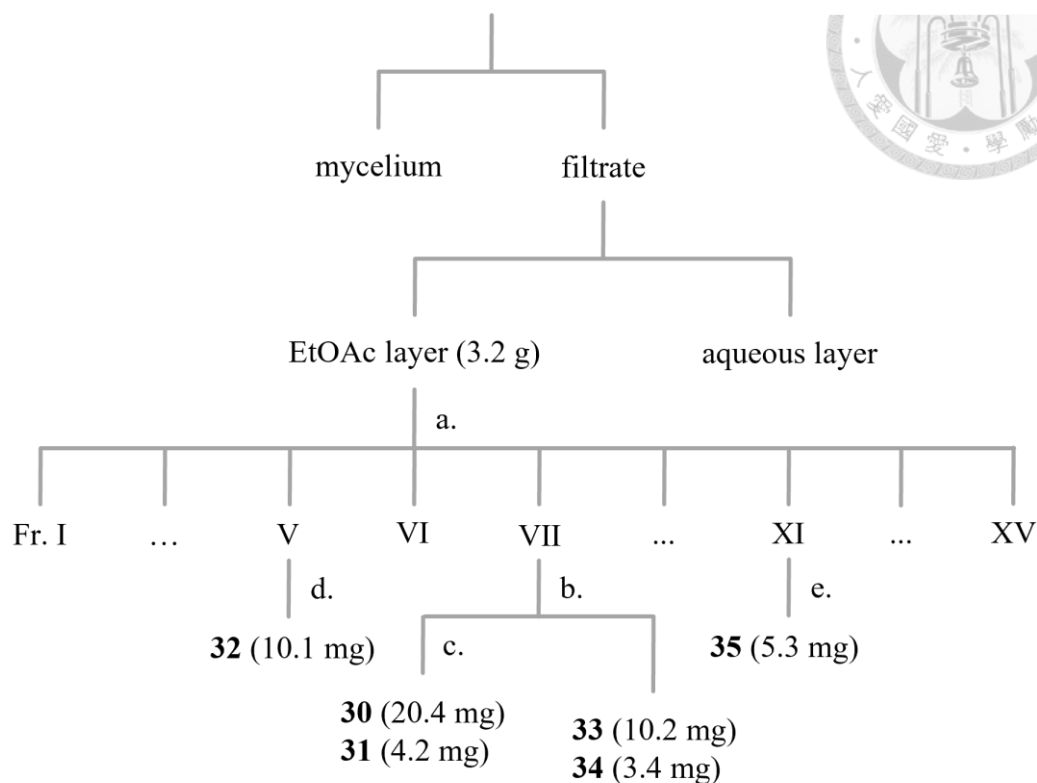
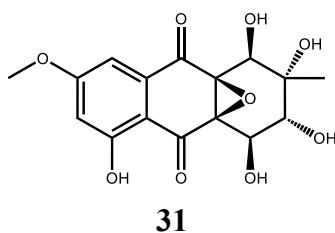
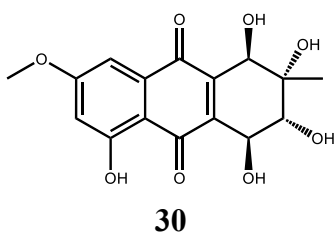


Figure 12. *Stemphylium lycopersici* Km1578 搖瓶發酵液粗萃物分離流程圖

- a. CC, Sephadex LH-20, 60 × 2.5 cm i.d., 100% MeOH
- b. HPLC, Phenomenex Luna 5 μ PFP (250 × 10 mm), 75% MeOH
- c. HPLC, Phenomenex Luna 5 μ PFP (250 × 10 mm), 55% MeOH
- d. HPLC, Phenomenex Luna 5 μ PFP (250 × 10 mm), 75% MeOH + 0.1% FA
- e. HPLC, Phenomenex Luna 5 μ PFP (250 × 10 mm), 95% MeOH

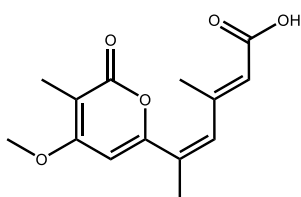
### 3.2.5.1 化合物 30-35 之骨架分類

#### Anthraquinones



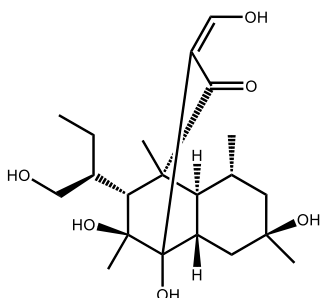


## Pyrone

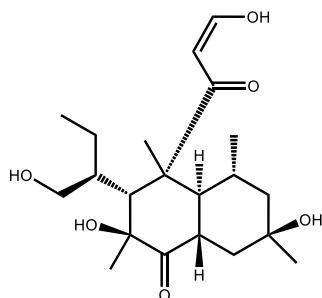


32

## Polyketides

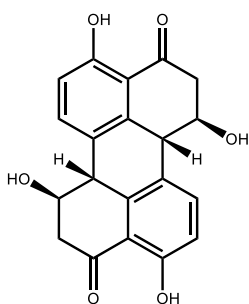


33



34

## Perylenequinone



35

### 3.2.5.2 *Stemphylium lycopersici* Km1578 之基於培養成分修改

在預實驗中，選擇 3 種不同的培養基(PDY、ME 和 PDB)和 3 種溶媒(去離子水、半淡海水和海水)作為培養組合，並添加半胱胺酸 (0.2 g/L) 到各組合進行對照，在 *Stemphylium lycopersici* Km1578 中進行小規模試驗，並以 HPLC 分析比較成分差異。結果如 Figure 13 所示。

觀察到在加了半胱胺酸的組別中(DPDYC、SMC 和 BPDBC)，產生先前我們未瞭解的化合物 ( $t_R = 24.1$  min)，值得進一步探索。

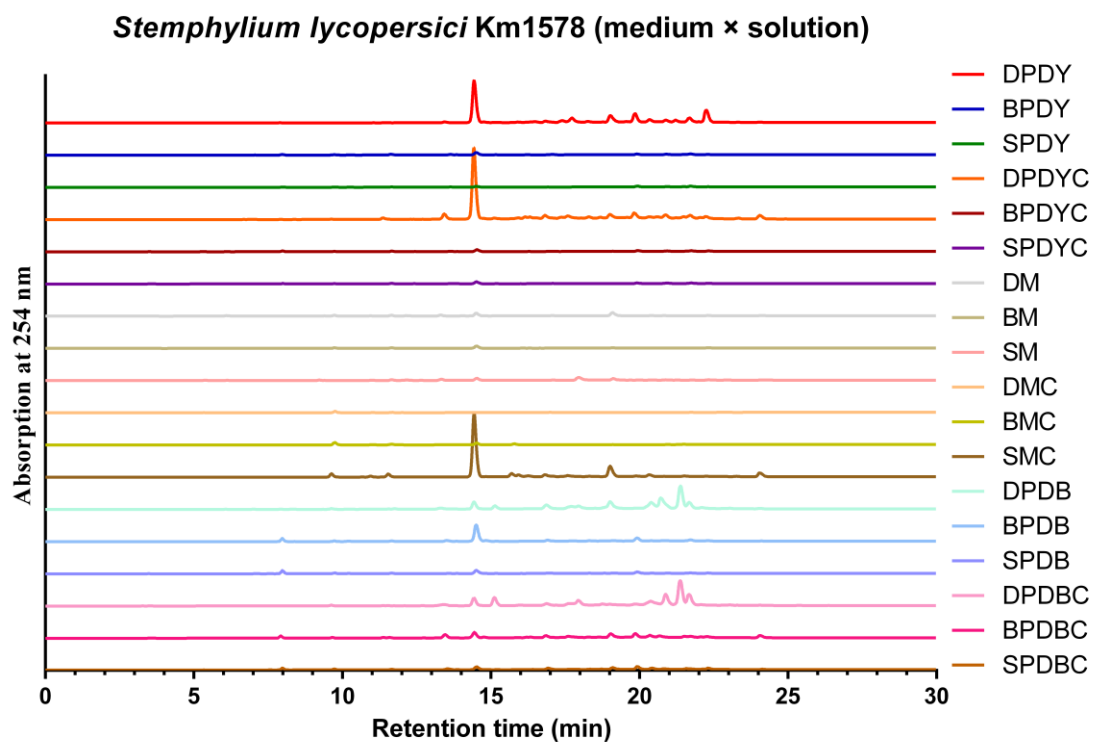


Figure 13. *Stemphylium lycopersici* Km1578 搖瓶發酵液粗萃物組別比較層析圖

首位字母 D : distilled water ; B : brackish water ; S : seawater

PDY : Peptone Dextrose Yeast Broth ; M : Malt Broth ; PDB : Potato Dextrose Broth

C : 加入半胱胺酸 (0.2 g/L)

Column: Luna® 5 μm PFP(2) 100 Å, 250 × 4.6 i.d. mm.

Mobile phase: a, MeOH + 0.1% formic acid; b, H<sub>2</sub>O + 0.1% formic acid. Gradient program: 5% a (0 min)

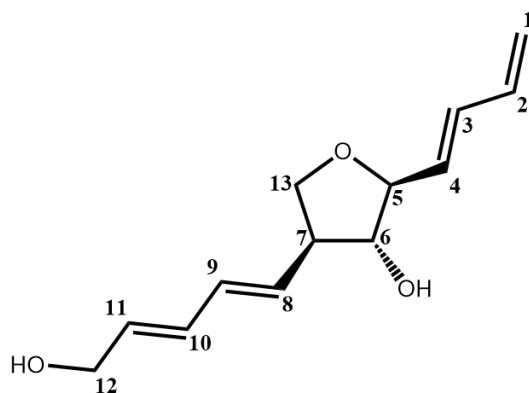
→ 100% a (20 min) → 100% a (35 min) → 5% a (40 min) → 5% a (50 min).

Flow rate: 1 mL/min. Detector: UV 254 nm.

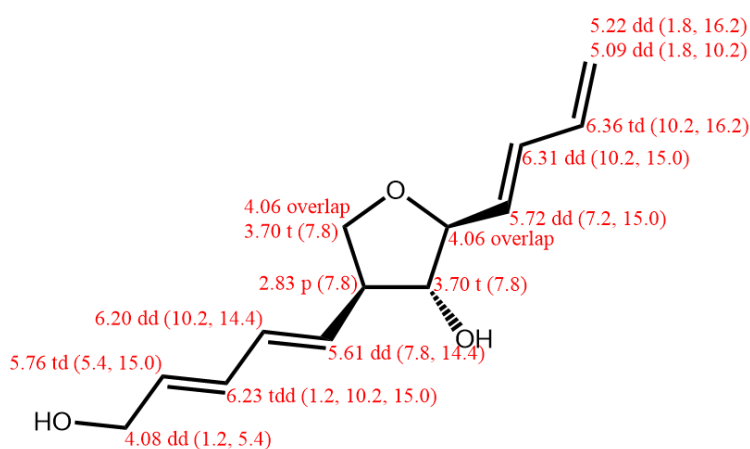


### 3.3 天然物結構解析

#### 3.3.1 Aureonitol C (1) 之結構解析



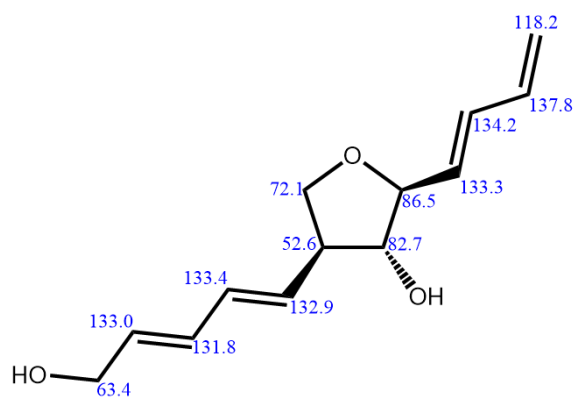
化合物 **1** 為白色粉末，比旋光度 $[\alpha]_D^{27} = -9.8$  ( $c$  0.1, MeOH)，紫外光譜 (MeOH):  $\lambda_{\max} (\log \epsilon) = 232$  (4.36), 272 (3.33) (Figure 14)，高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其 $[M + H]^+$ 離子峰  $m/z$  223.1329 (calcd 223.1334 for  $C_{13}H_{19}O_3$ ) 推測分子式為  $C_{13}H_{18}O_3$  (Figure 15)，紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 ( $3357\text{ cm}^{-1}$ ) 的存在 (Figure 16)。



$^1\text{H-NMR}$  data of **1**

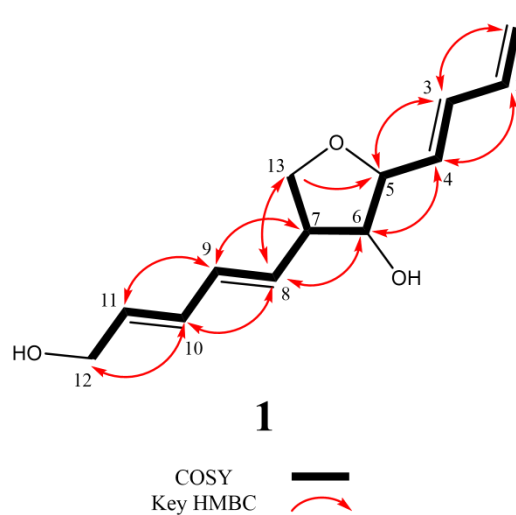
根據化合物 **1** 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 600 MHz) (Figure 17) 配合 HSQC 圖譜 (Figure 19) 的解析，推測在  $\delta_H$  6.31 (1H, dd,  $J = 10.2, 15.0$  Hz, H-3)、5.72 (1H, dd,  $J = 7.2, 15.0$  Hz, H-4)、5.61 (1H, dd,  $J = 7.8, 14.4$  Hz, H-8)、6.20 (1H, dd,  $J = 10.2, 14.4$  Hz, H-9)、6.23 (1H, tdd,  $J = 1.2, 10.2, 15.0$  Hz, H-10) 和 5.76 (1H, td,  $J = 5.4, 15.0$  Hz, H-11) 為三組相互耦合 *trans*-form 雙鍵上次甲基 (methines) 質子訊號； $\delta_H$  4.06 (1H, m, H-5) 和 3.70 (1H, t,  $J = 7.8$  Hz, H-6) 為一組相互耦合接氧次甲基 (oxymethines)

質子訊號； $\delta_{\text{H}}$  4.08 (2H, dd,  $J = 1.2, 5.4$  Hz, H-12) 和 4.06 (1H, m, H<sub>a</sub>-13) 與 3.70 (1H, t,  $J = 7.8$  Hz, H<sub>b</sub>-13) 為兩組接氧亞甲基 (oxymethylenes) 質子訊號； $\delta_{\text{H}}$  5.22 (1H, dd,  $J = 1.8, 16.2$  Hz, H<sub>a</sub>-1) 和 5.09 (1H, dd,  $J = 1.8, 10.2$  Hz, H<sub>b</sub>-1) 為一組環外亞甲基 (exomethylene) 質子訊號； $\delta_{\text{H}}$  6.36 (1H, td,  $J = 10.2, 16.2$  Hz, H-2) 為雙鍵上次甲基 (olefinic proton) 質子訊號和  $\delta_{\text{H}}$  2.83 (1H, p,  $J = 7.8$  Hz, H-7) 為次甲基 (methine) 質子訊號 (Table 4)。

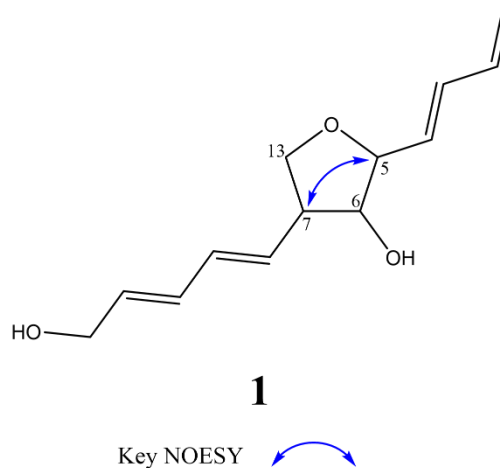


$^{13}\text{C}$ -NMR data of **1**

碳譜 (methanol- $d_4$ , 150 MHz) (Figure 18) 顯示化合物 **1** 有 13 個碳，配合 HSQC 圖譜 (Figure 19) 的解析，推測有七個烯基次甲基 (olefinic methines) 訊號位於  $\delta_{\text{C}}$  131.8 (C-10)、132.9 (C-8)、133.0 (C-11)、133.3 (C-4)、133.4 (C-9)、134.2 (C-3) 和 137.8 (C-2)；三個亞甲基 (methylenes) 訊號位於  $\delta_{\text{C}}$  63.4 (C-12)、72.1 (C-13) 和 118.2 (C-1)；三個脂肪族次甲基 (aliphatic methines) 訊號位於  $\delta_{\text{C}}$  52.6 (C-7)、82.6 (C-6) 和 86.5 (C-5) (Table 4)，其中  $\delta_{\text{C}}$  63.4 (C-12)、72.1 (C-13)、82.6 (C-6) 和 86.5 (C-5) 為接氧碳。



根據上述氫、碳譜的初步判讀，配合 COSY 圖譜 (Figure 20) 的相關訊號包括：H-1/H-2、H-2/H-3、H-3/H-4、H-4/H-5、H-5/H-6、H-6/H-7、H-7/H-8、H-8/H-9、H-9/H-10、H-10/H-11、H-11/H-12 和 H-7/H-13 (Table 4) 以及 HMBC 圖譜 (Figure 21) 的相關訊號包括：H-3/C-5、H-4/C-6、H-8/C-6、H-9/C-7、H-8/C-13 和 H-13/C-5 (Table 4) 確認 **1** 的平面結構。



從 NOESY 圖譜 (Figure 22) 中觀察到 H-5/H-7 關鍵訊號，且相互耦合的 H-7/H-6 和 H-6/H-5 的  $J$  值 (7.8 Hz) 以及無 nOe 關聯的 H-7/H-6 和 H-6/H-5 分別確立了 H-5、H-6 和 H-7 的相對構型分別為  $S^*$ 、 $R^*$  和  $S^*$ 。而 **1** 的平面結構與 (-)-aureonitol (**4**) 的結構幾乎相同，只是 **4** 中的末端  $\text{CH}_3$ -12 被 **1** 的羥甲基 (hydroxymethyl) 取代。

在絕對立體的部分，除了與文獻比較 **1** ( $[\alpha]_D^{27} -9.8$ ) 和 **4** ( $[\alpha]_D^{25} -31.3$ )<sup>185</sup> 數值趨勢相同外，也藉由比對兩者實驗 CD 圖譜 (Figure 23) 發現 220 – 250 nm 處皆有正趨勢的柯頓效應 (cotton effects) 確定 **1** 的 C-5 – C-7 絕對立體為 7*S*、8*R* 及 9*S*。綜合以上的結構解析，並經由 Reaxys 和 Scifindern 資料庫文獻比對，確定 **1** 為過去未曾報導之新化合物，命名為 aureonitol C。

Table 4. 化合物 **1** 之 <sup>1</sup>H、<sup>13</sup>C 和 2D NMR 數據 ( $\delta$  in ppm, *J* in Hz)

<b>1</b>					
No.	<sup>1</sup> H m ( <i>J</i> , Hz) <sup>ac</sup>	<sup>13</sup> C <sup>b</sup>	COSY	HMBC	NOESY
1 <sub>a</sub>	5.22 dd (1.8, 16.2)	118.2	H-2	C-3	H-1 <sub>b</sub> , 3
1 <sub>b</sub>	5.09 dd (1.8, 10.2)		H-2	C-3	H-1 <sub>a</sub>
2	6.36 td (10.2, 16.2)	137.8	H-1 <sub>a</sub> , 1 <sub>b</sub> , 3	C-4	H-4
3	6.31 dd (10.2, 15.0)	134.2	H-2, 4	C-1, 5	H-1 <sub>b</sub> , 5
4	5.72 dd (7.2, 15.0)	133.3	H-3, 5	C-2, 6	H-2, 6
5	4.06 <sup>d</sup>	86.5	H-4, 6		H-7
6	3.70 t (7.8)	82.7	H-5, 7	C-4, 8	H-4, 8
7	2.83 p (7.8)	52.6	H-6, 8, 13 <sub>a</sub> , 13 <sub>b</sub>	C-9	H-5, 9
8	5.61 dd (7.8, 14.4)	132.9	H-7, 9	C-6, 10	H-6, 10
9	6.20 dd (10.2, 14.4)	133.4	H-8, 10	C-7, 11	H-7, 11
10	6.23 tdd (1.2, 10.2, 15.0)	131.8	H-9, 11	C-8, 12	H-8, 12
11	5.76 td (5.4, 15.0)	133.0	H-10, 12	C-9	H-9
12 <sub>a</sub>	4.08 dd (1.2, 5.4)	63.4	H-11	C-10	H-10
12 <sub>b</sub>	4.08 dd (1.2, 5.4)		H-11	C-10	H-10
13 <sub>a</sub>	4.06 <sup>d</sup>	72.1	H-7		
13 <sub>b</sub>	3.70 t (7.8)		H-7	C-5	

<sup>a</sup> Measured in methanol-*d*<sub>4</sub> (600 MHz), <sup>b</sup> Measured in methanol-*d*<sub>4</sub> (150 MHz),

<sup>c</sup> Multiplicities were obtained from HSQC, <sup>d</sup> Signal without multiplicity was overlapped.

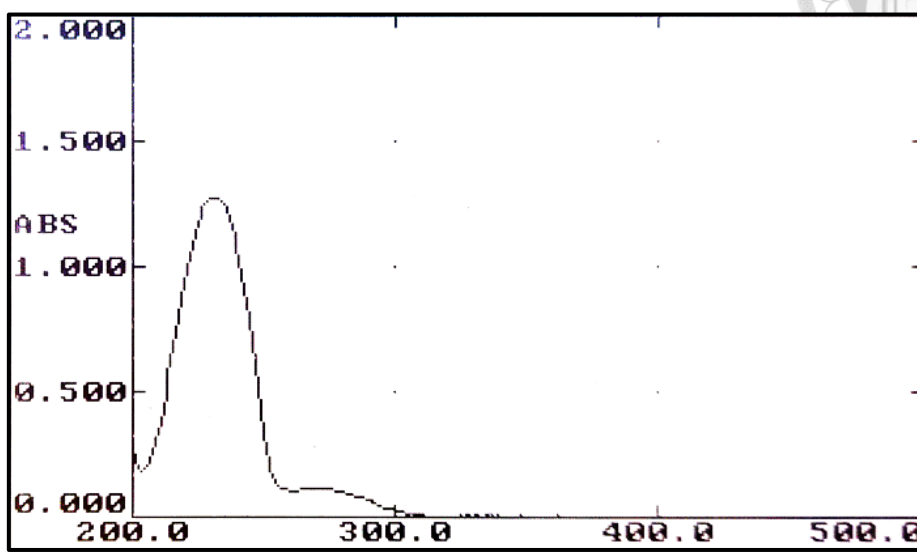


Figure 14. 化合物 1 之紫外光譜

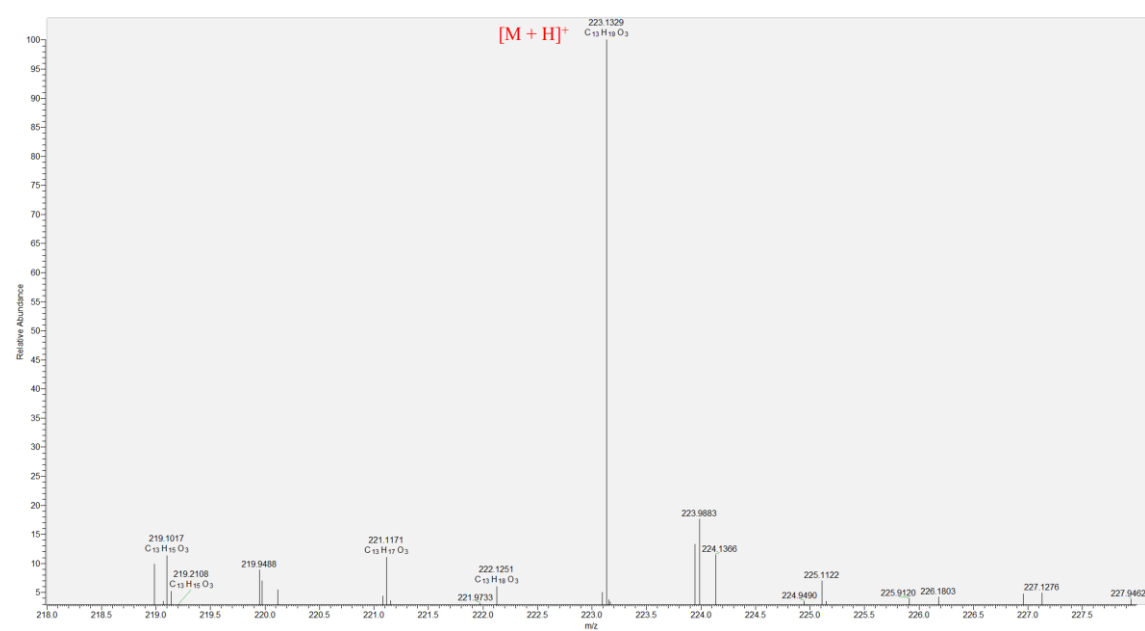


Figure 15. 化合物 1 之高解析電灑游離質譜

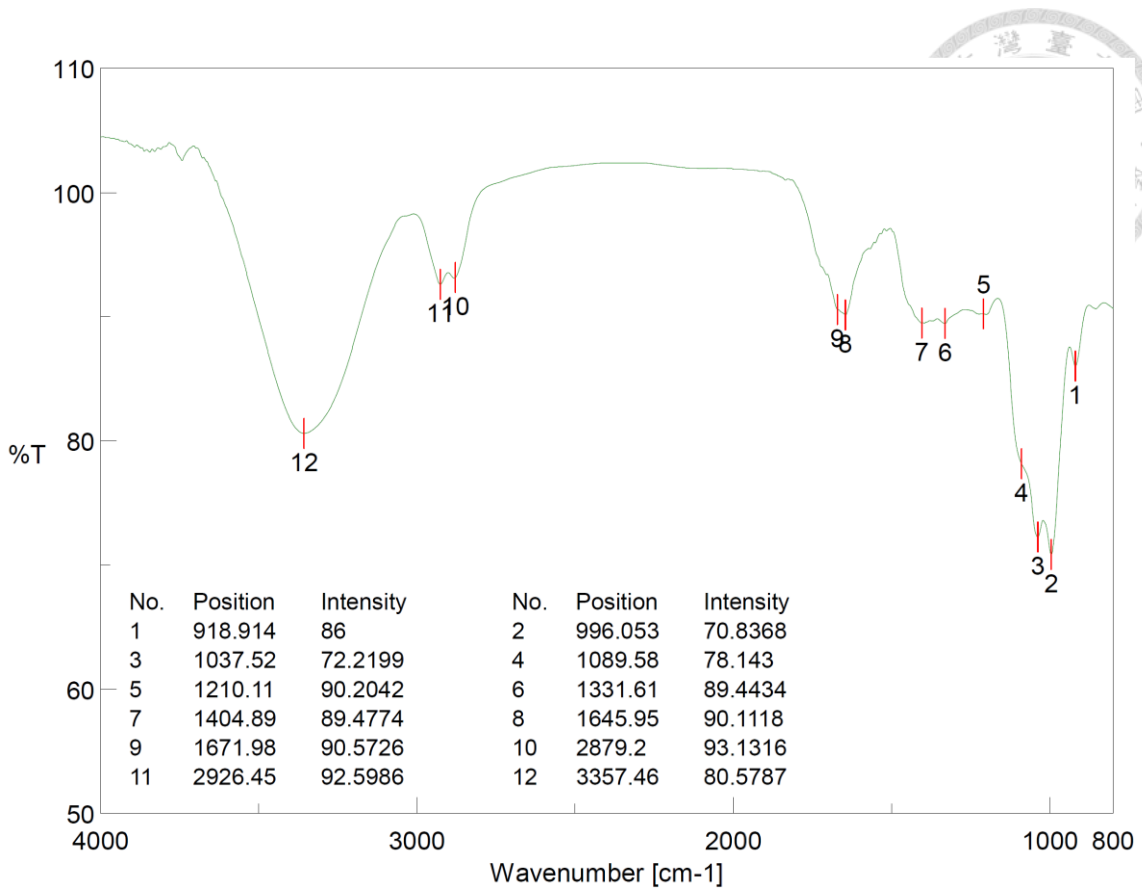


Figure 16. 化合物 1 之紅外光譜

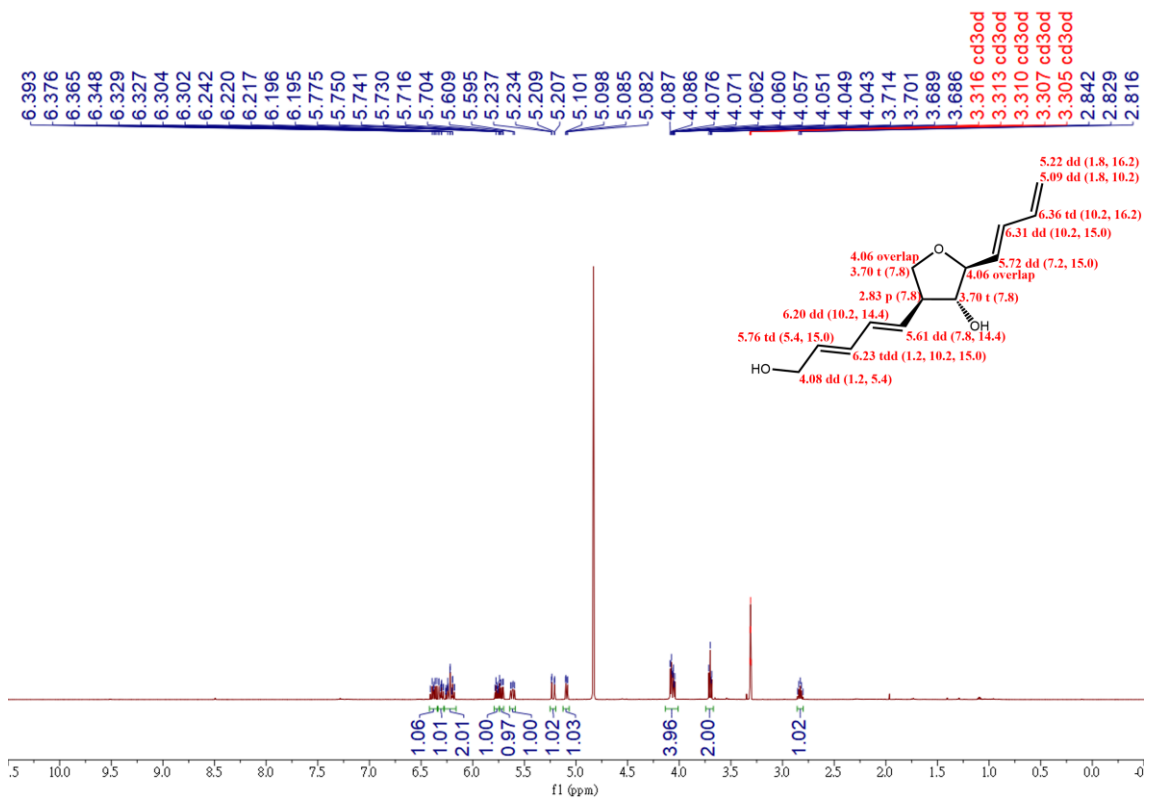


Figure 17. 化合物 1 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 600 MHz)

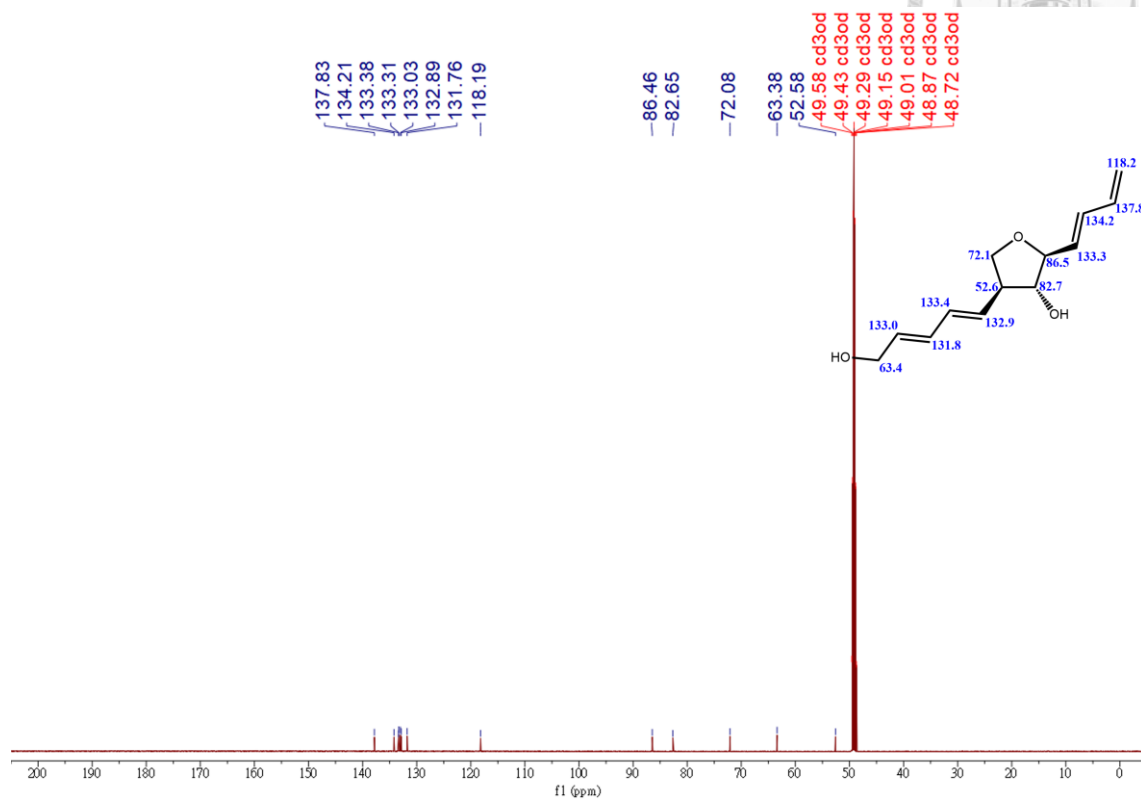


Figure 18. 化合物 1 之碳譜 (methanol- $d_4$ , 150 MHz)

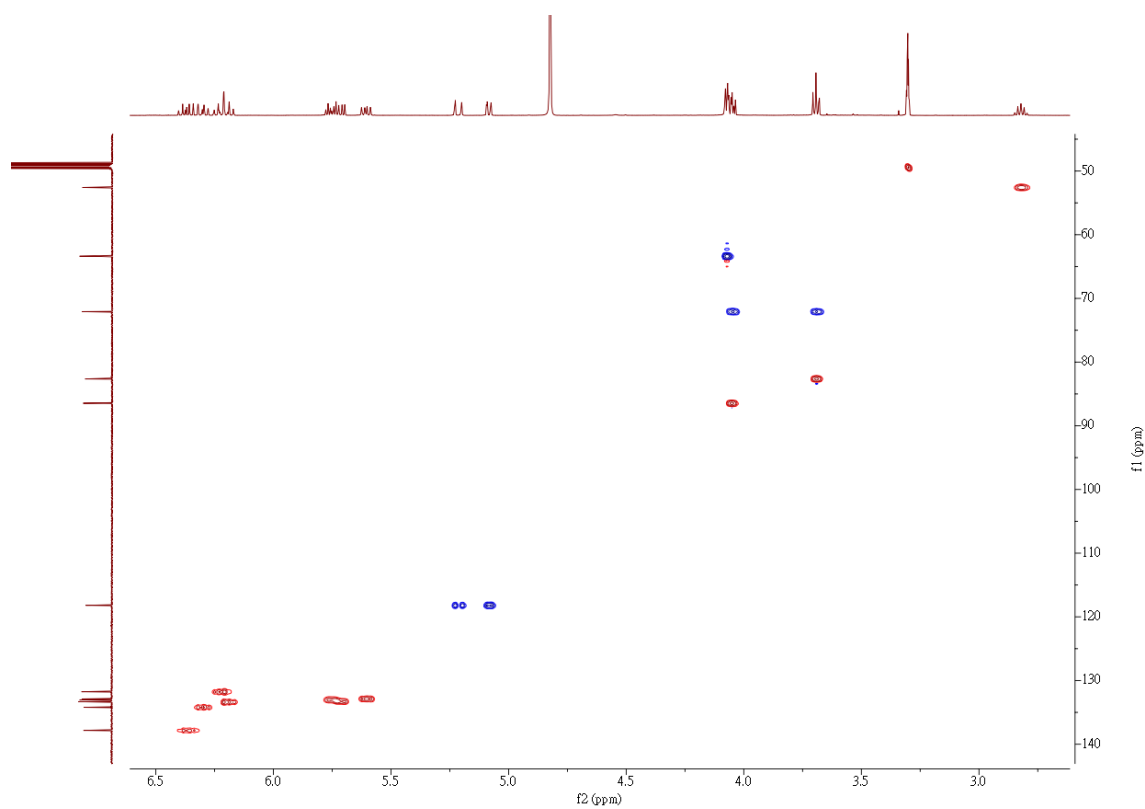


Figure 19. 化合物 1 之 HSQC 圖譜

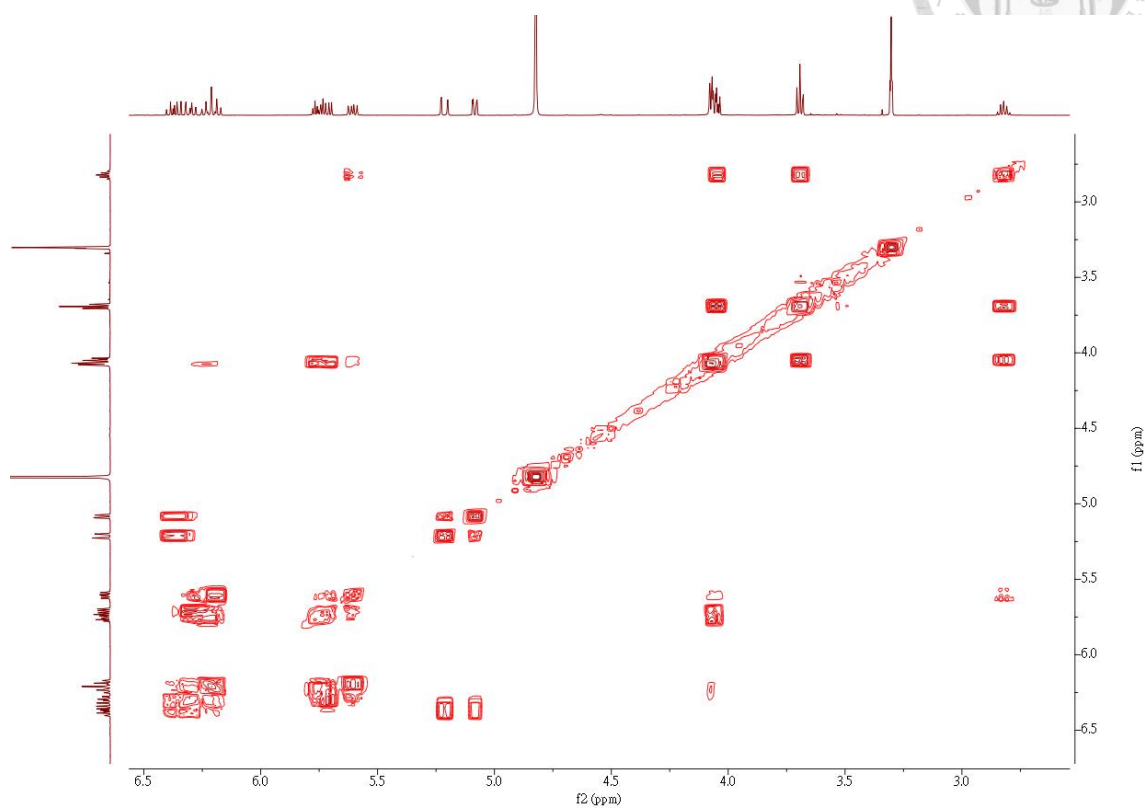


Figure 20. 化合物 1 之 COSY 圖譜

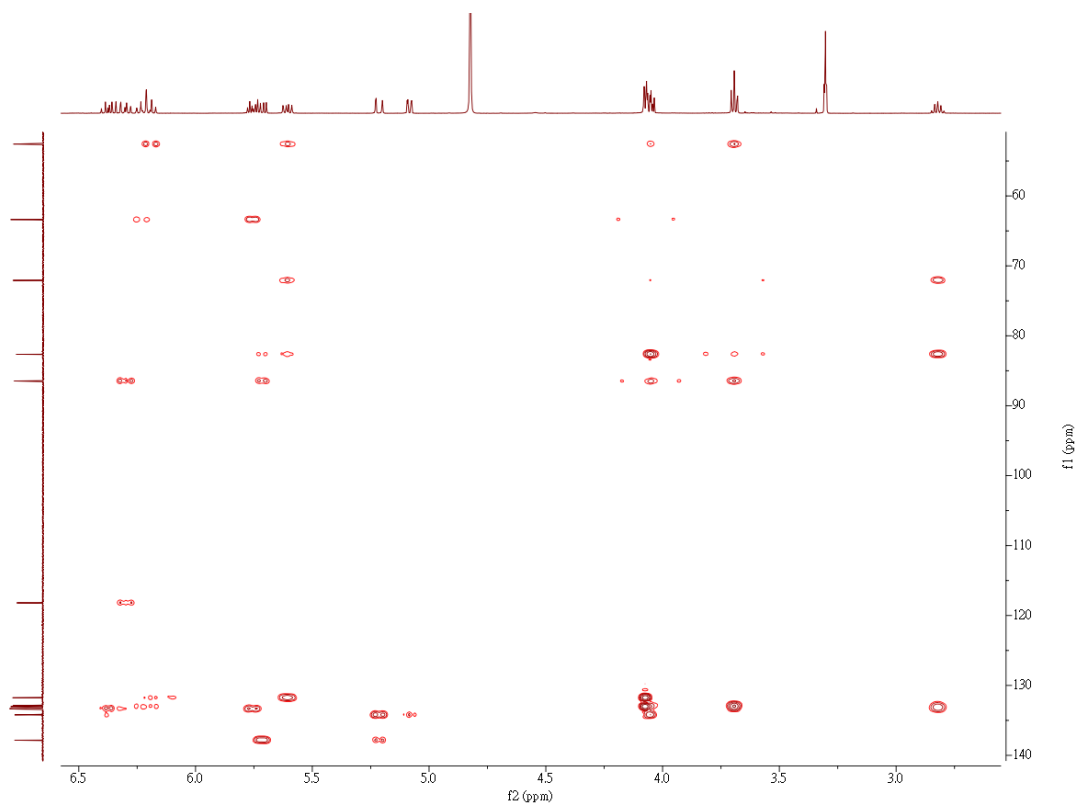


Figure 21. 化合物 1 之 HMBC 圖譜

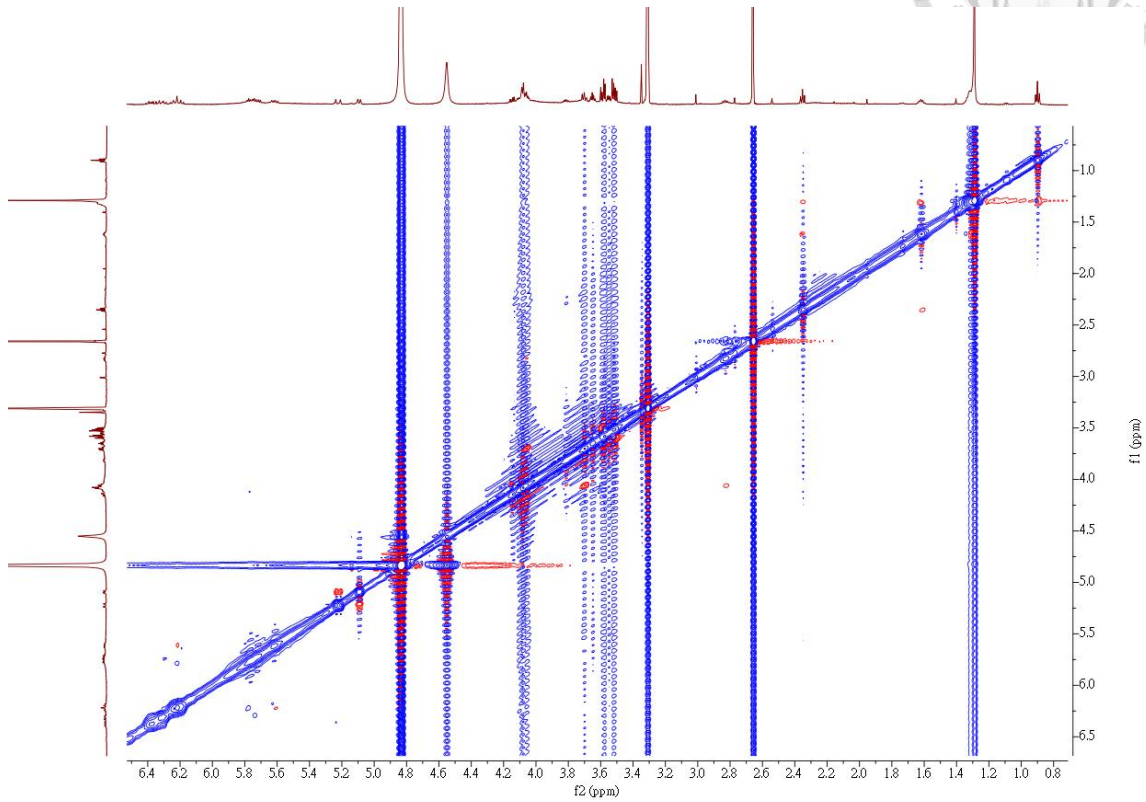


Figure 22. 化合物 1 之 NOESY 圖譜

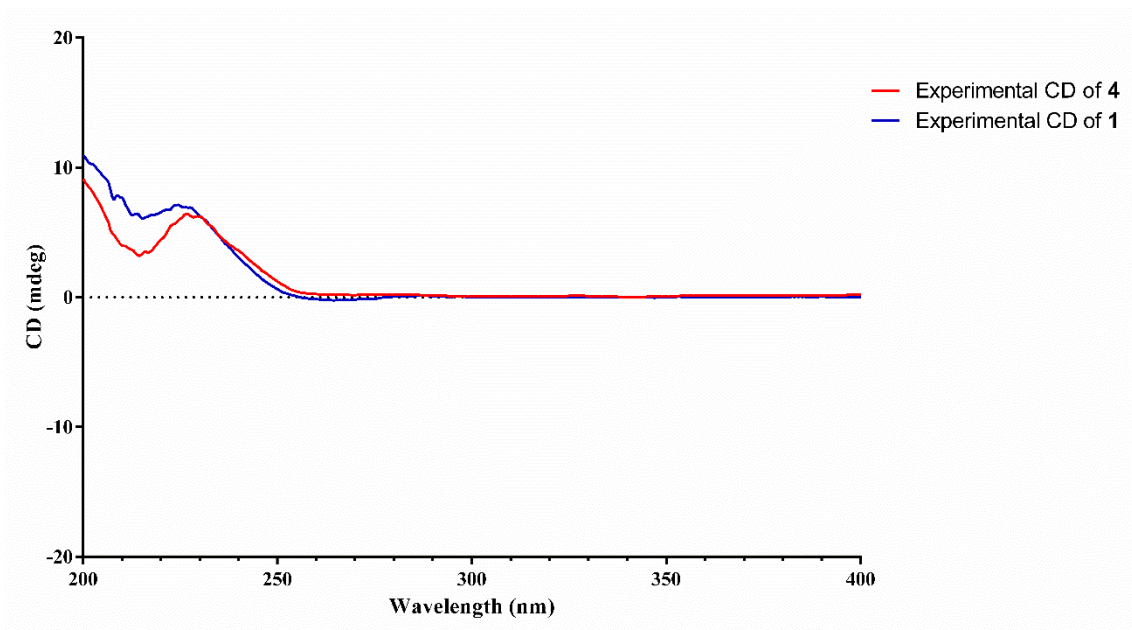
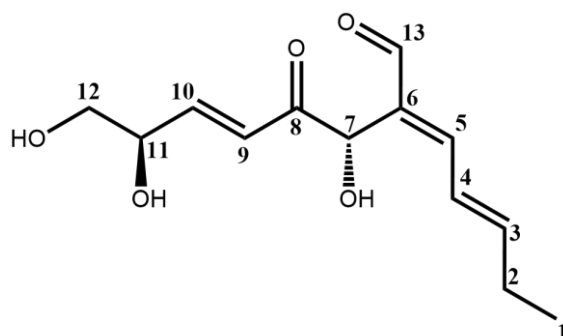


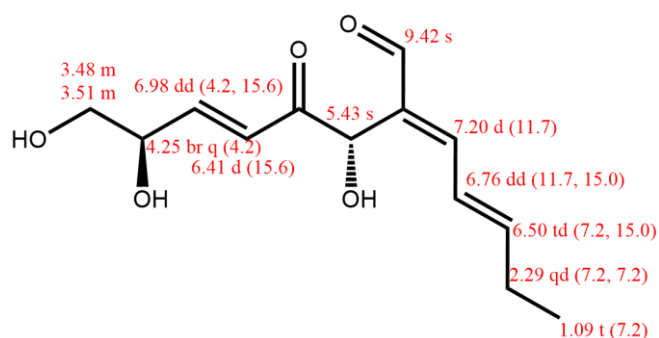
Figure 23. 化合物 1 和 4 之 CD 光譜



### 3.3.2 Mollipilin G (2) 之結構解析

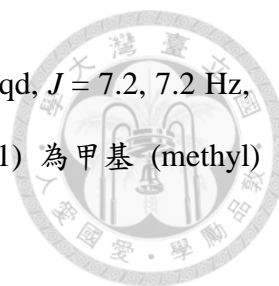


化合物 **2** 為黃色油狀，比旋光度 $[\alpha]_D^{27} = +22.2$  ( $c$  0.1, MeOH)，紫外光譜 (MeOH):  $\lambda_{\max}(\log \epsilon) = 230$  (3.74), 280 (3.58) (Figure 24)，高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其 $[M + H]^+$ 離子峰  $m/z$  255.1227 (calcd  $C_{13}H_{19}O_5$ , 255.1232) 和 $[M - H]^-$ 離子峰  $m/z$  253.1087 (calcd for  $C_{13}H_{17}O_5$ , 253.1081) 推測分子式為  $C_{13}H_{18}O_5$  (Figure 25)，紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 ( $3365\text{ cm}^{-1}$ )、 $\alpha,\beta$ -不飽和醛基 ( $1704\text{ cm}^{-1}$ ) 和  $\alpha,\beta$ -不飽和酮基 ( $1672\text{ cm}^{-1}$ ) 的存在 (Figure 26)。

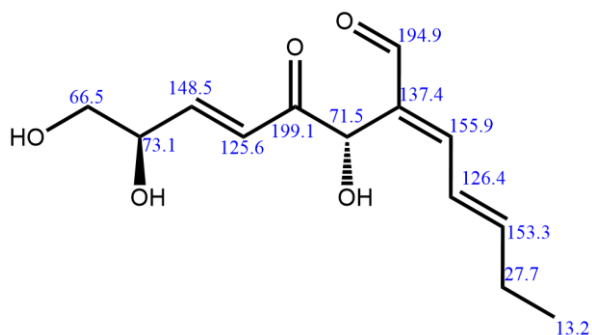


$^1\text{H-NMR}$  data of **2**

根據化合物 **2** 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 600 MHz) (Figure 27) 配合 HSQC 圖譜 (Figure 29) 的解析，推測在  $\delta_H$  6.50 (1H, dt,  $J = 7.2, 15.0$  Hz, H-3)、6.76 (1H, dd,  $J = 11.7, 15.0$  Hz, H-4)、7.20 (1H, d,  $J = 11.7$  Hz, H-5)、6.41 (1H, d,  $J = 15.6$  Hz, H-9)、6.98 (1H, dd,  $J = 4.2, 15.6$  Hz, H-10) 為五個有耦合雙鍵質子 (olefinic protons) 訊號； $\delta_H$  5.43 (1H, s, H-7) 為接羰基次甲基 (carbinoyl methine) 質子訊號； $\delta_H$  4.25 (1H, br q,  $J = 4.2$  Hz, H-11) 為接氧次甲基 (oxymethines) 質子訊號； $\delta_H$  9.42 (1H, s, H-13) 為醛基 (aldehydic methine) 質子訊號； $\delta_H$  3.51 (1H, m, H<sub>a</sub>-12) 和 3.48 (1H, m, H<sub>b</sub>-

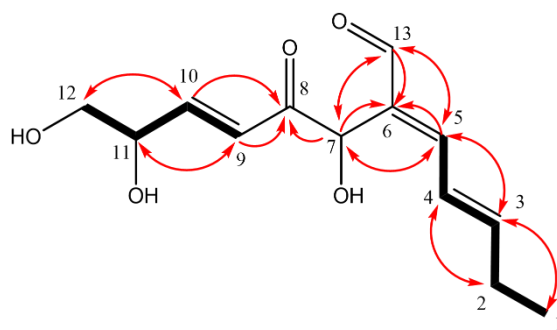


12) 為一組接氧亞甲基 (oxymethylene) 質子訊號； $\delta_H$  2.29 (2H, qd,  $J = 7.2, 7.2$  Hz, H-2) 為次甲基 (methylene) 質子訊號和  $\delta_H$  1.09 (3H, t,  $J = 7.2$ , H-1) 為甲基 (methyl) 質子訊號 (Table 5)。



$^{13}\text{C}$ -NMR data of **2**

碳譜 (methanol- $d_4$ , 150 MHz) (Figure 28) 顯示化合物 **2** 有 13 個碳，配合 HSQC 圖譜 (Figure 29) 的解析，推測有六個烯基次甲基 (olefinic methines) 訊號位於  $\delta_C$  125.6 (C-9)、126.4 (C-4)、148.5 (C-10)、153.3 (C-3)、155.9 (C-5) 和 194.9 (C-13)；兩個亞甲基 (methylenes) 訊號位於  $\delta_C$  27.7 (C-2) 和 66.5 (C-12)；兩個四級碳 (quaternary carbons) 訊號位於  $\delta_C$  137.4 (C-6) 和 199.1 (C-8)；兩個次甲基 (methines) 訊號位於  $\delta_C$  71.5 (C-7) 與 73.1 (C-11) 和一個甲基 (methyl) 訊號位 13.2 (C-1)，其中  $\delta_C$  66.5 (C-12), 71.5 (C-7) 和 73.1 (C-11) 為接氧碳， $\delta_C$  194.9 (C-13) 為醛基 (aldehyde) 碳， $\delta_C$  199.1 (C-8) 則為羰基 (carbonyl group) 碳 (Table 5)。

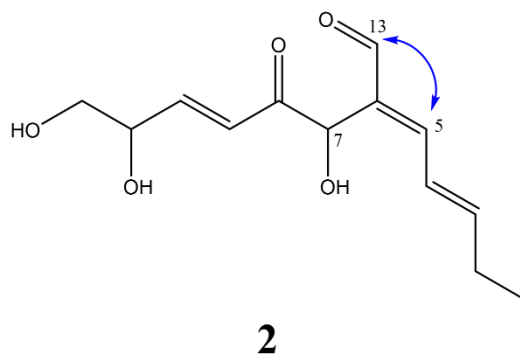


**2**

COSY  
Key HMBC

根據上述氫、碳譜的初步判讀，配合 COSY 圖譜 (Figure 30) 的相關訊號包括：

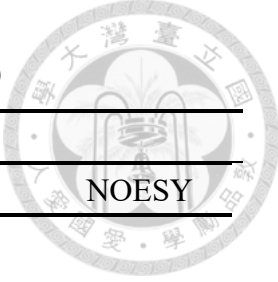
H-1/H-2、H-2/H-3、H-3/H-4、H-4/H-5、H-9/H-10、H-10/H-11 和 H-11/H-12 (Table 5) 以及 HMBC 圖譜 (Figure 31) 的關鍵訊號包括：H-5, -7 和 -13/C-6、H-5 和 -13/C-7、H-5 和 -7/C-13、H-7 和 -9 和 -10/C-8 (Table 5) 確認 **2** 的平面結構。



Key NOESY

分別根據 H-3/H-4 ( $J = 15.0$  Hz) 的耦合常數、H-5/H-13 關鍵的 NOESY 訊號 (Figure 32) 和 H-9/H-10 ( $J = 15.6$  Hz) 的耦合常數，推導出  $\Delta^3$ 、 $\Delta^5$  和  $\Delta^9$  的構型均為 *E* forms。由於生物合成的緣故，推測 **2** 中 C-7 和 -11 的相對構型應與 mollipilin A (**5**) 相同。

在絕對立體的部分，除了與比較 **2** ( $[\alpha]_D^{27} +22.2$ ) 和 **5** ( $[\alpha]_D^{25} +39.3$ ) 數值趨勢相同外，也藉由比對兩者實驗 CD 圖譜 (Figure 33) 發現趨勢一致，確定 **2** 的 C-7 和 C-11 絕對立體為 *7S* 及 *11R*。綜合以上的結構解析，並經由 Reaxys 和 Scifindern 資料庫文獻比對，確定 **2** 為過去未曾報導之新化合物，命名 mollipilin H。

Table 5. 化合物 2 之  $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$  和 2D NMR 數據 ( $\delta$  in ppm,  $J$  in Hz)


2					
No.	$^1\text{H}$ m ( $J$ , Hz) <sup>ac</sup>	$^{13}\text{C}$ <sup>b</sup>	COSY	HMBC	NOESY
1	1.09 t (7.2)	13.2	H-2	C-3	
2	2.29 qd (7.2, 7.2)	27.7	H-1, 3	C-4	
3	6.50 td (7.2, 15.0)	153.3	H-2, 4	C-1, 5	
4	6.76 dd (11.7, 15.0)	126.4	H-3, 5	C-2	
5	7.20 d (11.7)	155.9	H-4	C-3, 6, 7, 13	H-13
6		137.4			
7	5.43 s	71.5		C-5, 6, 8, 13	
8		199.1			
9	6.41 d (15.6)	125.6	H-10	C-8, 11	
10	6.98 dd (4.2, 15.6)	148.5	H-9, 11	C-8, 12	
11	4.25 br q (4.2)	73.1	H-10, 12	C-9	
12 <sub>a</sub>	3.51 m		H-11	C-10	
12 <sub>b</sub>	3.48 m	66.5	H-11	C-10	
13	9.42 s	194.9		C-5	H-5

<sup>a</sup> Measured in methanol- $d_4$  (600 MHz), <sup>b</sup> Measured in methanol- $d_4$  (150 MHz),

<sup>c</sup> Multiplicities were obtained from HSQC, <sup>d</sup> Signal without multiplicity was overlapped.

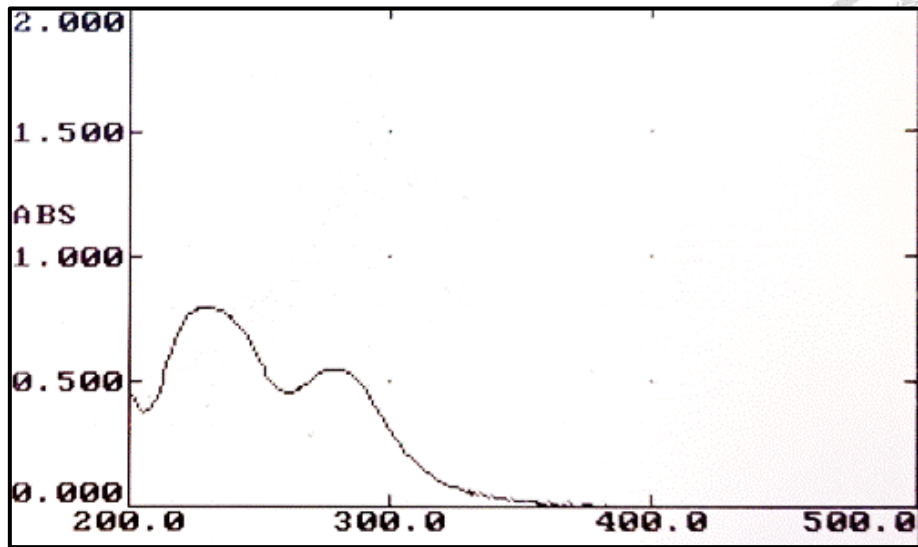


Figure 24. 化合物 2 之紫外光譜

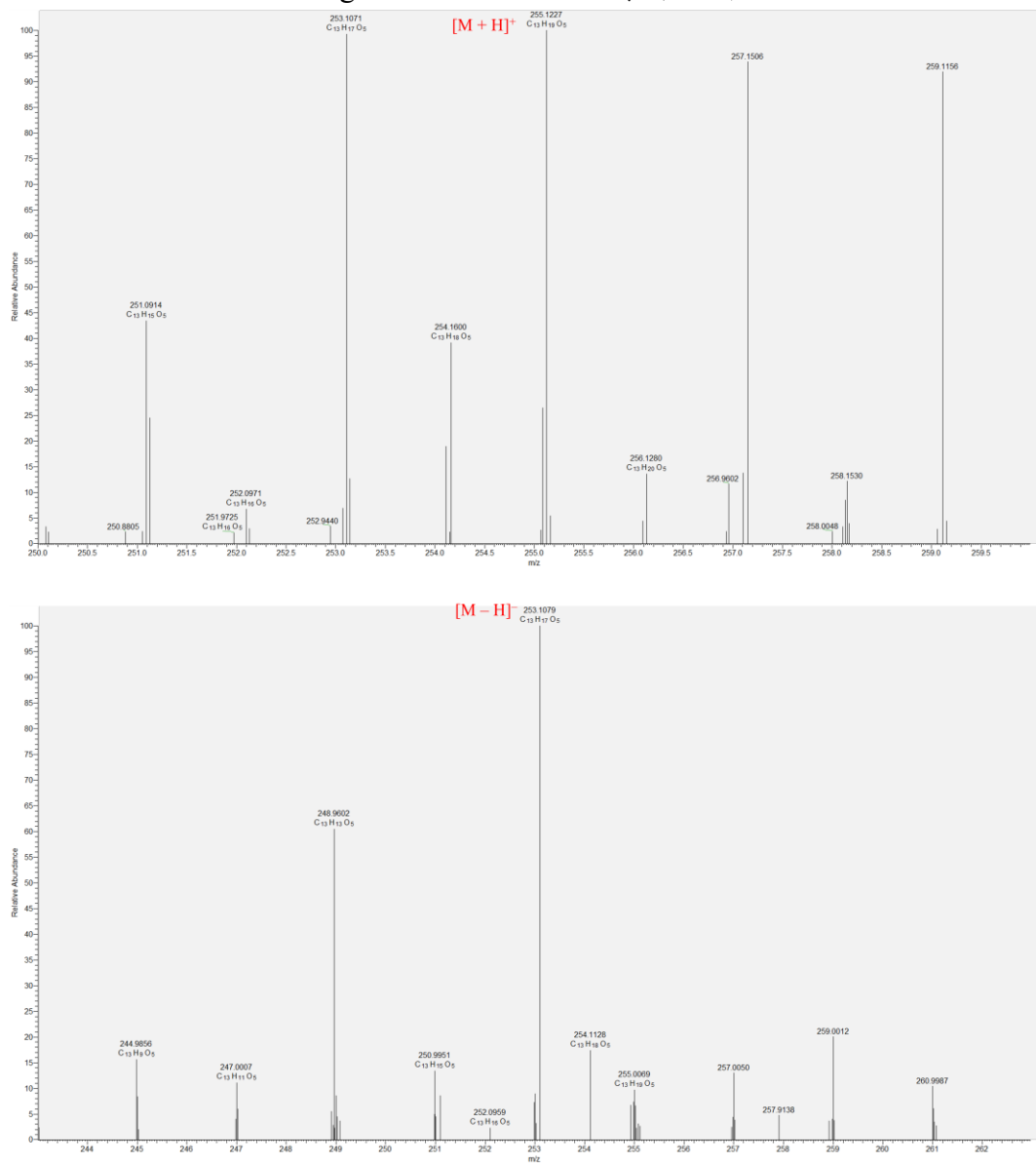


Figure 25. 化合物 2 之高解析電灑游離質譜

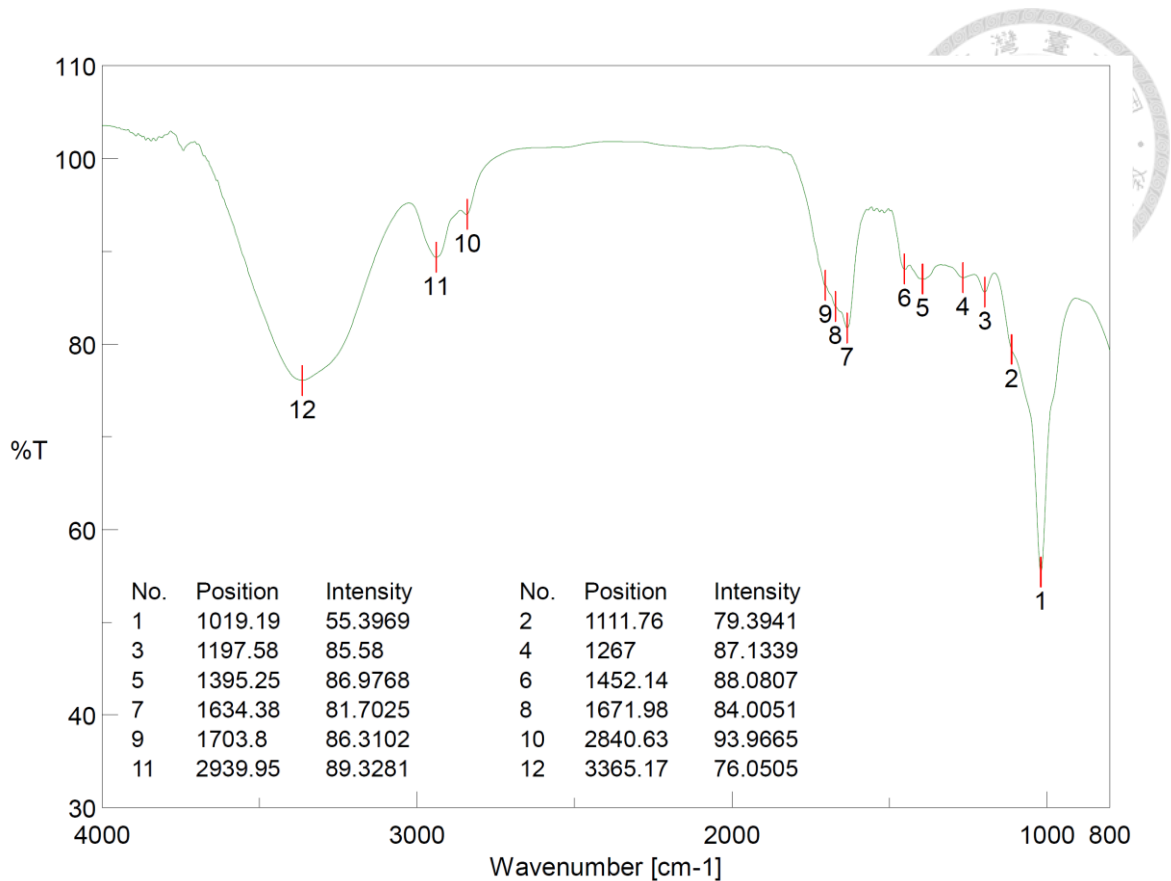


Figure 26. 化合物 2 之紅外光譜

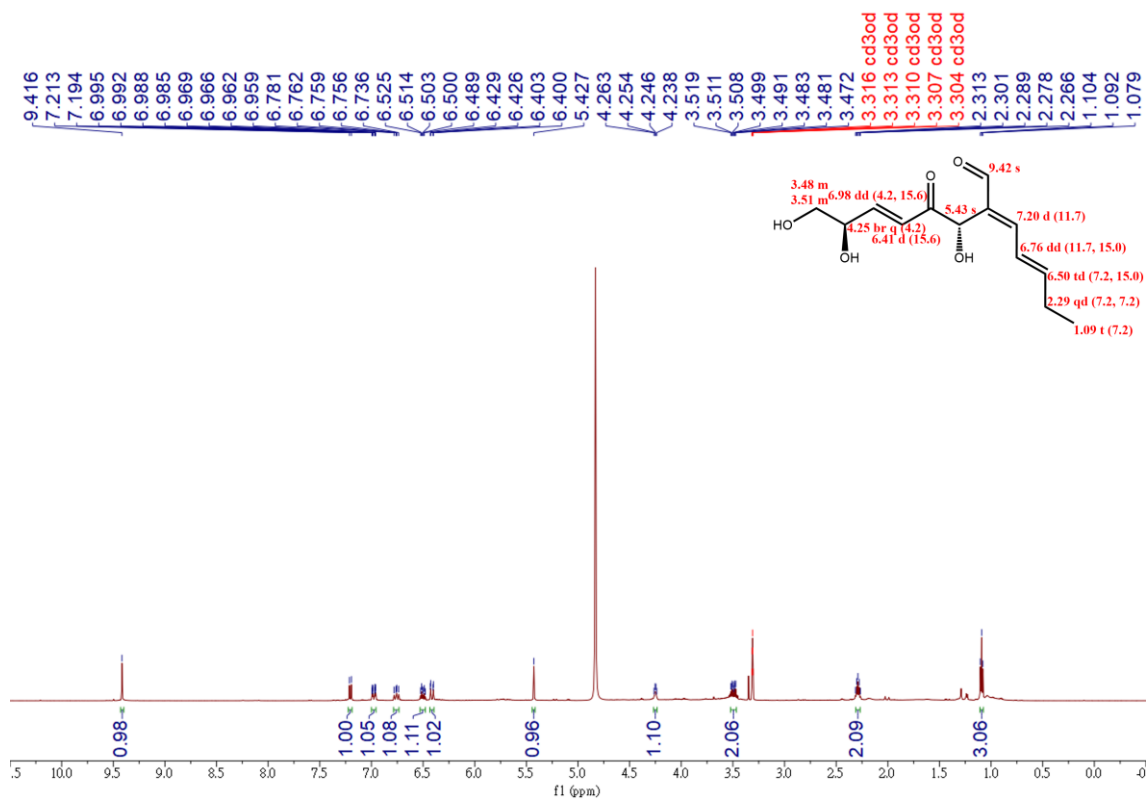


Figure 27. 化合物 2 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 600 MHz)

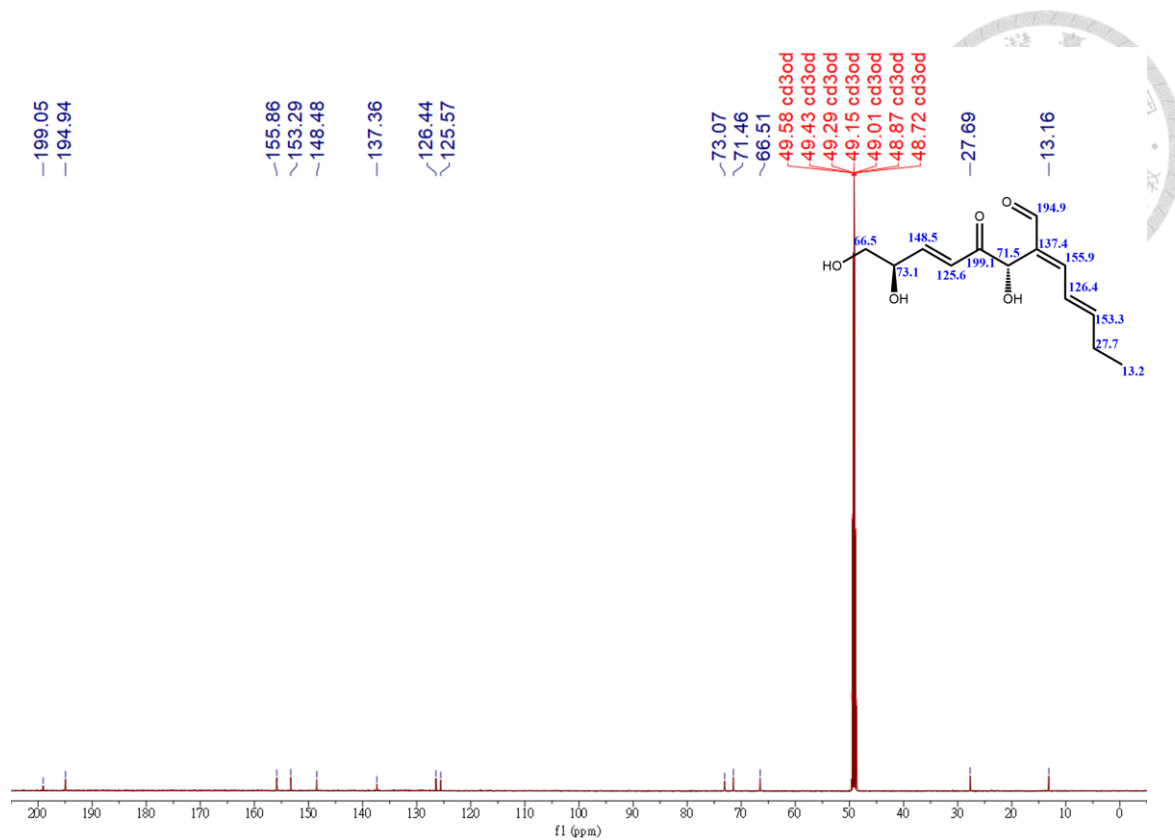


Figure 28. 化合物 2 之碳譜 (methanol- $d_4$ , 150 MHz)

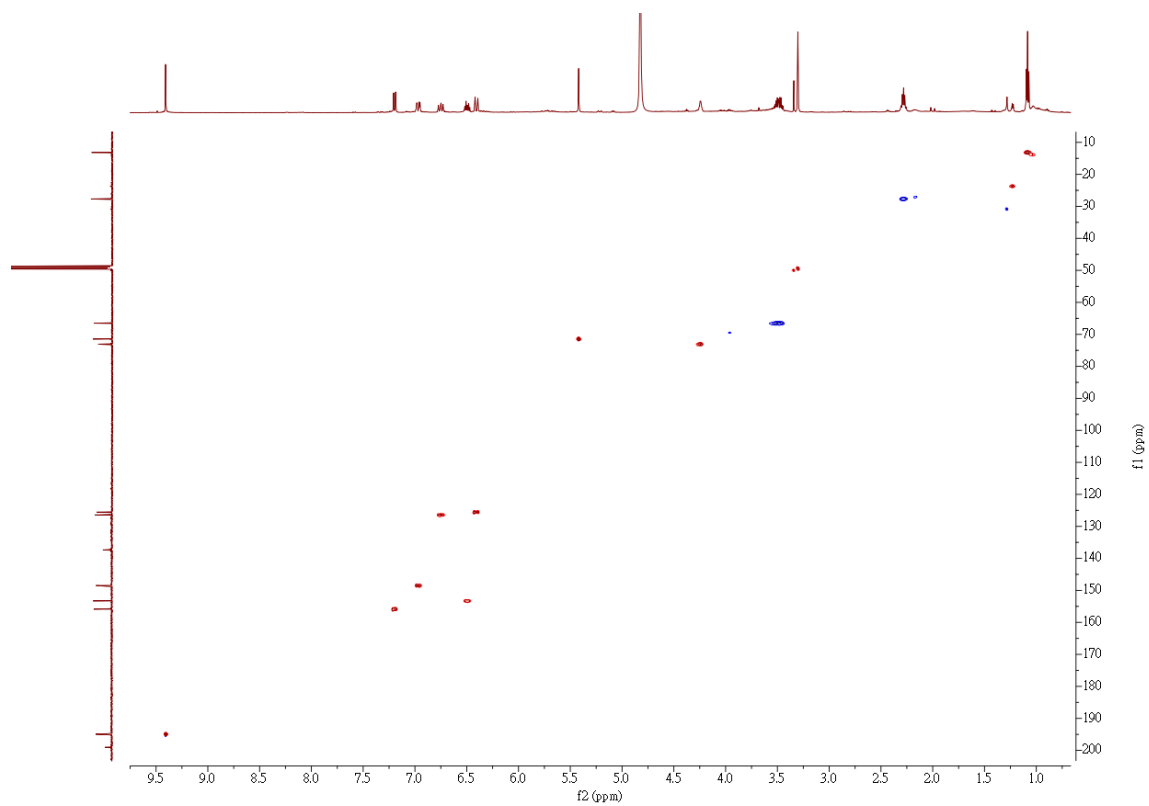


Figure 29. 化合物 2 之 HSQC 圖譜

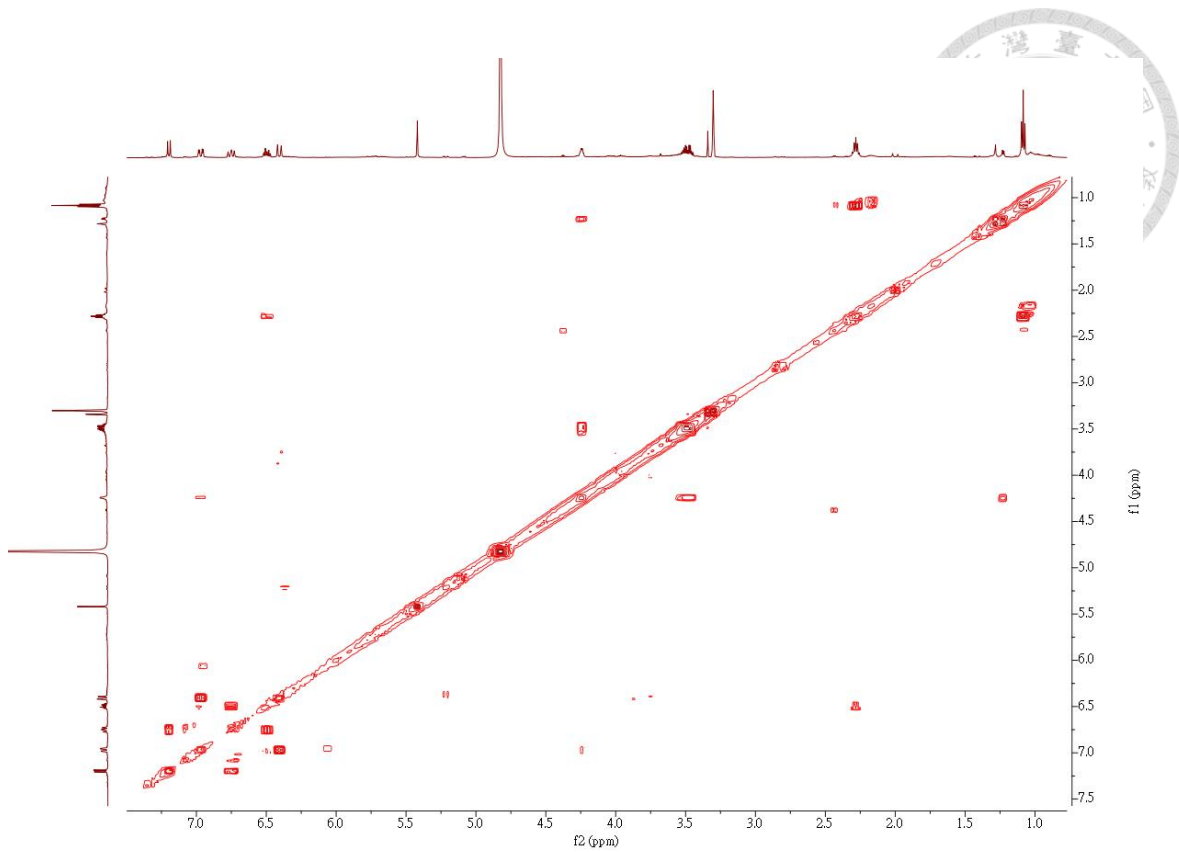


Figure 30. 化合物 2 之 COSY 圖譜

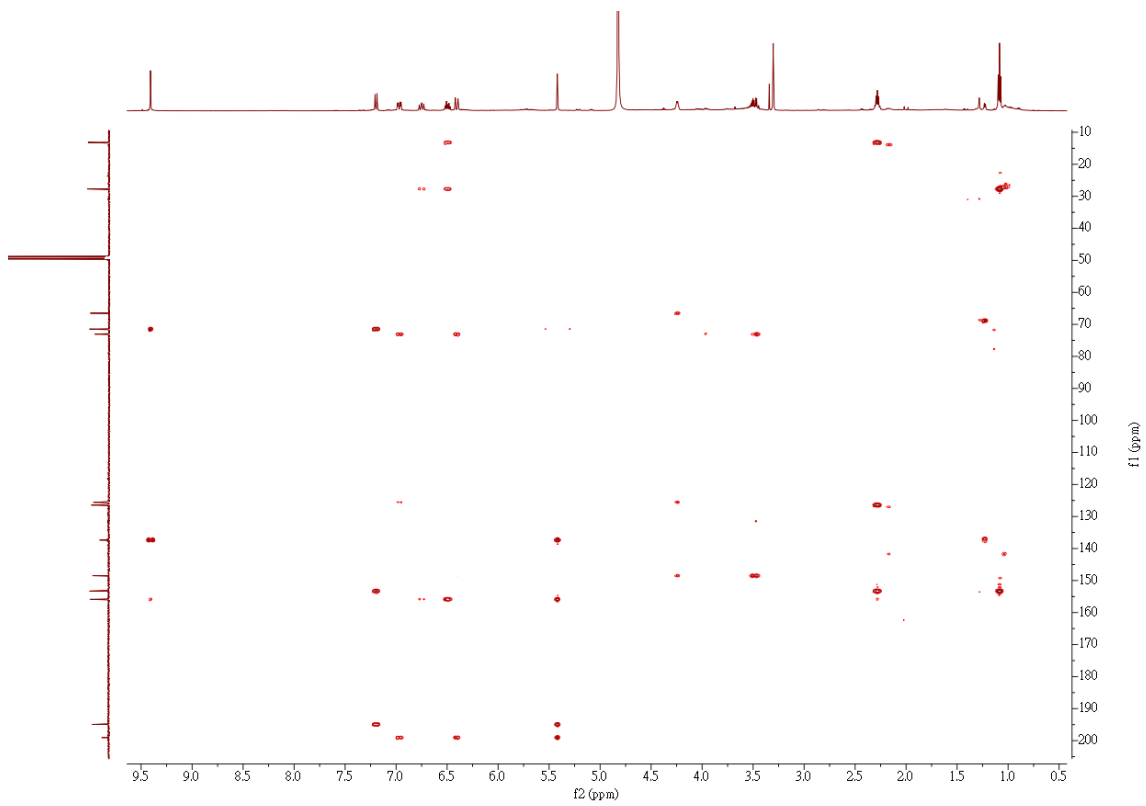


Figure 31. 化合物 2 之 HMBC 圖譜

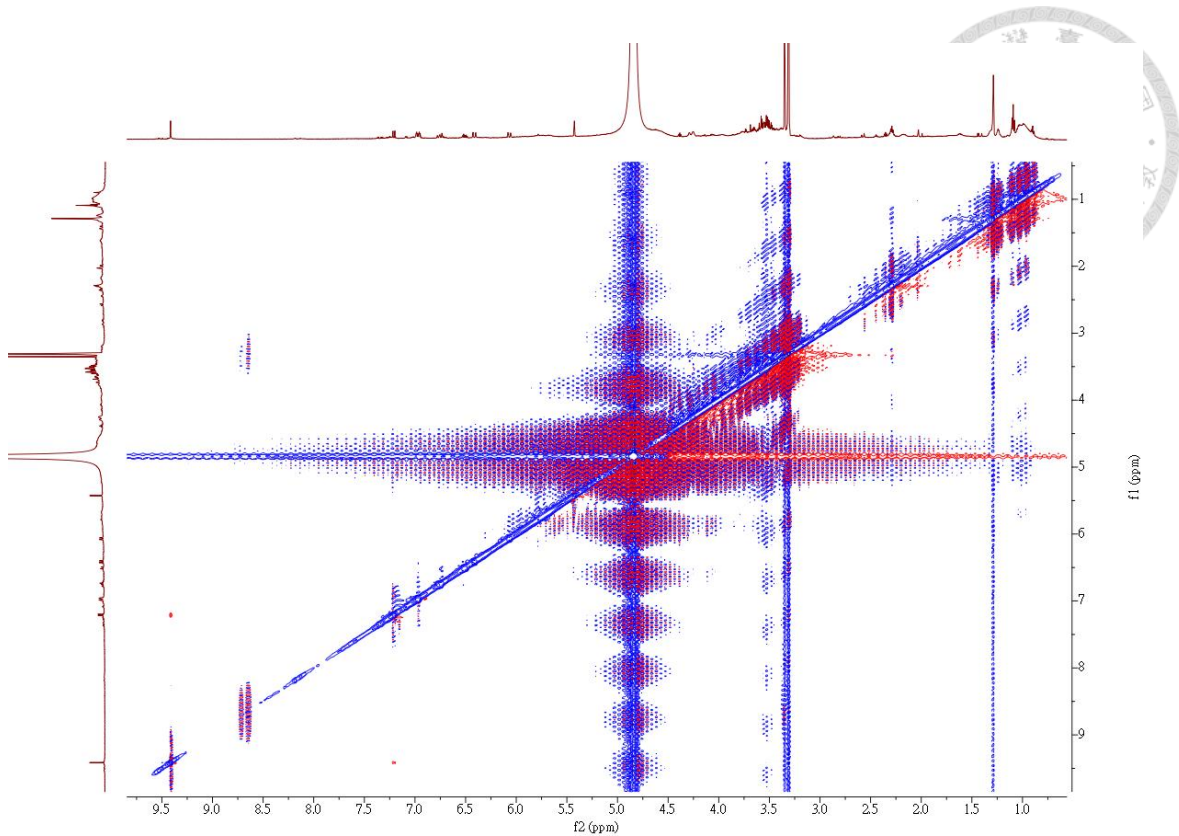


Figure 32. 化合物 2 之 NOESY 圖譜

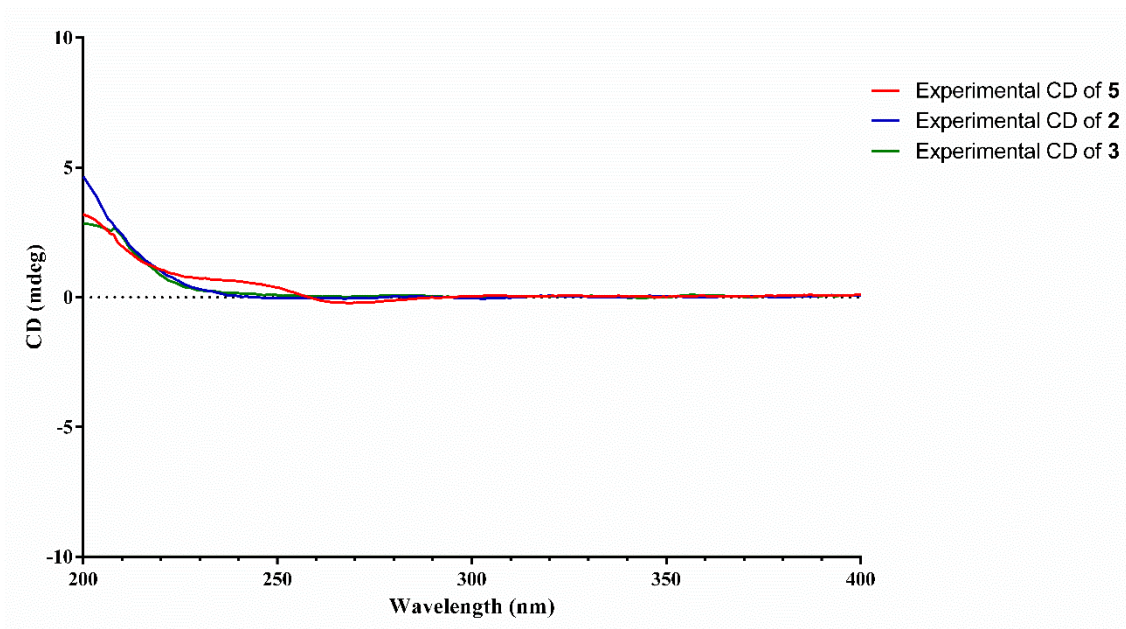
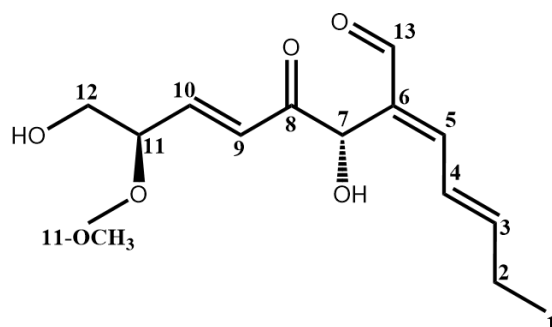


Figure 33. 化合物 2、3 和 5 之 CD 光譜



### 3.3.3 Mollipilin H (3) 之結構解析



化合物 **3** 為黃色油狀，比旋光度 $[\alpha]_D^{27} = +36.4$  ( $c$  0.1, MeOH)，紫外光譜 (MeOH):  $\lambda_{\max} (\log \epsilon) = 222$  (3.65), 275 (3.39) (Figure 34)，高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其 $[M + H]^+$ 離子峰  $m/z$  269.1383 (calcd for C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>O<sub>5</sub>, 269.1389) 和 $[M - H]^-$ 離子峰  $m/z$  267.1242 (calcd for C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>O<sub>5</sub>, 267.1238) 推測分子式為 C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub> (Figure 35)，並根據紅外光譜 (IR) (Figure 36) 和 **3** 之氫譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 600 MHz) (Figure 37) 配合 HSQC 圖譜 (Figure 39) 的解析，並對比碳譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 150 MHz) (Figure 38) 與 COSY (Figure 40) 和 HMBC (Figure 41)，研判 **3** 是 **2** 的類似物，是 **2** 之 C-11 ( $\delta_C$  73.1) 接有甲氧基 (methoxy group) 導致其化學位移往低場 (downfield) 移動到 **3** 的  $\delta_C$  83.1，且 **3** 的實驗 CD 光譜和比旋光值 $[\alpha]_D^{27} = +36.4$  ( $c$  0.1, MeOH) 趨勢也與 **2** 一致，因此確認 **3** 的絕對構型與 **2** 相同，命名為 mollipilin H。

Table 6. 化合物 **2** 和 **3** 之  $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  數據比較 ( $\delta$  in ppm,  $J$  in Hz)

No.	<b>2</b>		<b>3</b>	
	$^1\text{H}$ m ( $J$ , Hz) <sup>ac</sup>	$^{13}\text{C}$ <sup>b</sup>	$^1\text{H}$ m ( $J$ , Hz) <sup>ac</sup>	$^{13}\text{C}$ <sup>b</sup>
1	1.09 t (7.2)	13.2	1.10 t (7.2)	13.2
2	2.29 qd (7.2, 7.2)	27.7	2.30 qd (7.2, 7.2)	27.7
3	6.50 dt (7.2, 15.0)	153.3	6.51 td (7.2, 15.0)	153.4
4	6.76 dd (11.7, 15.0)	126.4	6.78 tdd (1.2, 10.8, 15.0)	126.4
5	7.20 d (11.7)	155.9	7.22 d (10.8)	155.9
6		137.4		137.5
7	5.43 s	71.5	5.44 s	71.5
8		199.1		198.9
9	6.41 d (15.6)	125.6	6.38 dd (1.2, 15.6)	127.5
10	6.98 dd (4.2, 15.6)	148.5	6.79 dd (5.7, 15.6)	145.6
11	4.25 br q (4.2)	73.1	3.85 dq (4.2, 5.7)	83.1
12 <sub>a</sub>	3.51 m	66.5	3.55 dd (4.2, 11.4)	64.8
12 <sub>b</sub>	3.48 m		3.49 dd (5.7, 11.4)	
13	9.42 s	194.9	9.42 s	194.9
11-OCH <sub>3</sub>			3.31 s	57.9

<sup>a</sup> Measured in methanol- $d_4$  (600 MHz), <sup>b</sup> Measured in methanol- $d_4$  (150 MHz),

<sup>c</sup> Multiplicities were obtained from HSQC

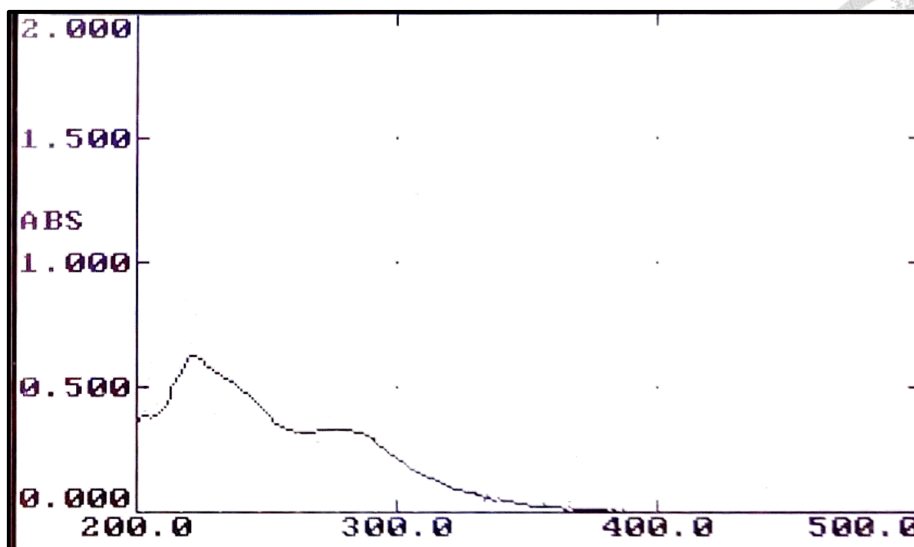
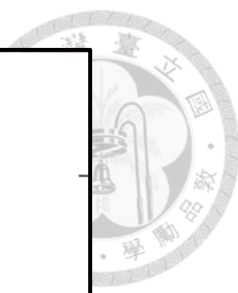


Figure 34. 化合物 3 之紫外光譜

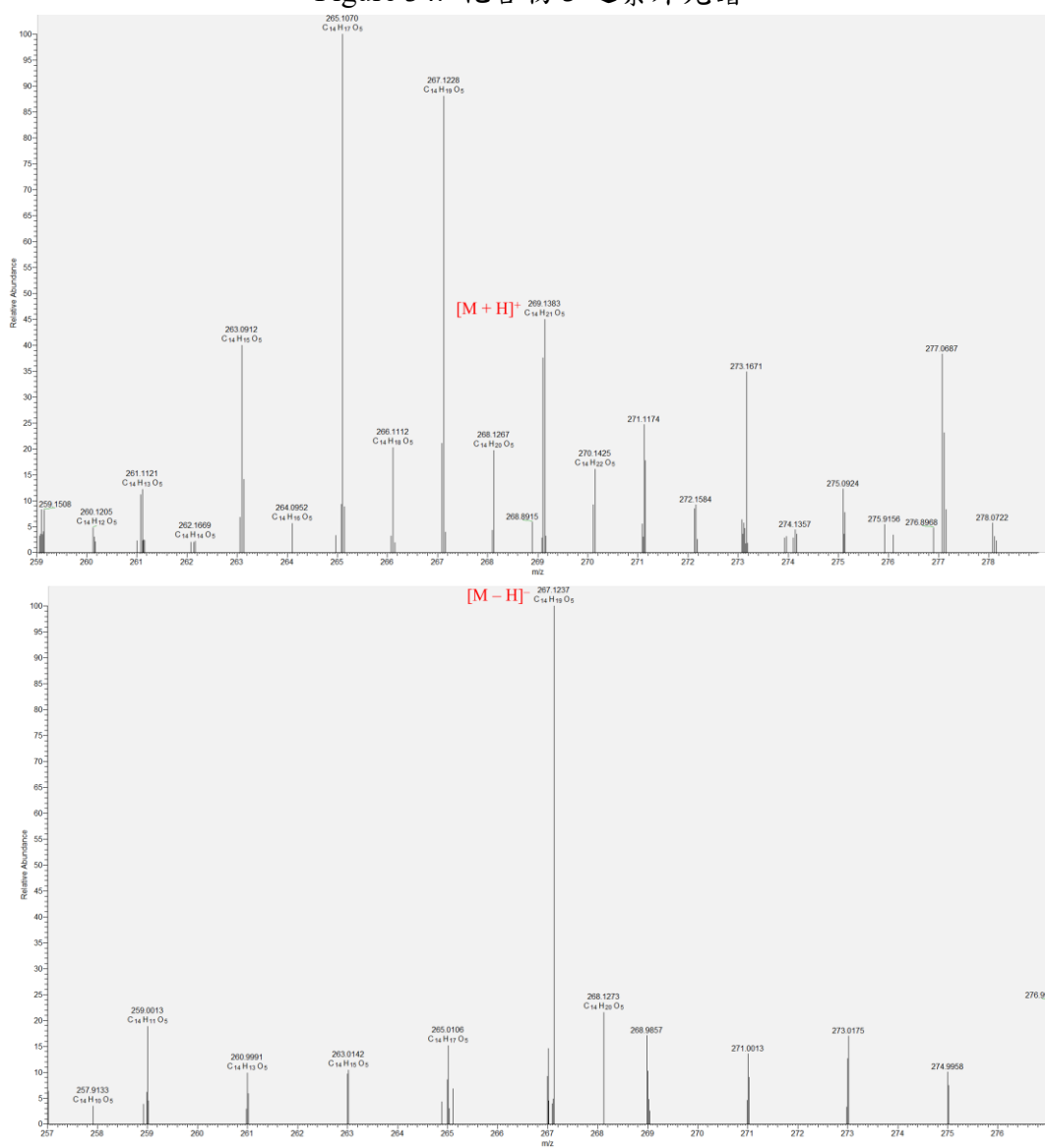


Figure 35. 化合物 3 之高解析電灑游離質譜

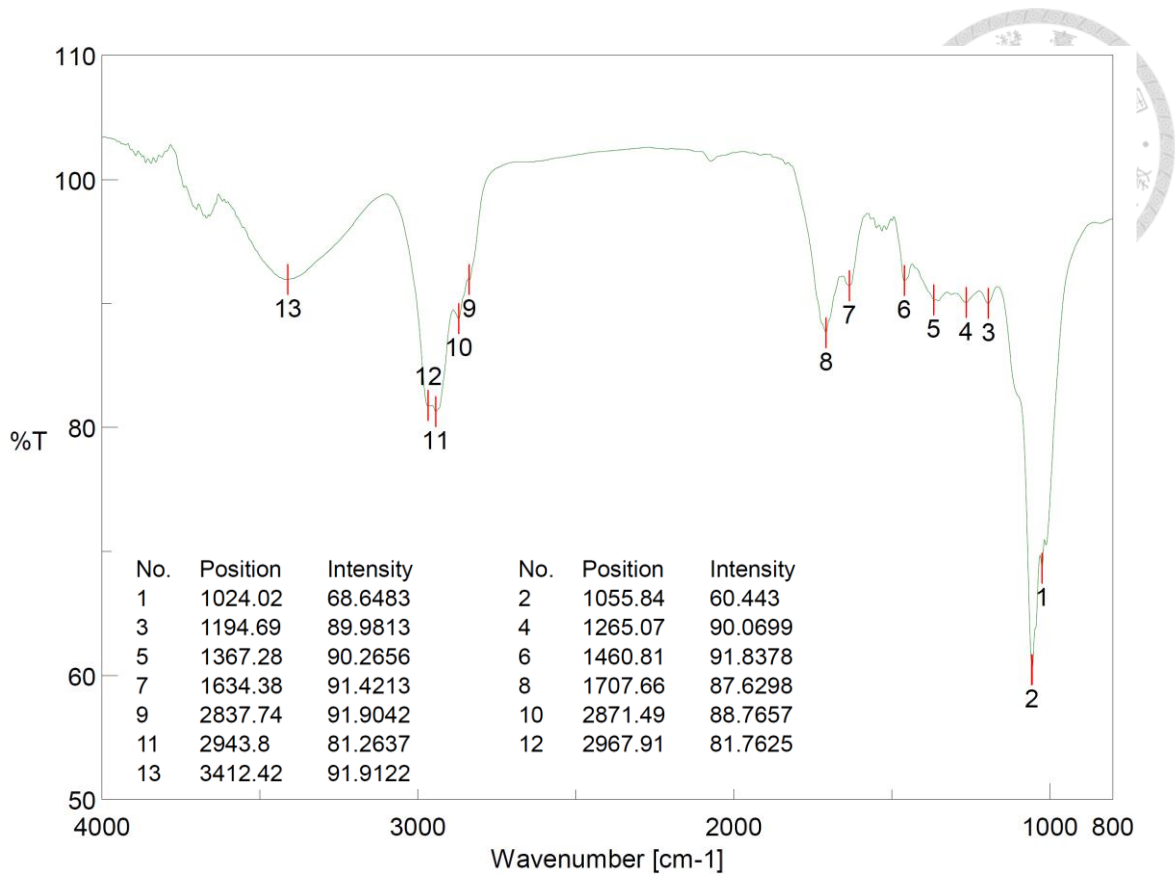


Figure 36. 化合物 3 之紅外光譜

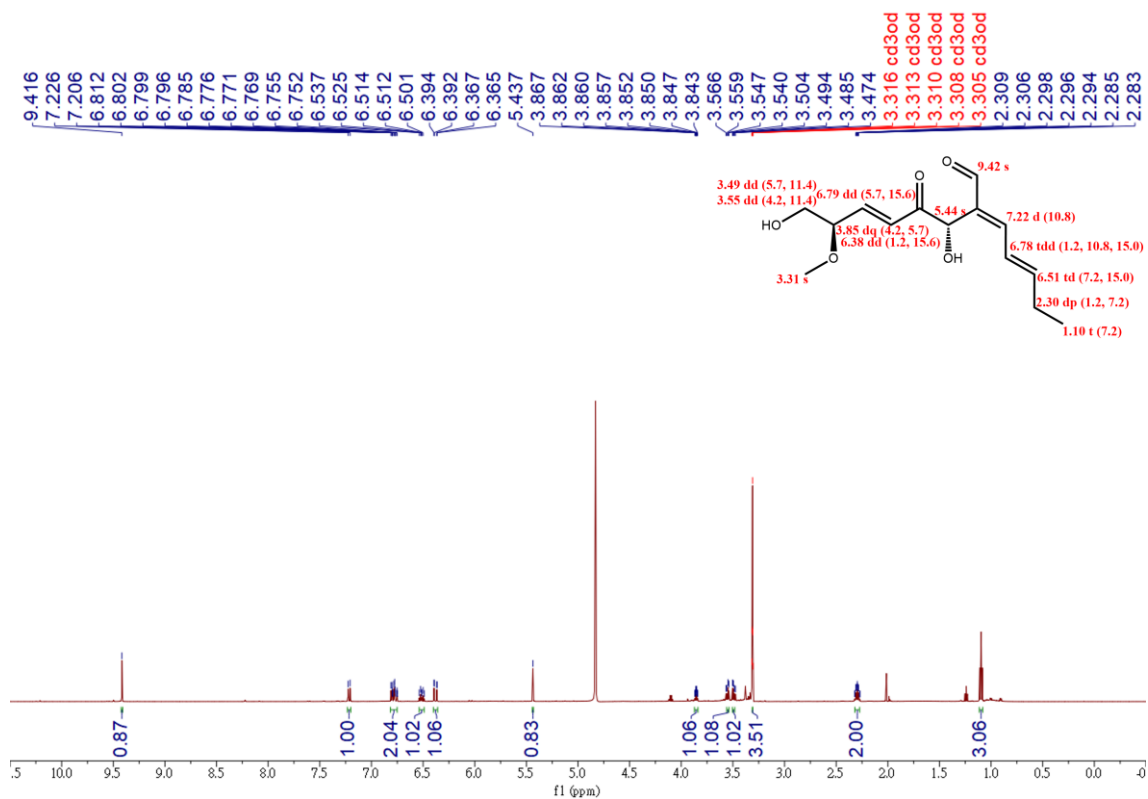


Figure 37. 化合物 3 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 600 MHz)

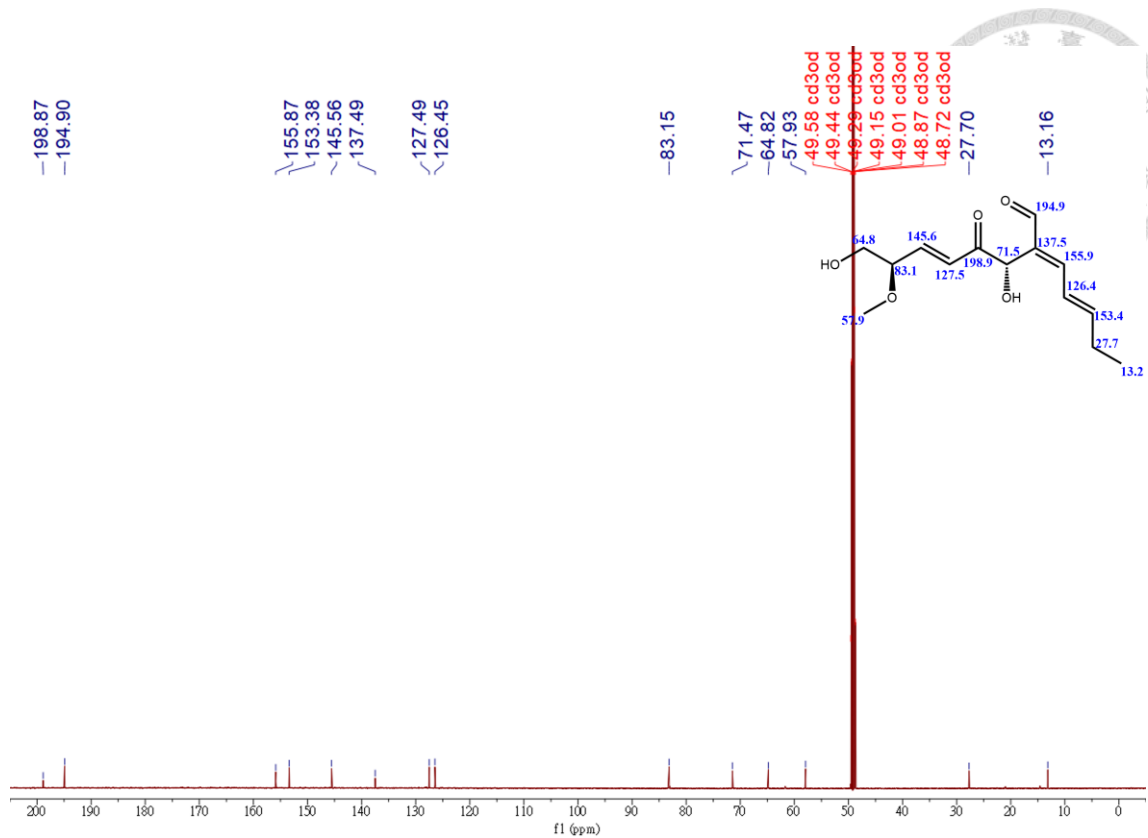


Figure 38. 化合物 3 之碳譜 (methanol- $d_4$ , 150 MHz)

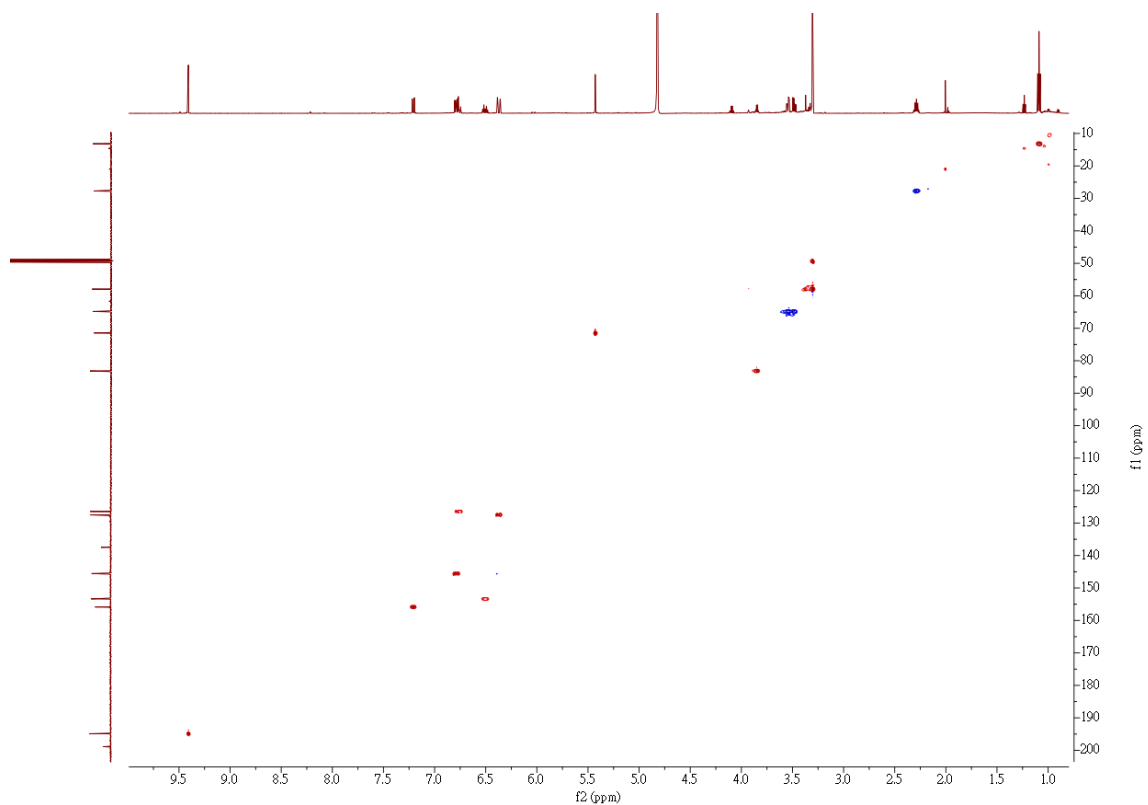


Figure 39. 化合物 3 之 HSQC 圖譜

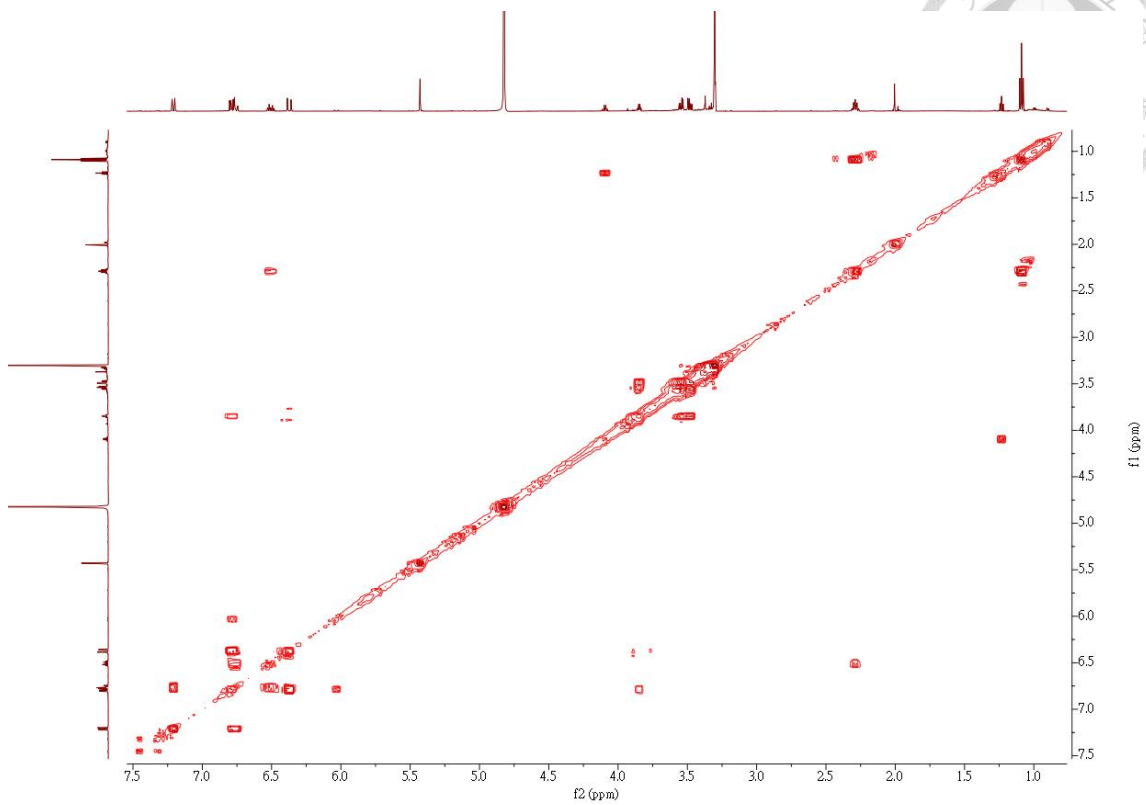
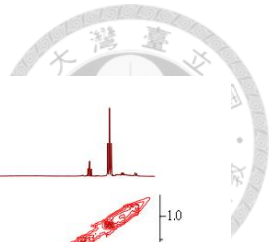


Figure 40. 化合物 3 之 COSY 圖譜

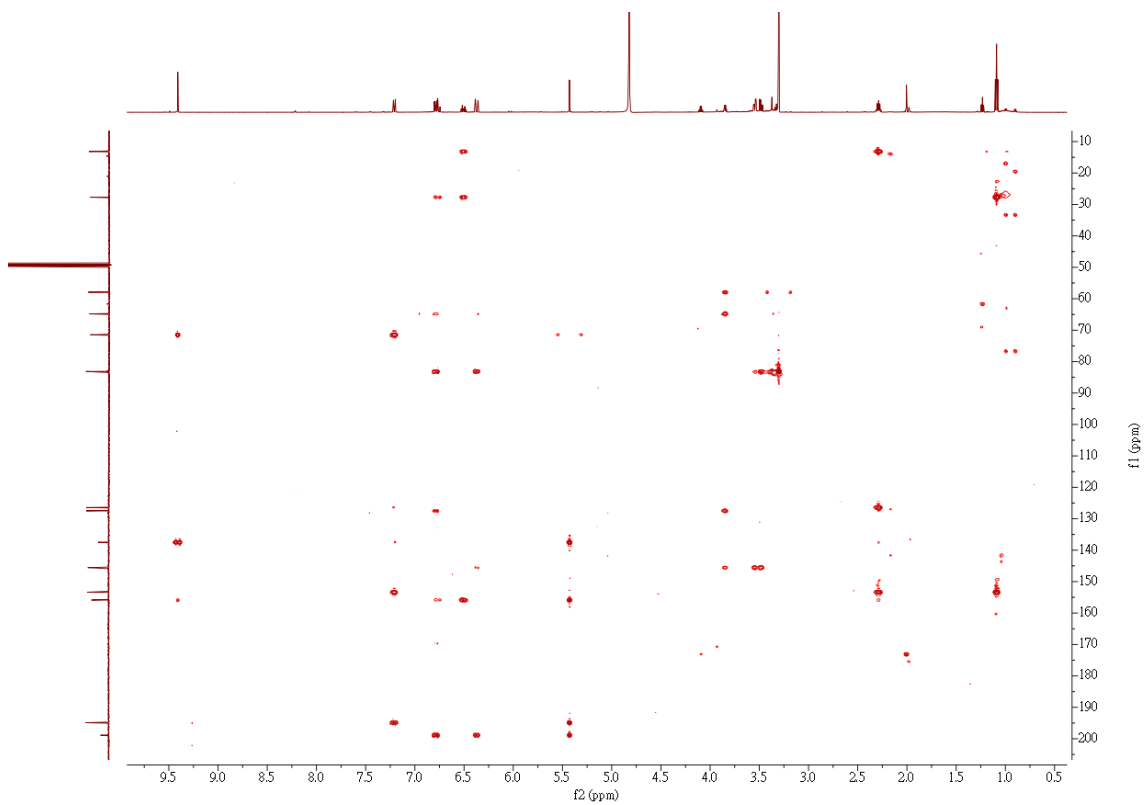


Figure 41. 化合物 3 之 HMBC 圖譜



### 3.3.4 Aureonitol (4) 之結構數據

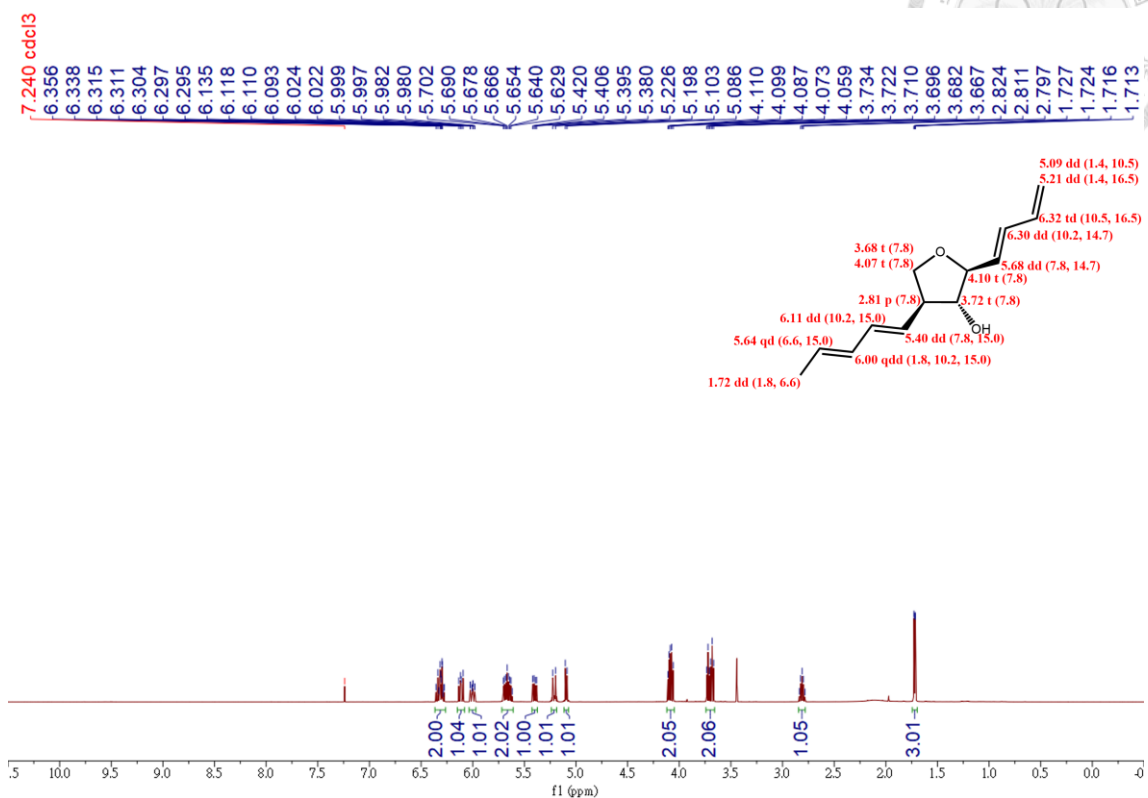


Figure 42. 化合物 4 之氫譜 (chloroform-*d*, 600 MHz)

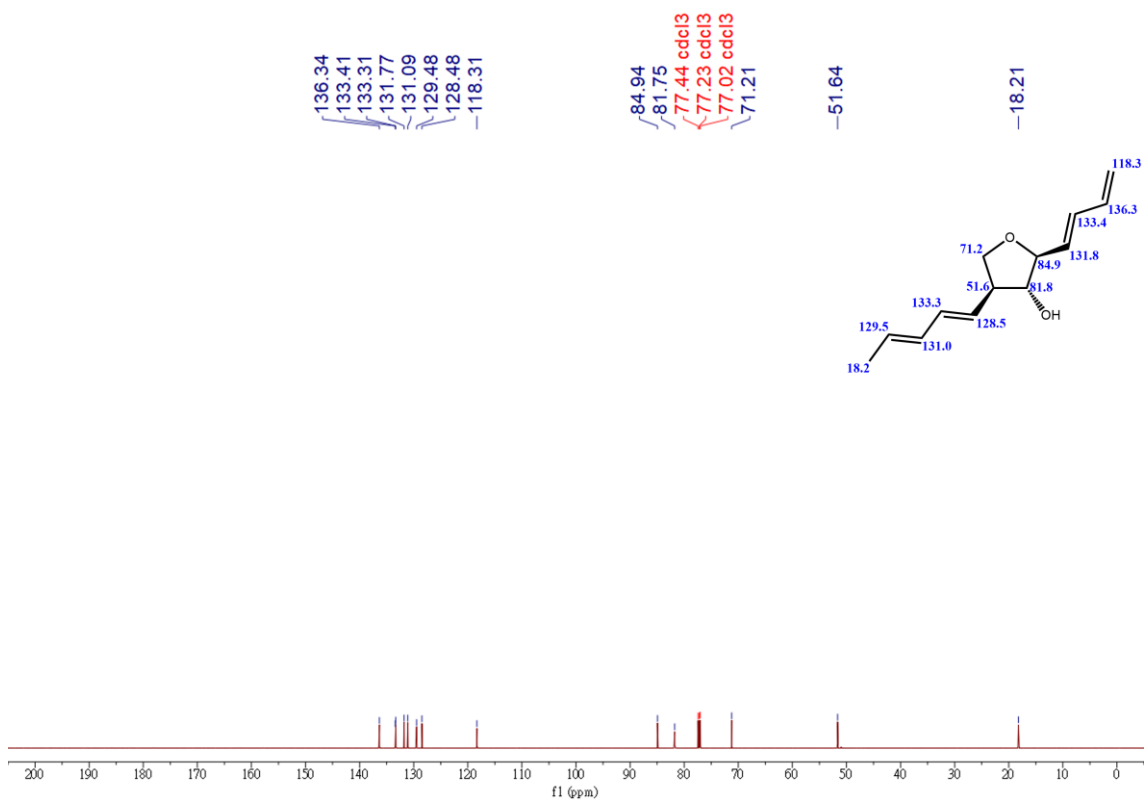


Figure 43. 化合物 4 之碳譜 (chloroform-*d*, 150 MHz)



### 3.3.5 Mollipilin A (5) 之結構數據

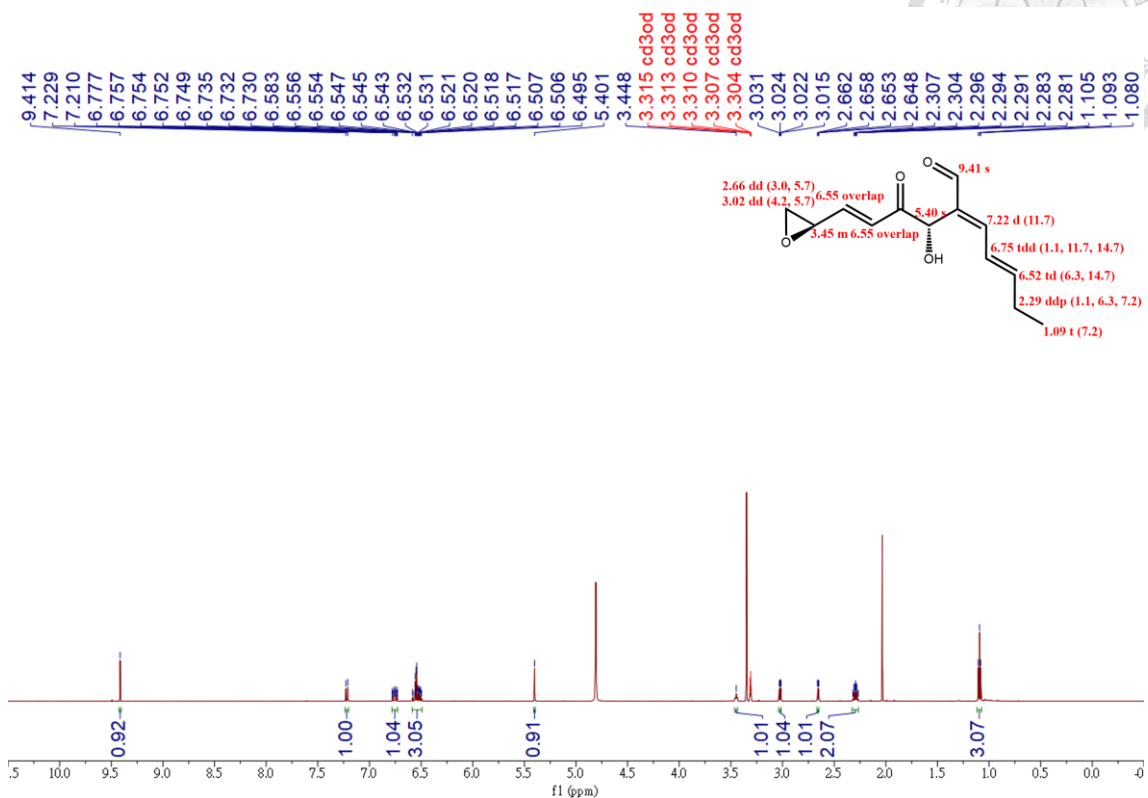


Figure 44. 化合物 5 之氫譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 600 MHz)

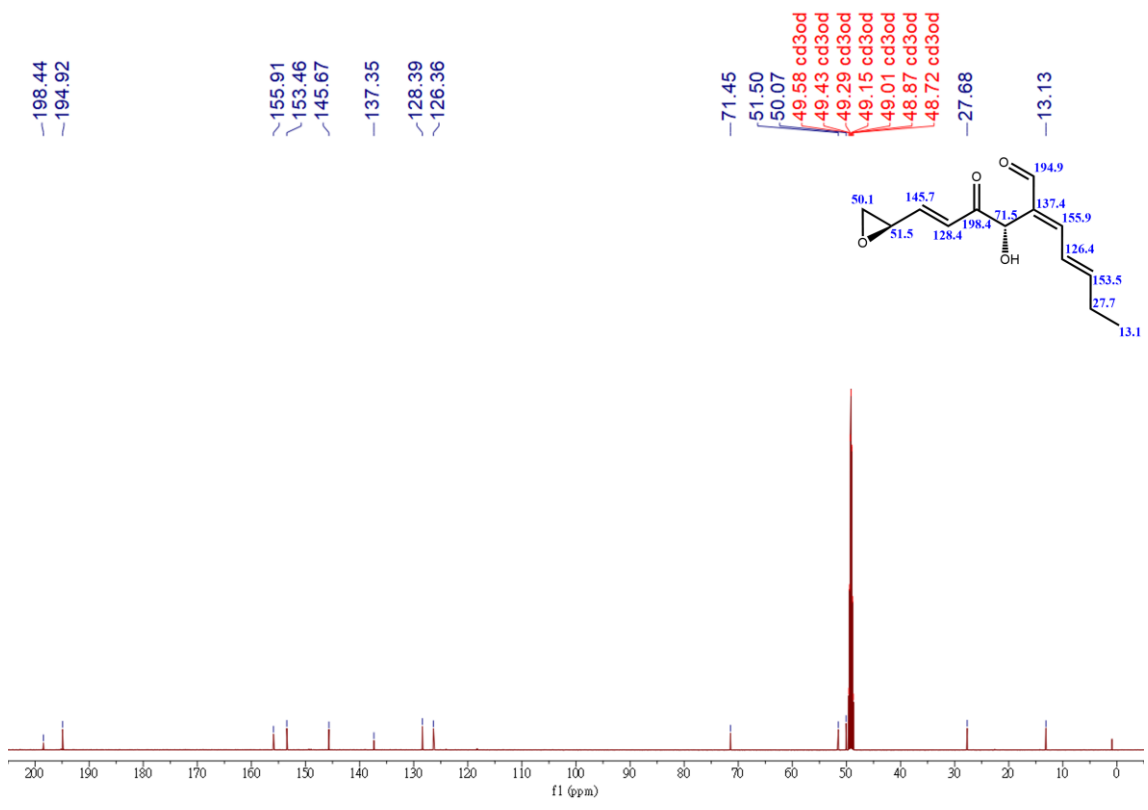


Figure 45. 化合物 5 之碳譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 150 MHz)



### 3.3.6 Mollipilin F (6) 之結構數據

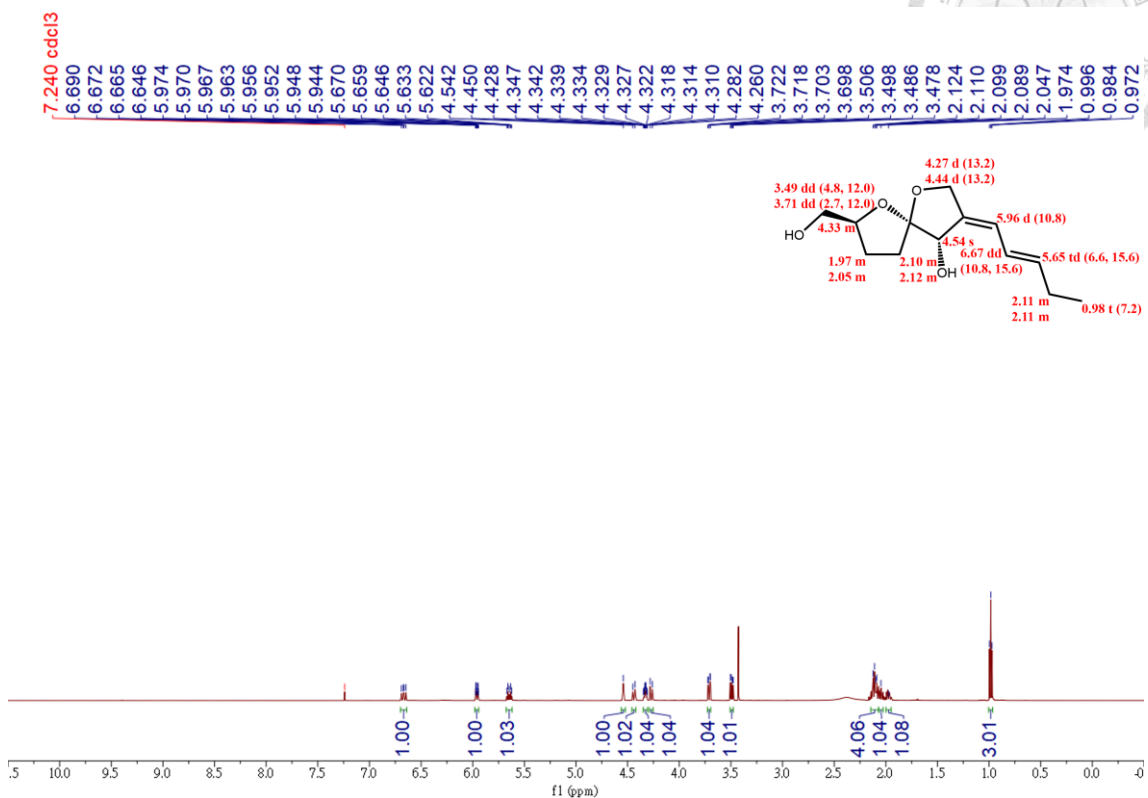


Figure 46. 化合物 6 之氫譜 (chloroform-*d*, 600 MHz)

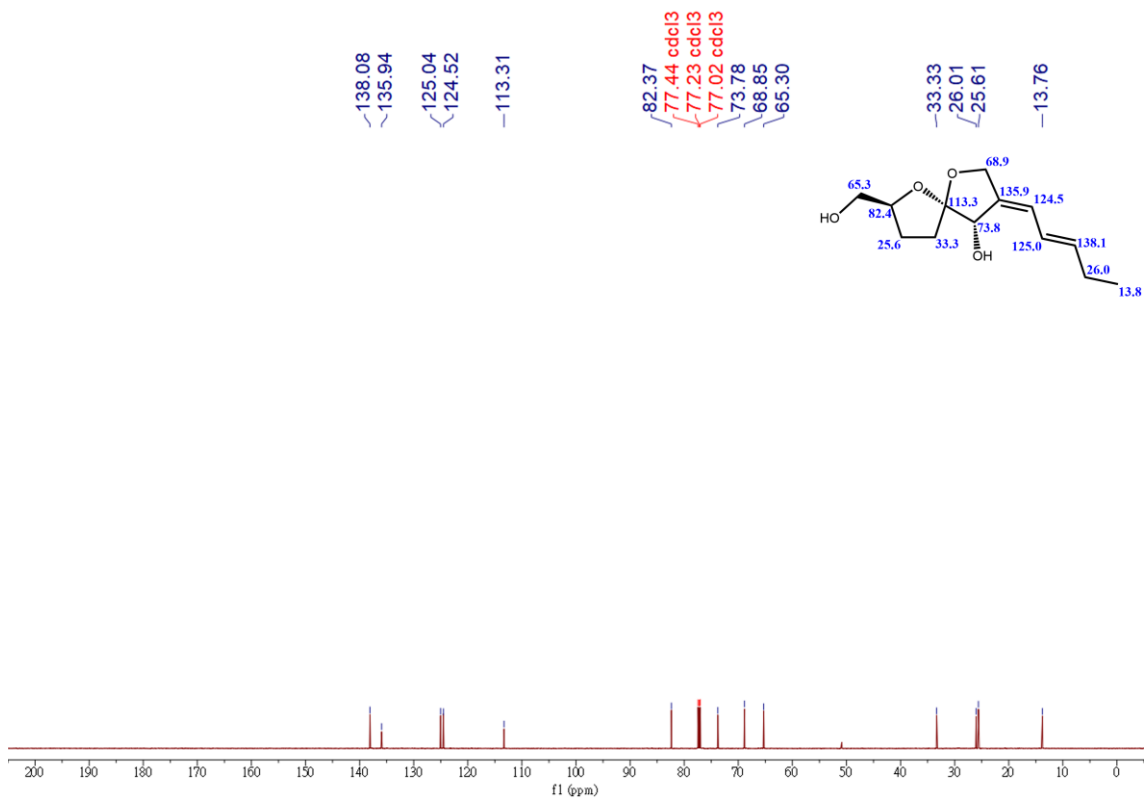


Figure 47. 化合物 6 之碳譜 (chloroform-*d*, 150 MHz)

3.3.7 Aureonitol A (7) 之結構數據

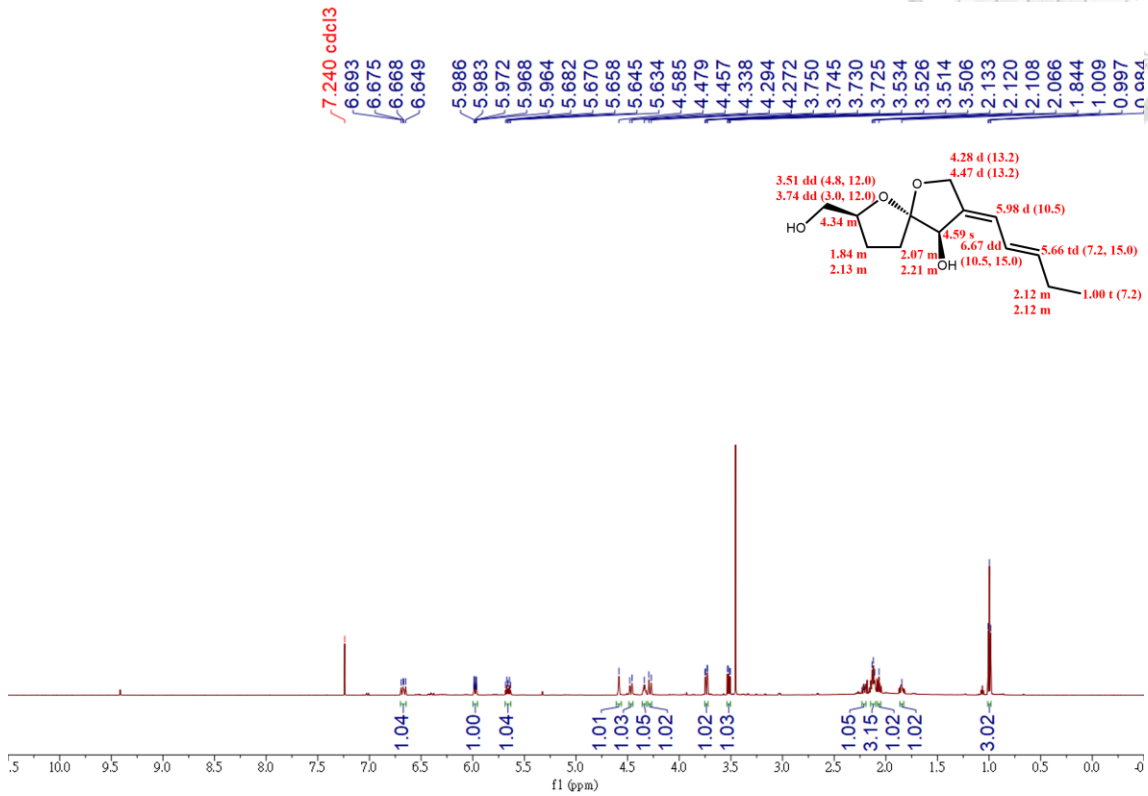


Figure 48. 化合物 7 之氫譜 (chloroform-*d*, 600 MHz)

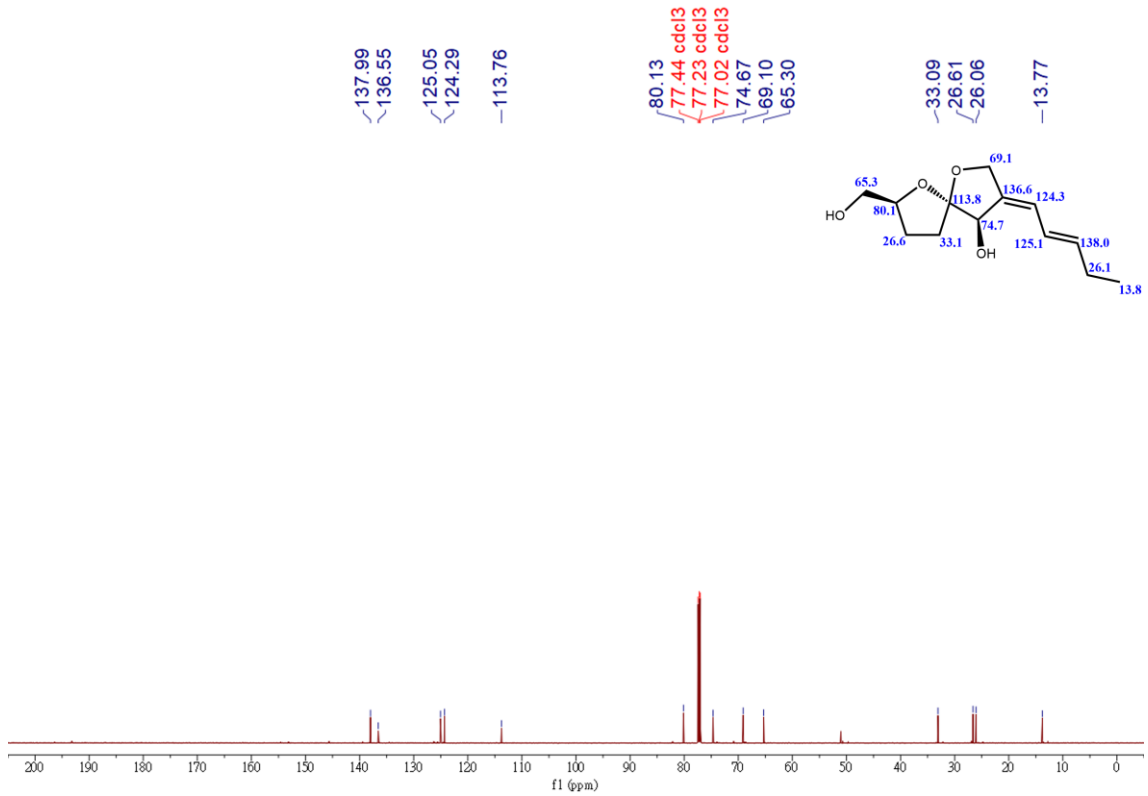


Figure 49. 化合物 7 之碳譜 (chloroform-*d*, 150 MHz)

### 3.3.8 Chaetoglobosin A (8) 之結構數據

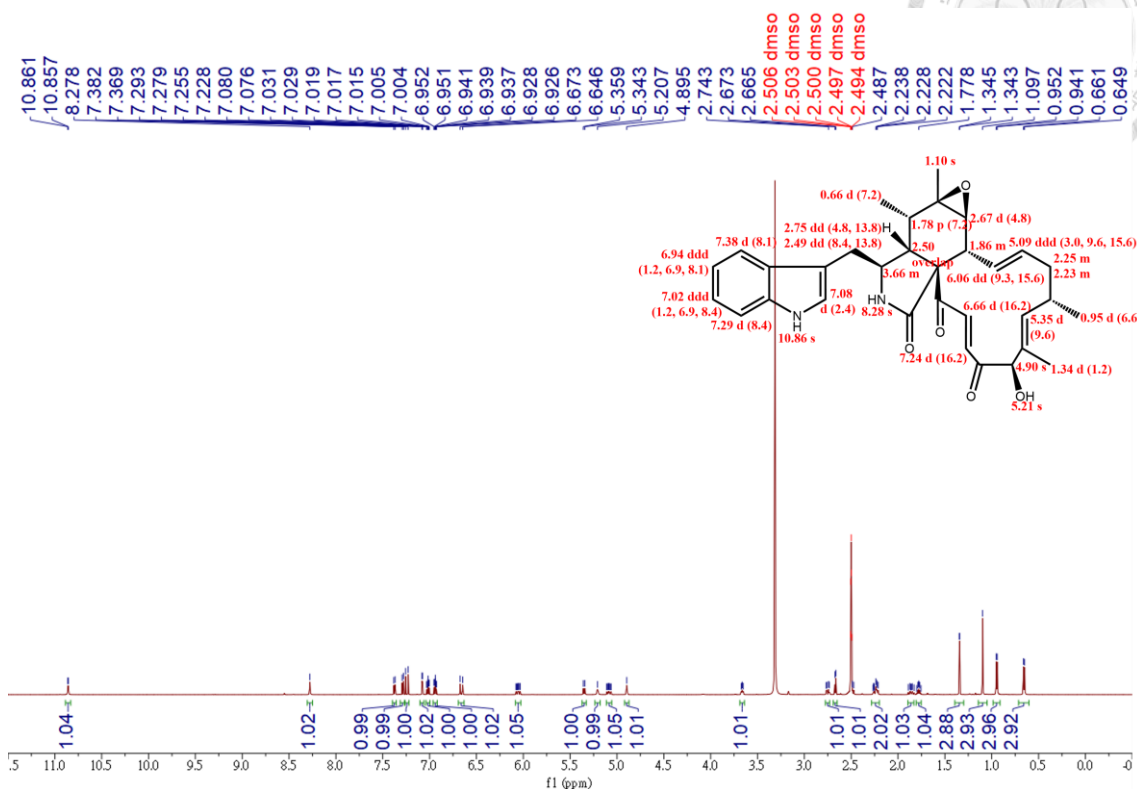


Figure 50. 化合物 8 之氫譜 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 600 MHz)

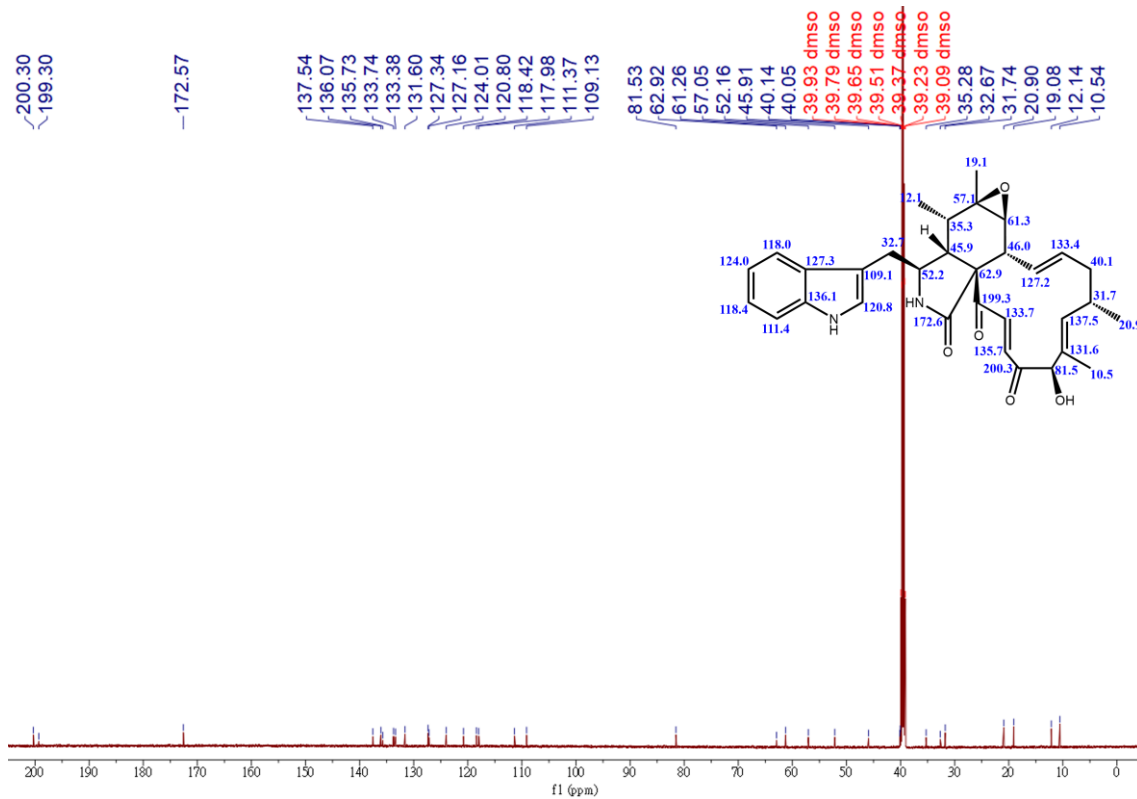


Figure 51. 化合物 8 之碳譜 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 150 MHz)

### 3.3.9 Chaetoglobosin B (9) 之結構數據

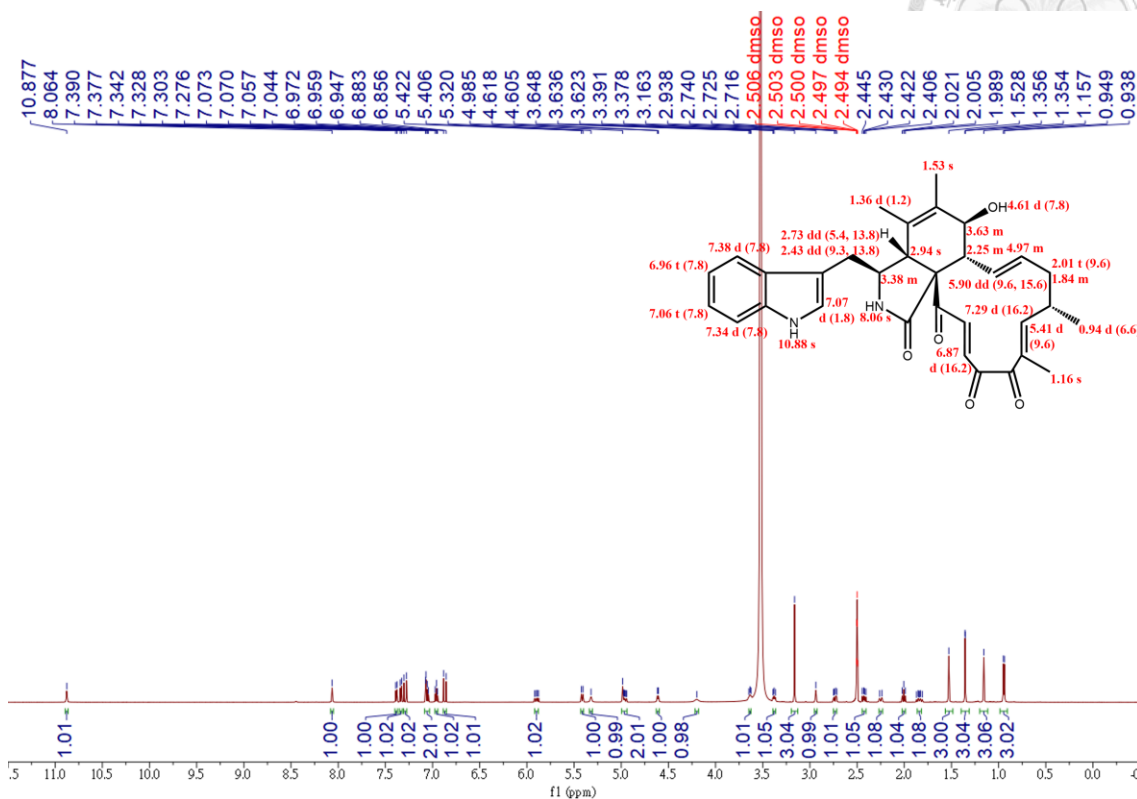


Figure 52. 化合物 9 之氫譜 (DMSO- $d_6$ , 600 MHz)

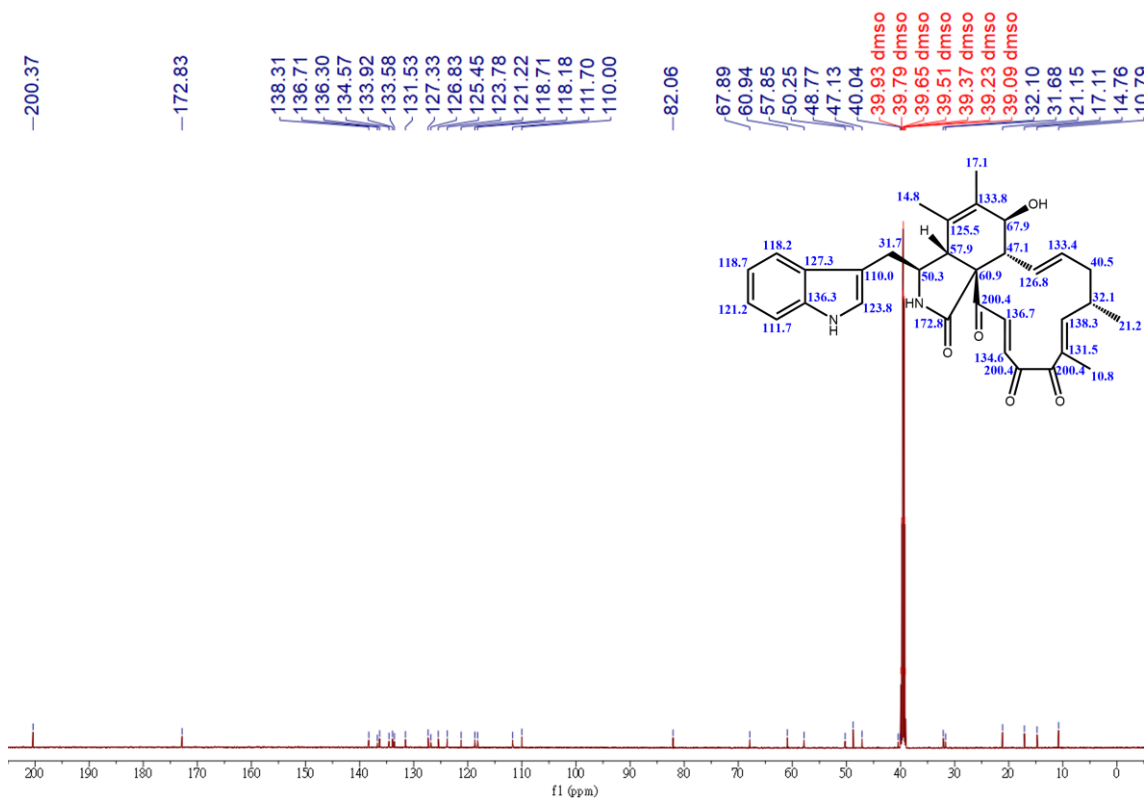
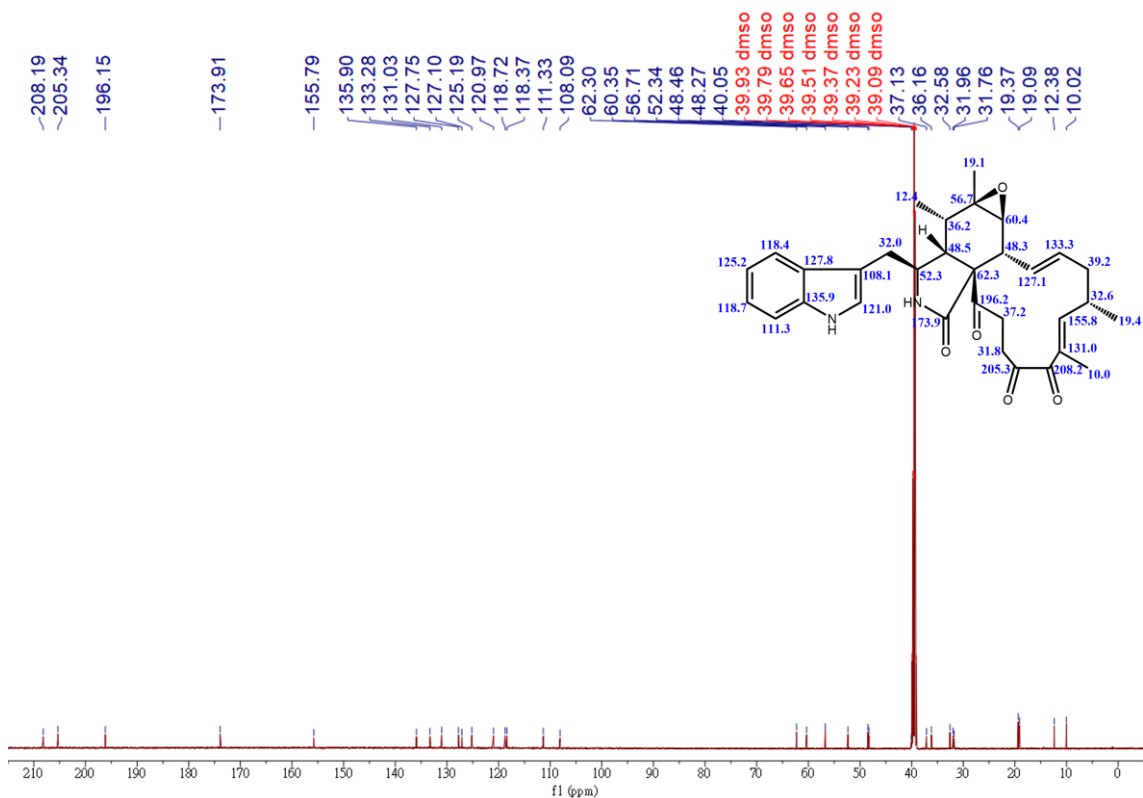
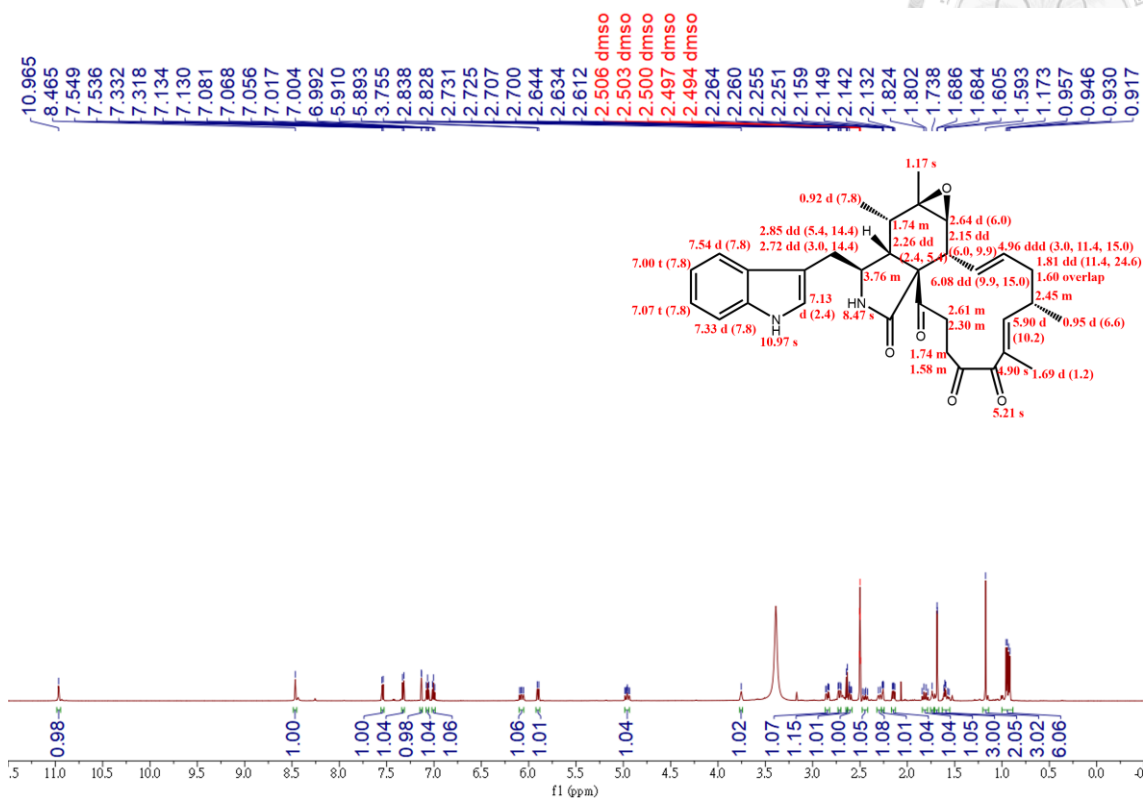


Figure 53. 化合物 9 之碳譜 (DMSO- $d_6$ , 150 MHz)



### 3.3.10 Chaetoglobosin C (10) 之結構數據



### 3.3.11 Chaetoglobosin D (11) 之結構數據

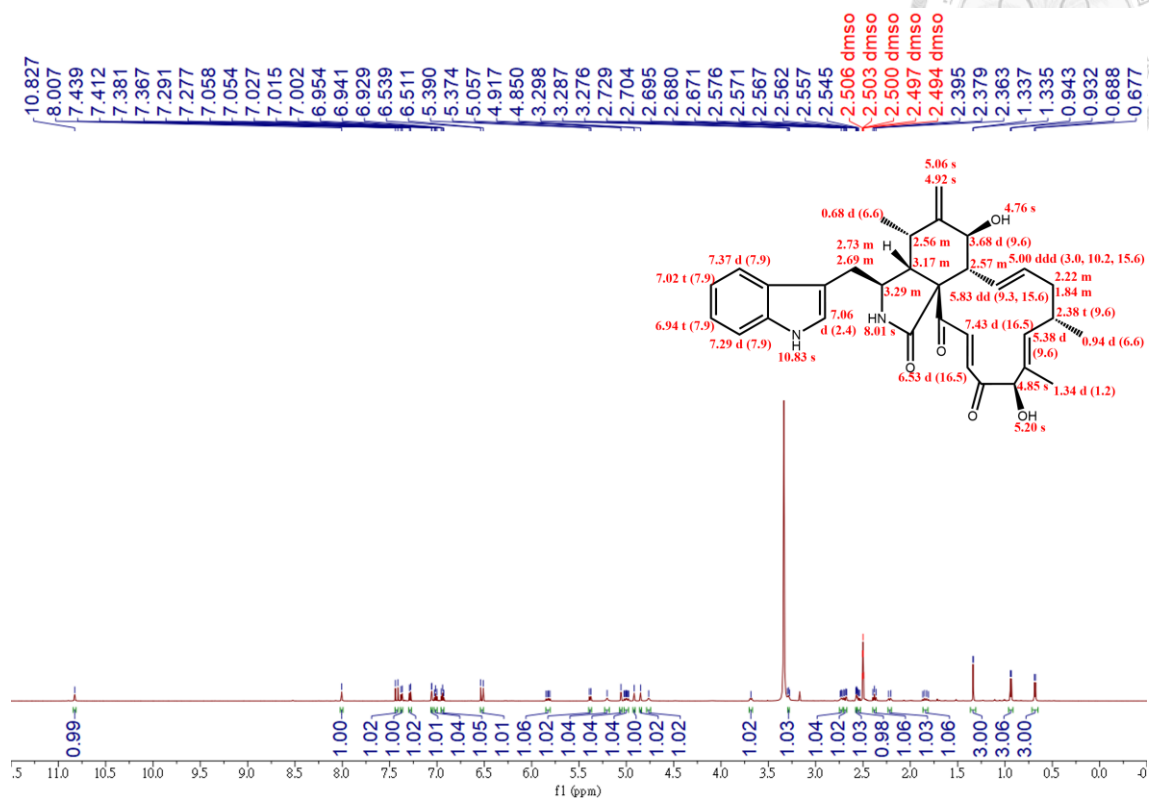


Figure 56. 化合物 11 之氫譜 (DMSO- $d_6$ , 600 MHz)

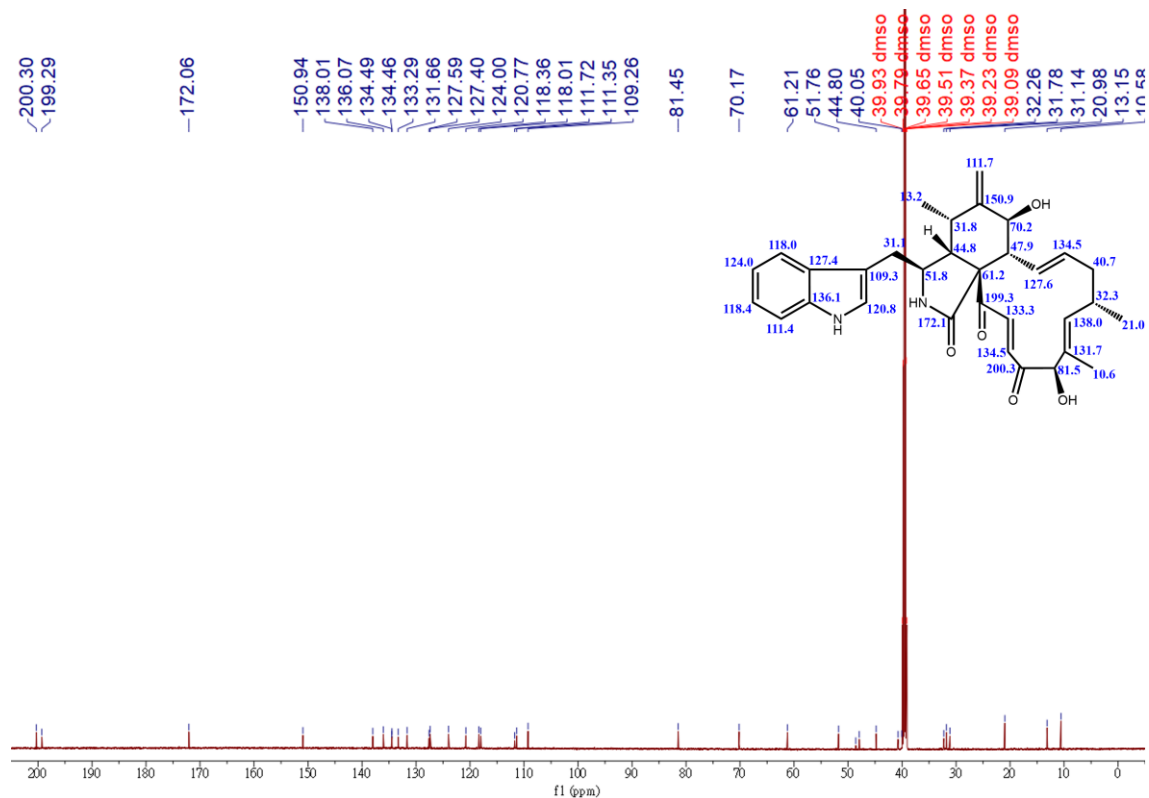


Figure 57. 化合物 11 之碳譜 (DMSO- $d_6$ , 150 MHz)

3.3.12 Chaetoglobosin E (12) 之結構數據

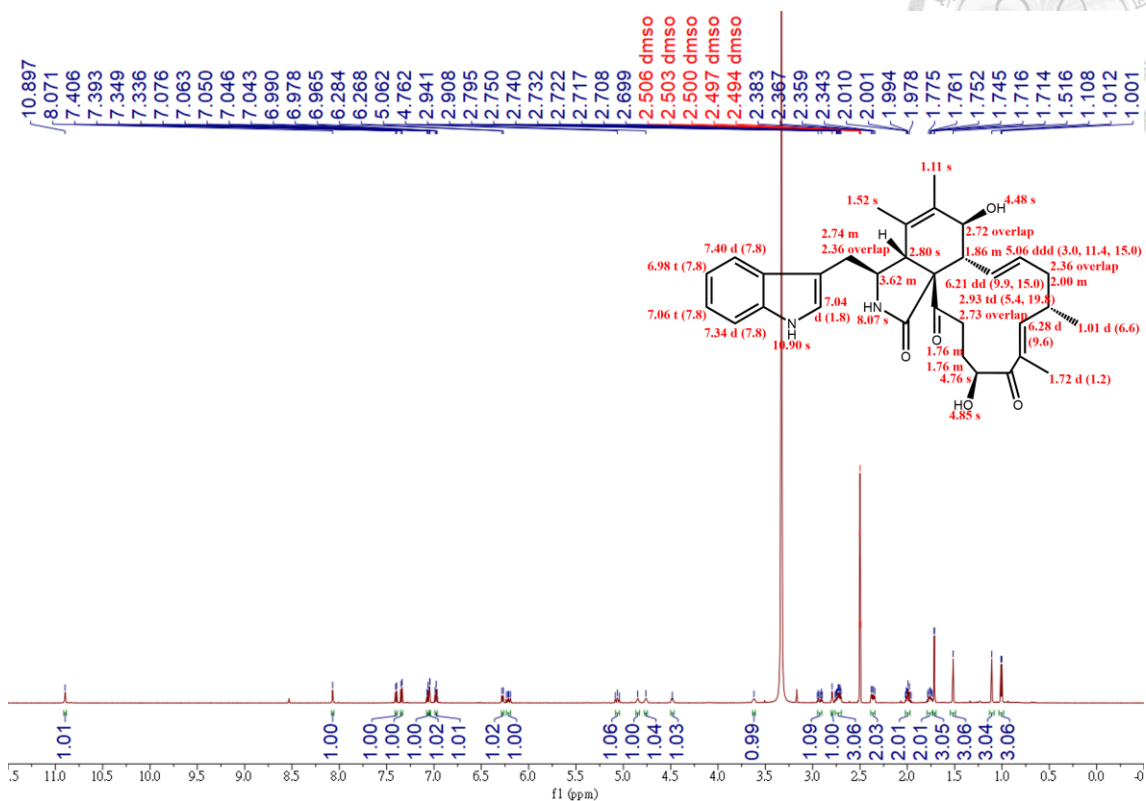


Figure 58. 化合物 12 之氫譜 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 600 MHz)

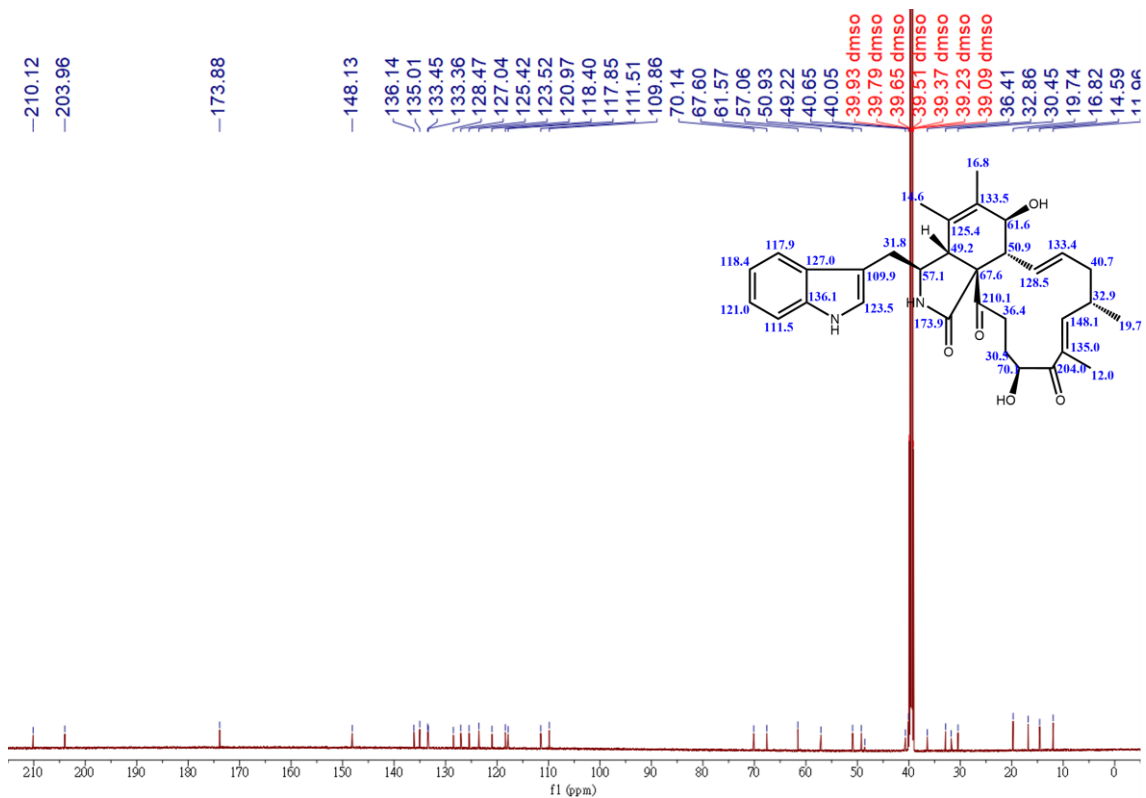


Figure 59. 化合物 12 之碳譜 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 150 MHz)

3.3.13 Chaetoglobosin F (13) 之結構數據

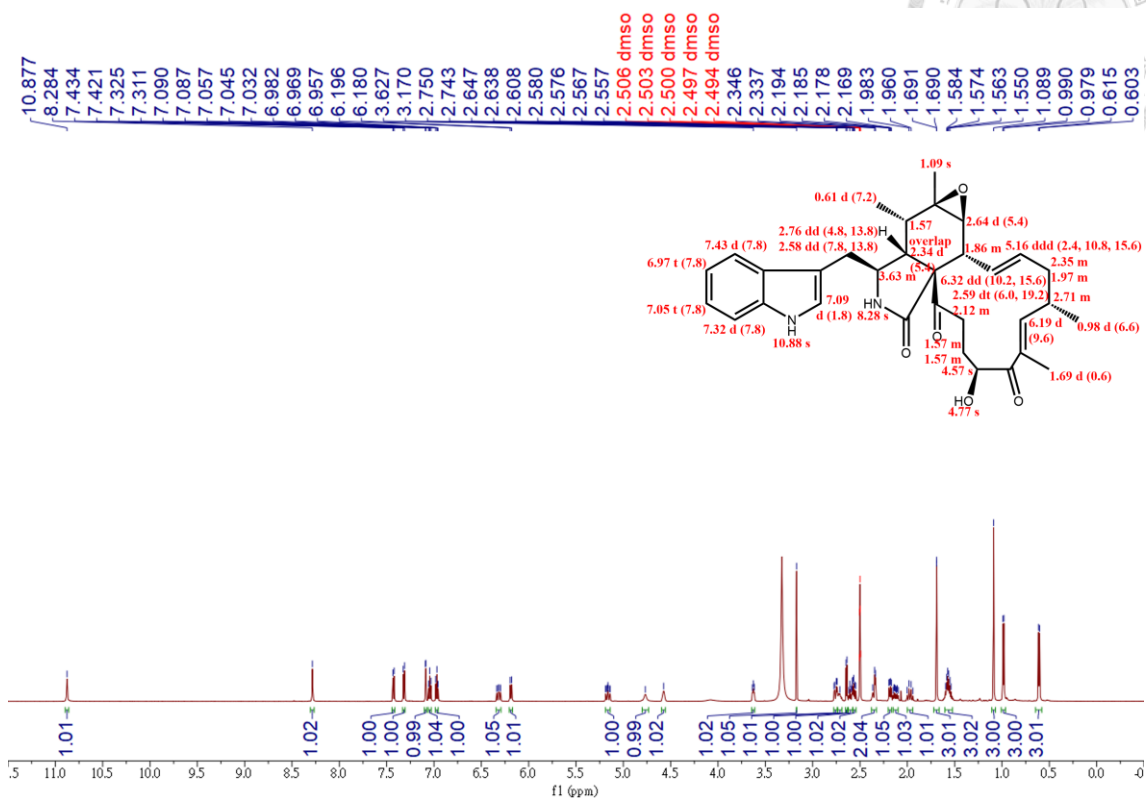


Figure 60. 化合物 13 之氫譜 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 600 MHz)

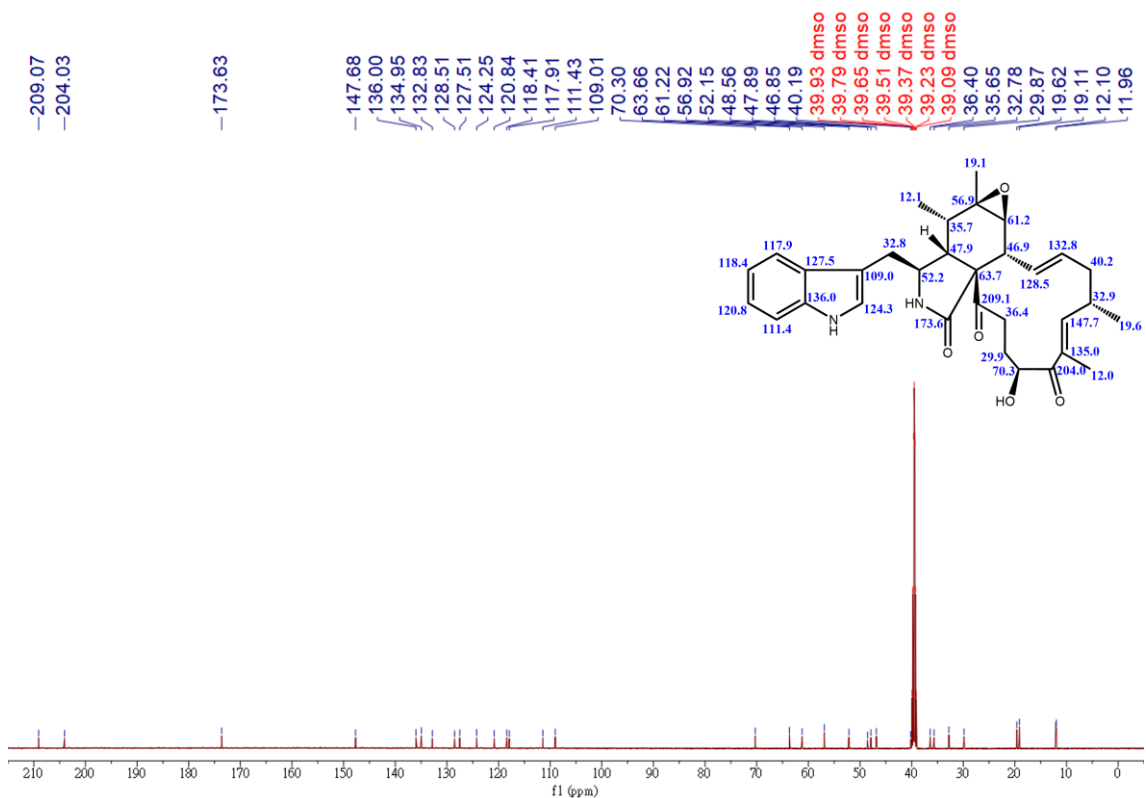


Figure 61. 化合物 13 之碳譜 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 150 MHz)

### 3.3.14 Aureochaeglobosin B (14) 之結構數據

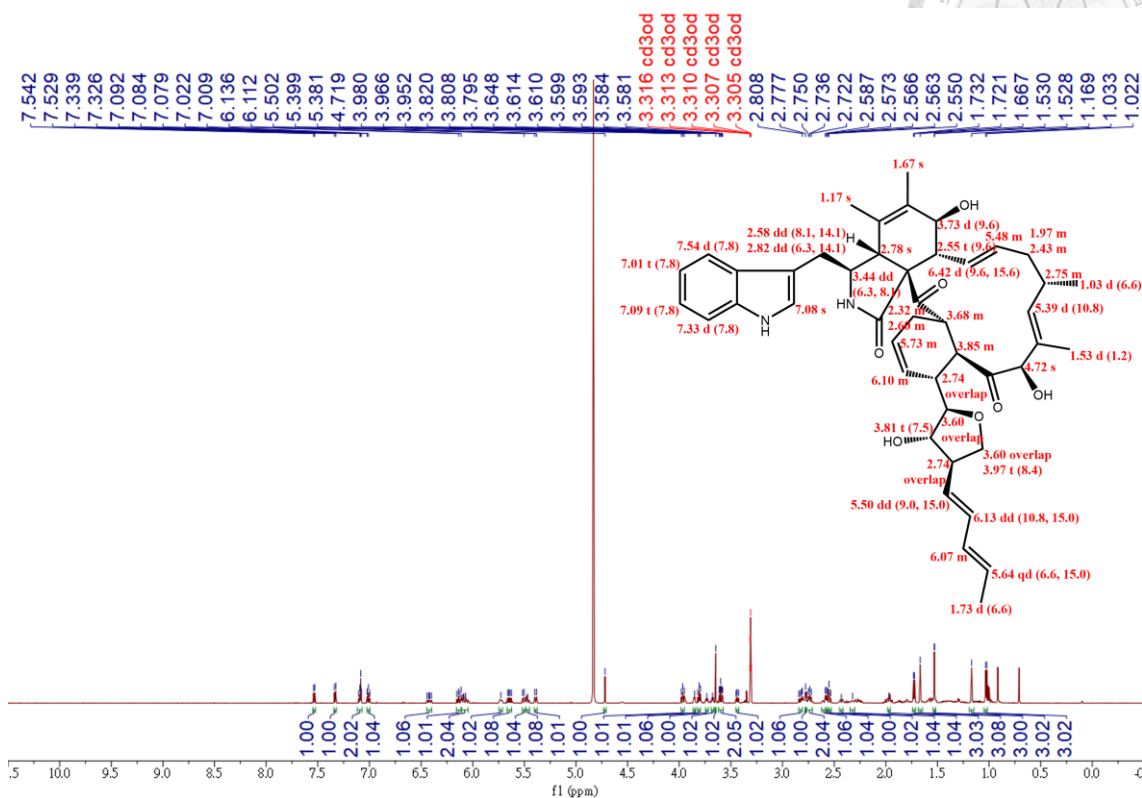


Figure 62. 化合物 14 之氫譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 600 MHz)

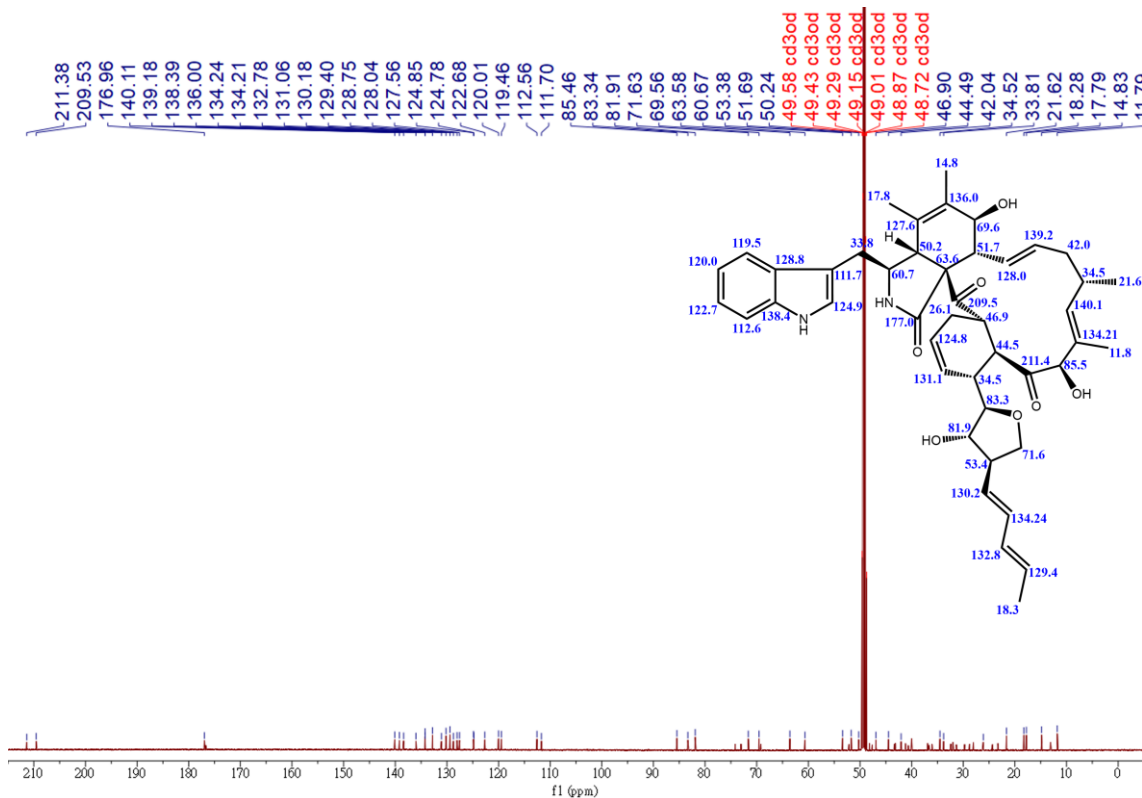


Figure 63. 化合物 14 之碳譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 150 MHz)



### 3.3.15 Aureochaeglobosin C (15) 之結構數據

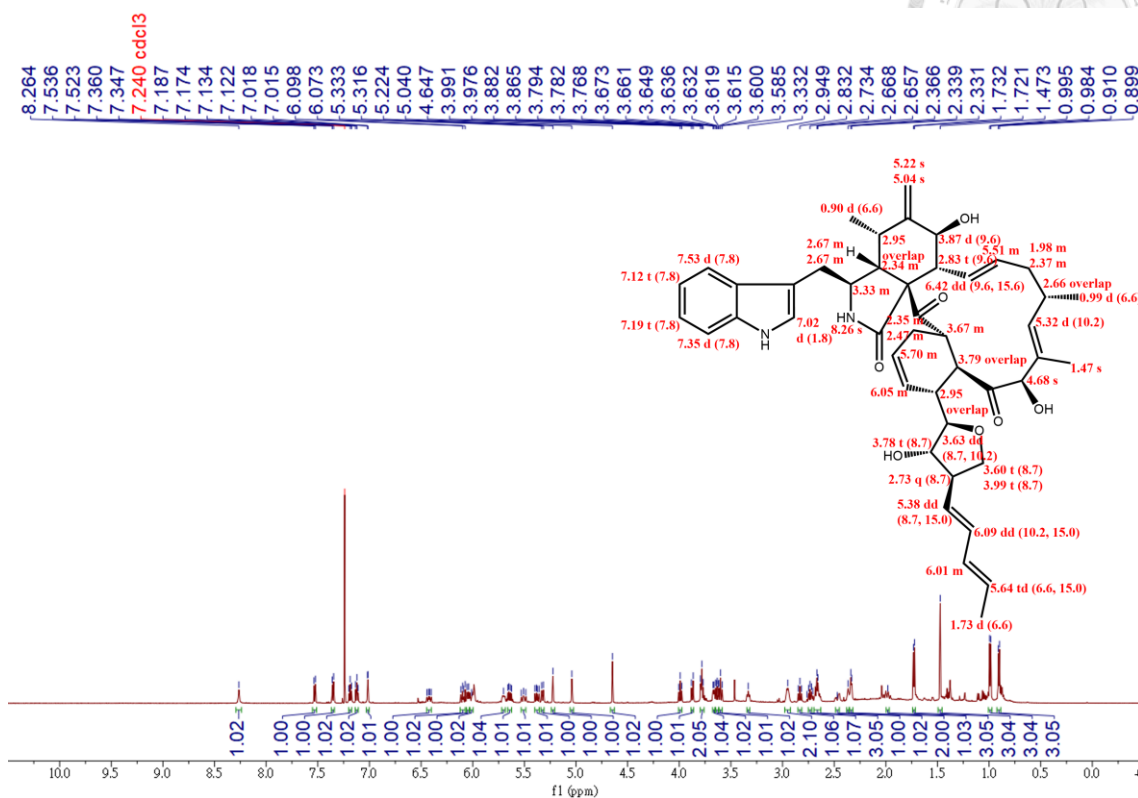


Figure 64. 化合物 15 之氫譜 (chloroform-*d*, 600 MHz)

### 3.3.16 Dihydrocoarctatin (16) 之結構數據

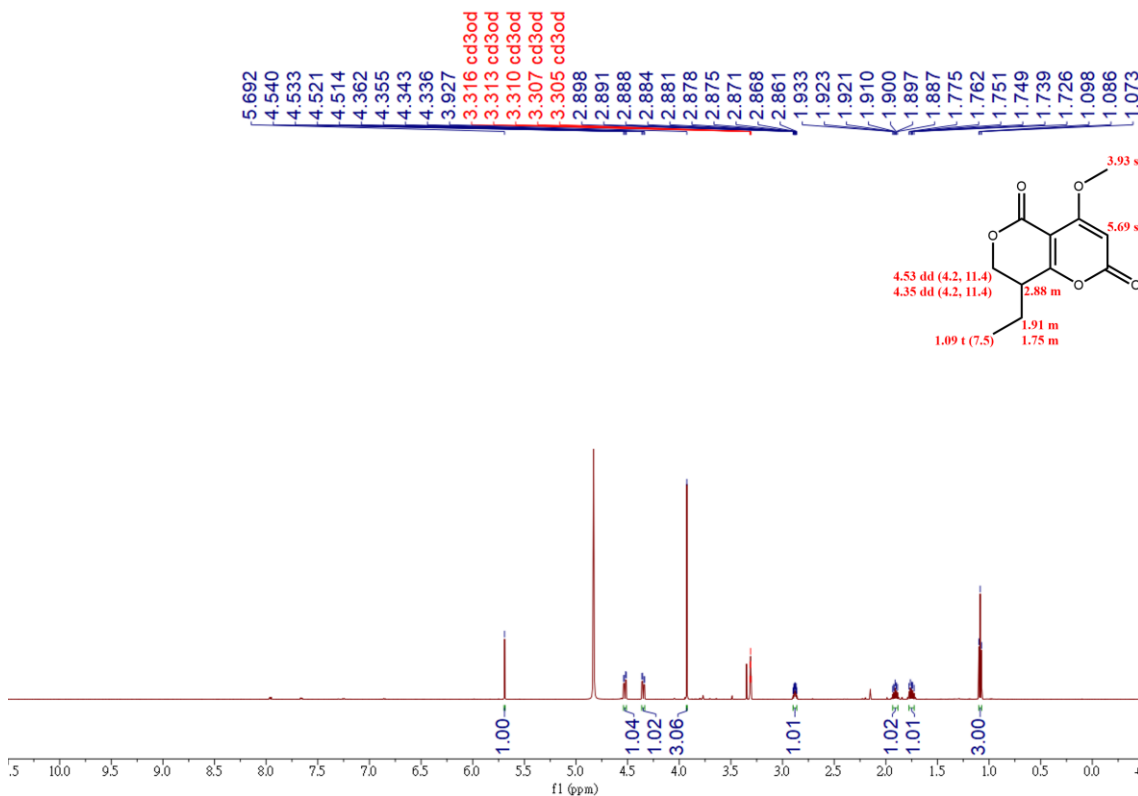


Figure 65. 化合物 16 之氫譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 600 MHz)



### 3.3.17 Coarctatin (17) 之結構數據

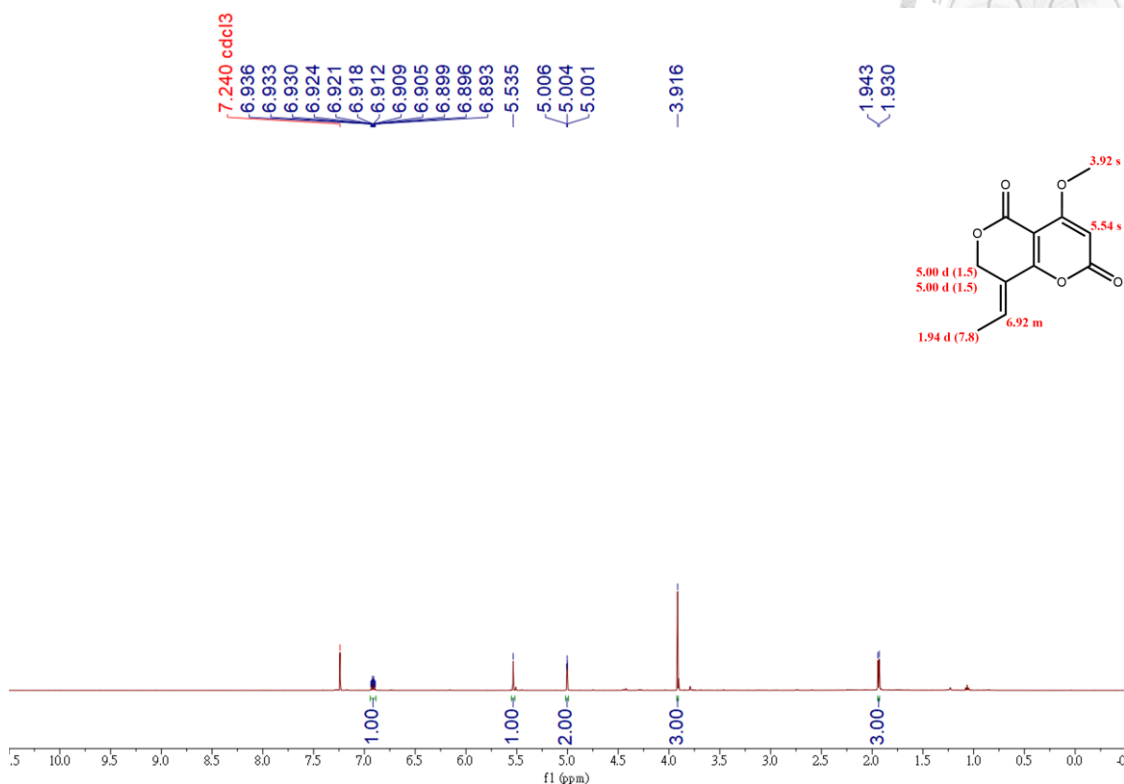


Figure 66. 化合物 17 之氫譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 600 MHz)

### 3.3.18 Chaetoviridin A (18) 之結構數據

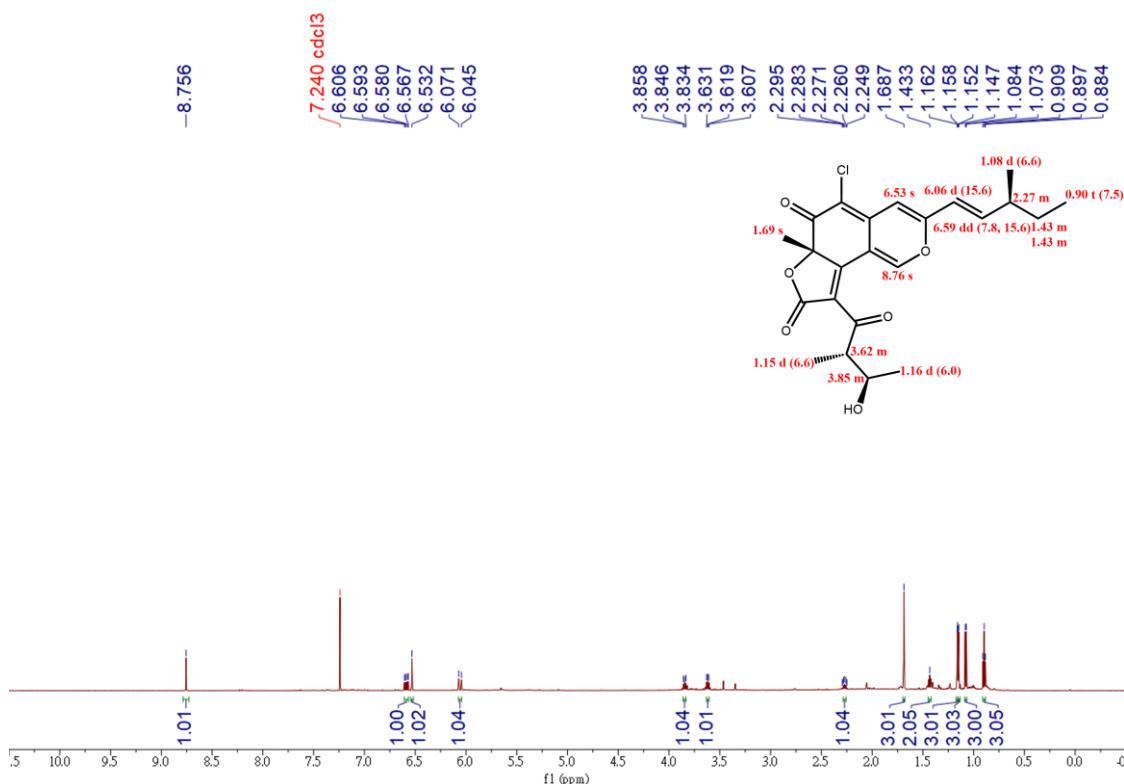


Figure 67. 化合物 18 之氫譜 (chloroform-*d*, 600 MHz)



### 3.3.19 Chaetomugilin A (19) 之結構數據

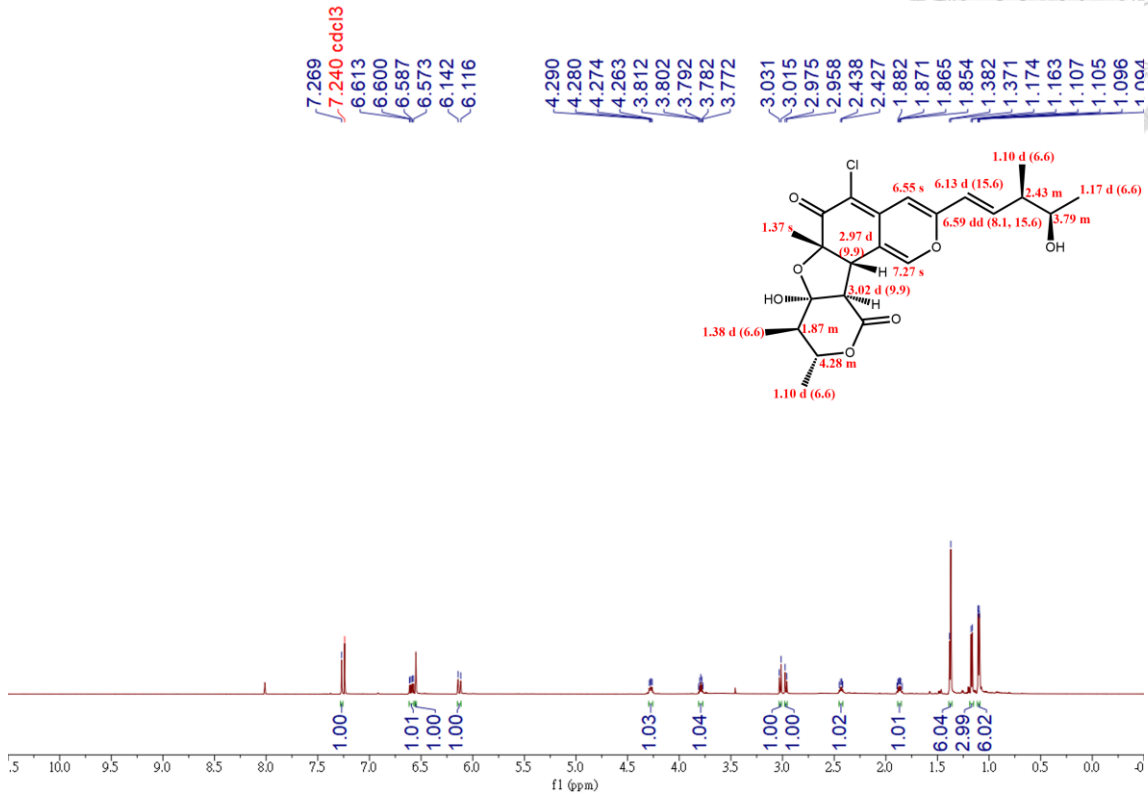


Figure 68. 化合物 19 之氫譜 (chloroform-*d*, 600 MHz)

### 3.3.20 Chaetomugilin D (20) 之結構數據

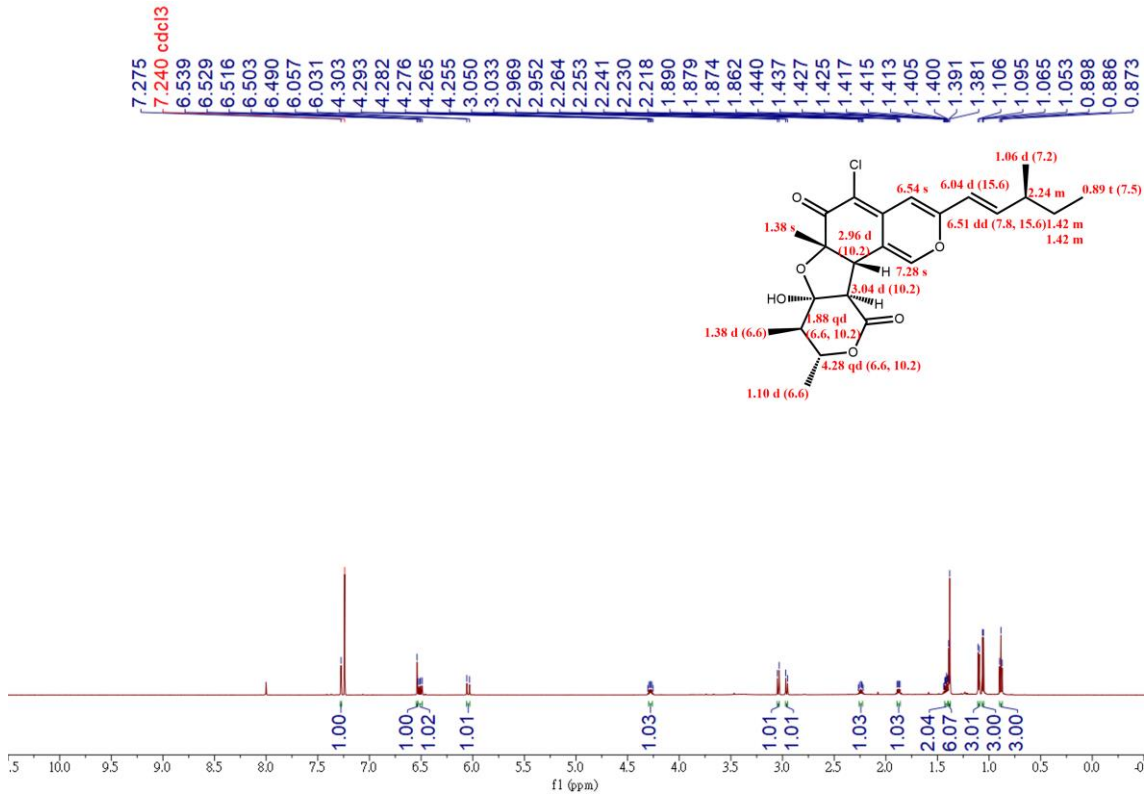
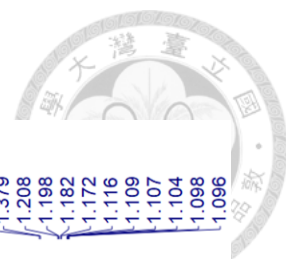
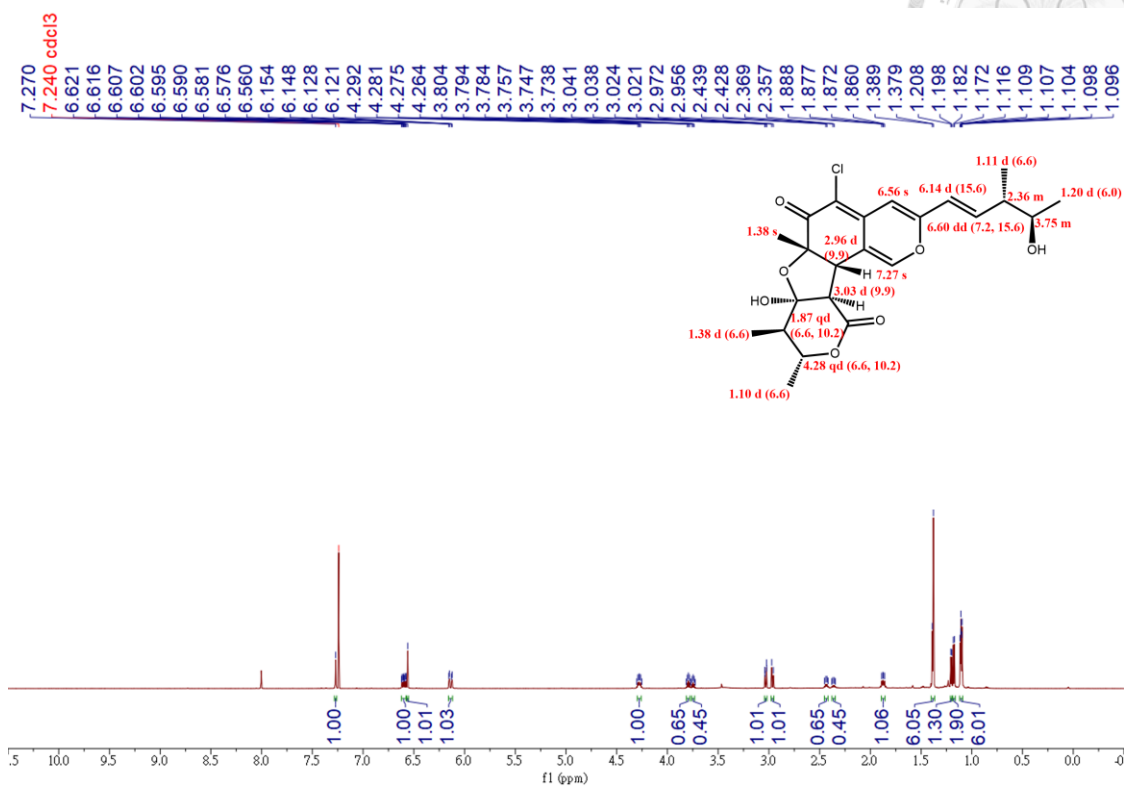


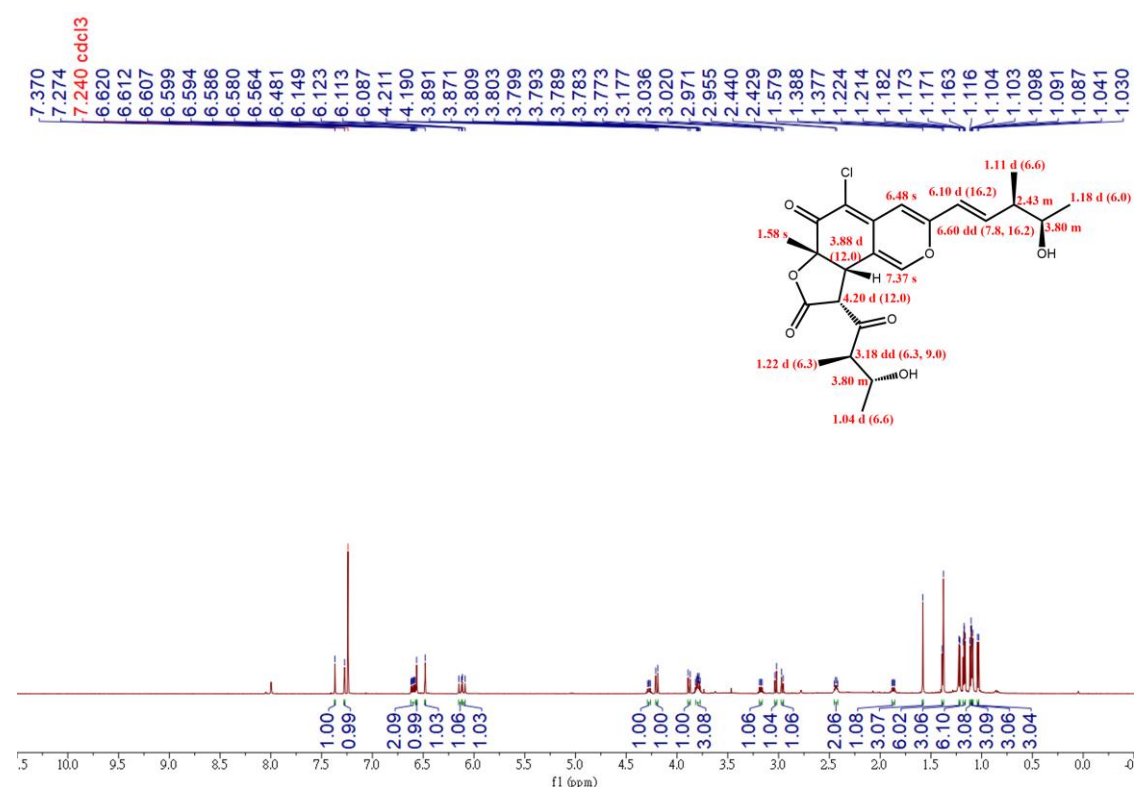
Figure 69. 化合物 20 之氫譜 (chloroform-*d*, 600 MHz)



### 3.3.21 11-Epichaetomugilin A (21) 之結構數據



### 3.3.22 12β-Hydroxychaetoviridin C (22) 之結構數據



3.3.23 (+)-(11*S*,15*R*)-11-Hydroxycurvularin (**23**) 之結構數據

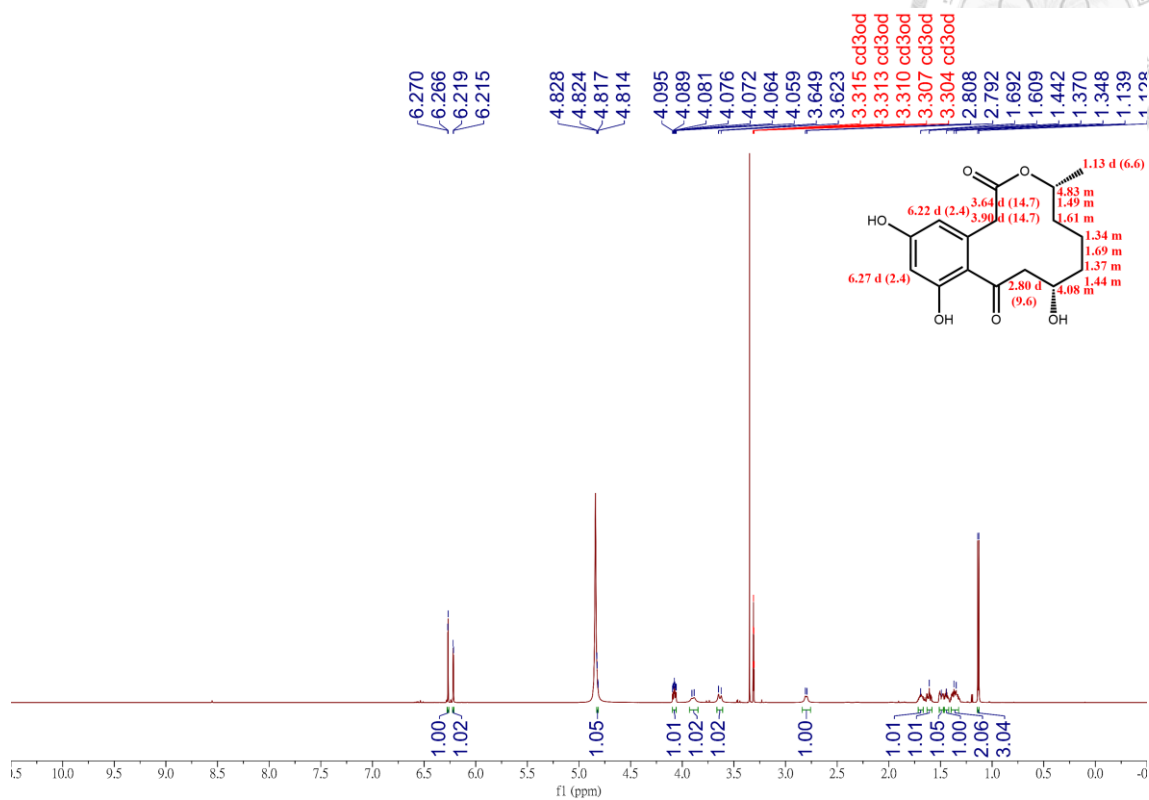


Figure 72. 化合物 **23** 之氫譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 600 MHz)

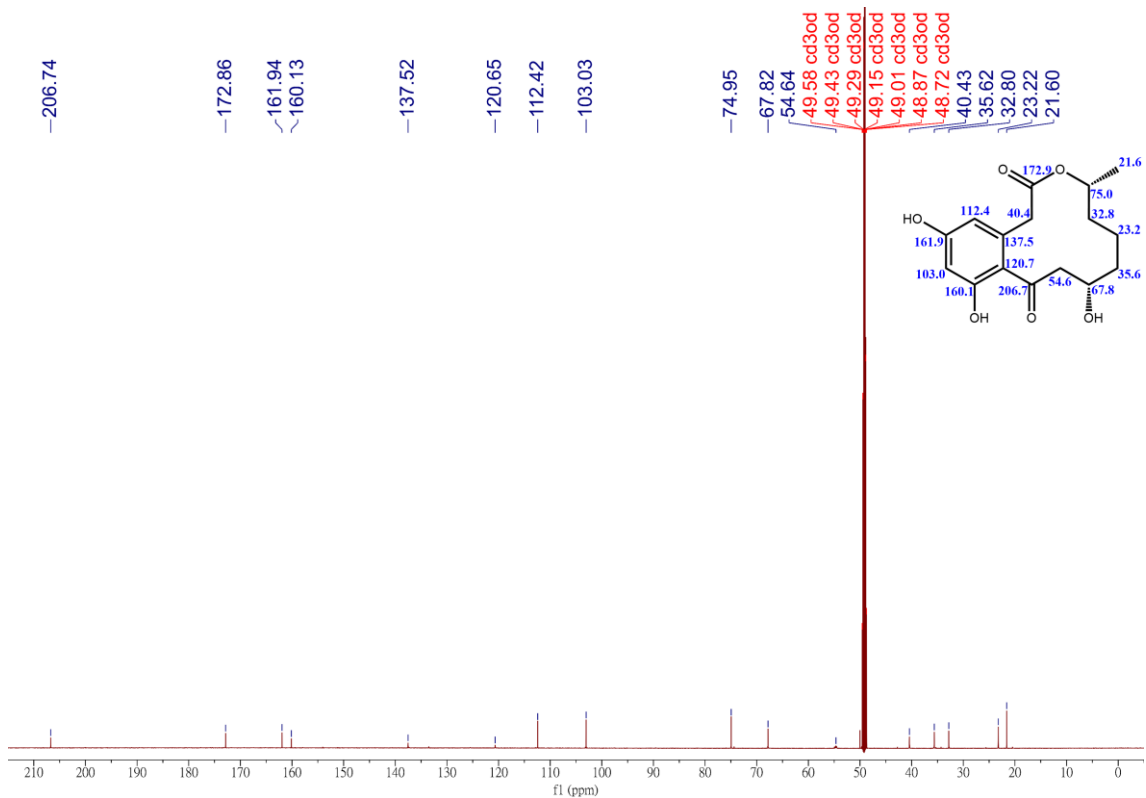


Figure 73. 化合物 **23** 之碳譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 150 MHz)

3.3.24 (+)-(11*R*,15*R*)-11-Hydroxycurvularin (**24**) 之結構數據

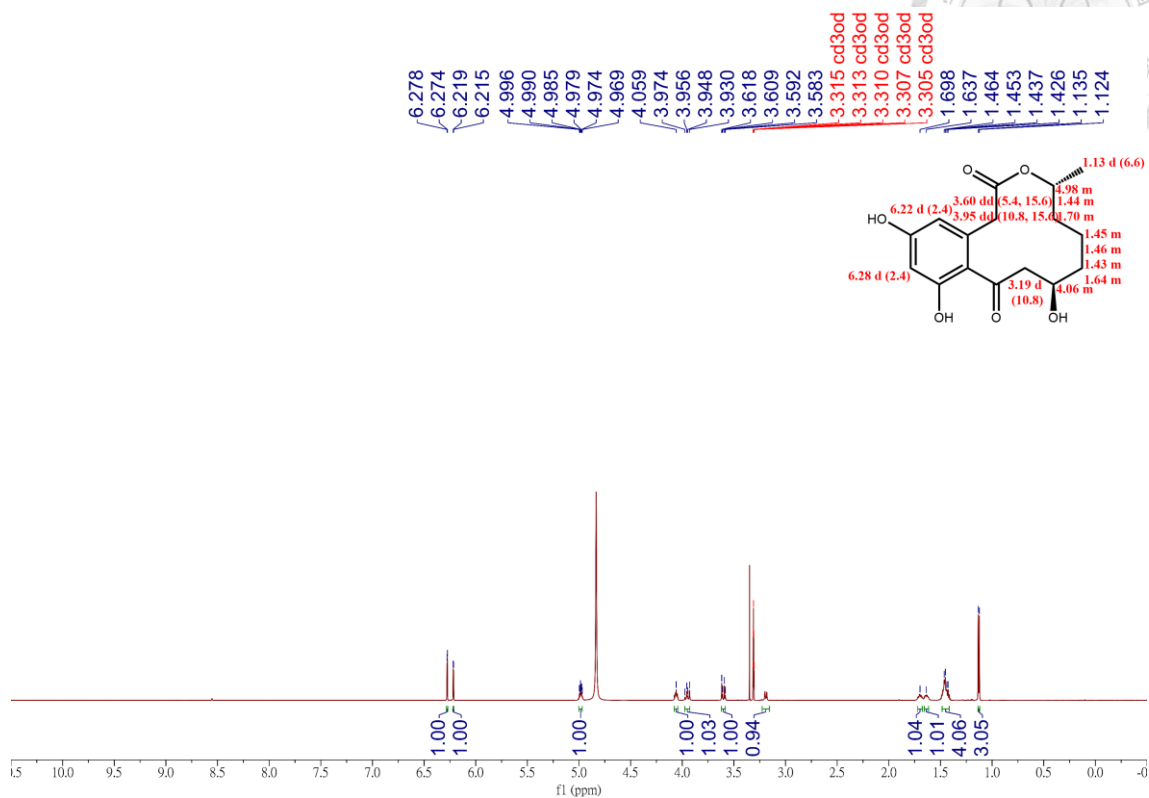


Figure 74. 化合物 **24** 之氫譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 600 MHz)

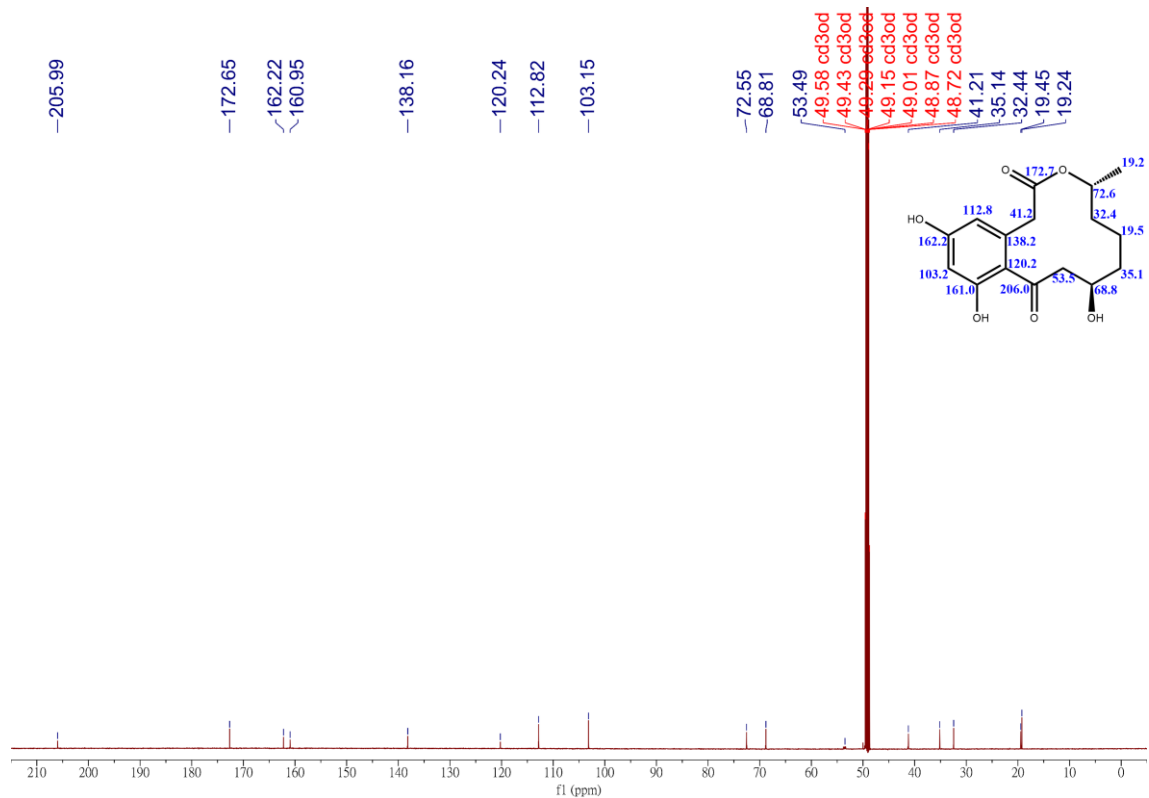


Figure 75. 化合物 **24** 之碳譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 150 MHz)



3.3.25 (*S*)-Dehydrocurvularin (**25**) 之結構數據

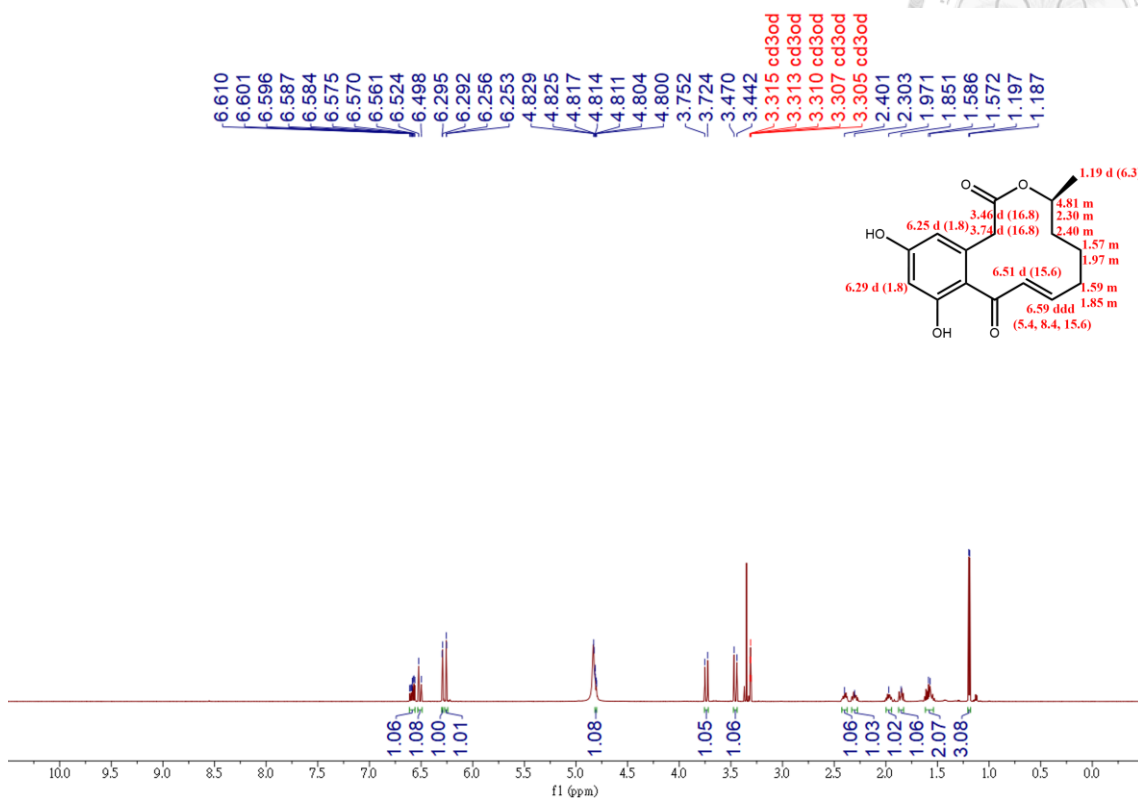


Figure 76. 化合物 **25** 之氫譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 600 MHz)

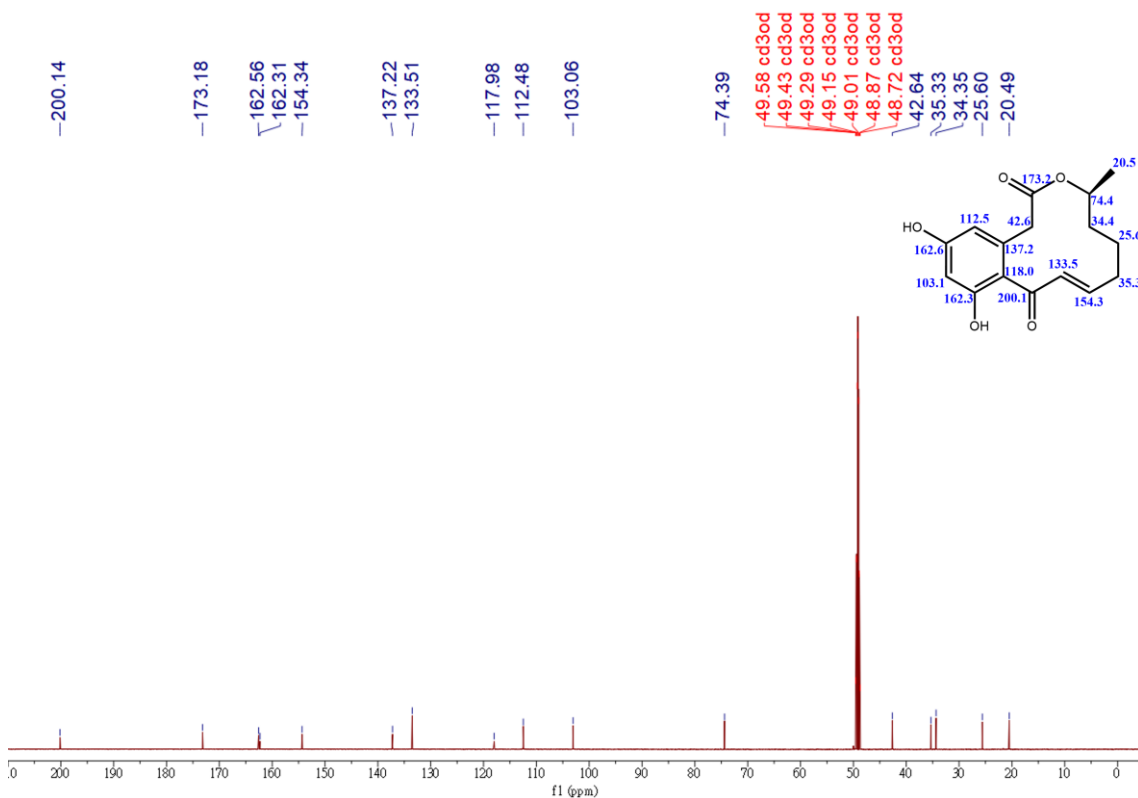


Figure 77. 化合物 **25** 之碳譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 150 MHz)

3.3.26 Curvularin (26) 之結構數據

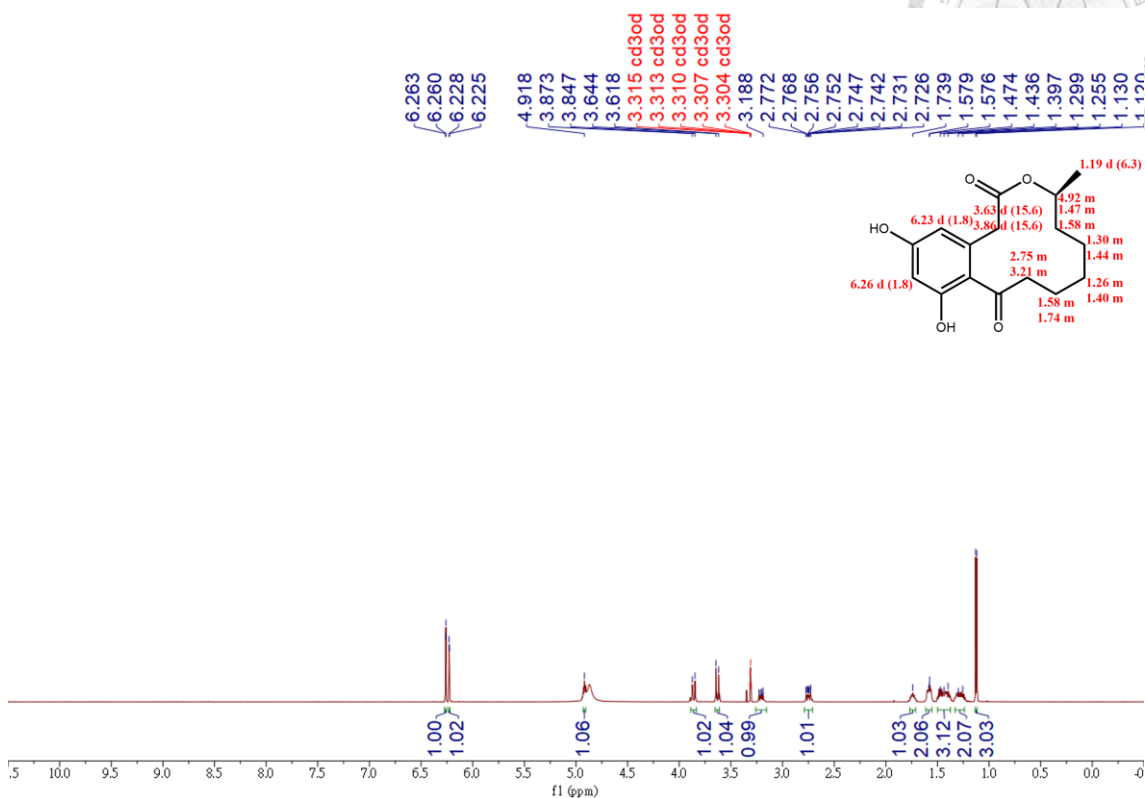


Figure 78. 化合物 26 之氫譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 600 MHz)

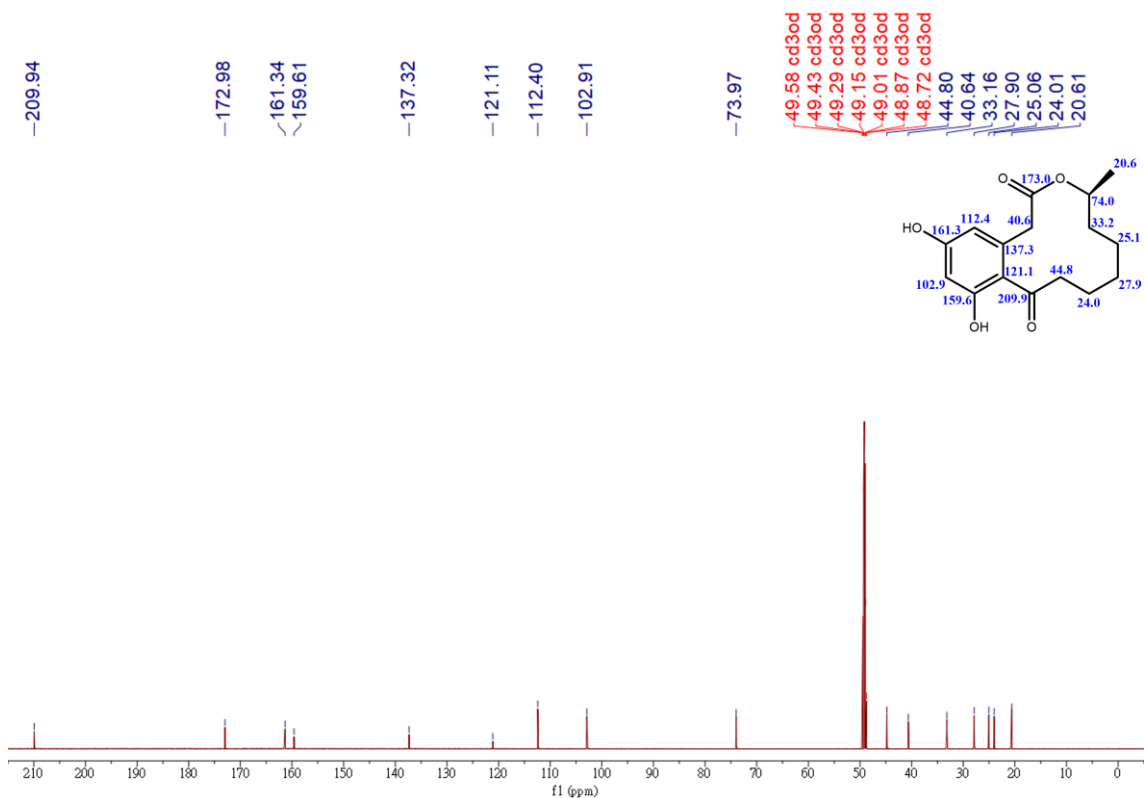


Figure 79. 化合物 26 之碳譜 (methanol-*d*<sub>4</sub>, 150 MHz)

3.3.27 Lunatin (27) 之結構數據

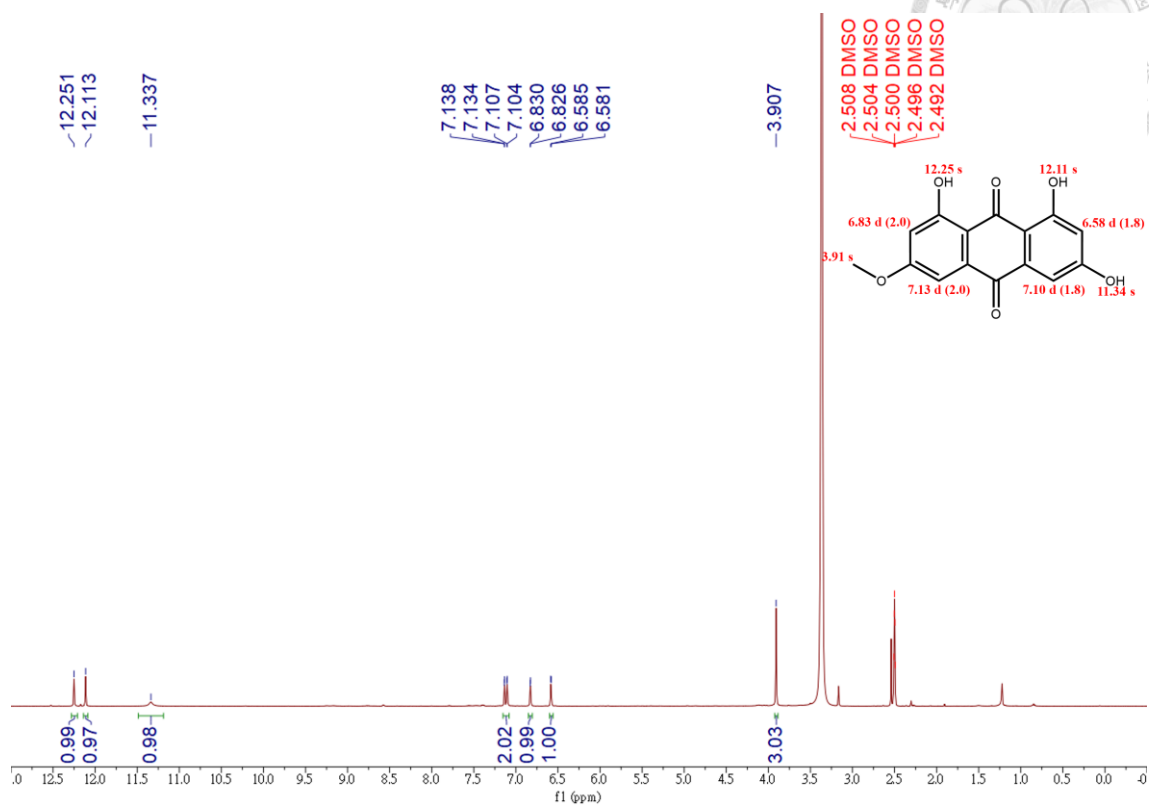


Figure 80. 化合物 27 之氫譜 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz)

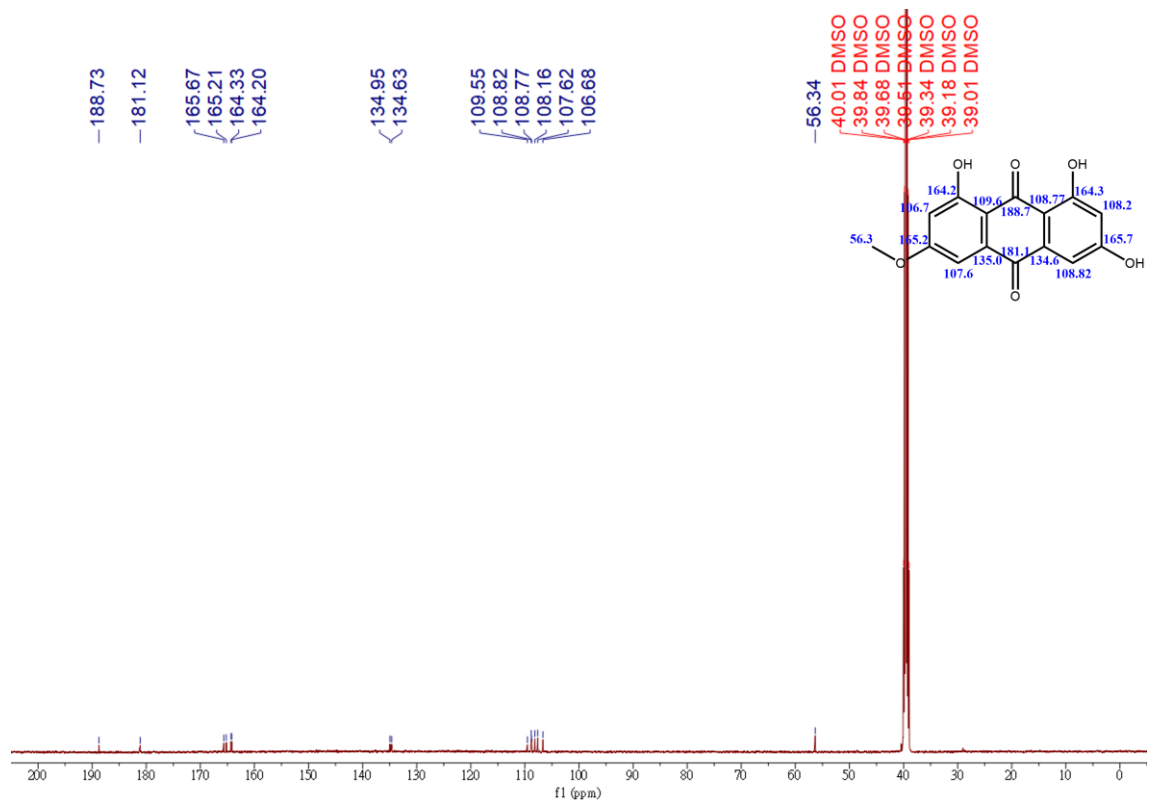


Figure 81. 化合物 27 之碳譜 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz)

3.3.28 Rheoemodin (**28**) 之結構數據

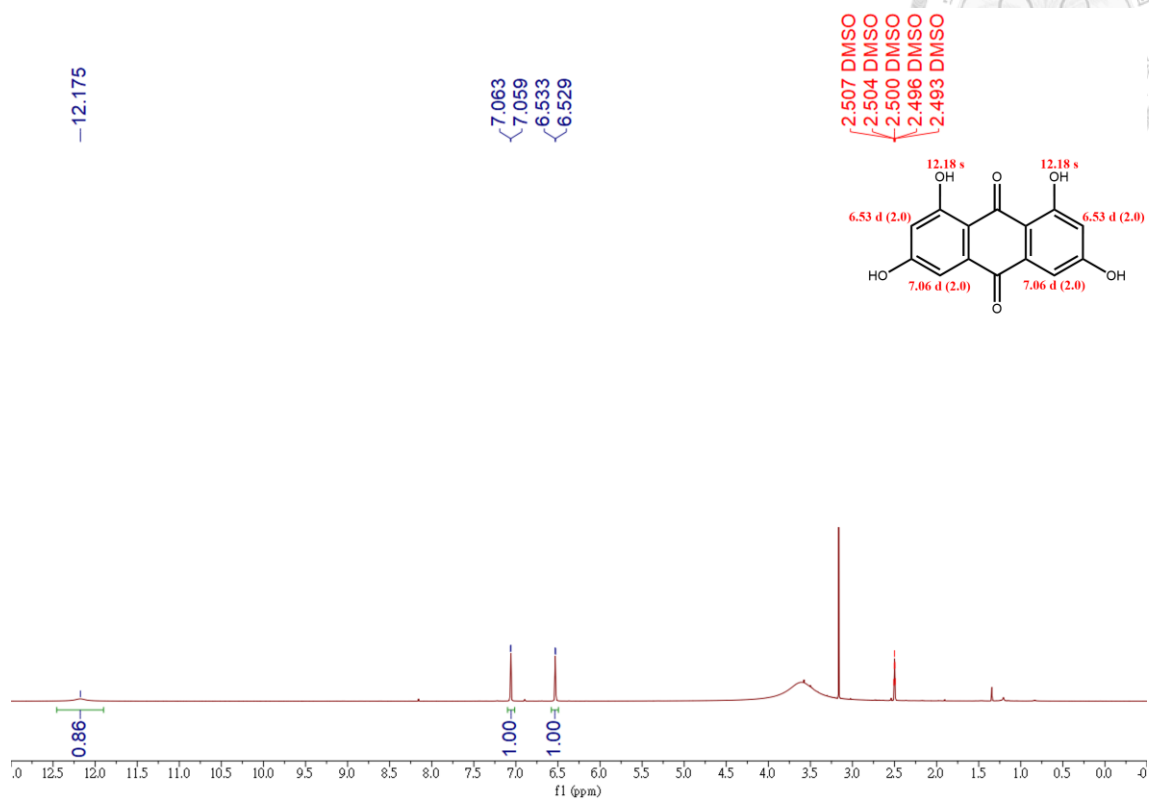


Figure 82. 化合物 **28** 之氫譜 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz)

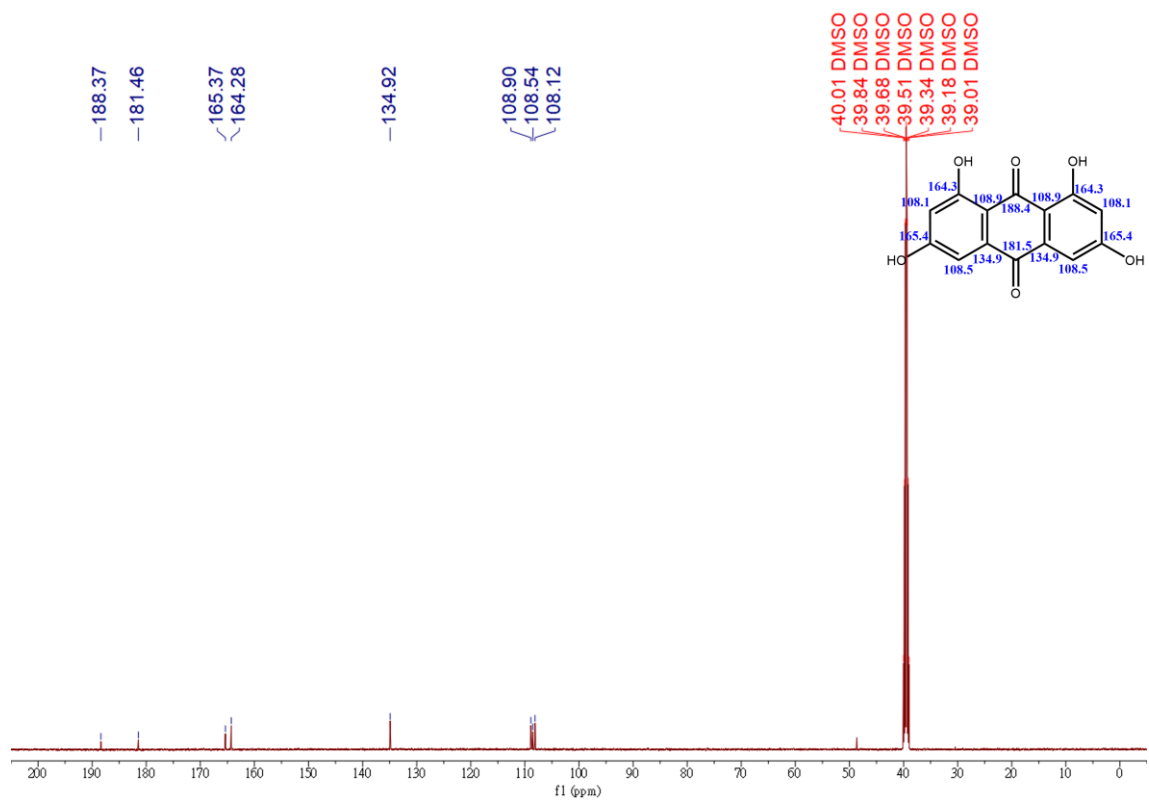


Figure 83. 化合物 **28** 之碳譜 (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz)

3.3.29 3,11 $\alpha$ ,12 $\beta$ ,13 $\beta$ ,16-Pentahydroxy-11,12-dihydroperylen-6(13H)-one (**29**) 之結構

數據

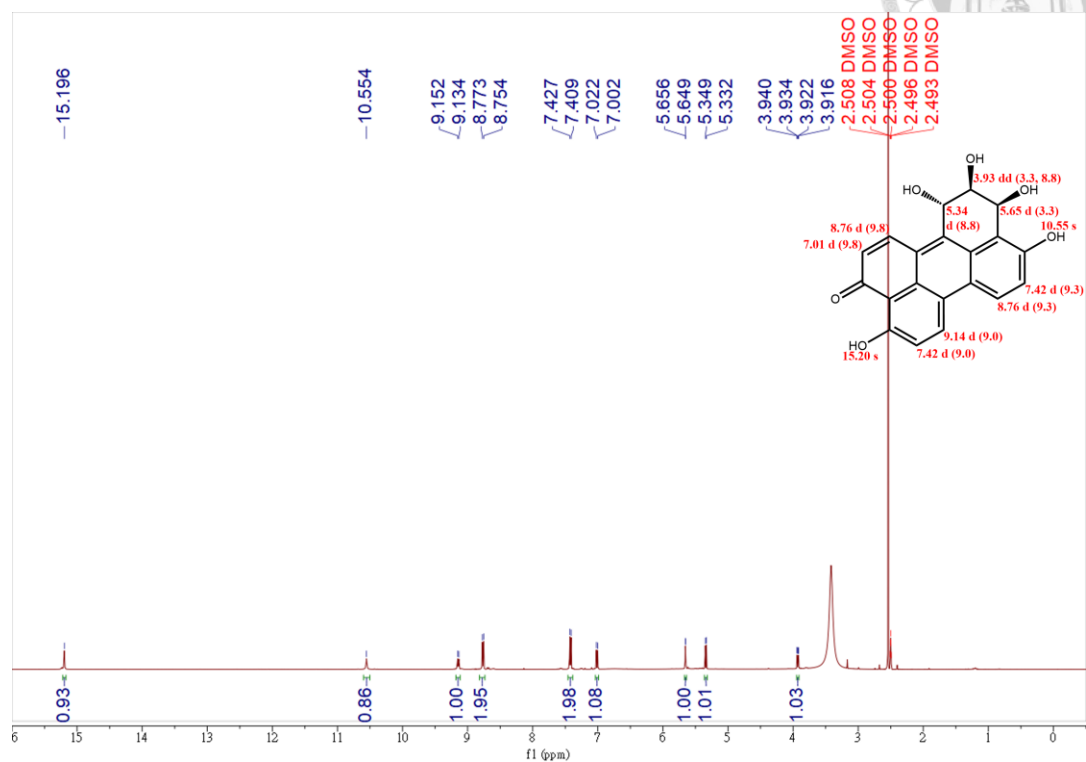


Figure 84. 化合物 **29** 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 500 MHz)

3.3.30 Altersolanol A (**30**) 之結構數據

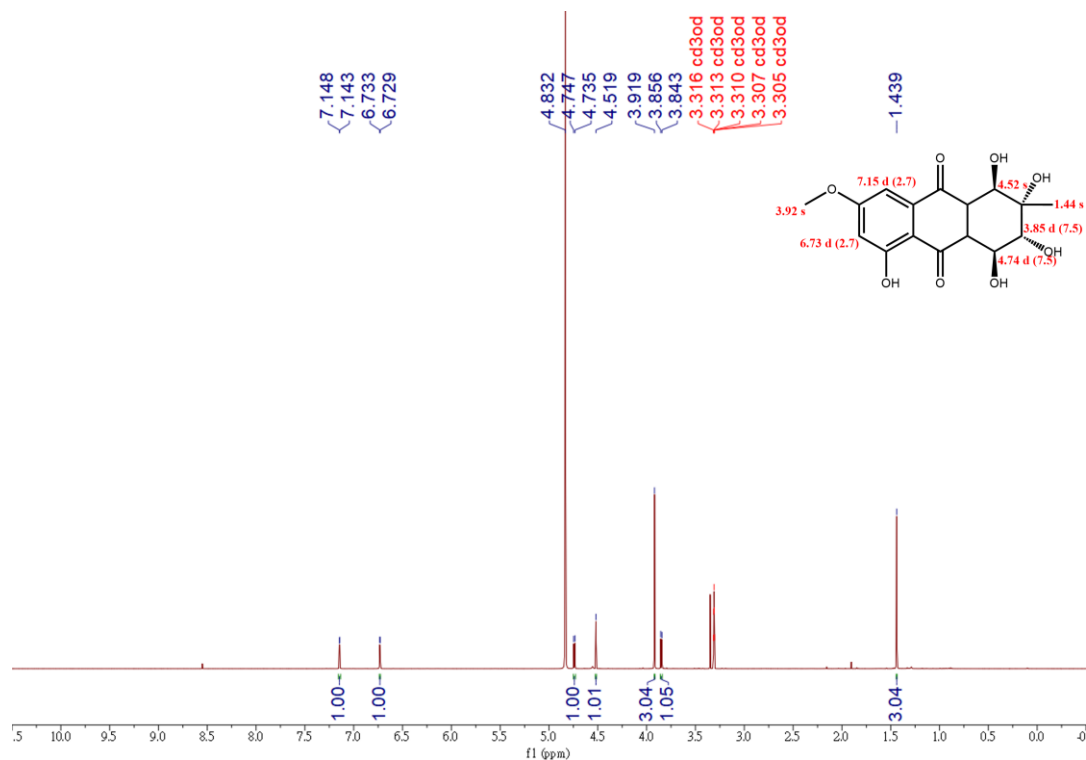


Figure 85. 化合物 **30** 之氫譜 (methanol- $d_4$ , 600 MHz)

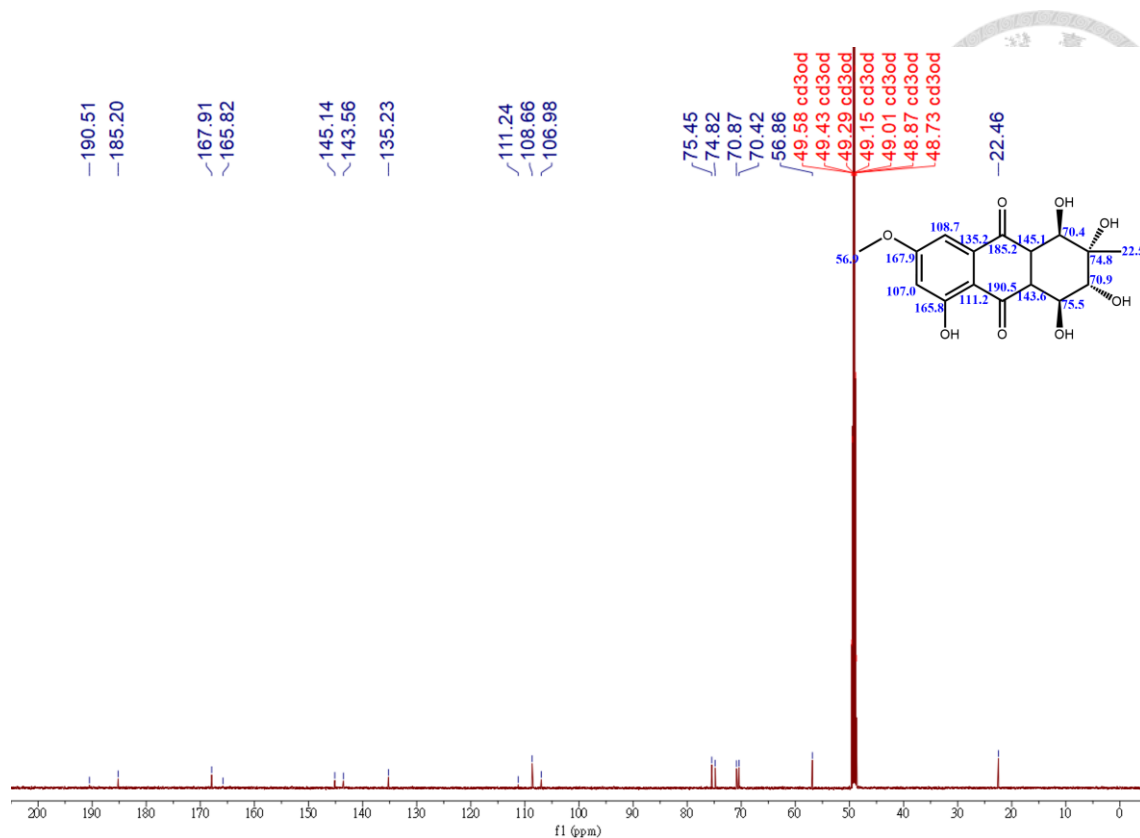


Figure 86. 化合物 30 之碳譜 (methanol- $d_4$ , 150 MHz)

### 3.3.31 Auxarthrol C (31) 之結構數據

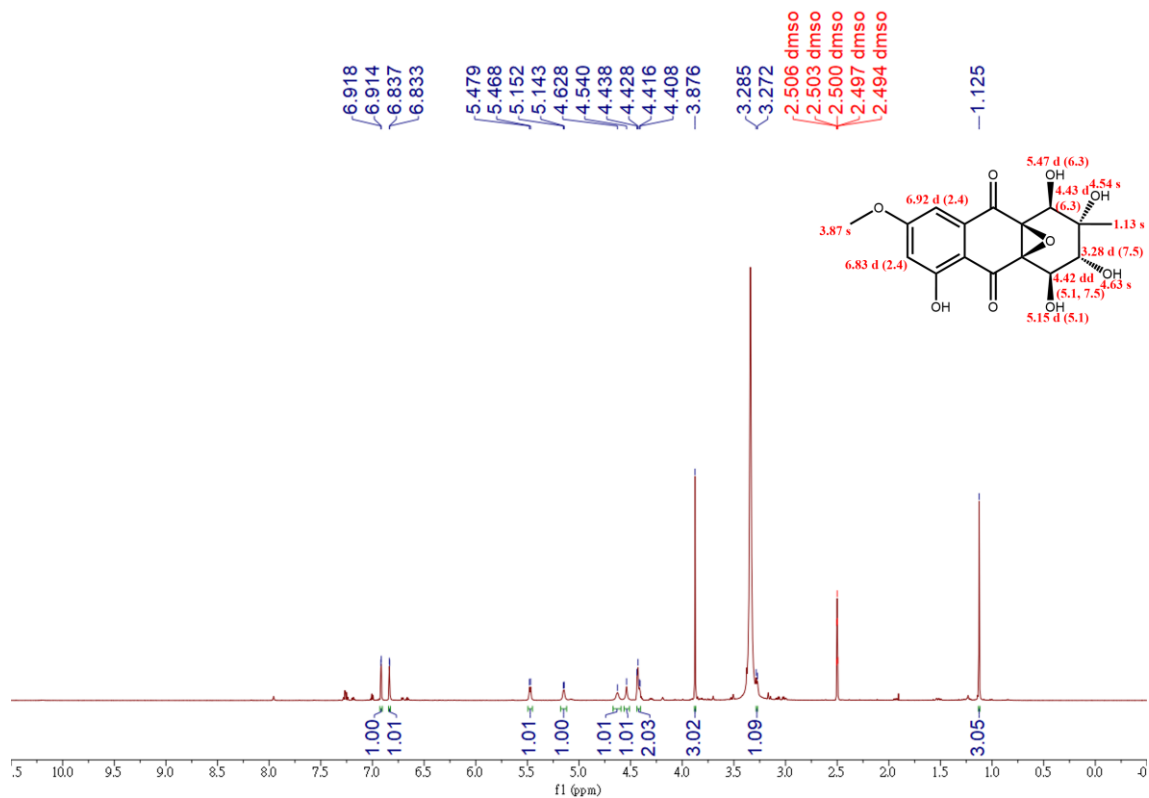


Figure 87. 化合物 31 之氫譜 (DMSO- $d_6$ , 600 MHz)

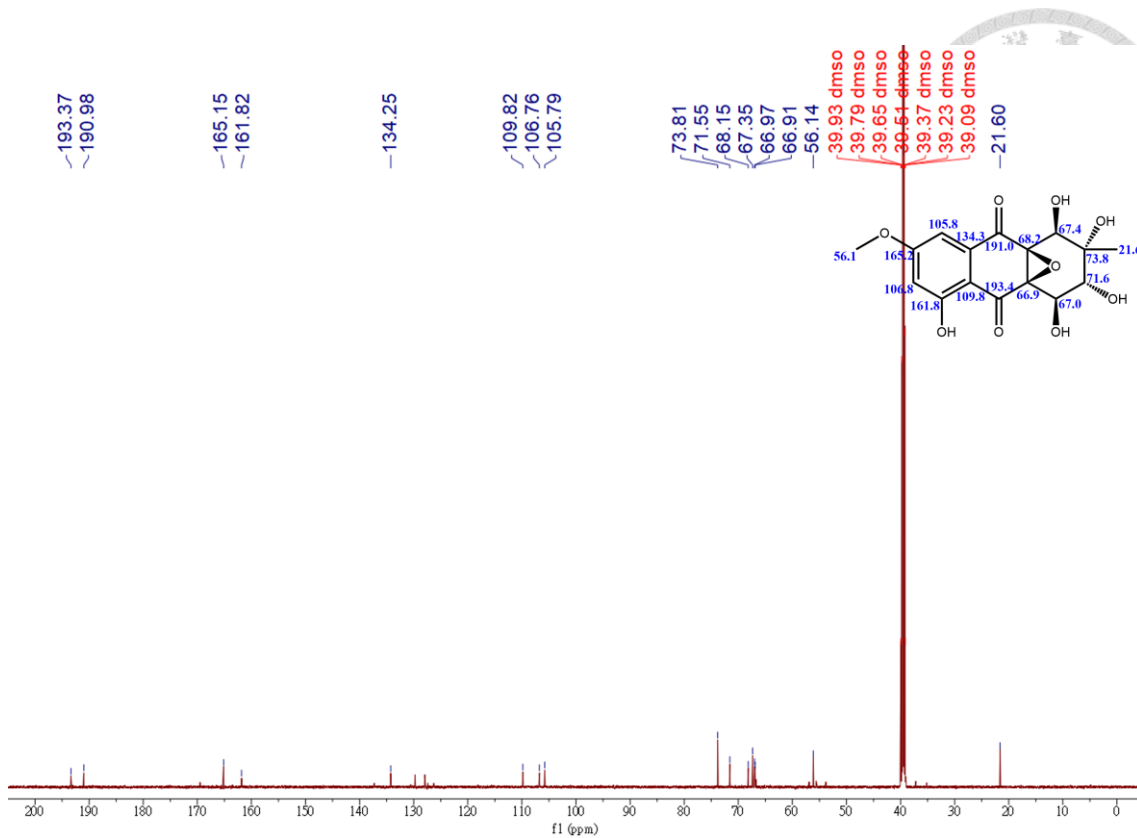


Figure 88. 化合物 **31** 之氫譜 (DMSO- $d_6$ , 150 MHz)

### 3.3.32 Infectopyrone (**32**) 之結構數據

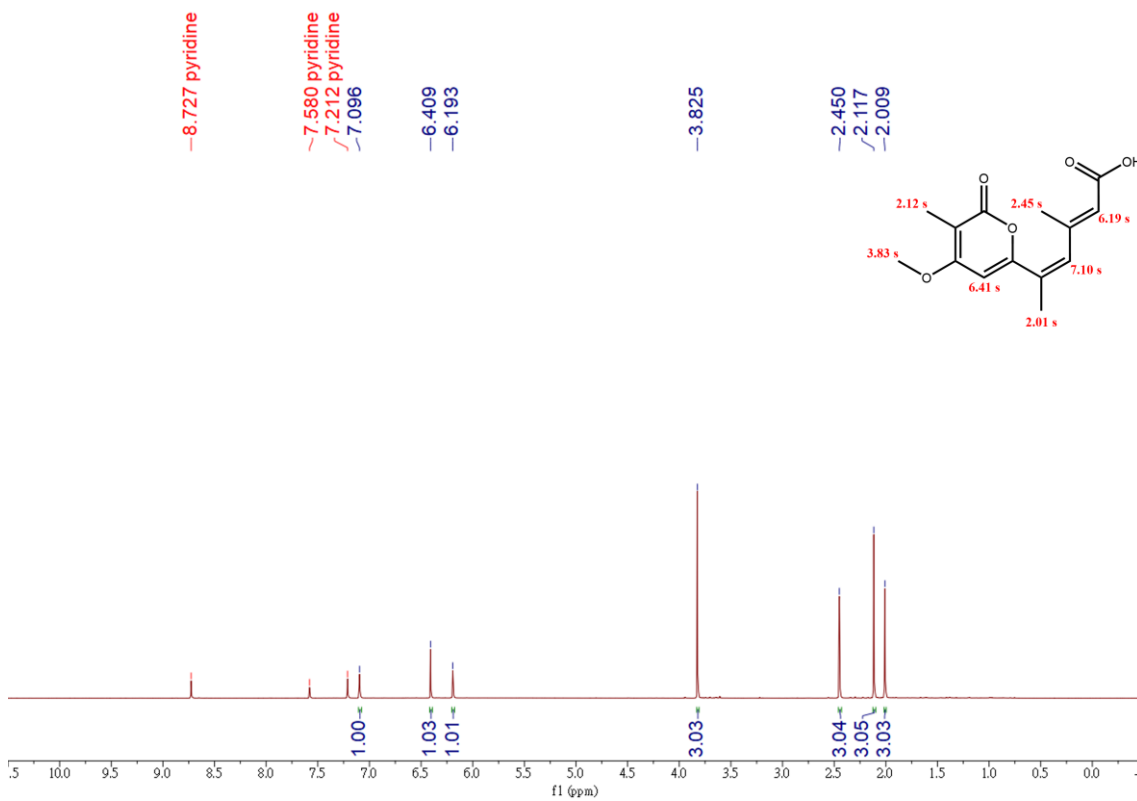


Figure 89. 化合物 **32** 之氫譜 (pyridine- $d_5$ , 600 MHz)

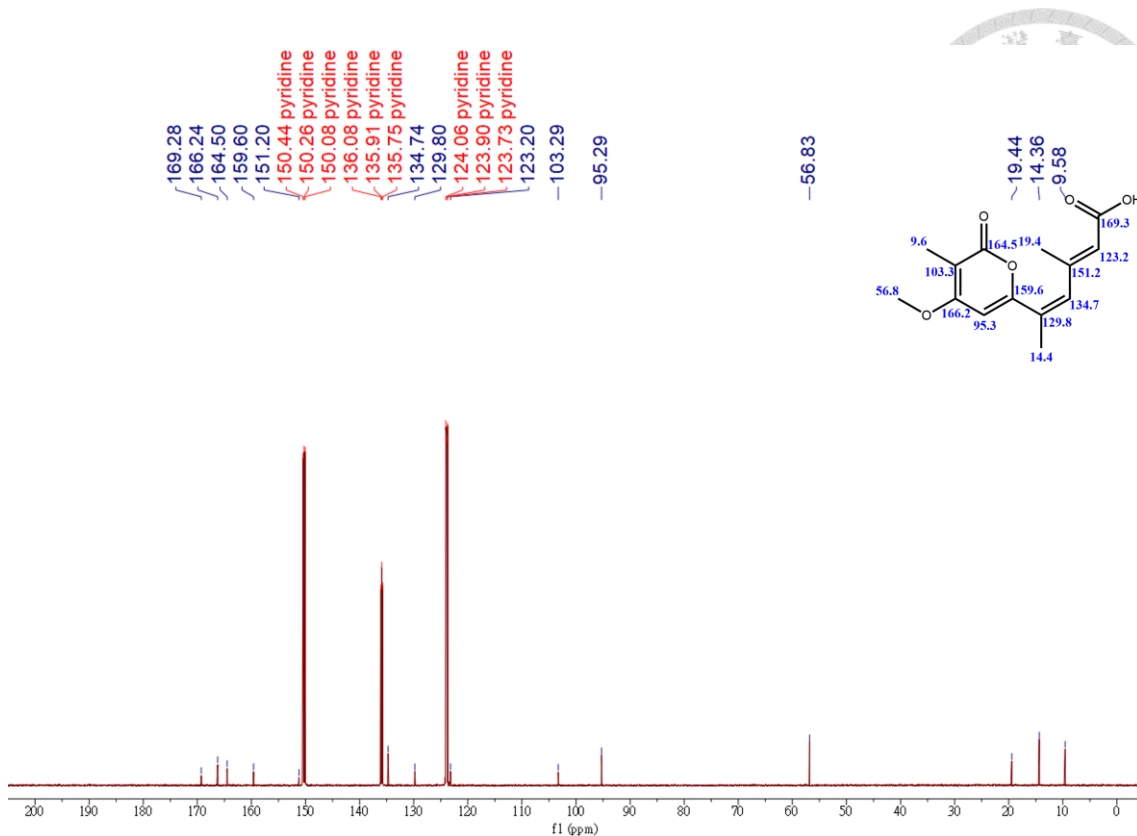


Figure 90. 化合物 **32** 之碳譜 (pyridine- $d_5$ , 150 MHz)

### 3.3.33 Stemphyloxin II (**33**) 之結構數據

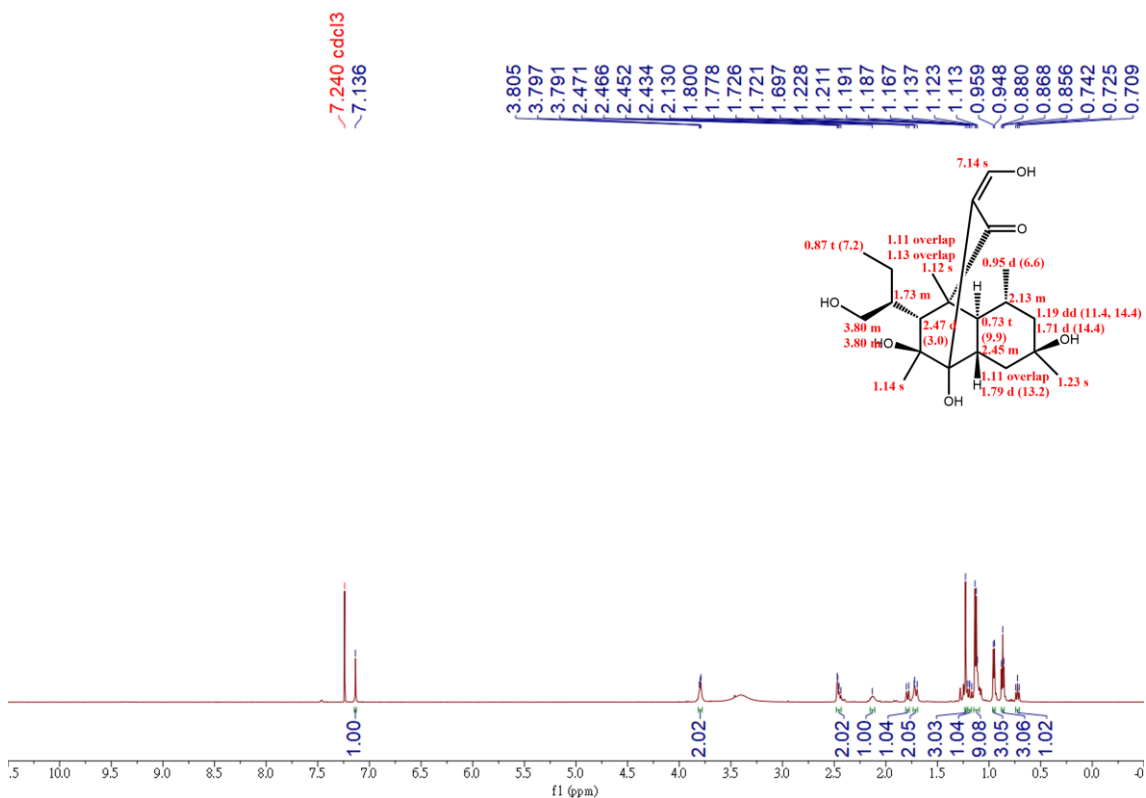


Figure 91. 化合物 **33** 之氫譜 (chloroform- $d$ , 600 MHz)

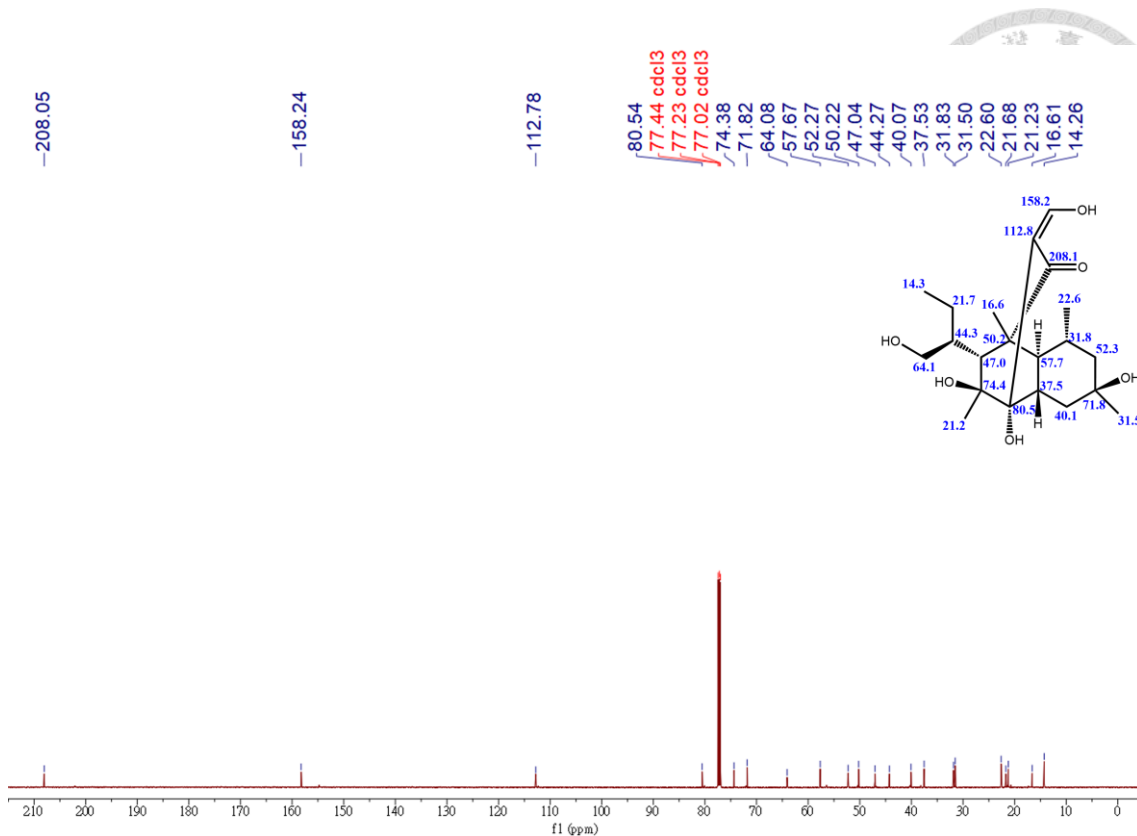


Figure 92. 化合物 **33** 之碳譜 (chloroform-*d*, 150 MHz)

### 3.3.34 Stemphyloxin I (**34**) 之結構數據

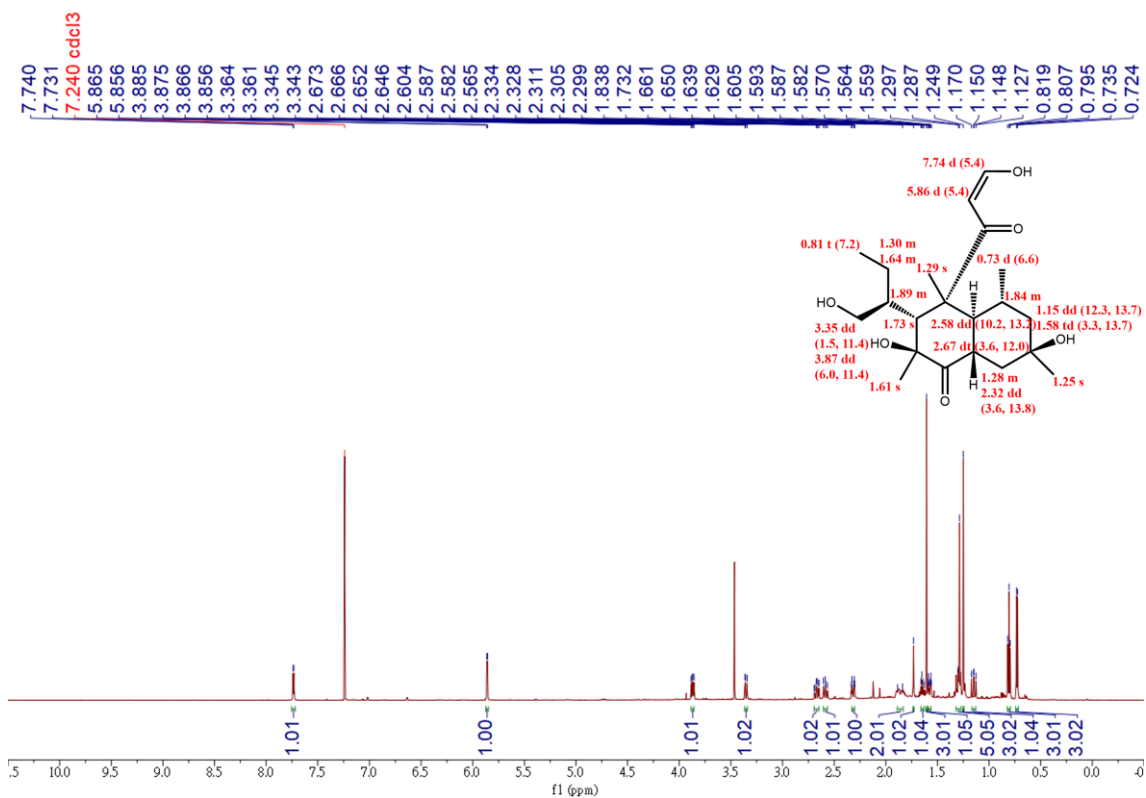


Figure 93. 化合物 **34** 之氫譜 (chloroform-*d*, 600 MHz)





### 3.4 化合物 1-3 之物理數據

Aureonitol C (**1**): white powder;  $[\alpha]_D^{27}$  -9.8 (*c* 0.1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ) 232 (4.36), 272 (3.33) nm; IR (ATR)  $\nu_{\max}$  3357, 2926, 2879, 1672, 1646, 1405, 1332, 1210, 1090, 1038  $\text{cm}^{-1}$ ; HRESIMS  $m/z$  223.1329  $[\text{M} + \text{H}]^+$  (calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{O}_3$ , 223.1334);  $^1\text{H}$  NMR data (methanol- $d_4$ , 600 MHz) see Table 4;  $^{13}\text{C}$  NMR data (methanol- $d_4$ , 150 MHz) see Table 4.

Mollipilin G (**2**): yellowish amorphous;  $[\alpha]_D^{27}$  +22.2 (*c* 0.1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ) 230 (3.74), 280 (3.58) nm; IR (ATR)  $\nu_{\max}$  3365, 2940, 2841, 1704, 1672, 1634, 1452, 1395, 1267, 1198, 1112, 1019  $\text{cm}^{-1}$ ; HRESIMS  $m/z$  255.1227  $[\text{M} + \text{H}]^+$  (calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{O}_5$ , 255.1232) and 253.1087  $[\text{M} - \text{H}]^-$  (calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_5$ , 253.1081);  $^1\text{H}$  NMR data (methanol- $d_4$ , 600 MHz) see Table 5;  $^{13}\text{C}$  NMR data (methanol- $d_4$ , 150 MHz) see Table 5.

Mollipilin H (**3**): yellowish amorphous;  $[\alpha]_D^{27}$  +36.4 (*c* 0.1, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  ( $\log \epsilon$ ) 222 (3.65), 275 (3.39) nm; IR (ATR)  $\nu_{\max}$  3412, 2968, 2944, 2871, 2838, 1708, 1634, 1461, 1367, 1265, 1195, 1056, 1024  $\text{cm}^{-1}$ ; HRESIMS  $m/z$  269.1383  $[\text{M} + \text{H}]^+$  (calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{O}_5$ , 269.1389) and 267.1242  $[\text{M} - \text{H}]^-$  (calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{O}_5$ , 267.1238);  $^1\text{H}$  NMR data (methanol- $d_4$ , 600 MHz) see Table 6;  $^{13}\text{C}$  NMR data (methanol- $d_4$ , 150 MHz) see Table 6.



### 3.5 化合物活性平台測試

#### 3.5.1 一氧化氮抑制與細胞存活率之實驗結果

本實驗由臺北醫學大學醫學科學研究所蕭哲志教授協助進行，利用 Griess reagent assay 分析脂多醣 (lipopolysaccharide, LPS) 誘導之小鼠神經微膠細胞 (microglial BV-2) 的一氧化氮 (nitric oxide, NO) 產生量，以評估真菌中所產二次代謝產物是否具有抑制一氧化氮的作用，同時利用 alamar Blue assay 來評估對於 BV-2 細胞是否具有抑制細胞增生或毒殺細胞之作用，確認其 NO 抑制效果並非因為細胞死亡而造成的。

結果顯示，化合物 **1** - **8**、**10**、**11**、**14**、**15**、**18** 和 **19** 在 10  $\mu\text{M}$  的濃度下抑制百分比分別為 42.3%、50.2%、51.7%、68.2%、111.6%、44.7%、48.2%、92.6%、71.8%、45.7%、99.1%、90.6%、72.9% 和 45.0% (Figure 95)，薑黃素作為對照組對 NO 產生的抑制率為 100.4%。後續在 MTT 細胞存活率的測試中，結果顯示化合物 **5** 和 **8** 在 20  $\mu\text{M}$  的濃度下對 BV-2 細胞有細胞毒殺活性，其他則無細胞毒殺活性，且細胞存活率皆高於 90% (Figure 96)，顯示 **8** 在細胞存活率的表現上顯示 NO 抑制效果是因為細胞死亡而造成。

後續將化合物 **5**、**14** 及 **15** 進行半抑制濃度 ( $\text{IC}_{50}$ ) 的計算，並以薑黃素 (curcumin) 作為對照組。結果如 Table 7 所示，化合物 **5**、**14** 及 **15** 的  $\text{IC}_{50}$  值分別是  $0.7 \pm 0.1$ 、 $1.2 \pm 0.1$  和  $1.6 \pm 0.2$   $\mu\text{M}$ ，薑黃素則是  $2.7 \pm 0.3$   $\mu\text{M}$ 。

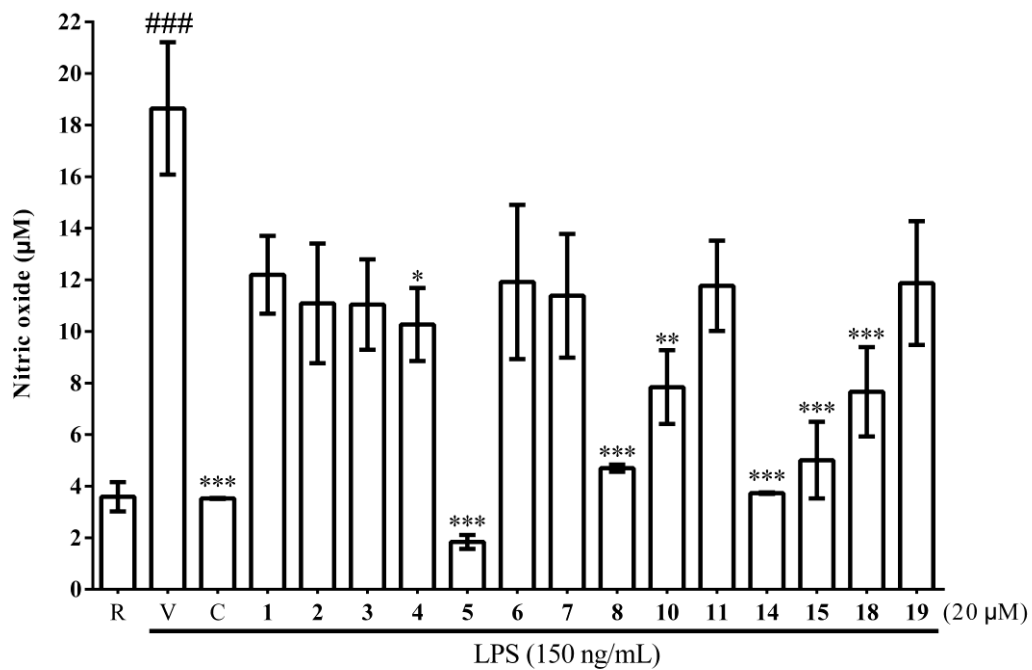


Figure 96. 化合物 1 - 8、10、11、14、15、18 和 19 對 LPS 刺激 BV-2 細胞一氧化氮生成之影響

(Data are expressed as the mean  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). ### $p < 0.001$ , compared with the resting group; \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  and \*\*\* $p < 0.001$ , compared with the group of stimulation.)

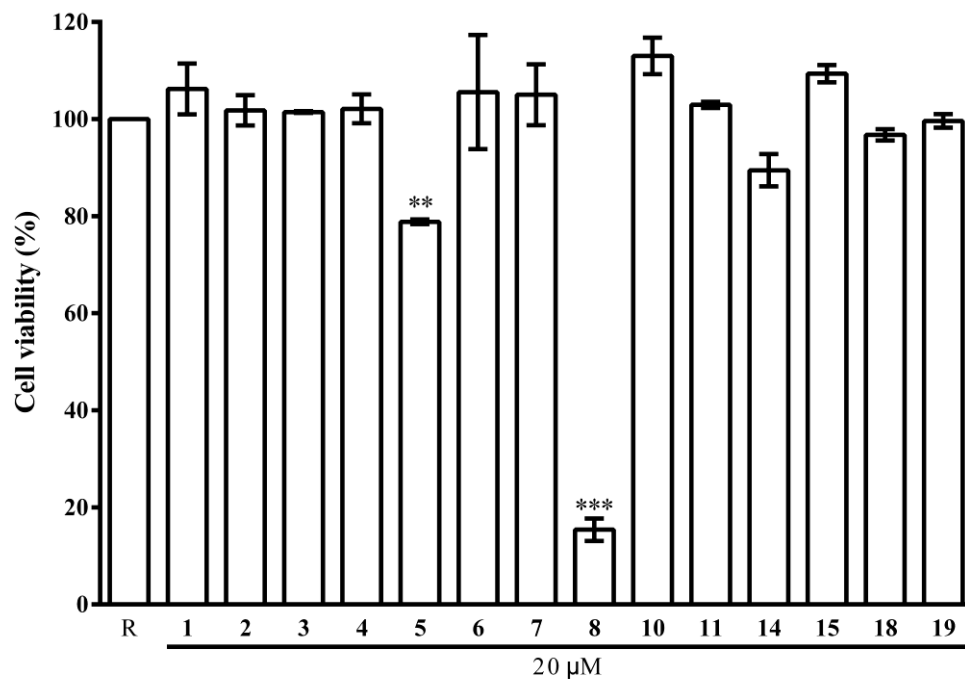


Figure 97. 化合物 1 - 8、10、11、14、15、18 和 19 對 BV-2 細胞存活之影響

Table 7. 化合物 **5**、**14**、**15** 及薑黃素 (curcumin) 之半抑制濃度

compound	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>a,b</sup>
<b>5</b>	0.7 ± 0.1 ***
<b>14</b>	1.2 ± 0.1 **
<b>15</b>	1.6 ± 0.2 **
Curcumin <sup>c</sup>	2.7 ± 0.3

<sup>a</sup> IC<sub>50</sub> = concentration that reduces NO production by 50%.

<sup>b</sup> Asterisks denote significance compared to curcumin (positive control) according to the two-tailed *t*-test.

\*\**p* < 0.01, and \*\*\**p* < 0.001.

<sup>c</sup> Positive control used in this study.





### 3.5.2 抗血管增生試驗

本實驗由馬偕醫學院醫學系王士維教授協助進行，利用人類血管內皮前驅細胞 (endothelial progenitor cells ; EPCs) 評估化合物抑制 EPC 生長之活性。

結果顯示，化合物 **5**、**8**、**10**、**11**、**14** 和 **15** 在 10  $\mu$ M 的濃度下細胞存活率分別為 <0%、 $10 \pm 3\%$ 、 $37 \pm 3\%$ 、<0%、 $10 \pm 3\%$ 和 <0% (Table 8)。

後續將化合物 **5**、**8**、**10**、**11**、**14** 和 **15** 進行半抑制濃度 ( $IC_{50}$ ) 的計算，並以血管新生抑制劑 sorafenib 作為對照組。結果如 Table 9 所示，化合物 **5**、**8**、**10**、**11**、**14** 和 **15** 的  $IC_{50}$  值分別是  $5.6 \pm 0.1$ 、 $4.6 \pm 0.1$ 、 $8.1 \pm 0.4$ 、 $0.8 \pm 0.3$ 、 $5.2 \pm 0.3$  和  $2.9 \pm 0.3 \mu$ M，sorafenib 則是  $4.8 \pm 0.3 \mu$ M。

Table 8. 化合物 **1** - **8**、**10**、**11**、**14**、**15**、**18** 和 **19** 在不同濃度下對 EPCs 細胞存活之影響

Cell survival (%)	EPCs ( $\mu$ g/mL)				
	Treatment-48 h	CTL	50 $\mu$ M	10 $\mu$ M	1 $\mu$ M
<b>1</b>		$100 \pm 0$	$100 \pm 3$		
<b>2</b>		$100 \pm 0$	$100 \pm 2$		
<b>3</b>		$100 \pm 0$	$101 \pm 3$		
<b>4</b>		$100 \pm 0$	$96 \pm 5$		
<b>5</b>		$100 \pm 0$	<0	<0	$100 \pm 2$
<b>6</b>		$100 \pm 0$	$101 \pm 2$		
<b>7</b>		$100 \pm 0$	$103 \pm 5$		
<b>8</b>		$100 \pm 0$	<0	$10 \pm 3$	$77 \pm 2$
<b>10</b>		$100 \pm 0$	<0	$37 \pm 3$	$99 \pm 2$
<b>11</b>		$100 \pm 0$	<0	<0	$38 \pm 3$
<b>14</b>		$100 \pm 0$	<0	$10 \pm 3$	$82 \pm 1$
<b>15</b>		$100 \pm 0$	<0	<0	$63 \pm 2$
<b>18</b>		$100 \pm 0$	$86 \pm 3$		
<b>19</b>		$100 \pm 0$	$93 \pm 3$		

Table 9. 化合物 **5**、**8**、**10**、**11**、**14** 和 **15** 及索拉非尼 (sorafenib) 之半抑制濃度

compound	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>a</sup>
<b>5</b>	5.6 ± 0.1
<b>8</b>	4.6 ± 0.1
<b>10</b>	8.1 ± 0.4
<b>11</b>	0.8 ± 0.3
<b>14</b>	5.2 ± 0.3
<b>15</b>	2.9 ± 0.3
Sorafenib <sup>b</sup>	4.8 ± 0.3

<sup>a</sup> EPCs were treated with the indicated compounds for 48 h. Anti-angiogenic effects were evaluated in a cell growth assay ( $n = 3$ ). Data are displayed as the mean ± SEM.

<sup>b</sup> Positive control used in this study.





### 3.5.3 抗病毒之實驗結果

本實驗由國立台灣大學生化科技所張麗冠教授協助進行，利用西方墨點法分析 EBV (Epstein-Barr virus) 溶裂蛋白質 Rta、Zta 和 EA-D 之表現，評估真菌中所產二次代謝物是否對 P3HR1 細胞株的 EBV 再活化具有抑制效果。

結果顯示，化合物 **23** - **25** 在 10  $\mu\text{M}$  的濃度對 EBV 再活化具有明顯的抑制效果 (Figure 97)，並觀察微管蛋白 ( $\beta$ -tubulin) 的表現，判斷其病毒抑制效果是否來自對細胞的毒殺活性，而 **23** - **26** 並沒顯示明顯的細胞毒性。並進一步以 ImageJ 計算各濃度化合物條件處理之 Rta 表現量，推算半效應濃度 ( $\text{EC}_{50}$ )，分別 1.94、3.01 和 1.59  $\mu\text{M}$  (Table 10)。

後續利用 MTT 檢測化合物 **23** - **26** 於不同濃度下對 P3HR1 細胞存活率之影響，並計算出 50%細胞毒性濃度 ( $\text{CC}_{50}$ )。結果顯示化合物 **23** - **26** 之  $\text{CC}_{50}$  值分別是 13.3、22.8、 $\approx 100$  和  $>100$   $\mu\text{M}$ ，之後藉由選擇指數 (selectivity index, SI) 的計算，評估化合物是否具有進一步研究的潛力，化合物 **23** - **25** 的 SI 值分別為 6.9、6.5 和 62.8。

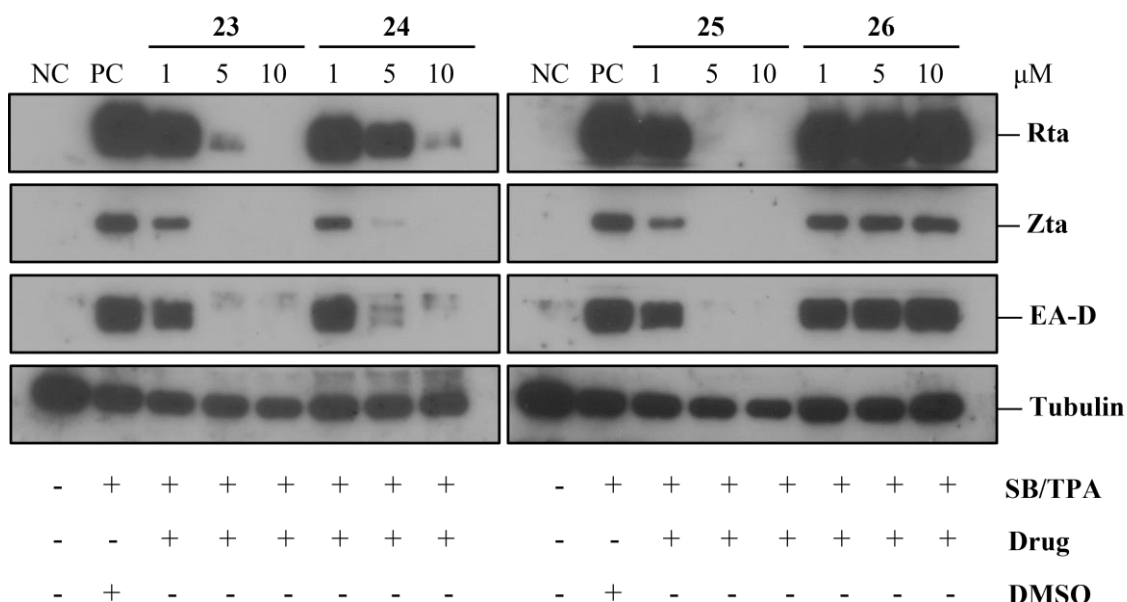


Figure 98. 化合物 **23** - **26** 在不同濃度下對 P3HR1 細胞的 EBV 再活化 Rta、Zta、EA-D 和 tubulin 表現之影響

Table 10. 化合物 **23** - **26** 對 P3HR1 細胞的 EBV 再活化之半效應濃度、50%細胞  
毒性濃度以及選擇指數

Compounds	24 hr Treatment		
	EC <sub>50</sub> (μM)	CC <sub>50</sub> (μM)	SI <sup>a</sup>
<b>23</b>	1.4 ± 0.3	11.6 ± 0.7	8.5
<b>24</b>	2.2 ± 0.7	17.8 ± 0.9	7.9
<b>25</b>	1.4 ± 0.3	11.0 ± 0.9	7.7
<b>26</b>	ND	ND	ND

<sup>a</sup> SI = CC<sub>50</sub> / EC<sub>50</sub>, A SI value ≥ 10 was assumed to belong of a selected potential sample that can be further investigated.

ND = not determined



## 第四章 實驗部分

### 4.1 儀器設備與試劑

#### 4.1.1 化合物之物理性質測定儀器

Optical rotation: JASCO P-2000 Digital Polarimeter (JASCO, Tokyo, Japan)

UV-Visible: Thermo UV-Visible He $\lambda$ ios  $\alpha$  Spectrophotometer (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)

FT-IR: JASCO FT/IR 4100 spectrometer (Tokyo, Japan)

NMR: AVIII-500 spectrometer (Bruker, Ettlingen, Germany) and Agilent 600 MHz DD2 NMR spectrometer (Agilent, USA)

HRESIMS: Q Exactive Plus Hybrid Quadrupole-Orbitrap Mass Spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany) and Orbitrap Exploris 120 mass spectrometer (Thermo Scientific, Germany)

CD: JASCO J-815 Spectropolarimeter (Tokyo, Japan)

#### 4.1.2 高效能液相層析系統

HPLC: Hitachi L-7000 system (Hitachi, Tokyo, Japan) and Agilent 1100 HPLC VWD system (Agilent, CA, USA)

Detector: Bischoff RI-8120 RI Detector (Bischoff, Leonberg, Germany)

Column: Phenomenex Luna columns (5  $\mu$ m PFP column, 100  $\text{\AA}$ , 250  $\times$  10.0 mm and 5  $\mu$ m PFP column, 100  $\text{\AA}$ , 250  $\times$  4.6 mm) (Torrance, CA, USA), Phenomenex Luna columns (5  $\mu$ m PFP column, 100  $\text{\AA}$ , 250  $\times$  4.6 mm) (Torrance, CA, USA), SunFire column (5  $\mu$ m C<sub>18</sub> column, 100  $\text{\AA}$ , 250  $\times$  10.0 mm) (Milford, Mass, USA), Phenomenex Gemini column (5  $\mu$ m C<sub>18</sub> column, 110  $\text{\AA}$ , 250  $\times$  4.6 mm) (Torrance, CA, USA) and Thermo Hypersil column (5  $\mu$ m C<sub>18</sub> column, 10  $\times$  250 mm) (Bellefonte, PA, USA)



#### 4.1.3 管柱層析膠體

Sephadex LH-20 (Amersham Bioscience, Uppsala, Sweden)

#### 4.1.3 薄層層析片

Precoated silica gel 60 F254 (Merck, Darmstadt, Germany)

#### 4.1.4 試劑與溶劑

Acetonitrile (L.C., Merck, Darmstadt, Germany)

*n*-Butanol (A.C.S., Avantor Performance Materials, Center Valley, PA, USA)

Ethyl acetate (A.C.S., Avantor Performance Materials, Center Valley, PA, USA)

*n*-Hexane (A.C.S., Avantor Performance Materials, Center Valley, PA, USA)

Methanol (G.R., Merck, Darmstadt, Germany)

Methanol (L.C., Merck, Darmstadt, Germany)

Methanol-*d*<sub>4</sub> (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

Chloroform-*d* (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

DMSO-*d*<sub>6</sub> (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

Pyridine-*d*<sub>5</sub> (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

#### 4.1.5 培養基

Bacto™ Potato Dextrose Agar (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Bacto™ Peptone (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Bacto™ Yeast Extract (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Bacto™ Malt Extract (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

D(+)-Dextrose (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and (Merck, Darmstadt, Germany)

Difco™ LB Broth (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

The organic brown rice (Snata cruz)



## 4.2 實驗材料

### 4.2.1 真菌材料

*Chaetomium globosum* Km1226、*Curvularia intermedia* Km0855 和 *Stenphylium lycopersici* Km1578 皆由金門蓮湖(衛星定位於 24°27'04.0"N, 118°15'06.5"E)採集之馬氏濱藜 (*Atriplex maximowicziana* Makino) 中單離，並使用顯微型態與 18S rRNA 分子序列確定它們的分類位階。

### 4.2.2 菌種 DNA 鑑定

本次實驗使用 Fair Biotech® Genomic DNA Isolation Dual Kit (Plant)，並參考其建議流程。將培養於瓊脂培養基上之菌株，刮取少量孢子與菌絲，置入 1.5 mL 之離心管並加入 50  $\mu$ L 之 solution A，用滅菌過的均質棒將孢子與菌絲磨碎均質化，而後加熱至 98°C 持續 5 分鐘進行反應後，再加入 7  $\mu$ L 之 solution B 混和，離心管放入離心機，轉速為 12,000 rpm，持續 5 分鐘。以下部分為本實驗之 template：使用於 PCR (Polymerase Chain Reaction) 的樣品內容物為 10 mM 的 Forward Internal Transcribed Spacer 為 ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCAAGG-3') 1  $\mu$ L、10 mM 的 Reverse Internal Transcribed Spacer 為 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 1  $\mu$ L、template 1  $\mu$ L、2X Tag enzyme 25  $\mu$ L 和 dd H<sub>2</sub>O 22  $\mu$ L，共 50  $\mu$ L。循環條件為(1)變性：於 94°C 的環境下持續 20 秒；(2)接合：降溫至 55°C 持續 20 秒；(3)延伸：增溫至 72°C 持續 60 秒，並依照上述參數往復循環 30 次進行序列放大。PCR 結束後，將樣品取 5  $\mu$ L 載入 Agarose 並放置於環境為 1% TAE 的電泳槽中進行電泳，確認 PCR 步驟是否成功，若成功就將 PCR 產物送至基隆米克斯股份有限公司進行核苷酸定序。將菌株 DNA 定序結果上傳至 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 網站，與資料庫進行序列比對。



*Chaetomium globosum* Km1226 定序結果如下：

TCTGGATATG CTGAGGCGGA GGGACATTAC AGAGTTGCAA AACTCCCTAA  
ACCATTGTGA ACGTTACCTA TACCGTTGCT TCGGCGGGCG GCCCCGGGGT  
TTACCCCCCG GGCGCCCTG GCCCCACCG CGGGCGCCCG CCGGAGGTCA  
CCAAACTCTT GATAATTTAT GGCCTCTCTG AGTCTTCTGT ACTGAATAAG  
TCAAACTTT CAACAACGGA TCTCTTGGTT CTGGCATCGA TGAAGAACGC  
AGCGAAATGC GATAAGTAAT GTGAATTGCA GAATTCAGTG AATCATCGAA  
TCTTTGAACG CACATTGCGC CCGCCAGCAT TCTGGCGGGC ATGCCTGTTC  
GAGCGTCATT TCAACCATCA AGCCCCGGG CTTGTGTTGG GGACCTGCGG  
CTGCCGCAGG CCCTGAAAAG CAGTGGCGGG CTCGCTGTCG CACCGAGCGT  
AGTAGCATAc ATCTCGCTCT GGTcGCGCCG CGGGTTCCGG CCGTTAAACC  
ACCTTTTAAC CCAAGGTTGA CCTCGGATCA GGTAGGAAGA CCCGCTGAAC  
TTAAGCATAT CAATAAGCGG AGGAA

本次以 ITS4 和 ITS5 夾出的核苷酸片段序列長度為 575 bp，將此定序結果與 NCBI 的 Nucleotide BLAST 資料庫進行序列 alignment 比對，顯示此株菌應屬於毛殼菌屬 (*Chaetomium globosum*)。此序列已上傳至 NCBI 的 GeneBank 資料庫，Accession number 為 OQ778818。

*Curvularia intermedia* Km0855 定序結果如下：

GATTTTAAGG CTGGCATGCG GAGGGACATT ACACAAAAAA ATATGAAGGC  
TGCACGCGGC TGTGTCTCTT TCGGGGGGCC AGCTTTGCGG AGGCTGAAAT  
ATTTTTCACC CATGTCTTTT GCGCACTTGT TGTTTCCTGG GCGGGTTTCG  
CCCGCCACCA GGACCACACC ATAAATCTTT TTTATGCAGT TGCAATCAGC  
GTCAGTATAA CAAATGTAAA TCATTTACAA CTTTCAACAA CGGATCTCTT



GGTTCTGGCA TCGATGAAGA ACGCAGCGAA ATGCGATACG TAGTGTGAAT  
TGCAGAATTC AGTGAATCAT CGAATCTTTG AACGCACATT GCGCCCTTTG  
GTATTCCAAA GGGCATGCCT GTTCGAGCGT CATTGTACC TTCAAGCTTT  
GCTTGGTGTGTT GGGCGTCTTT TTTTTTTGTC TTGGGGCCTT TTGTGCCCTG  
AAACTCCCCT TAAAACAATT GGCAGCCGGC CTACGGGTTT CGAAGCGCAC  
CACATTTTTG CGCTTGCAAT CAGCAAAGA GCCAGCCAT CCATCAAAC  
CATTCTTCTC ACTTTTGACC TCGGATCAGG TAGGGATACC CGCTGAACTT  
AAGCATATCA TAAGGCGGAG AAA

本次以 ITS4 和 ITS5 夾出的核苷酸片段序列長度為 623 bp，將此定序結果與 NCBI 的 Nucleotide BLAST 資料庫進行序列 alignment 比對，顯示此株菌應屬於彎孢屬 (*Curvularia intermedia*)。

*Stenphylium lycopersici* Km1578 定序結果如下：

GGCCAGGTTA CTTCTGATC CGAGGTCAA GTTAAAAAA ATAGGGTCTT  
GATGGATGCT CAACCAAGGC TGATTCAAAG TGCAAGAATT GTGCTGCGCT  
CCGAAACCAG TAGGTCGGCT GCCAATGATT TTAAGGCGAG TCTCGTGAGA  
GACAAGACGC CCAACACCAA GCAAAGCTTG AGGGTACAAA TGACGCTCGA  
ACAGGCATGC CCTTTGGAAT ACCAAAGGGC GCAATGTGCG TTCAAAGATT  
CGATGATTCA CTGAATTCTG CAATTCACAC TACGTATCGC ATTTGCTGCTG  
GTTCTTCATC GATGCCAGAA CCAAGAGATC CGTTGTTGAA AGTTGTAATA  
ATTACATTGT TTACTGACGC TGATTGCAAT TACAAAAGG TTTATGGTTT  
GGTCCTGGTG GCGGGCGAAC CCGCCAGGA AACAAGAAGT GCGCAAAGA  
CATGGGTGAA TAATTCAGAC AAGCTGGAGC CCTCACCGAA GTAAGGTCCC  
AGCCCGCTTT CATATTGTGT AATGATCCCT CCGCAGGTT ACCTACGGAG  
ACCTTGTTAC GTTTTTTATA CTTTCCA



本次以 ITS4 和 ITS5 夾出的核苷酸片段序列長度為 577 bp，將此定序結果與 NCBI 的 Nucleotide BLAST 資料庫進行序列 alignment 比對，顯示此株菌應屬於匍柄霉屬 (*Stenphylium lycopersici*)。

#### 4.2.3 內生真菌菌株分離

預實驗之採集地點為金門蓮湖，衛星定位於 24°27'04.0"N, 118°15'06.5"E；彰化王功漁港，衛星定位於 23°58'05.3"N, 120°19'28.2"E，作為爾後採集時之定位參考，除避免重複採集外，也維護當地的族群數量。採得之植物體冷藏迅速帶回實驗室，進行拍照、鑑種後，備衍生真菌的單離。以滅過菌的無菌水清洗植株數次，並從植株取樣(莖或葉)，接著先以 75%酒精清洗樣本 30 秒，再來以 4%漂白水消毒 10 秒，最後以無菌水潤洗，然後有兩種做法，一為將取樣切成約 0.5 cm<sup>2</sup> 小塊貼至選擇性培養基 (1/2 PDA 含有 50 ppm 的青黴素和 50 ppm 的鏈黴素) 上，另一做法則是取樣樣本進行均質後，將均質液接入上述選擇性培養基(未凝固)，並傾注至平盤中，接著逐日觀察培養基，將長出的菌絲接種至新的培養基 (1/2 PDA) 上，經反覆數次的單離後，始能確認為單一菌株，並將菌株進行保種 (10% glycerol + 5% lactose) 存放於 -80 °C 冰箱，以備後續研究。共計分離 1,534 株真菌(編號 Km0430-Km2424 和 NTU1657-NTU1941)

#### 4.2.4 真菌菌株篩選

##### 4.2.4.1 小量培養與二次代謝產物萃取

菌株接種在 1/2 PDA 瓊脂培養皿中於 29 °C 的環境培養二週後，待真菌活化後，挖取 0.5 cm<sup>3</sup> 的數個菌塊，接種至錐形瓶中 (100 mL PDY)，以 180 rpm 在 26 °C 的環境下搖瓶培養 14 天，爾後進行濾紙過濾，使用乙酸乙酯溶劑與發酵濾液以等體積進行萃取，重複兩次，所得萃取液經濃縮後，存放於 4 °C 冰箱以備後續生物活性篩選研究。



#### 4.2.4.2 抗菌試驗 (disk-diffusion method)

本實驗所使用的人體致病菌包括：金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* YC981)、大腸桿菌 (*Escherichia coli* DH5 $\alpha$ )、新型隱球菌 (*Cryptococcus neoformans* H99) 和白色念珠菌 (*Candida albicans* SC5314)。

將測試樣本(溶質)添加甲醇回溶並調整欲測試之濃度，利用紙錠擴散法進行抗菌試驗，將待測之粗萃液 (40  $\mu$ L) 滴於 0.8 cm<sup>2</sup> 紙錠 (Advantec, Japan) 上，陰乾後，將紙錠置於含病原菌的培養基上，於 37 °C 的環境培養(細菌 24 小時觀察；真菌則為 48 小時)後，觀察抑菌圈 (zone of inhibition)。

#### 4.2.4.3 抗菌試驗 (broth microdilution method)

本實驗由與日內瓦大學微生物與分子醫學系 Köhler 教授實驗室合作進行。使用的人體致病菌包括：金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* NEWMAN) 和大腸桿菌 (*Escherichia coli* W3310)。

挑取細菌菌落並在 LB 培養基中於 37 °C 培養過夜。第二天，培養物在 LB 培養基中重新生長至對數期 (OD<sub>600</sub> = 0.6 - 0.8)，持續約 4 小時，並在所需培養基(全 MH 或 12.5% MH)中稀釋至 OD<sub>600</sub> 為 0.022。將化合物在無菌 Milli-Q 去離子水中配製成 2 mg/mL 的儲備溶液，然後在所需介質(全 MH 或 12.5% MH)中稀釋以達到第一次測試的濃度 (32  $\mu$ g/mL)，將化合物加入聚丙烯 (Costar, untreated) 製成的 96 孔無菌圓底微量滴定板的第一個孔中，並在所需培養基(全 MH 或 12.5% MH)進行序列稀釋，直至最終每孔體積皆是 150  $\mu$ L，最後在每個孔中加入 4  $\mu$ L 稀釋的細菌懸浮液，相當於約  $5 \times 10^5$  CFU。於每次測試，保留兩列平板用於無菌控制(僅培養基)、生長控制(含有細菌接種物的培養基，無化合物)。將陽性對照多粘菌素 B(起始濃度為 16  $\mu$ g/mL)置於含有細菌接種物的 MH 培養基中，並引入平板的兩條線上。將培養皿在 37 °C 下培養約 18 小時(靜態條件下)。接下來，將 15  $\mu$ L 3-(4,5-

dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) (1 mg/mL in sterilized MilliQ deionized water) 加入到每個孔中，將培養板在室溫下反應 20-30 分鐘。最低抑菌濃度 (MIC) 定義為化合物抑制肉眼可見測試細菌(黃色)生長的最低濃度。

#### 4.2.4.4 抗病毒活性篩選

本實驗由國立台灣大學生化科技系張麗冠教授協助進行，將 P3HR1 細胞 ( $6 \times 10^5$  cell/ml) 放置在 5% CO<sub>2</sub>、37°C 的環境中培養 24 小時後，再加入 SB (Sodium butyrate) 誘導細胞進入溶裂循環，並在前 1 小時加入測試樣本培養 24 小時後收集細胞，再以 lysis buffer 溶解細胞，經過離心取得上清液蛋白質，進一步利用西方墨點法來分析 EBV 病毒溶裂蛋白質 Rta, Zta 及 EA-D 的表現。並且以影像分析軟體 (ImageJ) 掃描影像強度進行數據分析，以  $\beta$ -tubulin 作為控制組換算 Rta, Zta 和 EA-D 的相對表現量。

### 4.3 分子網絡建立

#### 4.3.1 LC Full MS Scan 和 Data-Dependent LC-MS/MS 分析

利用配備二元幫浦 H、雙分流採樣器 HT 和二極體陣列偵檢儀 FG 的 Vanquish Horizon (Thermo Scientific, Germany) 搭配 Orbitrap Exploris 120 質譜儀 (Thermo Scientific, Germany) 和 Corona Veo RS 荷電氣溶膠偵檢儀 (CAD, Thermo Scientific, Germany) 分析樣本。樣本進樣量為 3  $\mu$ L，以含有 0.1% FA 的 H<sub>2</sub>O (A) 和含有 0.1% FA 的 ACN 作為流動相進行層析分離，梯度參數如下 (%B, time (min))：8.2 (0.0)  $\rightarrow$  99 (6.4)  $\rightarrow$  99 (8.8)  $\rightarrow$  8.2 (9.0)  $\rightarrow$  8.2 (10.0)。

Orbitrap 採用加熱電噴霧電離源 (H-ESI)，其參數如下：噴霧電壓：+3.5 kV；離子傳輸管溫度：320.0°C；汽化器溫度：320.0°C；S-lens RF：45 (arb units)；鞘氣流量：35.00 (arb units)；Sweep Gas (arb)：1 和輔助氣體流速：10.0 (arb. units)。使用 Thermo Scientific Xcalibur 軟體 v.4.6.67.17 進行儀器的控制。以 30,000 fwhm 的

解析度獲得 Full Scan；以 15,000 fwhm 的解析度在質荷比 100-1000 的範圍內獲得 MS<sup>2</sup> 掃描。1 次微掃描參數如下：時間：200 毫秒；RF lens：70%；自動增益控制目標：300%；最大注入時間：130 毫秒。



#### 4.3.2 使用 MZmine 3 進行特徵處理

將得到的 MS<sup>2</sup> 原始資料以 MSConvert 轉檔成 mzML 格式，並利用 MZmine 3 進行 HRMS 特徵檢測，包括峰提取 (Peak picking)、峰篩選 (Peak filtering)、峰校準 (Peak alignment)、峰分組 (Peak grouping) 等，處理步驟如下：「Mass detection」、「Chromatogram builder」、「Smoothing」、「Local minimum resolver」、「13C isotope filter」、「Isotopic peaks finder」、「Join aligner」、「Feature list blank subtraction」、「Feature list rows filter」、「Peak finder」、「Duplicate peak filter」、「Correlation grouping」和「ion identity networking」，將所有特徵、滯留時間和特徵清單進行函數校正，最後將產生包含完整 MS 和 MS<sup>2</sup> 特徵的資料匯出成 Molecular networking files 用於下游 GNPS 分析。

#### 4.3.3 分子網絡

運用天然物分子網絡平台 (Global Natural Product Social Molecular Networking, GNPS) (<http://gnps.ucsd.edu>) 將帶有 MZmine 3 處理過的 FBMN 文件進行分析，其參數設定如下：前驅離子質量公差：2.0 Da；MS<sup>2</sup> 碎片離子公差：0.5 Da；最小峰值：≥ 6；餘弦得分：≥ 0.7。下載輸出檔案 GRAPHML file 之結果資料，並透過 Cytoscape 3.10.3 進行可視化，創建分子網絡。

#### 4.3.4 統計分析

同時利用 MZmine 3 將處理過的樣本輸出成 Statistic export (MetaboAnalyst) CSV file，將樣本依位階分類和編號分組後，上傳至 MetaboAnalyst 6.0 平台

([www.metaboanalyst.ca](http://www.metaboanalyst.ca)) 進行統計分析，並根據 median intensity values 執行資料過濾，再以 Pareto scaling 進行標準化，處理步驟如下：「Data check」、「Missing value」、「Data filter」、「Data editor」和「Normalization」，最後以主成分分析 (PCA) 和層次聚類分析 (HCA) 樹狀圖呈現分析結果。

## 4.4 真菌擴量培養與成分分離

### 4.4.1 培養基配製

Plates：每 1 L 去離子水中含 39.0 g 馬鈴薯葡萄糖培養基 (Bacto™ Potato Dextrose Agar, PDA)，經 121°C 下滅菌 15 分鐘，分別倒入 Petri dishes 中，冷卻後即可作為平盤培養基。

Broths：使用 Peptone dextrose yeast extract (PDY) 培養基，每 1 L 去離子水中含 2.0 g 蛋白胨 (Bacto™ Peptone)、10.0 g 葡萄糖 (D(+)-Dextrose (Sigma-Aldrich)) 及 1.0 g 酵母萃取物 (Bacto™ Yeast Extract)，或是使用 Malt extract (Bacto™) 培養基，每 1 L 海水中含 20 麥芽糖抽出物 (SM)，於培養容器中，經 121°C 下滅菌 15 分鐘，冷卻後即可作為培養真菌之液態培養基。

Solid-state fermentation：每 250 mL 錐形瓶中裝有 20 g 有機發芽玄米，並加入 10 mL 液態 PDY 培養基，經 121°C 下滅菌 15 分鐘，冷卻後即可作為培養真菌之固態培養基。

### 4.4.2 *Chaetomium globosum* Km1226 液態發酵液萃取 (by flask)

將 *Chaetomium globosum* Km1226 接種至 5 個直徑 5.5 cm 之 1/2 PDA 洋菜膠培養基，於 29°C 培養 10 天後，每盤長滿菌絲的洋菜膠培養基切成數個 0.5 cm<sup>3</sup> 的菌塊，並接種於 144 瓶含有 100 mL PDY 液態培養基的 250 mL 錐形瓶中，在 26°C 的環境中進行搖瓶發酵 14 天，培養的總體積為 14.4 L。

培養 14 天後，再利用抽氣過濾裝置分離菌絲體和發酵菌液，接著以 1:1.3 體



積比例的發酵菌液與乙酸乙酯溶劑進行分配萃取，重複二次，所得萃取液經減壓濃縮獲得乙酸乙酯層粗萃物約 4.2 g。

#### 4.4.3 *Chaetomium globosum* Km1226 液態發酵液萃取 (by bottle)

將 *Chaetomium globosum* Km1226 接種至 1 個直徑 5.5 cm 之 1/2 PDA 洋菜膠培養基，於 29°C 培養 10 天後，每盤長滿菌絲的洋菜膠培養基切成數個 0.5 cm<sup>3</sup> 的菌塊，並接種於 2 瓶含有 3.5 L PDY 液態培養基的 5 血清瓶中，在 26°C 的環境中進行曝氣發酵 14 天，培養的總體積為 7.0 L。

培養 14 天後，再利用抽氣過濾裝置分離菌絲體和發酵菌液，接著以 1 : 1.3 體積比例的發酵菌液與乙酸乙酯溶劑進行分配萃取，重複二次，所得萃取液經減壓濃縮獲得乙酸乙酯層粗萃物約 1.0 g。

#### 4.4.4 *Chaetomium globosum* Km1226 固態發酵萃取

將 *Chaetomium globosum* Km1226 接種於 1/2 PDA 洋菜膠培養基上，於 29°C 的環境中培養 10 天。將長滿菌絲的洋菜膠培養基切成 0.5 cm<sup>3</sup> 的菌塊並接種於 15 瓶含有 20 g 有機發芽玄米且含有 10 mL PDY 培養液之固態培養基的 250 mL 錐形瓶中，在 26°C 的環境中進行靜置發酵 28 天。

培養 28 天後，再利用冷凍乾燥機將樣本凍乾，接著以粉碎機將之進行均質，以 1 : 1 體積比例的將獲得的粉末與甲醇溶劑進行萃取，重複四次，所得萃取液經減壓濃縮獲得粗萃物約 18.7 g。

#### 4.4.5 *Chaetomium globosum* Km1226 液態發酵液萃取 (OSMAC)

將 *Chaetomium globosum* Km1226 接種於 1/2 PDA 洋菜膠培養基上，於 29°C 的環境中培養 10 天。將長滿菌絲的洋菜膠培養基切成 0.5 cm<sup>3</sup> 的菌塊並接種於 1 瓶含有 70 mg 半胱氨酸和 3.5 L PDY 液態培養基的 5 L 血清瓶中，在 26°C 的環境中



進行曝氣發酵 14 天，培養的總體積為 3.5 L。

培養 14 天後，再利用抽氣過濾裝置分離菌絲體和發酵菌液，接著以 1:1.3 體積比例的發酵菌液與乙酸乙酯溶劑進行分配萃取，重複二次，所得萃取液經減壓濃縮獲得乙酸乙酯層粗萃物約 0.8 g。

#### 4.4.6 *Curvularia intermedia* Km0855 液態發酵液萃取 (by flask)

將 *Curvularia intermedia* Km0855 接種至 5 個直徑 5.5 cm 之 1/2 PDA 洋菜膠培養基，於 29°C 培養 10 天後，每盤長滿菌絲的洋菜膠培養基切成數個 0.5 cm<sup>3</sup> 的菌塊，並接種於 36 瓶含有 100 mL PDY 液態培養基的 250 mL 錐形瓶中，在 26°C 的環境中進行搖瓶發酵 14 天，培養的總體積為 3.6 L。

培養 14 天後，再利用抽氣過濾裝置分離菌絲體和發酵菌液，接著以 1:1.3 體積比例的發酵菌液與乙酸乙酯溶劑進行分配萃取，重複二次，所得萃取液經減壓濃縮獲得乙酸乙酯層粗萃物約 1.0 g。

#### 4.4.7 *Curvularia intermedia* Km0855 液態發酵液萃取 (OSMAC)

將 *Curvularia intermedia* Km0855 接種於 1/2 PDA 洋菜膠培養基上，於 29°C 的環境中培養 10 天。將長滿菌絲的洋菜膠培養基切成 0.5 cm<sup>3</sup> 的菌塊並接種於 8 瓶含有 3.5 LSM 液態培養基的 5 L 血清瓶中，在 26°C 的環境中進行曝氣發酵 14 天，培養的總體積為 28.0 L。

培養 14 天後，再利用抽氣過濾裝置分離菌絲體和發酵菌液，接著以 1:1.3 體積比例的發酵菌液與乙酸乙酯溶劑進行分配萃取，重複二次，所得萃取液經減壓濃縮獲得乙酸乙酯層粗萃物約 0.8 g。

#### 4.4.8 *Stemphylium lycopersici* Km1578 液態發酵液萃取 (by flask)

將 *Stemphylium lycopersici* Km1578 接種於 1/2 PDA 洋菜膠培養基上，於 29°C 的環境中培養 10 天。將長滿菌絲的洋菜膠培養基切成 0.5 cm<sup>3</sup> 的菌塊並接種於 250

瓶含有 100 mL PDY 液態培養基的 250 mL 錐形瓶中，在 26°C 的環境中進行搖瓶發酵 14 天，培養的總體積為 25.0 L。

培養 14 天後，再利用抽氣過濾裝置分離菌絲體和發酵菌液，接著以 1:1.3 體積比例的發酵菌液與乙酸乙酯溶劑進行分配萃取，重複二次，所得萃取液經減壓濃縮獲得乙酸乙酯層粗萃物約 3.2 g。

#### 4.4.9 *Chaetomium globosum* Km1226 液態發酵液 (by flask) 之成分分離與純化

以甲醇將乙酸乙酯層粗萃物回溶，並以濾紙做初步過濾，再以 100% 甲醇作為沖提液進行 Sephadex LH-20 (54 × 2.5 cm i.d.) 管柱層析，其流速為 2.5 mL/min，每 10 分鐘收集 1 試管，一共收集 46 管，所得分液依照其薄層層析 (TLC) 分析結果合併，最後獲得 10 組分液 (Fractions I-X)。

將 Fraction IV 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **1** - **5**、**8**、**11**、**14**、**15**、**18** 和 **19**。

##### Aureonitol C (**1**) :

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，首先使用 Phenomenex Luna 5 μm PFP 半製備管柱 (250 × 10 mm)，搭配流動相 70% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 8.0 min，得到混合物，再進一步利用 SunFire 5 μm C<sub>18</sub> 半製備管柱 (250 × 10 mm)，搭配流動相 30% ACN，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 19.5 min，得到混合物，最後以 Phenomenex Gemini 5 μm C<sub>18</sub> 分析型管柱 (250 × 4.6 mm)，搭配流動相 45% MeOH + 0.1% FA，以流速為 1 mL/min，於滯留時間 10.2 min，得到 **1** (4.3 mg)。

##### Mollipilin G (**2**) :

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，首先使用 Phenomenex Luna 5 μm PFP 半製備管柱 (250 × 10 mm)，搭配流動相 70% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 7.1 min，得到混合物，再進一步利用 SunFire 5 μm



C<sub>18</sub> 半製備管柱 (250 × 10 mm)，搭配流動相 30% ACN + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 11.3 min，得到 **2** (9.6 mg)。

Mollipilin H (**3**)：

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，首先使用 Phenomenex Luna 5 μm PFP 半製備管柱 (250 × 10 mm)，搭配流動相 70% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 8.0 min，得到混合物，再進一步利用 SunFire 5 μm C<sub>18</sub> 半製備管柱 (250 × 10 mm)，搭配流動相 30% ACN，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 14.0 min，得到混合物，最後以 Phenomenex Gemini 5 μm C<sub>18</sub> 分析型管柱 (250 × 4.6 mm)，搭配流動相 50% MeOH + 0.1% FA，以流速為 1 mL/min，於滯留時間 5.0 min，得到 **3** (7.7 mg)。

Aureonitol (**4**)：

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5 μm PFP 半製備管柱 (250 × 10 mm)，搭配流動相 70% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 18.8 min，得到 **4** (0.6 g)。

Mollipilin A (**5**)：

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，首先使用 Phenomenex Luna 5 μm PFP 半製備管柱 (250 × 10 mm)，搭配流動相 70% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 8.0 min，得到混合物，再進一步利用 SunFire 5 μm C<sub>18</sub> 半製備管柱 (250 × 10 mm)，搭配流動相 30% ACN，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 31.0 min，得到 **5** (59.5 mg)。

Chaetoglobosin A (**8**)：

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5 μm PFP 半製備管柱 (250 × 10 mm)，搭配流動相 70% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 38.4 min，得到 **8** (10.5 mg)。

Chaetoglobosin D (**11**)：



取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu\text{m}$  PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 70% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 21.3 min，得到 **11** (7.6 mg)。

**Aureochaeglobosin B (14) :**

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu\text{m}$  PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 70% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 62.0 min，得到 **14** (7.7 mg)。

**Aureochaeglobosin C (15) :**

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu\text{m}$  PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 70% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 38.8 min，得到 **15** (4.9 mg)。

**Chaetoviridin A (18) :**

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu\text{m}$  PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 70% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 61.8 min，得到 **18** (5.2 mg)。

**Chaetomugilin A (19) :**

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu\text{m}$  PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 70% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 14.2 min，得到 **19** (7.8 mg)。

#### 4.4.10 *Chaetomium globosum* Km1226 液態發酵液萃取 (by bottle) 之成分分離與純化

以甲醇將乙酸乙酯層粗萃物回溶，並以濾紙做初步過濾，再以 100% 甲醇作為沖提液進行 Sephadex LH-20 (54  $\times$  2.5 cm i.d.) 管柱層析，其流速為 2.5 mL/min，每 10 分鐘收集 1 試管，一共收集 32 管，所得分液依照其薄層層析 (TLC) 分析結



果合併，最後獲得 7 組分液 (Fractions I-VII)。

將 Fraction III 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **4**、**6** 和 **7**。

Aureonitol (**4**)：

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 65% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 36.2 min，得到 **4** (0.1 g)。

Mollipilin F (**6**)：

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 65% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 19.2 min，得到 **4** (53.5 mg)。

Aureonitol A (**7**)：

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 65% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 21.6 min，得到 **4** (16.3 mg)。

#### 4.4.11 *Chaetomium globosum* Km1226 固態發酵萃取之成分分離與純化

將粗萃物回溶於 250 mL 水溶液的狀態 (MeOH : H<sub>2</sub>O = 1 : 9)，並依序與正己烷、乙酸乙酯、正丁醇分配萃取兩次，並移除溶媒，從而得到正己烷層粗萃物、乙酸乙酯層粗萃物、正丁醇層粗萃物和水層粗萃物。

以甲醇將乙酸乙酯層粗萃物回溶，並以濾紙做初步過濾，再以 100% 甲醇作為沖提液進行 Sephadex LH-20 (50  $\times$  2.5 cm i.d.) 管柱層析，其流速為 2.5 mL/min，每 10 分鐘收集 1 試管，一共收集 40 管，所得分液依照其薄層層析 (TLC) 分析結果合併，最後獲得 4 組分液 (Fractions I-IV)。

將 Fraction III 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **8-13**。



#### Chaetoglobosin A (**8**) :

取 Fraction III 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 50% ACN + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 24.6 min，得到 **8** (0.1 g)。

#### Chaetoglobosin B (**9**) :

取 Fraction III 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 50% ACN + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 17.6 min，得到 **9** (4.1 mg)。

#### Chaetoglobosin C (**10**) :

取 Fraction III 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 50% CAN + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 40.5 min，得到 **10** (47.3 mg)。

#### Chaetoglobosin D (**11**) :

取 Fraction III 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 50% ACN + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 13.1 min，得到 **11** (5.6 mg)。

#### Chaetoglobosin E (**12**) :

取 Fraction III 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 50% ACN + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 15.5 min，得到 **12** (5.1 mg)。

#### Chaetoglobosin F (**13**) :

取 Fraction III 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 50% ACN + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 20.0 min，得到 **13** (19.2 mg)。

#### 4.4.12 *Chaetomium globosum* Km1226 液態發酵液萃取 (OSMAC) 之成分分離與純化

以甲醇將乙酸乙酯層粗萃物回溶，並以濾紙做初步過濾，再以 100% 甲醇作為沖提液進行 Sephadex LH-20 (54 × 2.5 cm i.d.) 管柱層析，其流速為 2.5 mL/min，每 10 分鐘收集 1 試管，一共收集 32 管，所得分液依照其薄層層析 (TLC) 分析結果合併，最後獲得 8 組分液 (Fractions I-VIII)。

將 Fraction VI 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **16** 和 **17**；Fraction IV 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **18-22**。

##### Dihydrocoarctatin (**16**) :

取 Fraction VI 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5 μm PFP 半製備管柱 (250 × 10 mm)，搭配流動相 50% MeOH + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 14.2 min，得到 **16** (5.3 mg)。

##### Coarctatin (**17**) :

取 Fraction VI 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5 μm PFP 半製備管柱 (250 × 10 mm)，搭配流動相 50% MeOH + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 15.3 min，得到 **17** (6.1 mg)。

##### Chaetoviridin A (**18**) :

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5 μm PFP 半製備管柱 (250 × 10 mm)，搭配流動相 85% MeOH + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 14.6 min，得到 **18** (4.8 mg)。

##### Chaetomugilin A (**19**) :

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5 μm PFP 半製備管柱 (250 × 10 mm)，搭配流動相 85% MeOH + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 8.7 min，得到 **19** (98.7 mg)。

##### Chaetomugilin D (**20**) :

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 85% MeOH + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 8.7 min，得到 **20** (4.4 mg)。

11-*Epichaetomugilin A* (**21**) :

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，首先使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 85% MeOH + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 9.2 min，得到混合物，再進一步利用 Phenomenex Gemini 5  $\mu$ m C<sub>18</sub> 分析型管柱 (250  $\times$  4.6 mm)，搭配流動相 35% ACN + 0.1% FA，以流速為 1 mL/min，於滯留時間 15.0 min，得到 **21** (5.3 mg)。

12 $\beta$ -Hydroxychaetoviridin C (**22**) :

取 Fraction IV 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，首先使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 85% MeOH + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 9.2 min，得到混合物，再進一步利用 Phenomenex Gemini 5  $\mu$ m C<sub>18</sub> 分析型管柱 (250  $\times$  4.6 mm)，搭配流動相 35% ACN + 0.1% FA，以流速為 1 mL/min，於滯留時間 21.4 min，得到 **22** (6.6 mg)。

#### 4.4.13 *Curvularia intermedia* Km0855 液態發酵液萃取 (by flask) 之成分分離與純化

以甲醇將乙酸乙酯層粗萃物回溶，並以濾紙做初步過濾，再以 100% 甲醇作為沖提液進行 Sephadex LH-20 (54  $\times$  2.5 cm i.d.) 管柱層析，其流速為 2.5 mL/min，每 10 分鐘收集 1 試管，一共收集 68 管，所得分液依照其薄層層析 (TLC) 分析結果合併，最後獲得 8 組分液 (Fractions I-VIII)。

將 Fraction III 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **23–26**。

(+)-(11*S*,15*R*)-11-hydroxycurvularin (**23**) :

取 Fraction III 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，首先使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 65% MeOH，



以流速為 2 mL/min，於滯留時間 10.7 min，得到混合物，再進一步利用 Thermo Hypersil 5  $\mu\text{m}$  C<sub>18</sub> 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 40% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 24.1 min，得到 **23** (10.1 mg)。

(+)-(11*R*,15*R*)-11-hydroxycurvularin (**24**)：

取 Fraction III 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，首先使用 Phenomenex Luna 5  $\mu\text{m}$  PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 65% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 10.7 min，得到混合物，再進一步利用 Thermo Hypersil 5  $\mu\text{m}$  C<sub>18</sub> 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 40% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 26.5 min，得到 **24** (9.4 mg)。

(*S*)-Dehydrocurvularin (**25**)：

取 Fraction III 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu\text{m}$  PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 65% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 17.4 min，得到 **25** (23.4 mg)。

Curvularin (**26**)：

取 Fraction III 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu\text{m}$  PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 65% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 20.0 min，得到 **26** (51.8 mg)。

#### 4.4.14 *Curvularia intermedia* Km0855 液態發酵液萃取 (OSMAC) 之成分分離與純化

以甲醇將乙酸乙酯層粗萃物回溶，並以濾紙做初步過濾，再以 100% 甲醇作為沖提液進行 Sephadex LH-20 (60  $\times$  2.5 cm i.d.) 管柱層析，其流速為 2.5 mL/min，每 10 分鐘收集 1 試管，一共收集 44 管，所得分液依照其薄層層析 (TLC) 分析結果合併，最後獲得 10 組分液 (Fractions I-X)。

將 Fraction VII 以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **27**；將 Fraction IX 以 HPLC 進



行分離純化，獲得化合物 **28** 和 **29**。

**Lunatin (27) :**

取 Fraction VII以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 95% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 14.1 min，得到 **27** (8.0 mg)。

**Rheomodrin (28) :**

取 Fraction IX以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 80% MeOH + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 23.0 min，得到 **28** (7.0 mg)。

**3,11 $\alpha$ ,12 $\beta$ ,13 $\beta$ ,16-Pentahydroxy-11,12-dihydroperylene-6(13H)-one (29) :**

取 Fraction IX以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 80% MeOH + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 12.9 min，得到 **29** (12.0 mg)。

#### 4.4.15 *Stemphylium lycopersici* Km1578 液態發酵液萃取之成分分離與純化

以甲醇將乙酸乙酯層粗萃物回溶，並以濾紙做初步過濾，再以 100% 甲醇作為沖提液進行 Sephadex LH-20 (67  $\times$  2.5 cm i.d.) 管柱層析，其流速為 2.5 mL/min，每 10 分鐘收集 1 試管，一共收集 55 管，所得分液依照其薄層層析 (TLC) 分析結果合併，最後獲得 15 組分液 (Fractions I-XV)。

將 Fraction VII以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **30**、**31**、**33** 和 **34**；將 Fraction V以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **32**；將 Fraction XI以 HPLC 進行分離純化，獲得化合物 **35**。

**Altersolanol A (30) :**

取 Fraction VII以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，首先使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 75% MeOH，



以流速為 2 mL/min，於滯留時間 7.9 min，得到混合物，依舊使用相同的固定相，轉而增加流動相的極性，流動相改成 55% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 11.7 min，得到 **30** (20.4 mg)。

**Auxarthrol C (31) :**

取 Fraction VII 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，首先使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 75% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 7.9 min，得到混合物，依舊使用相同的固定相，轉而增加流動相的極性，流動相改成 55% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 10.4 min，得到 **31** (4.2 mg)。

**Infectopyrone (32) :**

取 Fraction V 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 75% MeOH + 0.1% FA，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 14.3 min，得到 **32** (10.1 mg)。

**Stemphyloxin II (33) :**

取 Fraction VII 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 75% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 23.4 min，得到 **33** (10.2 mg)。

**Stemphyloxin I (34) :**

取 Fraction VII 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 75% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 18.6 min，得到 **34** (3.4 mg)。

**Stemphyperyleneol (35) :**

取 Fraction XI 以逆相 HPLC 進行純化，配合 RI 偵測儀進行檢測，使用 Phenomenex Luna 5  $\mu$ m PFP 半製備管柱 (250  $\times$  10 mm)，搭配流動相 95% MeOH，以流速為 2 mL/min，於滯留時間 9.4 min，得到 **35** (5.3 mg)。



## 4.5 抗發炎活性評估

本實驗由臺北醫學大學醫學科學研究所蕭哲志教授協助進行。利用 Griess reagent assay 分析一氧化氮濃度，評估所分離之二次代謝產物是否對於 BV-2 細胞具有抑制一氧化氮產生的作用。

### 4.5.1 細胞培養

小鼠神經微膠細胞株 (murine microglial cell line, BV-2) 培養在含有 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum)、L-glutamine、penicillin、streptomycin、HEPES 及 NaHCO<sub>3</sub> 的 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) 培養液中，培養在 37 °C、5%二氧化碳和 95%潮濕空氣中。

### 4.5.2 Griess reagent assay

將定量好的 BV-2 細胞 ( $5 \times 10^5$  cells/well) 分置於 24 well 培養盤中，於恆溫培養箱中培養 24 小時後，移除培養液，加入不含酚紅的 DMEM 新培養液，再加入溶於 DMSO 中的樣品包含：空白對照組 (0.1% dimethyl sulfoxide) 與化合物 **1-8**、**10**、**11**、**14**、**15**、**18** 和 **19** (10  $\mu$ M)，30 分鐘後給予 LPS 150 ng/mL 反應 24 小時。取出細胞培養液之上清液，再加入同體積的 Griess reagent (1% sulfanilamide 和 0.1% naphthylethylenediamine) 於室溫下反應 10 分鐘，使用微盤分光光度計 (Bio-Tek Instrument, Inc., Winooski, VT, USA) 於 ELISA reader 在螢光波長 550 nm 下，偵測其吸光強度 (optical density, O.D.)，並計算化合物對於 BV-2 細胞產生一氧化氮的抑制強度。

### 4.5.3 MTT assay

活細胞粒線體中的脫氫酵素 (dehydrogenase) 會使 MTT (3-(4,5-

dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 之 tetrazolium 裂解，產生紫色 formazan 結晶，以此方式檢測 BV-2 細胞的存活率。

將樣品加入含有 BV-2 細胞的 96 孔盤中放置 24 小時，之後移除上清液，加入含有 MTT 的 DMEM 培養液，置於 37 °C、5%二氧化碳以及 95%濕度的空氣中培養 1 小時，利用 ELISA reader 以螢光波長 550 nm 測定其吸光值，並計算樣品對於 BV-2 細胞是否具有細胞毒殺作用。

#### 4.6 抗血管增生活性評估


本實驗由馬偕醫學院醫學系王士維教授協助進行。利用毛細管形成試驗分析實驗所分離之二次代謝產物對於人類內皮起源細胞 (endothelial progenitor cells; EPCs) 是否具有抑制血管增生之作用。

##### 4.6.1 細胞培養

將人類內皮起源細胞 (endothelial progenitor cells; EPCs) 培養在含有內皮細胞基礎培養基，包括：20%胎牛血清、人表皮生長因子 (human epidermal growth factor, hEGF)、血管內皮生長因子 (Vascular endothelial growth factor, VEGF)、人類酸性纖維母細胞生長因子-B (human fibroblast growth factor-B, hFGF-B)、胰島素類生長因子-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1)、抗壞血酸以及肝素 (heparin) 的 MV2 內皮細胞培養基中 (PromoCell, America)。將  $1 \times 10^6$  cells/cm<sup>2</sup> 細胞接種至纖維連蛋白塗佈 (fibronectin-coated) 的培養盤上 (BD Biosciences, USA)，培養在 37 °C、5%二氧化碳和 95%潮濕空氣中。

#### 4.7 抗病毒活性評估

本實驗由國立台灣大學生化科技所張麗冠教授協助進行。利用西方墨點法分析溶裂蛋白質 Rta、Zta 和 EA-D 之表現，以評估化合物對 EBV 的抑制活性。本次



實驗使用的細胞株為 P3HR1 細胞，先以  $6 \times 10^5$  cell/mL 的濃度培養於 5% CO<sub>2</sub> 中，溫度為 37 °C，培養 24 小時後在各孔中分別加入化合物 **23** - **26**，使化合物的最終濃度為 10 μM，並於 1 小時後加入 SB 誘導細胞進入溶裂循環。24 小時後收集細胞並以 lysis buffer 溶解，離心取得蛋白質上清液，以西方墨點法分析 EBV (Epstein - Barr virus) 溶裂蛋白質與  $\beta$ -tubulin 的表現，後續再將具有抗病毒活性之化合物以 MTT 測試其是否具有細胞毒殺性。

#### 4.7.1 細胞培養

將含有 EBV 的 Burkitt's 淋巴瘤細胞株 P3HR1 培養於添加了 10%胎牛血清 (Biological Industries, Israel)、L-glutamine、penicillin 和 streptomycin 的 PRMI1640 培養液中，培養在 37 °C、5%二氧化碳和 95%潮濕空氣中。

。



## 第五章 討論

最近推出的全球天然產物社會分子網絡 (Global Natural Product Social molecular networking; GNPS) 網絡平台 (<http://gnps.ucsd.edu>) 正被用來解密世界上存在的暗物質 (dark matter)，包括從植物提取物、微生物培養物、應用於各種人類和環境樣本，以在全球範圍內組織和共享原始的、處理過的或帶註釋的質譜數據。MS<sup>2</sup> 資料可以透過 GNPS 處理，並基於 MS<sup>2</sup> 譜相似性將其視覺化為分子網絡，重要的是，結構類似物傾向於聚集成分子網絡，使我們能夠在同一個簇中識別出多種未註釋的化合物。如何從眾多的樣本中尋找具有開發潛力之候選材料已然成重中之重，我們已在預實驗中從一千餘株真菌中篩選出一百餘株具有抗菌效果的候選菌株 (Table 1)，但之中不乏具有生產相同生物活性二次代謝產物能力之菌株，且隨著天然物數量的不斷增加，在天然產物研究中重新發現的情況很常見，當一旦投入資源，這個過程需要大量而繁瑣的任務，例如使用溶劑萃取代謝物、對萃取出進行層析分餾、篩選每個餾分的生物活性、分離和鑑定生物活性化合物以及驗證分離的化合物的生物活性。我們與日內瓦大學藥學系 Wolfender 教授實驗室合作基於串聯質譜 (MS/MS) 分子網絡的建立，並利用 MetaboAnalyst 6.0 platform ([www.metaboanalyst.ca](http://www.metaboanalyst.ca)) 進行統計分析，在這 100 株候選真菌之二次代謝產物 PCA 分析中 (Figure 98)，已經識別其中有 17 株真菌可能屬於鐮孢菌屬 (*Fusarium*) 和 18 株真菌屬於鏈格孢菌屬 (*Alternaria*)，且藉由 MS<sup>2</sup> 譜進行指紋圖譜比對研判其活性物質是源自己知 tetramic acids (2,4-pyrrolidine-dione) 之 equisetin (**366**) 和 altersetin，由此在深入研究開始之前進行去重複與排除。

由基於特徵的分子網絡分析中 (Figure 2) 得到 14,664 個節點(母離子)，這些節點被組織成 1,884 個簇(分子家族，至少有兩個節點連接)，搭配預實驗之抗菌活性數據加以篩選，*Chaetomium globosum* Km1226、*Curvularia intermedia* Km0855 和 *Stemphylium lycopersici* Km1578 似乎是具有潛力之真菌。

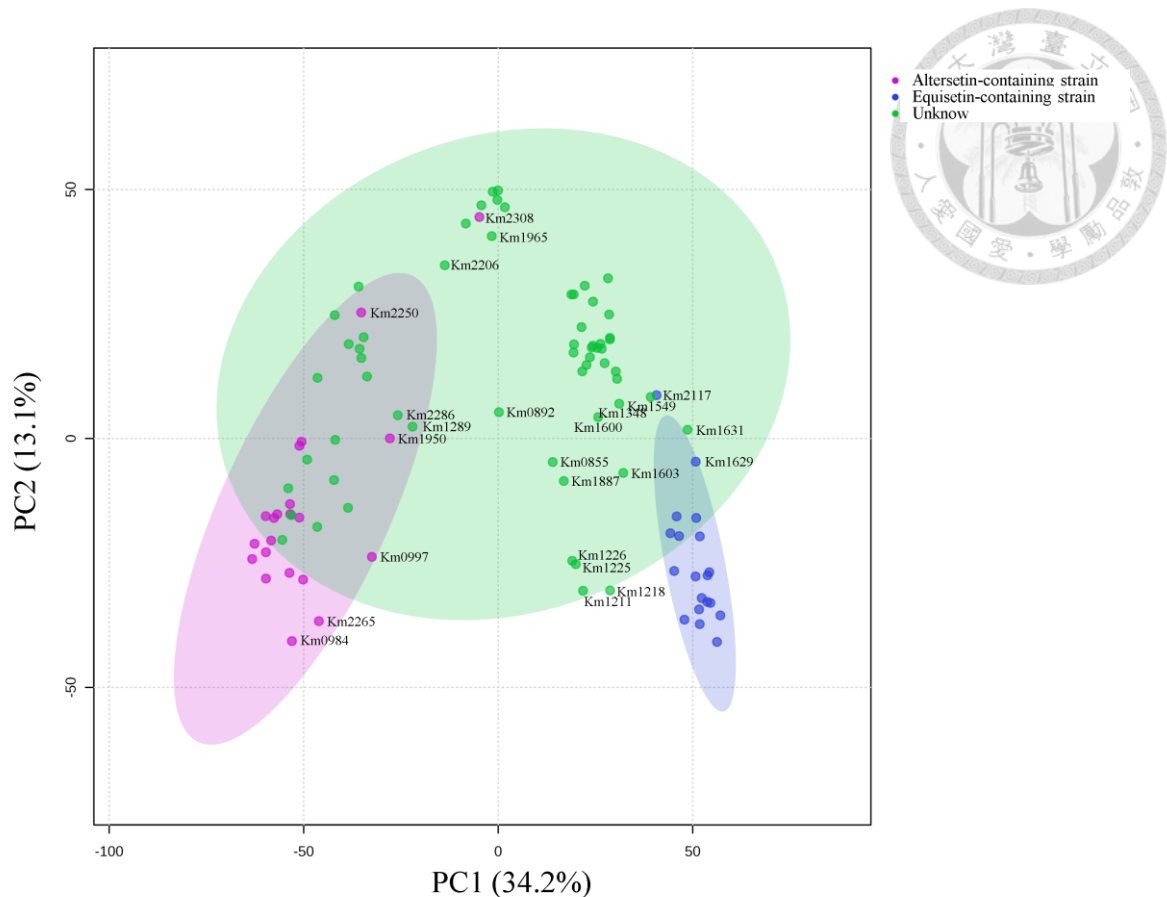
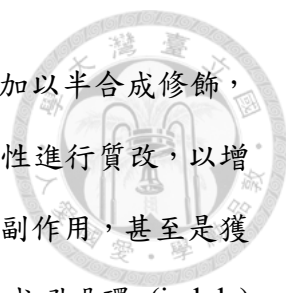


Figure 99. 100 株真菌代謝產物產物主成分分析

本次研究針對 *Chaetomium globosum* Km1226 之發酵液和穀物所含二次代謝產物進行一系列的分離、純化及結構解析，共計分離出 22 個化合物。其中新化合物 **1-3** 為過去未曾被發表過，經資料庫比對其類似物，發現屬於它們是屬於 C<sub>13</sub> 的 Polyketides，在生物活性方面而言，最初由液態搖瓶發酵所產生的活性物質經後續活性平台評估發現是源自於 mollipilin A (**5**)，而其類似物 **2** 和 **3** 並沒有表現出相同的趨勢，推測構效關係 (structure-activity relationship, SAR) 是源自於 C-11 環氧基 (epoxide) 的存在，有待進一步藥物化學相關的研究，而在固態穀物發酵的部分，會富集產生細胞鬆弛素 (cytochalasan) 類的化合物 (**8-13**)，最初被描述於源自希臘文的 *cytos* (cell) 和 *chhalasis* (relaxation)<sup>117</sup>，指的是代謝物的細胞學效應，在生物合成中由結合聚酮合成酶-非核糖體勝肽合成酶 (PKS-NRPS) 組裝而成，並透過修飾酶進行進一步特異性修飾，而產生驚人的結構多樣性<sup>208</sup>，在我們抗血管新生試驗上，表現出顯著的抑制潛力，有鑒於立體上的複雜，至今仍很少文獻討論其全合



成方式，且固態穀物發酵的高產率，由生物合成產生前驅物後再加以半合成修飾，有目的的根據活性、安全性、藥物動力學或物理化學等方面充分性進行質改，以增進不論是提高溶解度、活性強度、代謝和化學穩定性，或是減輕副作用，甚至是獲得新穎性和智慧財產權等。比如根據文獻回顧<sup>121</sup>，已知生物合成吲哚環 (indole) 的底物是色氨酸，為此該篇研究在培養物中添加鹵化前體，從而發現九種新型「非天然」鹵化細胞鬆弛素，其中包括具有更佳免疫抑制活性表現的化合物。


「組學 (-Omics)」成為近年來蓬勃發展的領域，除了基因組學 (genomic) 外，也包含了蛋白組學 (proteomics) 和代謝組學 (metabolomics)，其中代謝組學則是繼蛋白質組學後興起的系統生物學之新分枝，可視為基因表現之末端產物，藉由生物體內在不同狀況下的代謝產物表現量之動態分析，以推測出該生物體所處的生理狀況外，並同時進一步瞭解其基因序列中每一段基因代表的功能及其所參與之各種生理、生化途徑之調控機制，並觀察生物體系受刺激或影響後之代謝產物<sup>209, 210</sup>。也有文獻提及經由調節轉錄因子，並將真菌基因簇異源表達<sup>185</sup>，實現沉默基因簇的表達，在他們的發現中，當產生 aureonitol (4) 的聚酮化合物生物合成基因簇被敲除時，來自 azaphilones (18 - 22) 類生物合成基因簇的產物產量有增加的趨於，兩者呈現負相關。這個現象與我們添加半胱氨酸的實驗結果不謀而合。另外也有文獻指出<sup>199</sup>，透過添加抗生素能夠使真菌進行生物轉化從而得到新的化學實體，揭示真菌透過這樣的方式抵抗抗生素，相當於一種解毒機制。在我們的抗生素組實驗中尚未觀察到這樣的現象，但確實有注意到菌株生長被抑制 (Figure 7)，或許能夠藉由增加培養的天數，以觀察是否有生物轉化的跡象。

我們的研究證明半胱氨酸作為表觀遺傳修飾劑應用於研究化學多樣是可行的，而其他共培養等方法需要進行大量的實驗來驗證是否有神秘代謝物的生成，從實際角度來看，由於培養參數的潛在變化數量是巨大的，這種方法是相當耗時且勞動密集，但同時無需執行基因操作又具有挑戰性，若能搭配分子網絡進行去重複，OSMAC 策略會是天然物研究人員的利器。

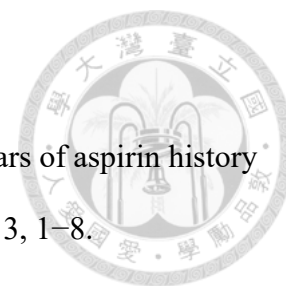
## 第六章 參考文獻

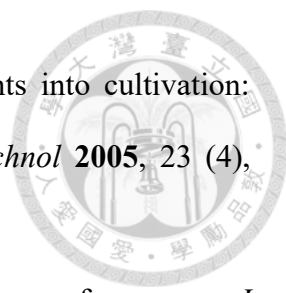


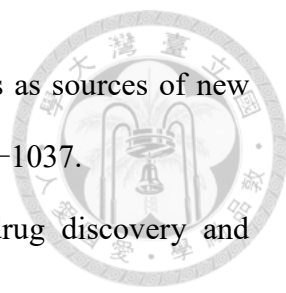
1. Cowan, M. M. Plant products as antimicrobial agents. *A S M* **1999**, 12 (4), 564–582.
2. Zerbe, P. Plants against cancer: towards green Taxol production through pathway discovery and metabolic engineering. *aBIOTECH* **2024**, 5 (3), 394–402.
3. Raskin, I.; Ribnicky, D. M.; Komarnytsky, S.; Ilic, N.; Poulev, A.; Borisjuk, N.; et al. Plants and human health in the twenty-first century. *Trends Biotechnol* **2002**, 20(12), 522–531.
4. David, B.; Wolfender, J. L.; Dias, D. A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. *Phytochemistry Reviews* **2014**, 14 (2), 299–315.
5. Xu, Z.; Eichler, B.; Klausner, E. A.; Duffy-Matzner, J.; Zheng, W. Lead/drug discovery from natural resources. *Molecules* **2022**, 27 (23), 8280.
6. Cragg, G. M.; Newman, D. J. Biodiversity: A continuing source of novel drug leads. *Pure and Applied Chemistry* **2005**, 77 (1), 7–24.
7. Bernardini, S.; Tiezzi, A.; Laghezza Masci, V.; Ovidi, E. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. *Nat Prod Res* **2018**, 32 (16), 1926–1950.
8. Zhang, Q. W.; Lin, L. G.; Ye, W. C. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chin Med* **2018**, 13, 20.
9. Cragg, G. M.; Newman, D. M. Natural products A continuing source of novel drug leads. *Biochim Biophys Acta* **2013**, 1830(6), 3670–3695.
10. Yuan, H.; Ma, Q.; Ye, L.; Piao, G. The traditional medicine and modern medicine from natural products. *Molecules* **2016**, 21 (5), 559.
11. Fabricant, D. S.; Farnsworth, N. R. The value of plants used in traditional medicine

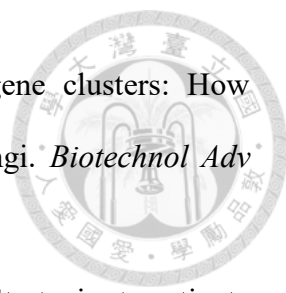
- 
- for drug discovery. *Environ Health Perspect* **2001**, 109, 69–75.
12. Liu, Z.; Guo, F.; Wang, Y.; Li, C.; Zhang, X.; Li, H.; et al. BATMAN-TCM: A bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine. *Sci Rep* **2016**, 6, 21146.
  13. Hamilton, G. R.; Baskett, F. T. In the arms of Morpheus the development of morphine for postoperative pain relief. *Can J Anaesth* **2000**, 47(4), 367–374.
  14. Dias, D. A.; Urban, S.; Roessner, U. A historical overview of natural products in drug discovery. *Metabolites* **2012**, 2 (2), 303–336.
  15. de Oliveira, A. R. M.; Szczerbowski, D. Quinine 470 years of history, controversy and science development. *Quim Nova* **2009**, 32(7), 1971–1974.
  16. Kato, M.; Mizuno, K. Caffeine synthase and related methyltransferases in plants. *Front Biosci* **2004**, 9, 1833–1842.
  17. Hagel, J. M.; Facchini, P. J. Benzylisoquinoline alkaloid metabolism: a century of discovery and a brave new world. *Plant Cell Physiol* **2013**, 54 (5), 647–672.
  18. Wang, L. Z.; Syn, N.; Li, S.; Barathi, V. A.; Tong, L.; Neo, J.; et al. The penetration and distribution of topical atropine in animal ocular tissues. *Acta Ophthalmol* **2019**, 97 (2), e238–e247.
  19. Nett, R. S.; Lau, W.; Sattely, E. S. Discovery and engineering of colchicine alkaloid biosynthesis. *Nature* **2020**, 584 (7819), 148–153.
  20. Grzybowski, A. Cocaine and the eye: a historical overview. *Ophthalmologica* **2008**, 222 (5), 296–301.
  21. Bai, R.; Yao, C.; Zhong, Z.; Ge, J.; Bai, Z.; Ye, X.; et al. Discovery of natural anti-inflammatory alkaloids: Potential leads for the drug discovery for the treatment of inflammation. *Eur J Med Chem* **2021**, 213, 113165.
  22. Harvey, A. L. Natural products in drug discovery. *Drug Discov Today* **2008**, 13 (19-

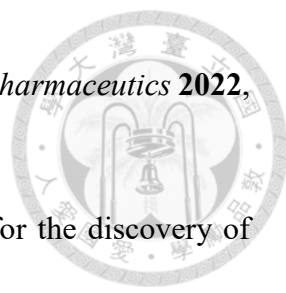
- 20), 894–901.
23. Montinari, M. R.; Minelli, S.; De Caterina, R. The first 3500 years of aspirin history from its roots - A concise summary. *Vascul Pharmacol* **2019**, 113, 1–8.
24. Atanasov, A. G.; Waltenberger, B.; Pferschy-Wenzig, E. M.; Linder, T.; Wawrosch, C.; Uhrin, P.; et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnol Adv* **2015**, 33 (8), 1582–1614.
25. Luo, H.; Vong, C. T.; Chen, H.; Gao, Y.; Lyu, P.; Qiu, L.; et al. Naturally occurring anti-cancer compounds: shining from Chinese herbal medicine. *Chin Med* **2019**, 14 (1), 48.
26. Wani, M. C. Plant antitumor agents VI. The isolation and structure of taxol a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *J Am Chem Soc* **1972**, 94, 2325–2326.
27. Suffness, M.; Douros, J. Current status of the NCI plant and animal product program. *J Nat Prod* **1982**, 45 (1), 1–14.
28. Fabricant, D. S.; Farnsworth, N. R. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environ Health Perspect* **2001**, 109, 69–75.
29. Anand, K.; Kumar, V.; Prasher, I. B.; Sethi, M.; Raj, H.; Ranjan, H.; et al. Bioactive molecules from fungal endophytes and their applications in pharmaceutical industries: challenges and future scope. *J Basic Microbiol* **2023**, 63 (7), 690–708.
30. Kingston, D. G. I.; Cassera, M. B. (2022). Antimalarial Natural Products. In: Kinghorn, A. D., Falk, H., Gibbons, S., Asakawa, Y., Liu, J. K., Dirsch, V. M. (eds) Antimalarial natural products. progress in the chemistry of organic natural products, vol 117. Springer, Cham.
31. Mayor, S. Tree that provides paclitaxel is put on list of endangered species. *BMJ* **2011**, 343, d7411.

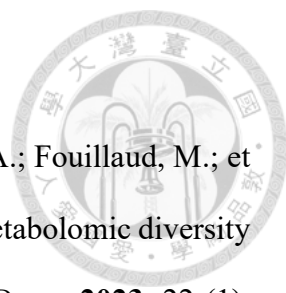


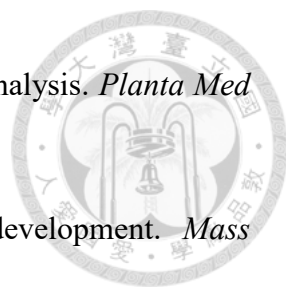
- 
32. Canter, P. H.; Thomas, H.; Ernst, E. Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. *Trends Biotechnol* **2005**, 23 (4), 180–185.
33. Demain, A. L.; Sanchez, S. Microbial drug discovery: 80 years of progress. *J Antibiot (Tokyo)* **2009**, 62 (1), 5–16.
34. Hutchings, M. I.; Truman, A. W.; Wilkinson, B. Antibiotics: past, present and future. *Curr Opin Microbiol* **2019**, 51, 72–80.
35. Waksman, S. A.; Schatz, A.; Reynolds, D. M. Production of antibiotic substances by actinomycetes. *Ann N Y Acad Sci* **2010**, 1213, 112–124.
36. Umezawa, H. Kanamycin: its discovery. *Ann N Y Acad Sci* **1958**, 76 (2), 20–26.
37. Wang, H.; Wang, L.; Fan, K.; Pan, G. Tetracycline natural products: discovery, biosynthesis and engineering. *Chin J Nat Med* **2022**, 20 (10), 773–794.
38. Araten, A. H.; Brooks, R. S.; Choi, S. D. W.; Esguerra, L. L.; Savchyn, D.; Wu, E. J.; et al. Cephalosporin resistance, tolerance, and approaches to improve their activities. *J Antibiot* **2024**, 77 (3), 135–146.
39. Tevyashova, A. N. Recent trends in synthesis of chloramphenicol new derivatives. *Antibiotics* **2021**, 10 (4), 370.
40. Platon, V. M.; Dragoi, B.; Marin, L. Erythromycin formulations-A journey to advanced drug delivery. *Pharmaceutics* **2022**, 14 (10), 2180.
41. Katz, L.; Baltz, R. H. Natural product discovery: past, present, and future. *J Ind Microbiol Biotechnol* **2016**, 43 (2-3), 155–176.
42. Atanasov, A. G.; Zotchev, S. B.; Dirsch, V. M. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nat Rev Drug Discov* **2021**, 20 (3), 200–216.
43. Newman, D. J.; Cragg, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *J Nat Prod* **2020**, 83 (3), 770–803.

- 
44. Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *J Nat Prod* **2003**, 66(7), 1022–1037.
45. Chopra, B.; Dhingra, A. K. Natural products: A lead for drug discovery and development. *Phytother Res* **2021**, 35 (9), 4660–4702.
46. Hardoim, P. R.; van Overbeek, L. S.; Berg, G.; Pirttila, A. M.; Compant, S.; Campisano, A.; et al. The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiol Mol Biol Rev* **2015**, 79 (3), 293–320.
47. Strobel, G.; Daisy, B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol Mol Biol Rev* **2003**, 67 (4), 491–502.
48. Rodriguez, R. J.; White, J. F., Jr.; Arnold, A. E.; Redman, R. S. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytol* **2009**, 182 (2), 314–330.
49. Tan, R. X.; Zou, W. X. Endophytes: A rich source of functional metabolites. *Nat Prod Rep* **2001**, 18 (4), 448–459.
50. Nisa, H.; Kamili, A. N.; Nawchoo, I. A.; Shafi, S.; Shameem, N.; Bandh, S. A. Fungal endophytes as prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products: A review. *Microb Pathog* **2015**, 82, 50–59.
51. Brakhage, A. A.; Schroeckh, V. Fungal secondary metabolites - Strategies to activate silent gene clusters. *Fungal Genet Biol* **2011**, 48 (1), 15–22.
52. Jia, M.; Chen, L.; Xin, H. L.; Zheng, C. J.; Rahman, K.; Han, T.; et al. A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: A systematic review. *Front Microbiol* **2016**, 7, 906.
53. Okada, B. K.; Seyedsayamdost, M. R. Antibiotic dialogues: induction of silent biosynthetic gene clusters by exogenous small molecules. *FEMS Microbiol Rev* **2017**, 41 (1), 19–33.

- 
54. Pfannenstiel, B. T.; Keller, N. P. On top of biosynthetic gene clusters: How epigenetic machinery influences secondary metabolism in fungi. *Biotechnol Adv* **2019**, 37 (6), 107345.
55. Brakhage, A. A.; Schroeckh, V. Fungal secondary metabolites - Strategies to activate silent gene clusters. *Fungal Genet Biol* **2011**, 48 (1), 15–22.
56. Arnold, A. E.; Lutzoni, F. Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots? *Ecology* **2007**, 88 (3), 541–549.
57. Singh, A.; Singh, D. K.; Kharwar, R. N.; White, J. F.; Gond, S. K. Fungal endophytes as efficient sources of plant-derived bioactive compounds and their prospective applications in natural product drug discovery: insights, avenues, and challenges. *Microorganisms* **2021**, 9 (1), 197.
58. Zhang, X. Y.; Tan, X. M.; Yu, M.; Yang, J.; Sun, B. D.; Qin, J. C.; et al. Bioactive metabolites from the desert plant-associated endophytic fungus *Chaetomium globosum* (Chaetomiaceae). *Phytochemistry* **2021**, 185, 112701.
59. Giddings, L. A.; Newman, D. J. Extremophilic fungi from marine environments: underexplored sources of antitumor, anti-infective and other biologically active agents. *Mar Drugs* **2022**, 20 (1), 62.
60. Qin, G. F.; Zhang, X.; Zhu, F.; Huo, Z. Q.; Yao, Q. Q.; Feng, Q.; et al. MS/MS-based molecular networking: An efficient approach for natural products dereplication. *Molecules* **2022**, 28 (1), 157.
61. Palma Esposito, F.; Giugliano, R.; Della Sala, G.; Vitale, G. A.; Buonocore, C.; Ausuri, J.; et al. Combining OSMAC approach and untargeted metabolomics for the identification of new glycolipids with potent antiviral activity produced by a marine *Rhodococcus*. *Int J Mol Sci* **2021**, 22 (16), 9055.
62. Schuller, A.; Studt-Reinhold, L.; Strauss, J. How to completely squeeze a fungus-

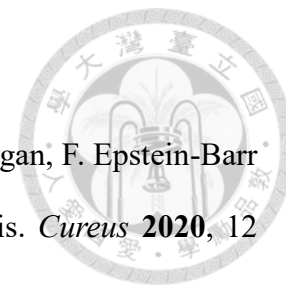
- 
- advanced genome mining tools for novel bioactive substances. *Pharmaceutics* **2022**, 14 (9), 1837.
63. Reyes, F.; Bills, G. F.; Duran-Patron, R. Editorial: Strategies for the discovery of fungal natural products. *Front Microbiol* **2022**, 13, 897756.
64. Takahashi, J. A.; Teles, A. P. C.; Bracarense, A. D. P.; Gomes, D. C. Classical and epigenetic approaches to metabolite diversification in filamentous fungi. *Phytochemistry Reviews* **2013**, 12 (4), 773–789.
65. Romano, S.; Jackson, S. A.; Patry, S.; Dobson, A. D. W. Extending the "one strain many compounds" (OSMAC) principle to marine microorganisms. *Mar Drugs* **2018**, 16 (7), 244.
66. Pinedo-Rivilla, C.; Aleu, J.; Duran-Patron, R. Cryptic metabolites from marine-derived microorganisms using OSMAC and epigenetic approaches. *Mar Drugs* **2022**, 20 (2), 84.
67. Pan, R.; Bai, X.; Chen, J.; Zhang, H.; Wang, H. Exploring structural diversity of microbe secondary metabolites using OSMAC strategy: A literature review. *Front Microbiol* **2019**, 10, 294.
68. Li, Y.; Gong, N.; Zhou, L.; Yang, Z.; Zhang, H.; Gu, Y.; et al. OSMAC-based discovery and biosynthetic gene clusters analysis of secondary metabolites from marine-derived *Streptomyces globisporus* SCSIO LCY30. *Mar Drugs* **2023**, 22 (1), 21.
69. Hu, Z.; Ye, Y.; Zhang, Y. Large-scale culture as a complementary and practical method for discovering natural products with novel skeletons. *Nat Prod Rep* **2021**, 38 (10), 1775–1793.
70. Schüller, A.; Studt-Reinhold, L.; Strauss, J. How to completely squeeze a fungus-advanced genome mining tools for novel bioactive substances. *Pharmaceutics* **2022**,

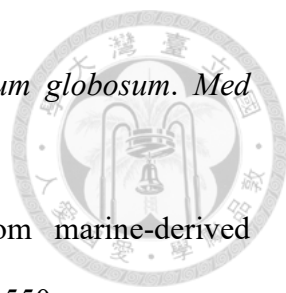
- 
- 14(9), 1837.
71. Le Loarer, A.; Dufosse, L.; Bignon, J.; Frederich, M.; Ledoux, A.; Fouillaud, M.; et al. OSMAC method to assess impact of culture parameters on metabolomic diversity and biological activity of marine-derived actinobacteria. *Mar Drugs* **2023**, *22* (1), 23.
72. Hernandez, A.; Nguyen, L. T.; Dhakal, R.; Murphy, B. T. The need to innovate sample collection and library generation in microbial drug discovery: a focus on academia. *Nat Prod Rep* **2021**, *38* (2), 292–300.
73. Johnson, A. R.; Carlson, E. E. Collision-induced dissociation mass spectrometry: a powerful tool for natural product structure elucidation. *Anal Chem* **2015**, *87* (21), 10668–10678.
74. Lachance, H.; Wetzel, S.; Kumar, K.; Waldmann, H. Charting, navigating, and populating natural product chemical space for drug discovery. *J Med Chem* **2012**, *55* (13), 5989–6001.
75. Logan, T. M.; Murali, N.; Wang, G.; Jolivet, C. Application of a high-resolution superconducting NMR probe in natural product structure determination. *Magnetic Resonance in Chemistry* **1999**, *37* (7), 512–515.
76. Brunger, A. T.; Adams, P. D.; Clore, G. M.; DeLano, W. L.; Gros, P.; Grosse-Kunstleve, R. W.; et al. Crystallography & NMR system: A new software suite for macromolecular structure determination. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* **1998**, *54*, 905–921.
77. Larsen, T. O.; Petersen, B. O.; Duus, J. O.; Sorensen, D.; Frisvad, J. C.; Hansen, M. E. Discovery of new natural products by application of X-hitting, a novel algorithm for automated comparison of full UV spectra, combined with structural determination by NMR spectroscopy. **2005**, *68*(6), 871–874.


- 
78. Cozzolino, D. Near infrared spectroscopy in natural products analysis. *Planta Med* **2009**, 75 (7), 746–756.
79. Lee, M. S.; Kerns, E. H. LC/MS applications in drug development. *Mass Spectrometry Reviews* **1999**, 18 (3-4), 187–279.
80. Ramos, A. E. F.; Evanno, L.; Poupon, E.; Champy, P.; Beniddir, M. A. Natural products targeting strategies involving molecular networking: Different manners, one goal. *Nat Prod Rep* **2019**, 36 (7), 960–980.
81. Allard, P. M.; Peresse, T.; Bisson, J.; Gindro, K.; Marcourt, L.; Pham, V. C.; et al. Integration of molecular networking and *in-silico* MS/MS fragmentation for natural products dereplication. *Anal Chem* **2016**, 88 (6), 3317–3323.
82. Yang, J. Y.; Sanchez, L. M.; Rath, C. M.; Liu, X.; Boudreau, P. D.; Bruns, N.; Glukhov, E.; Wodtke, A.; de Felicio, R.; Fenner, A.; et al. Molecular networking as a dereplication strategy. *J Nat Prod* **2013**, 76 (9), 1686–1699.
83. Chervin, J.; Perio, P.; Martins-Froment, N.; Pharkeovilay, C.; Reybier, K.; Nepveu, F.; et al. Dereplication of natural products from complex extracts by regression analysis and molecular networking: case study of redox-active compounds from *Viola alba* subsp. *dehnhardtii*. *Metabolomics* **2017**, 13 (8), 96.
84. Olivon, F.; Allard, P. M.; Koval, A.; Righi, D.; Genta-Jouve, G.; Neyts, J.; et al. Bioactive natural products prioritization using massive multi-informational molecular networks. *ACS Chem Biol* **2017**, 12 (10), 2644–2651.
85. Quinn, R. A.; Nothias, L. F.; Vining, O.; Meehan, M.; Esquenazi, E.; Dorrestein, P. C. Molecular networking as a drug discovery, drug metabolism, and precision medicine strategy. *Trends Pharmacol Sci* **2017**, 38 (2), 143–154.
86. Kuo, T. H.; Huang, H. C.; Hsu, C. C. Mass spectrometry imaging guided molecular networking to expedite discovery and structural analysis of agarwood natural

- products. *Anal Chim Acta* **2019**, 1080, 95–103.
87. Qin, G. F.; Zhang, X.; Zhu, F.; Huo, Z. Q.; Yao, Q. Q.; Feng, Q.; et al. MS/MS-based molecular networking: An efficient approach for natural products dereplication. *Molecules* **2022**, 28 (1), 157.
88. Baskiyar, S.; Ren, C.; Heck, K. L.; Hall, A. M.; Gulfam, M.; Packer, S.; et al. Bioactive natural products identification using automation of molecular networking software. *J Chem Inf Model* **2022**, 62 (24), 6378–6385.
89. Zhang, F.; Zhao, M.; Braun, D. R.; Ericksen, S. S.; Piotrowski, J. S.; Nelson, J.; et al. A marine microbiome antifungal targets urgent-threat drug-resistant fungi. *Science* **2020**, 370 (6519), 974-+.
90. Murray, C. J. L.; Ikuta, K. S.; Sharara, F.; Swetschinski, L.; Aguilar, G. R.; Gray, A.; et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *Lancet* **2022**, 399 (10325), 629–655.
91. Crofts, T. S.; Sontha, P.; King, A. O.; Wang, B.; Bidy, B. A.; Zanolli, N.; et al. Discovery and characterization of a nitroreductase capable of conferring bacterial resistance to chloramphenicol. *Cell Chem Biol* **2019**, 26 (4), 559–570.
92. Lam, S. J.; O'Brien-Simpson, N. M.; Pantarat, N.; Sulistio, A.; Wong, E. H.; Chen, Y. Y.; et al. Combating multidrug-resistant Gram-negative bacteria with structurally nanoengineered antimicrobial peptide polymers. *Nat Microbiol* **2016**, 1 (11), 16162.
93. Hui, K. F.; Tam, K. P.; Chiang, A. K. S. Therapeutic strategies against Epstein-Barr Virus-associated cancers using proteasome inhibitors. *Viruses* **2017**, 9 (11), 352.
94. Usha, M. K.; Jahan, J. A.; Islam, S. R. U.; Begum, F.; Ahsan, C. R.; Yasmin, M. Evaluation of plasma Epstein-Barr virus DNA as a biomarker for Epstein-Barr virus-associated Hodgkin lymphoma. *SAGE Open Med* **2021**, 9, 20503121211054991.
95. James, J. A.; Harley, J. B.; Scofield R. H. Epstein–Barr virus and systemic lupus

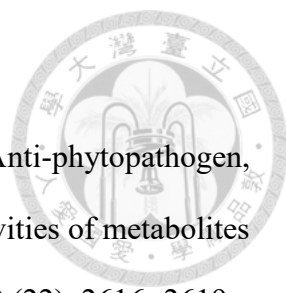
- erythematosus. *Curr Rheumatol Rev* **2006**, 18(5), 462–467.
96. Contreras-Chavez, P.; Anampa-Guzman, A.; Gaznabi, S.; Lansigan, F. Epstein-Barr Virus infection-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Cureus* **2020**, 12 (4), e7563.
97. Nishio, M.; Saito, M.; Yoshimori, M.; Kumaki, Y.; Ohashi, A.; Susaki, E.; et al. Clinical significance of anti-Epstein-Barr virus antibodies in systemic chronic active Epstein-Barr virus disease. *Front Microbiol* **2023**, 14, 1320292.
98. Kerr, J. R. Epstein-Barr virus (EBV) reactivation and therapeutic inhibitors. *J Clin Pathol* **2019**, 72 (10), 651-658.
99. Chang, C. H.; Lee, Y. C.; Hsiao, G.; Chang, L. K.; Chi, W. C.; Cheng, Y. C.; et al. Anti-Epstein-Barr Viral agents from the medicinal herb-derived fungus *Alternaria alstroemeriae* Km2286. *J Nat Prod* **2022**, 85 (11), 2667–2674.
100. Chang, C. H.; Hsiao, G.; Wang, S. W.; Yen, J. Y.; Huang, S. J.; Chi, W. C.; et al. Chemical constituents from the medicinal herb-derived fungus *Chaetomium globosum* Km1226. *Bot Stud* **2023**, 64 (1), 34.
101. Maresca, B.; Lambowitz, A. M.; Kumar, V. B.; Grant, G. A.; Kobayashi, G. S.; Medoff, G. Role of cysteine in regulating morphogenesis and mitochondrial activity in the dimorphic fungus *Histoplasma capsulatum*. *PNAS* **1981**, 78 (7), 4596–4600.
102. Kahlos, K.; Tikka, V. H. Antifungal activity of cysteine, its effect on C-21 oxygenated lanosterol derivatives and other lipids in *Inonotus obliquus*, in vitro. *Appl Microbiol Biotechnol* **1994**, 42 (2-3), 385390.
103. Liu, Z. H.; Yang, Q.; Ma, J. A heat shock protein gene (hsp22.4) from *Chaetomium globosum* confers heat and Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> tolerance to yeast. *Appl Microbiol Biotechnol* **2007**, 77 (4), 901–908.
104. Provost, N. B.; Shi, C.; She, Y. M.; Cyr, T. D.; Miller, J. D. Characterization of an




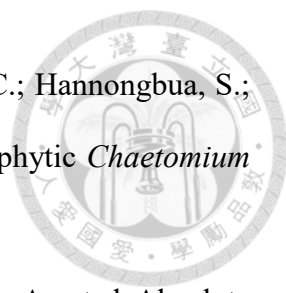
- 
- antigenic chitosanase from the cellulolytic fungus *Chaetomium globosum*. *Med Mycol* **2013**, 51 (3), 290–299.
105. Tian, Y.; Li, Y. A Review on Bioactive Compounds from marine-derived *Chaetomium* species. *J Microbiol Biotechnol* **2022**, 32 (5), 541–550.
106. Abou Alhamed, M. F.; Shebany, Y. M. Endophytic *Chaetomium globosum* enhances maize seedling copper stress tolerance. *Plant Biol* **2012**, 14 (5), 859–863.
107. Cullen, d.; Berbee, F. M.; Andrews, J. H. *Chaetomium globosum* antagonizes the apple scab pathogen, *Venturia inaequalis*, under field conditions. *CAN J BOT Journal* **1984**, 62 (9), 1814–1818.
108. Zhang, Q.; Li, H. Q.; Zong, S. C.; Gao, J. M.; Zhang, A. L. Chemical and bioactive diversities of the genus *Chaetomium* secondary metabolites. *Mini-Rev Med Chem* **2012**, 12 (2), 127–148.
109. Fatima, N.; Muhammad, S. A.; Khan, I.; Qazi, M. A.; Shahzadi, I.; Mumtaz, A.; et al. *Chaetomium* endophytes: A repository of pharmacologically active metabolites. *Acta Physiologiae Plantarum* **2016**, 38 (6), 136.
110. Chen, J.; Zhang, W.; Guo, Q.; Yu, W.; Zhang, Y.; He, B. Bioactivities and future perspectives of chaetoglobosins. *Evid Based Complement Alternat Med* **2020**, 2020, 8574084.
111. Dwibedi, V.; Rath, S. K.; Jain, S.; Martinez-Argueta, N.; Prakash, R.; Saxena, S.; et al. Key insights into secondary metabolites from various *Chaetomium* species. *Appl Microbiol Biotechnol* **2023**, 107 (4), 1077–1093.
112. Sekita, S.; Yoshihira, K.; Natori, S.; Kuwano, H. Structures of chaetoglobosin A and B, cytotoxic metabolites of *Chaetomium globosum*. *Tetrahedron Lett* **1973**, 23, 2019–2112.
113. Umeda, M.; Ohtsubo, K.; Saito, M.; Sekita, S.; Yoshihira, K.; Natori, S.; et al.

- 
- Cytotoxicity of new cytochalasans from *Chaetomium globosum*. *Experientia* **1975**, 31, 435–438.
114. Sekita, S.; Yoshihira, K.; Natori, S.; Kuwano, K. Structures of chaetoglobosins C, D, E, and F, cytotoxic indol-3-yl- [13]cytochalasans from *Chaetomium globosum*. *Tetrahedron Lett* **1976**, 17, 1351–1354.
115. Sekita, S.; Yoshihira, K.; Natori, S.; Kuwano, H. Chaetoglobosins G and J, cytotoxic indol- 3-yl[13]-cytochalasans from *Chaetomium globosum*. *Tetrahedron Lett* **1977**, 32, 2771–2774.
116. Probst, A.; Tamm, C. 19-*O*-Acetylchaetoglobosin B and 19-*O*-acetylchaetoglobosin D, two new metabolites of *Chaetomium globosum*. *Helv Chim Acta* **1981**, 64, 2056–2064.
117. Jiao, W. X.; Feng, Y. J.; Blunt, J. W.; Cole, A. L. J.; Munro, M. H. G. Chaetoglobosins Q, R, and T, three further new metabolites from *Chaetomium globosum*. *J Nat Prod* **2004**, 67, 1722–1725.
118. Ding, G.; Song, Y. C.; Chen, J. R.; Xu, C.; Ge, H. M.; Wang, X. T.; et al. Chaetoglobosin U, a cytochalasan alkaloid from endophyte *Chaetomium globosum* IFB-E019. *J Nat Prod* **2006**, 69, 302–304.
119. Cui, C. M.; Li, X. M.; Li, C. S.; Proksch, P.; Wang, B. G. Cytoglobosins A-G, cytochalasans from a marine-derived endophytic fungus, *Chaetomium globosum* QEN-14. *J Nat Prod* **2010**, 73, 729–733.
120. Zhang, J.; Ge, H. M.; Jiao, R. H.; Li, J.; Peng, H.; Wang, Y. R.; et al. Cytotoxic chaetoglobosins from the endophyte *Chaetomium globosum*. *Planta Med* **2010**, 76 (16), 1910–1914.
121. Ge, H. M.; Yan, W.; Guo, Z. K.; Luo, Q. O.; Feng, R.; Zang, L. Y.; et al. Precursor-directed fungal generation of novel halogenated chaetoglobosins with more

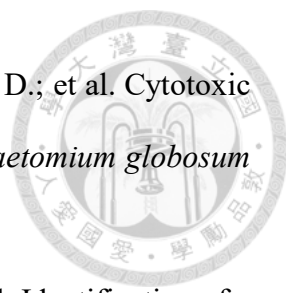
- preferable immunosuppressive action. *Chem Commun* **2011**, 47 (8), 2321–2323.
122. Wang, Y.; Xu, L.; Ren, W.; Zhao, D.; Zhu, Y.; Wu, X. Bioactive metabolites from *Chaetomium globosum* L18, an endophytic fungus in the medicinal plant *Curcuma wenyujin*. *Phytomedicine* **2012**, 19 (3-4), 364–368.
123. Xue, M.; Zhang, Q.; Gao, J. M.; Li, H.; Tian, J. M.; Pescitelli, G. Chaetoglobosin V<sub>b</sub> from endophytic *Chaetomium globosum*: absolute configuration of chaetoglobosins. *Chirality* **2012**, 24 (8), 668–674.
124. Zheng, Q. C.; Kong, M. Z.; Zhao, Q.; Chen, G. D.; Tian, H. Y.; Li, X. X.; et al. Chaetoglobosin Y, a new cytochalasan from *Chaetomium globosum*. *Fitoterapia* **2014**, 93, 126–131.
125. Chen, C.; Zhu, H.; Li, X. N.; Yang, J.; Wang, J.; Li, G.; et al. Armochaeglobines A and B, two new indole-based alkaloids from the arthropod-derived fungus *Chaetomium globosum*. *Org Lett* **2015**, 17 (3), 644–647.
126. Chen, C.; Wang, J.; Liu, J.; Zhu, H.; Sun, B.; Wang, J.; et al. Armochaetoglobins A–J: Cytochalasan alkaloids from *Chaetomium globosum* TW1-1, a fungus derived from the terrestrial arthropod *Armadillidium vulgare*. *J Nat Prod* **2015**, 78 (6), 1193–1201.
127. Chen, C.; Zhu, H.; Wang, J.; Yang, J.; Li, X. N.; Wang, J.; et al. Armochaetoglobins K–R, anti-hiv pyrrole-based cytochalasans from *Chaetomium globosum* TW1-1. *European Journal of Organic Chemistry* **2015**, 2015 (14), 3086–3094.
128. Zhang, Z.; Min, X.; Huang, J.; Zhong, Y.; Wu, Y.; Li, X.; et al. Cytoglobosins H and I, new antiproliferative cytochalasans from deep-sea-derived fungus *Chaetomium globosum*. *Mar Drugs* **2016**, 14 (12), 233.
129. Jiang, T.; Wang, M.; Li, L.; Si, J.; Song, B.; Zhou, C.; et al. Overexpression of the global regulator LaeA in *Chaetomium globosum* leads to the biosynthesis of

- 
- chaetoglobosin Z. *J Nat Prod* **2016**, 79 (10), 2487–2494.
130. Li, W.; Yang, X.; Yang, Y.; Duang, R.; Chen, G.; Li, X.; et al. Anti-phytopathogen, multi-target acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities of metabolites from endophytic *Chaetomium globosum*. *Nat Prod Res* **2016**, 30 (22), 2616–2619.
131. Yan, X.; Wang, L. J.; Wu, Z.; Wu, Y. L.; Liu, X. X.; Chang, F. R.; et al. New on-line separation workflow of microbial metabolites via hyphenation of analytical and preparative comprehensive two-dimensional liquid chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **2016**, 1033, 1–8.
132. Chen, C. M.; Tong, Q. Y.; Zhu, H. C.; Tan, D. D.; Zhang, J. W.; Xue, Y. B.; et al. Nine new cytochalasan alkaloids from *Chaetomium globosum* TW1-1 (Ascomycota, Sordariales). *Sci Rep* **2016**, 6, 18711.
133. Gao, W.; Sun, W.; Li, F.; Chai, C.; He, Y.; Wang, J.; et al. Armochaetoglasins A-I: Cytochalasan alkaloids from fermentation broth of *Chaetomium globosum* TW1-1 by feeding L-tyrosine. *Phytochemistry* **2018**, 156, 106–115.
134. Yang, M. H.; Gu, M. L.; Han, C.; Guo, X. J.; Yin, G. P.; Yu, P.; et al. Aureochaeglobosins A-C, three [4 + 2] adducts of chaetoglobosin and aureonitol derivatives from *Chaetomium globosum*. *Org Lett* **2018**, 20 (11), 3345–3348.
135. Ruan, B. H.; Yu, Z. F.; Yang, X. Q.; Yang, Y. B.; Hu, M.; Zhang, Z. X.; et al. New bioactive compounds from aquatic endophyte *Chaetomium globosum*. *Nat Prod Res* **2018**, 32 (9), 1050–1055.
136. Gao, W.; He, Y.; Li, F.; Chai, C.; Zhang, J.; Guo, J.; et al. Antibacterial activity against drug-resistant microbial pathogens of cytochalasan alkaloids from the arthropod-associated fungus *Chaetomium globosum* TW1-1. *Bioorg Chem* **2019**, 83, 98–104.
137. Qi, J.; Jiang, L.; Zhao, P.; Chen, H.; Jia, X.; Zhao, L.; et al. Chaetoglobosins and

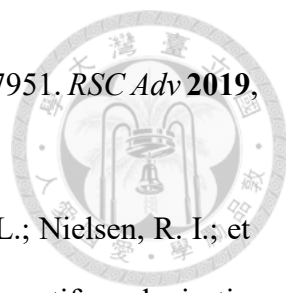
- 
- azaphilones from *Chaetomium globosum* associated with *Apostichopus japonicus*. *Appl Microbiol Biotechnol* **2020**, 104 (4), 1545–1553.
138. Luo, X. W.; Gao, C. H.; Lu, H. M.; Wang, J. M.; Su, Z. Q.; Tao, H. M.; et al. HPLC-DAD-guided isolation of diversified chaetoglobosins from the coral-associated fungus *Chaetomium globosum* C2F17. *Molecules* **2020**, 25 (5), 1237.
139. An, L.; Li, C. P.; Zhang, H.; Wang, M. L.; Kong, L. Y.; Yang, M. H. Four cytochalasin alkaloids produced by *Chaetomium globosum*. *Tetrahedron Letters* **2020**, 61 (19), 151838.
140. Cheng, L.; Zheng, X.; Li, Q.; Wei, M. S.; Chen, C. M.; Zhu, H. C.; et al. Armochaetoglasins J and K: New cytochalasins from *Chaetomium globosum*. *Nat Prod Res* **2022**, 36 (14), 3603–3609.
141. Li, T.; Wang, Y.; Li, L.; Tang, M.; Meng, Q.; Zhang, C.; et al. New cytotoxic cytochalasins from a plant-associated fungus *Chaetomium globosum* kz-19. *Mar Drugs* **2021**, 19 (8), 438.
142. Gao, W. X.; Jiang, R.; Zeng, H. X.; Cao, J.; Hu, Z. X.; Zhang, Y. H. Armochaetoglasins L and M, new cytochalasins from an arthropod-derived fungus *Chaetomium globosum*. *Nat Prod Res* **2024**, 38 (9), 1599–1605.
143. Miao, X.; Hong, L.; Ju, Z.; Liu, H.; Shang, R.; Li, P.; et al. Marchaetoglobins A-D: Four cytochalasins with proangiogenic activity from the marine-sponge-associated fungus *Chaetomium globosum* 162105. *ACS Omega* **2024**, 9 (20), 22450–22458.
144. Miao, X. X.; Hong, L. L.; Liu, H. Y.; Shang, R. Y.; Jiao, W. H.; Xu, S. H.; et al. Marcytoglobosins A and B, cytochalasins from a marine sponge associated *Chaetomium globosum* 162105 fungus. *Chem Biodivers* **2024**, 21 (7), e202400832.
145. Takahashi, M.; Koyama, K.; Natori, S. Four new azaphilones from *Chaetomium globosum* var. *flavo-viridae*. *Chem Pharm Bull* **1990**, 38 (3), 625–628.

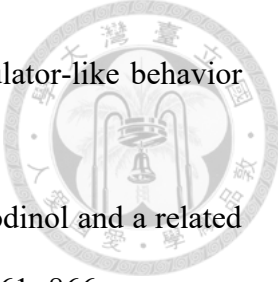
- 
146. Ge, H. M.; Zhang, W. Y.; Ding, G.; Saparpakorn, P.; Song, Y. C.; Hannongbua, S.; et al. Chaetoglobins A and B, two unusual alkaloids from endophytic *Chaetomium globosum* culture. *Chem Commun* **2008**, 45, 5978–5980.
147. Yamada, T.; Doi, M.; Shigeta, H.; Muroga, Y.; Hosoe, S.; Numata, A.; et al. Absolute stereostructures of cytotoxic metabolites, chaetomugilins A–C, produced by a *Chaetomium* species separated from a marine fish. *Tetrahedron Letters* **2008**, 49 (26), 4192–4195.
148. Yasuhide, M.; Yamada, T.; Numata, A.; Tanaka, R. Chaetomugilins, new selectively cytotoxic metabolites, produced by a marine fish-derived *Chaetomium* species. *J Antibiot* **2008**, 61 (10), 615–622.
149. Yamada, T.; Yasuhide, M.; Shigeta, H.; Numata, A.; Tanaka, R. Absolute stereostructures of chaetomugilins G and H produced by a marine-fish-derived *Chaetomium* species. *J Antibiot* **2009**, 62 (7), 353–357.
150. Muroga, Y.; Yamada, T.; Numata, A.; Tanaka, R. Chaetomugilins I–O, new potent cytotoxic metabolites from a marine-fish-derived *Chaetomium* species. Stereochemistry and biological activities. *Tetrahedron* **2009**, 65 (36), 7580–7586.
151. Yamada, T.; Muroga, Y.; Tanaka, R. New azaphilones, seco-chaetomugilins A and D, produced by a marine-fish-derived *Chaetomium globosum*. *Mar Drugs* **2009**, 7 (2), 249–257.
152. Muroga, Y.; Yamada, T.; Numata, A.; Tanaka, R. 11- and 4'-epimers of chaetomugilin A, novel cytostatic metabolites from marine fish-derived fungus *Chaetomium globosum*. *Helv Chim Acta* **2010**, 93 (3), 542–549.
153. Yamada, T.; Muroga, Y.; Jinno, M.; Kajimoto, T.; Usami, Y.; Numata, A.; et al. New class azaphilone produced by a marine fish-derived *Chaetomium globosum*. The stereochemistry and biological activities. *Bioorg Med Chem* **2011**, 19 (13),

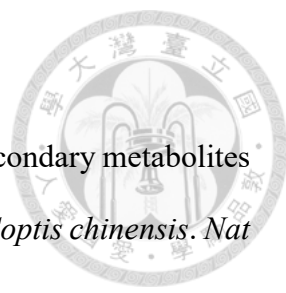
- 4106–4113.
154. Borges, W. S.; Mancilla, G.; Guimaraes, D. O.; Duran-Patron, R.; Collado, I. G.; Pupo, M. T. Azaphilones from the endophyte *Chaetomium globosum*. *J Nat Prod* **2011**, 74 (5), 1182–1187.
155. Yamada, T.; Jinno, M.; Kikuchi, T.; Kajimoto, T.; Numata, A.; Tanaka, R. Three new azaphilones produced by a marine fish-derived *Chaetomium globosum*. *J Antibiot* **2012**, 65 (8), 413–417.
156. Li, X.; Tian, Y.; Yang, S. X.; Zhang, Y. M.; Qin, J. C. Cytotoxic azaphilone alkaloids from *Chaetomium globosum* TY1. *Bioorg Med Chem Lett* **2013**, 23 (10), 2945–2947.
157. McMullin, D. R.; Sumarah, M. W.; Blackwell, B. A.; Miller, J. D. New azaphilones from *Chaetomium globosum* isolated from the built environment. *Tetrahedron Letters* **2013**, 54 (6), 568–572.
158. Youn, U. J.; Sripisut, T.; Park, E. J.; Kondratyuk, T. P.; Fatima, N.; Simmons, C. J.; et al. Determination of the absolute configuration of chaetoviridins and other bioactive azaphilones from the endophytic fungus *Chaetomium globosum*. *Bioorg Med Chem Lett* **2015**, 25 (21), 4719–4723.
159. Chen, C.; Wang, J.; Zhu, H.; Wang, J.; Xue, Y.; Wei, G.; et al. Chaephilones A and B, two new azaphilone derivatives isolated from *Chaetomium globosum*. *Chem Biodivers* **2016**, 13 (4), 422–426.
160. Wang, M. H.; Jiang, T.; Ding, G.; Niu, S. B.; Wang, X. W.; Yu, M.; et al. Molecular epigenetic approach activates silent gene cluster producing dimeric bis-spiroazaphilones in *Chaetomium globosum* CBS148.51. *J Antibiot* **2017**, 70 (6), 801–804.
161. Sun, C.; Ge, X.; Mudassir, S.; Zhou, L.; Yu, G.; Che, Q.; et al. New glutamine-containing azaphilone alkaloids from deep-sea-derived fungus *Chaetomium globosum* HDN151398. *Mar Drugs* **2019**, 17 (5), 253.

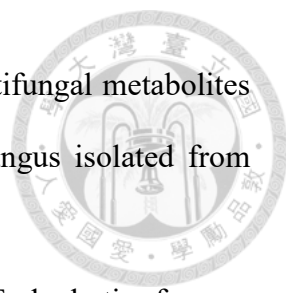
- 
162. Wang, W.; Yang, J.; Liao, Y. Y.; Cheng, G.; Chen, J.; Cheng, X. D.; et al. Cytotoxic nitrogenated azaphilones from the deep-sea-derived fungus *Chaetomium globosum* MP4-S01-7. *J Nat Prod* **2020**, 83 (4), 1157–1166.
163. Song, C.; Ding, G.; Wu, G.; Yang, J.; Zhang, M.; Wang, H.; et al. Identification of a unique azaphilone produced by *Chaetomium globosum* Isolated from *Polygonatum sibiricum*. *Chem Biodivers* **2020**, 17 (3), e1900744.
164. Fan, Y.; Jiang, C.; Zhang, Y.; Ma, Z.; Li, P.; Guo, L.; et al. Pro-angiogenic new chloro-azaphilone derivatives from the hadal trench-derived fungus *Chaetomium globosum* YP-106. *Front Microbiol* **2022**, 13, 943452.
165. Fan, Y.; Jiang, C.; Li, P.; Wang, C.; Chen, H. A new chloro-azaphilone derivative with pro-angiogenesis activity from the hadal trench-derived fungus *Chaetomium globosum* YP-106. *J Oceanol Limnol* **2022**, 41 (3), 1145–1151.
166. Gao, Z. J.; Cao, L. L.; Ren, H. P.; Yu, H.; Wang, Y. Novel chlorinated and nitrogenated azaphilones with cytotoxic activities from the marine algal-derived fungus *Chaetomium globosum* 2020HZ23. *Front Microbiol* **2023**, 14, 1252563.
167. Li, H. Q.; Li, X. J.; Wang, Y. L.; Zhang, Q.; Zhang, A. L.; Gao, J. M.; et al. Antifungal metabolites from *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus in *Ginkgo biloba*. *Biochem Syst Ecol* **2011**, 39 (4-6), 876–879.
168. Yan, W.; Ge, H. M.; Wang, G.; Jiang, N.; Mei, Y. N.; Jiang, R.; et al. Pictet-Spengler reaction-based biosynthetic machinery in fungi. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2014**, 111 (51), 18138–18143.
169. Xu, G. B.; He, G.; Bai, H. H.; Yang, T.; Zhang, G. L.; Wu, L. W.; et al. Indole alkaloids from *Chaetomium globosum*. *J Nat Prod* **2015**, 78 (7), 1479–1485.
170. Yan, W.; Cao, L. L.; Zhang, Y. Y.; Zhao, R.; Zhao, S. S.; Khan, B.; et al. New metabolites from endophytic fungus *Chaetomium globosum* CDW7. *Molecules* **2018**,

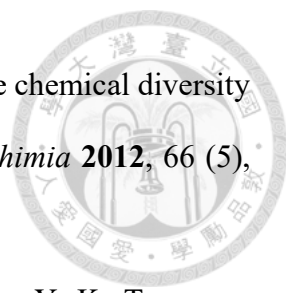
- 23 (11), 2873.
171. Yan, W.; Zhao, S. S.; Ye, Y. H.; Zhang, Y. Y.; Zhang, Y.; Xu, J. Y.; et al. Generation of indoles with agrochemical significance through biotransformation by *Chaetomium globosum*. *J Nat Prod* **2019**, 82 (8), 2132–2137.
172. Bunbamrung, N.; Intaraudom, C.; Dramaee, A.; Boonyuen, N.; Choowong, W.; Rachtawee, P.; et al. Antimalarial and antimicrobial substances from the endophytic fungus *Chaetomium globosum* BCC71876. *Nat Prod Res* **2024**, (Early Access).
173. Safe, A.; Taylor, A. Sporidesmins. 8. Ovine ill-thrift in Nova Scotia. 3. The characterisation of chetomin a toxic metabolite of *Chaetomium cochliodes* and *Chaetomium globosum*. *JCS Perkin I* **1972**, 4, 472–479.
174. Kikuchi, T.; Kadota, S.; Nakamura, K.; Nishi, A.; Taga, T.; Kaji, T.; et al. Dethio-tetra(methylthio) chetomin, a new antimicrobial metabolite of *chaetomium globosum* Kinze ex Fr. Structure and partial synthesis from chetomin. *Chem Pharm Bull* **1982**, 30 (10), 3846–3848.
175. Kanokmedhakul, S.; Kanokmedhakul, K.; Phonkerd, N.; Soyong, K.; Kongsaree, P.; Suksamrarn, A. Antimycobacterial anthraquinone-chromanone compound and diketopiperazine alkaloid from the fungus *Chaetomium globosum* KMITL-N0802. *Planta Med* **2002**, 68 (9), 834–836.
176. Wang, S.; Li, X. M.; Teuscher, F.; Li, D. L.; Diesel, A.; Ebel, R.; et al. Chaetopyranin, a benzaldehyde derivative, and other related metabolites from *Chaetomium globosum*. *J Nat Prod* **2006**, 69 (11), 1622–1625.
177. Marmouzi, I.; Faouzi, M. E.; Saidi, N.; Cherrah, Y.; Rehberg, N.; Ebada, S. S.; et al. Bioactive secondary metabolites from *Chaetomium globosum*, an endophyte from the moroccan plant *Avena sativa*. *Chem Nat Compd* **2017**, 53 (6), 1208–1211.
178. Wang, F.; Zhao, W.; Zhang, C.; Chang, S.; Shao, R.; Xing, J.; et al. Cytotoxic

- 
- metabolites from the endophytic fungus *Chaetomium globosum* 7951. *RSC Adv* **2019**, 9 (28), 16035–16039.
179. Breinholt, J.; Demuth, H.; Heide, M.; Jensen, G. W.; Moller, I. L.; Nielsen, R. I.; et al. Prenisatin (5-(3-methyl-2-butenyl)indole-2,3-dione) an antifungal isatin derivative from *Chaetomium globosum*. *Acta Chem Scand* **1996**, 50 (5), 433–445.
180. Qin, J. C.; Gao, J. M.; Zhang, Y. M.; Yang, S. X.; Bai, M. S.; Ma, Y. T.; et al. Polyhydroxylated steroids from an endophytic fungus, *Chaetomium globosum* ZY-22 isolated from *Ginkgo biloba*. *Steroids* **2009**, 74 (9), 786–790.
181. Ge, H. M.; Zhang, Q. A.; Xu, S. H.; Guo, Z. L.; Song, Y. C.; Huang, W. Y.; et al. Chaetoglocins A-D. Four new metabolites from the endophytic fungus *Chaetomium globosum*. *Planta Med* **2011**, 77(3), 277–280.
182. Li, H.; Xiao, J.; Gao, Y. Q.; Tang, J. J.; Zhang, A. L.; Gao, J. M. Chaetoglobosins from *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus in *Ginkgo biloba*, and their phytotoxic and cytotoxic activities. *J Agric Food Chem* **2014**, 62 (17), 3734–3741.
183. Wijeratne, E. M.; Turbyville, T. J.; Fritz, A.; Whitesell, L.; Gunatilaka, A. A. A new dihydroxanthone from a plant-associated strain of the fungus *Chaetomium globosum* demonstrates anticancer activity. *Bioorg Med Chem* **2006**, 14 (23), 7917–7923.
184. Tantapakul, C.; Promgool, T.; Kanokmedhakul, K.; Soyong, K.; Song, J.; Hadsadee, S.; Jungsuttiwong, S.; et al. Bioactive xanthoquinodins and epipolythiodioxopiperazines from *Chaetomium globosum* 7s-1, an endophytic fungus isolated from *Rhapis cochinchinensis* (Lour.) Mart. *Nat Prod Res* **2020**, 34 (4), 494–502.
185. Nakazawa, T.; Ishiuchi, K.; Sato, M.; Tsunematsu, Y.; Sugimoto, S.; Gotanda, Y.; et al. Targeted disruption of transcriptional regulators in *Chaetomium globosum*

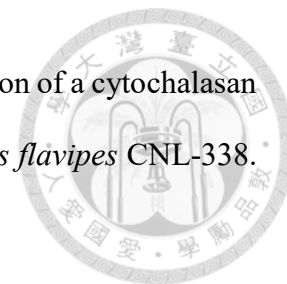
- 
- activates biosynthetic pathways and reveals transcriptional regulator-like behavior of aureonitol. *J Am Chem Soc* **2013**, 135 (36), 13446–13455.
186. Brewer, D.; Jerram, W. A.; Taylor, A. The production of cochliodinol and a related metabolite by *Chaetomium* species. *Can J Microbiol* **1968**, 14, 861–866.
187. Nitao, J. K.; Meyer, S. L. F.; Oliver, J.E.; Schmidt, W. F.; Chitwood, D. J. Isolation of flavipin, a fungus compound antagonistic to plant-parasitic nematodes. **2002**, 4, 55–63.
188. Bashyal, B. P.; Wijeratne, E. M. K.; Faeth, S. H.; Gunatilaka, A. A. L. Globosumones A-C, cytotoxic orsellinic acid esters from the sonoran desert endophytic fungus *Chaetomium globosum*. *J Nat Prod* **2005**, 68 (5), 724–728.
189. Guo, Z. L.; Zheng, J. J.; Cao, F.; Wang, C.; Wang, C. Y. Chemical constituents of the gorgonian-derived fungus *Chaetomium globosum*. *Chem Nat Compd* **2017**, 53 (1), 199–202.
190. Awad, N. E.; Kassem, H. A.; Hamed, M. A.; El-Feky, A. M.; El-Naggar, M. A. A. Hepatoprotective evaluation and isolation of the major secondary metabolites from the ethyl acetate extract of liquid culture filtrate of *Chaetomium globosum*. *Biomed Pharmacother* **2018**, 97, 174–180.
191. Yang, S. X.; Zhao, W. T.; Chen, H. Y.; Zhang, L.; Liu, T. K.; Chen, H. P.; et al. Aureonitols A and B, two new C<sub>13</sub>-polyketides from *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus in *Salvia miltiorrhiza*. *Chem Biodivers* **2019**, 16 (9), e1900364.
192. Khan, B.; Yan, W.; Wei, S.; Wang, Z.; Zhao, S.; Cao, L.; et al. Nematicidal metabolites from endophytic fungus *Chaetomium globosum* YSC5. *FEMS Microbiol Lett* **2019**, 366 (14), fnz169.
193. Qi, J. Z.; Wang, D. Z.; Yin, X.; Zhang, Q.; Gao, J. M. New metabolite with inhibitory activity against alpha-glucosidase and alpha-amylase from endophytic *Chaetomium*

- 
- globosum*. *Nat Prod Commun* **2020**, 15 (7), 1–9.
194. Ji, J. C.; Wei, P. P.; Han, X. Y.; Li, Z. H.; Ai, H. L.; Lei, X. X. Secondary metabolites of the endophytic fungus *Chaetomium globosum* isolated from *Coptis chinensis*. *Nat Prod Commun* **2021**, 16 (9), 1–4.
195. Li, X. D.; Li, X. M.; Wang, B. G.; Li, X. Antimicrobial sesterterpenoids with a unique 5/8/6/5 tetracyclic carbon-ring-system and diepoxide polyketides from a deep sea-sediment-sourced fungus *Chaetomium globosum* SD-347. *Org Biomol Chem* **2024**, 22 (19), 3979–3985.
196. Yang, S. W.; Mierzwa, R.; Terracciano, J.; Patel, M.; Gullo, V.; Wagner, N.; et al. Chemokine receptor CCR-5 inhibitors produced by *Chaetomium globosum*. *J Nat Prod* **2006**, 69 (7), 1025–1028.
197. Yang, S. W.; Mierzwa, R.; Terracciano, J.; Patel, M.; Gullo, V.; Wagner, N.; et al. Sch 213766, a novel chemokine receptor CCR-5 inhibitor from *Chaetomium globosum*. *J Antibiot* **2007**, 60 (8), 524–528.
198. Itoh, Y.; Kodama, K.; Furuya, K.; Takahashi, S.; Haneishi, T.; Takiguchi, Y.; et al. A new sesquiterpene antibiotic, heptelidic acid producing organisms, fermentation, isolation and characterization. *J Antibiot* **1980**, 33 (5), 468–473.
199. Zhang, X.; Ye, M.; Gong, Y. J.; Feng, L. M.; Tao, S. J.; Yin, J.; et al. Biotransformation of pseudolaric acid B by *Chaetomium globosum*. *Process Biochem* **2011**, 46 (10), 2064–2067.
200. Morehouse, N. J.; Clark, T. N.; Kerr, R. G.; Johnson, J. A.; Gray, C. A. Caryophyllene sesquiterpenes from a *Chaetomium globosum* endophyte of the canadian medicinal plant *Empetrum nigrum*. *J Nat Prod* **2023**, 86 (6), 1615–1619.
201. Zhang, C. Y.; Ji, X.; Gui, X.; Huang, B. K. Chemical constituents from an endophytic fungus *Chaetomium globosum* Z1. *Nat Prod Commun* **2013**, 8 (9), 1217–1218.

- 
202. Zhang, G.; Zhang, Y.; Qin, J.; Qu, X.; Liu, J.; Li, X.; et al. Antifungal metabolites produced by *Chaetomium globosum* No.04, an endophytic fungus isolated from *Ginkgo biloba*. *Indian J Microbiol* **2013**, 53 (2), 175–180.
203. Kamat, S.; Kumari, M.; Sajna, K. V.; Jayabaskaran, C. Endophytic fungus, *Chaetomium globosum*, associated with marine green alga, a new source of chrysin. *Sci Rep* **2020**, 10 (1), 18726.
204. Qin, J. C.; Zhang, Y. M.; Gao, J. M.; Bai, M. S.; Yang, S. X.; Laatsch, H.; et al. Bioactive metabolites produced by *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus isolated from *Ginkgo biloba*. *Bioorg Med Chem Lett* **2009**, 19 (6), 1572–1574.
205. McMullin, D. R.; Sumarah, M. W.; Miller, J. D. Chaetoglobosins and azaphilones produced by Canadian strains of *Chaetomium globosum* isolated from the indoor environment. *Mycotoxin Res* **2013**, 29 (1), 47–54.
206. Zhao, S. S.; Zhang, Y. Y.; Yan, W.; Cao, L. L.; Xiao, Y.; Ye, Y. H. *Chaetomium globosum* CDW7, a potential biological control strain and its antifungal metabolites. *FEMS Microbiol Lett* **2017**, 364 (3), fnw287.
207. Momesso, L. D.; Kawano, C. Y.; Ribeiro, P. H.; Nomizo, A.; Goldman, G. H.; Pupo, M. T. Chaetoglobosins produced by *Chaetomium globosum*, endophytic fungus found in association with *Viguiera robusta* GARDN (Asteraceae). *Quim Nova* **2008**, 31 (7), 1680–1685.
208. Samaga, P. V.; Rai, V. R.; Rai, K. M. L. Production of an antimicrobial cytochalasan by an endophytic *Chaetomium globosum* HYML55 from *Hypericum mysorense* and its RNA secondary structure analysis. *Chem Ecol* **2014**, 30 (6), 566–578.
209. Probst, A.; Tamm, C. Biosynthesis of the cytochalasans. Biosynthetic studies on chaetoglobosin A and 19-*O*-acetylchaetoglobosin A. *Helvetica Chimica Acta* **2004**, 64 (7), 2065–2077.

- 
210. Wolfender, J. L.; Queiroz, E. F. New approaches for studying the chemical diversity of natural resources and the bioactivity of their constituents. *Chimia* **2012**, *66* (5), 324–329.
211. Wang, X. Y.; Yan, X.; Fang, M. J.; Wu, Z.; Wang, D.; Qiu, Y. K. Two new cytochalasan derivatives from *Chaetomium globosum* SNSHI-5, a fungus derived from extreme environment. *Nat Prod Res* **2017**, *31* (14), 1669–1675.
212. Zhang, Y.; Zhu, H.; Ye, Y.; Tang, C. Antifungal activity of chaetoviridin A from *Chaetomium globosum* CEF-082 metabolites against *verticillium dahliae* in cotton. *Mol Plant Microbe Interact* **2021**, *34* (7), 758–769.
213. Wang, D.; Zhang, Y.; Li, X.; Pan, H.; Chang, M.; Zheng, T.; et al. Potential allelopathic azaphilones produced by the endophytic *Chaetomium globosum* TY1 inhabited in *Ginkgo biloba* using the one strain-many compounds method. *Nat Prod Res* **2017**, *31* (6), 724–728.
214. Piyasena, K.; Wickramarachchi, W.; Kumar, N. S.; Jayasinghe, L.; Fujimoto, Y. Two phytotoxic azaphilone derivatives from *Chaetomium globosum*, a fungal endophyte isolated from *Amaranthus viridis* leaves. *Mycology* **2015**, *6* (3-4), 158–160.
215. Ye, Y.; Xiao, Y.; Ma, L.; Li, H.; Xie, Z.; Wang, M.; et al. Flavipin in *Chaetomium globosum* CDW7, an endophytic fungus from *Ginkgo biloba*, contributes to antioxidant activity. *Appl Microbiol Biotechnol* **2013**, *97* (16), 7131–7139.
216. Kumar, V. S.; Kumaresan, S.; Tamizh, M. M.; Islam, M. I. H.; Thirugnanasambantham, K. Anticancer potential of NF-kappaB targeting apoptotic molecule "flavipin" isolated from endophytic *Chaetomium globosum*. *Phytomedicine* **2019**, *61*, 152830.
217. Itoh, Y.; Takahashi, S.; Haneishi, T.; Arai, M. Structure of heptelidic acid, a new sesquiterpene antibiotic from fungi. *J Antibiot* **1980**, *33* (5), 525–526.

218. Heard, S. C.; Wu, G.; Winter, J. M. Discovery and characterization of a cytochalasan biosynthetic cluster from the marine-derived fungus *Aspergillus flavipes* CNL-338. *J Antibiot* **2020**, 73 (11), 803–807.



## 論文著作



1. Hsieh, M. H.; Hsiao, G.; **Chang, C. H.**; Yang, Y. L.; Ju, Y. M.; Kuo, Y. H.; Lee, T. H. Polyketides with anti-neuroinflammatory activity from *Theissenia cinerea*. *J Nat Prod* **2021**, 84 (7),1898–1903.
2. Hsiao, G.; Chi, W. C.; **Chang, C. H.**; Chiang, Y. R.; Fu, Y. J.; Lee, T. H. Bioactive pulvinones from a marine algicolous fungus *Aspergillus terreus* NTU243. *Phytochemistry* **2022**, 200, 113229.
3. **Chang, C. H.**; Lee, Y. C.; Chang, L. K.; Chi, W. C.; Cheng, Y. C.; Huang, S. J.; Wang, T. C.; Lu, Y. S.; Lee, T. H. Anti-Epstein–Barr viral agents from the medicinal herb-derived fungus *Alternaria alstroemeriae* Km2286. *J Nat Prod* **2022**, 85 (11), 2667–2674.
4. Chen, S. C.; Jiang, B. C.; Lu, Y. J.; **Chang, C. H.**; Wu, T. H.; Lin, S. W.; Yin, H. W.; Lee, T. H.; Hsu, C. H. Characterization and crystal structures of a cubebol-producing sesquiterpene synthase from *Antrodia cinnamomea*. *J Agric Food Chem* **2023**, 71 (35), 13014–13023.
5. **Chang, C. H.**; Hsiao, G.; Wang, S. W.; Yen, J. Y.; Huang, S. J.; Chi, W. C.; Lee, T. H. Chemical constituents from the medicinal herb-derived fungus *Chaetomium globosum* Km1226. *Bot Stud* **2023**, 64 (1), 34.
6. **Chang, C. H.**; Zhang, Y. R.; Huang, S. J.; Hsiao, G.; Chi, W. C.; Gu A.; Lai Y. W.; Lee, T. H. Anti-neuroinflammatory polyketides from the medicinal herb-derived fungal strain *Didymocyrtis brachylaenae* Km1530. *J Food Drug Anal* **2025**, (Revised Manuscript Submitted).