中国实验方剂学杂志
Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae

·资源与鉴定·

一株恒山产蒙古黄芪内生真菌 *Penicillium griseofulvum* 次生代谢产物的分离和菌种鉴定

刘瑞，张弘弛，李慧，安志鹏，周凤*
（大同大学 生命科学学院，应用生物技术研究所，山西 大同 037009）

［摘要］ **目的**：研究恒山黄芪内生真菌的次生代谢产物。**方法**：采用反复硅胶柱色谱法结合羟丙基葡聚糖凝胶（Sephadex LH-20）色谱法等进行分离纯化，并通过理化常数测定和光谱分析鉴定其化学结构。**结果**：从恒山黄芪内生真菌 *Penicillium griseofulvum* 的发酵液中分离得到 8 个次生代谢产物，经结构解析，分别为 23-methylergosta-7，22-diene-3β，5α，6α-triol（**1**），5α，8α-epidioxy-ergosta-6，9（11），22-trien-3β-ol（**2**），cyclotryprostatins A（**3**），cyclotryprostatins C（**4**），trypacidin（**5**），monomethylsulochrin（**6**），fumiquinazoline D（**7**）和 fumiquinazoline J（**8**）。**结论**：所有化合物均首次从恒山黄芪内生真菌中分离得到。

［关键词］ 内生真菌；黄芪；青霉属；次生代谢产物
［中图分类号］ R282.2；R284.1 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1005-9903（2016）16-0025-05
［**doi**］ 10.13422/j.cnki.syfjx.2016160025
［网络出版地址］ http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160707.1536.004.html
［网络出版时间］ 2016-07-07 15:36:35

Isolation of Secondary Metabolites of Endophytic Fungus *Penicillium griseofulvum* from *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* and Identification of Strain

LIU Rui, ZHANG Hong-chi, LI Hui, AN Zhi-peng, ZHOU Feng*
(*College of Life Science and Agronomy*, *Applied Biotechnology Institute*, *Datong University*, *Datong* 037009, *China*)

［**Abstract**］ **Objective**: To study the secondary metabolites from endophytic fungus of *Astragalus membranaceus*. **Method**: The compounds were isolated by repeated silica gel column chromatography combined with Sephadex LH-20 gel chromatography and identified on the basis of physic-chemical constants and spectral analysis. **Result**: Eight compounds were obtained and elucidated as 23-methylergosta-7, 22-diene-3β, 5α, 6α-triol (**1**), 5α, 8α-epidioxy-ergosta-6, 9 (11), 22-trien-3β-ol (**2**), cyclotryprostatins A (**3**), cyclotryprostatins C (**4**), trypacidin (**5**), monomethylsulochrin (**6**), fumiquinazoline D (**7**) and fumiquinazoline J (**8**). **Conclusion**: The eight compounds were obtained from the endophytic fungus of *Astragalus membranaceus* for the first time.

［**Key words**］ endophytic fungi; *Astragalus membranaceus*; *Penicillium* sp.; secondary metabolites

黄芪是豆科植物蒙古黄芪或膜荚黄芪的干燥根，恒山黄芪属于蒙古黄芪，是晋北地区特有的地道

［收稿日期］ 20151123（016）
［基金项目］ 国家级大学生创新创业训练计划项目（201310120001）；山西省科技攻关项目（20130311011-6）；山西省大学生创新创业训练计划项目（03010042）；大同市科技攻关项目（201468-1）
［第一作者］ 刘瑞，博士，讲师，从事天然药物化学的研究，Tel：0352-7158938，E-mail：liuruilw@163.com
［通讯作者］ * 周凤，硕士，副教授，从事农业基础相关研究，Tel：0352-7158938，E-mail：linzhoufeng@163.com

黄芪[1]。内生真菌(endophytic fungi)是指那些在其生活史的一定阶段或全部阶段生活于健康植物的各种组织和器官内部的真菌,被感染的宿主植物不表现出外在病症,可通过组织学方法或从严格表面消毒的植物组织中分离,其已经被证实是一类丰富代谢产物的重要微生物来源,其代谢产物在抗病毒、抗肿瘤、抗氧化、杀虫等方面显示出潜在的应用价值[2-3]。笔者课题组一直致力于恒山黄芪内生真菌的研究,已经从恒山黄芪的根部的曲霉属的内生真菌中分离得到 6 个活性化合物,并且这些内生真菌的代谢产物显示出了很好的生物活性[4]。这些研究发现激励笔者继续深入研究恒山黄芪内生真菌的次生代谢产物,本研究以一株分离自恒山黄芪根部的内生真菌 *Penicillium griseofulvum* 为研究对象,从其发酵产物中分离得到 8 个次生代谢产物,分别为 23-methylergosta-7,22-diene-3β,5α,6α-triol(**1**),5α,8α-epidioxy-ergosta-6,9(11),22-trien-3β-ol (**2**), cyclotryprostatins A (**3**), cyclotryprostatins C (**4**), trypacidin (**5**), monomethylsulochrin(**6**), fumiquinazoline D(**7**) 和 fumiquinazoline J(**8**)。文章报道了该内生真菌代谢产物的分离和结构鉴定及菌株的种属鉴定,本研究完善了对恒山黄芪内生真菌的研究,为进一步开发利用恒山黄芪内生真菌奠定了一定的基础。

1 材料

JEOL SX102A 型 ESI-MS 质谱仪(日本电子株式会社),ADVANCE 型核磁共振仪 400 MHz(德国布鲁克公司,TMS 作为内标),Fisher-Johns 型熔点仪(未校正,北京市科仪电光仪器厂)。培养基采用 PDA 固体培养基和察氏液体培养基(实验室配制)。SD913 型柱色谱用硅胶(200 ~ 300 目,青岛海洋化工股份有限公司),Sephadex LH-20 型羟丙基葡聚糖凝胶(上海安玛西亚公司股份有限公司),其他试剂均为分析纯。

2 内生真菌的来源和分离

对采自山西省北岳恒山阳坡的恒山黄芪(由大同大学生命科学院周凤教授鉴定为豆科植物膜夹黄芪 *Astragalus membranaceus*)的根部进行了内生真菌的分离,得到菌株 AR09,经三联兄弟生物医药研究(北京)有限公司测序,鉴定为 *P. griseofulvum*。该内生真菌菌株现被保存于山西大同大学应用生物技术研究所。

3 内生真菌的鉴定

将菌株 AR09 接种于 PDA 平板上,27 ℃暗箱培养,从第 2 天开始记录生长形态和外观培养性状以及色素的产生情况;采用玻片培养法,显微观察孢子梗的分枝状况和孢子形态等情况。同时,AR09 转接到 PDA 平板上,培养 10 ~ 15 d 后,刮取内生真菌菌落,抽干水分得干燥的菌丝块,液氮中将菌丝块研磨成粉末状,选用 CTAB 法来提取内生真菌 DNA,1% 琼脂糖凝胶电泳检测其纯度和质量浓度。以提取到的基因组 DNA 为模板,通过上游引物 ITS1(5′-TAATACGACTCACTATAGGG-3′)和下游 ITS4(5′-GGATCTCGACGCTCTCCCT-3′)扩增 18 S rDNA 的部分区域。聚合酶链式反应(PCR)扩增体系:10 × PCR buffer 7.5 μL,2.5 mmol·L^{-1} dNTP 3 μL,ITS1 1 μL, ITS4 1 μL, 15 mmol·L^{-1} $MgCl_2$ 3 μL, DNA template 3 μL,*Taq* polymerase 0.75 μL,ddH_2O 51.75 μL。PCR 的流程:94 ℃预变性 5 min;94 ℃变性 1 min;55 ℃退火 0.5 min,72 ℃延伸 1 min,循环 30 次;最后 72 ℃延伸 10 min。PCR 产物送交三联兄弟生物医药研究(北京)有限公司测序。将测序获得的 ITS 序列通过 Blast 比对,采用邻接法(Neighbor-Joining)构建系统发育树。

AR09 生长迅速,菌丝稀疏;菌落外观初期为白色,逐渐变为浅绿色,厚度 <1 mm;显微观察发现,气生菌丝短,丝绒状,中心呈絮状,菌丝发达多分枝,有隔多核,分生孢子梗顶囊呈伞形,分生孢子为球形,初步鉴定为青霉属真菌;进一步分子生物鉴定,经过 PCR 扩增后获得的 ITS 序列长 612 bp,该序列与 *P. griseofulvum* 的 ITS 序列同源性为 99%(图 1,2),综合形态学特征和 ITS 序列分析结果,将黄芪内生真菌菌株 AR09 鉴定为 *P. griseofulvum*。

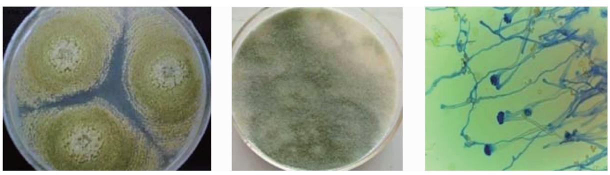

图 1 AR09 菌落形态

Fig. 1 Colonial morphology of strain AR09

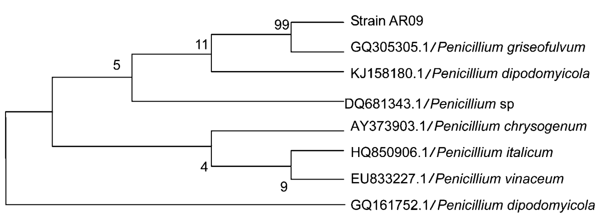

图 2 菌株 AR09 菌落形态和系统发育分析

Fig. 2 Colonial morphology and phylogenic analysis of strain AR09

P. griseofulvum 内生真菌菌株仅在红树植物中发现[5],在陆生植物中是首次发现该种内生真菌。

4 内生真菌的发酵及代谢产物提取和分离

将黄芪内生真菌无菌接种于制备好的 PDA 培养平板上,28 ℃,培养 7 d,无菌操作从培养平板取 0.6 cm 的内生真菌菌饼,接种至含 400 mL 查氏液体培养基 1 000 mL 锥形瓶中,28 ℃,150 $r \cdot min^{-1}$ 摇床上振荡培养 12 d 后,4 层纱布过滤得菌丝和发酵滤液,发酵滤液在 60 ℃浓缩至 3 L 以下,然后用乙酸乙酯提取 5 次(3 L),干燥后的菌丝体(55 ℃,119 g)用甲醇提取 3 次(2 L),减压浓缩提取液,合并乙酸乙酯浓缩液和甲醇浓缩液,阴干后得到褐色粗提取物(60.4 g)。粗提取物经硅胶柱色谱,以乙酸乙酯-甲醇梯度洗脱(体积比分别为 1∶0,200∶1,100∶1,50∶1,20∶1,10∶1,5∶1,2∶1,1∶1,0∶1)得到 10 个部分 Fr. A-J。Fr. B 以乙酸乙酯和石油醚梯度洗脱,得到 12 个部分 sFr. B(1 ~ 12),sFr. B3 再次经硅胶柱色谱洗脱和凝胶柱 Sephadex LH-20 纯化,得到化合物 **1**(51 mg)和化合物 **2**(106 mg)。Fr. D 以乙酸乙酯和石油醚梯度洗脱,得到给 10 个部分 sFr. D(1 ~ 10),sFr. D2 再次经硅胶柱色谱洗脱,得到化合物 **3**(77 mg)和化合物 **4**(69 mg)。Fr. E 以乙酸乙酯和石油醚梯度洗脱,得到 19 个部分 sFr. E(1 ~ 19),sFr. E3 再次经硅胶柱色谱洗脱和凝胶柱 Sephadex LH-20 纯化,得到化合物 **5**(27 mg)和化合物 **6**(15 mg),同样,sFr. E7 再次经硅胶柱色谱洗脱,得到化合物 **7**(18 mg)和化合物 **8**(34 mg)。

5 内生真菌代谢产物的结构鉴定

菌株 AR09 分离到的 8 个代谢产物经过光谱表征,通过与文献报道的的数据比较,被鉴定为 23-methylergosta-7,22-diene-3β,5α,6α-triol(**1**),5α,8α-epidioxy-ergosta-6, 9(11), 22-trien-3β-ol(**2**), cyclotryprostatins A(**3**), cyclotryprostatins C(**4**), trypacidin(**5**), monomethylsulochrin(**6**), fumiquinazoline D(**7**)和 fumiquinazoline J(**8**)。结构见图 3。

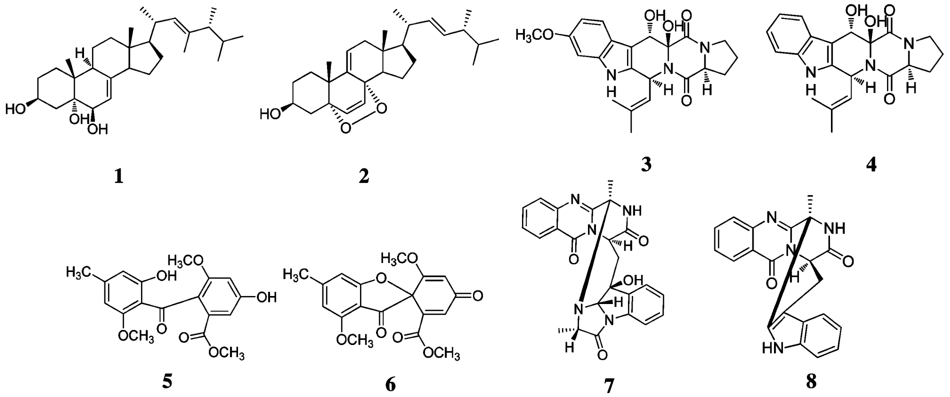

图 3 黄芪内生真菌 AR09 的代谢产物

Fig. 3 Metabolites from strain AR09 of *Astragalus membranaceus*

化合物 **1** 无色晶体,ESI-MS m/z 445.4 $[M+H]^+$。^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 4.08 (1H, m, H-3), 3.61 (1H, d, J = 4.8, H-6), 5.37 (1H, dd, J = 4.8, 2.4, H-7), 0.61 (3H, s, H-18), 1.09 (3H, s, H-19), 0.99 (3H, d, J = 6.6, H-21), 4.91 (1H, d, J = 10.0, H-22), 0.83 (3H, d, J = 7.0, H-26), 0.80 (3H, d, J = 7.0, H-27), 0.91 (3H, d, J = 7.0, H-28), 1.49 (3H, s, H-29)。^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 32.7 (C-1), 30.8 (C-2), 67.8 (C-3), 39.3 (C-4), 76.2 (C-5), 72.5 (C-6), 115.0 (C-7), 143.7 (C-8), 43.8 (C-9), 37.3 (C-10), 22.2 (C-11), 39.5 (C-12), 43.8 (C-13), 54.9 (C-14), 22.7 (C-15), 28.0 (C-16), 56.0 (C-17), 12.4 (C-18), 18.3 (C-19), 39.8 (C-20), 21.6 (C-21), 131.5 (C-22), 135.2 (C-23), 43.6 (C-24), 33.7 (C-25), 19.7 (C-26), 19.4 (C-27), 17.2 (C-28), 13.4 (C-29)。以上数据与文献[6]报道的一致,鉴定该化合物为 23-methylergosta-7,22-diene-3β,5α,6α-triol。

化合物 **2** 白色无定形粉末,ESI-MS 在 m/z 427.3 $[M+H]^+$。^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 4.01 (1H, m, H-3), 6.28 (1H, d, J = 8.8, H-6), 6.60 (1H, d, J = 8.2, H-7), 5.43 (1H, dd, J = 6.0, 2.0, H-11), 0.75 (3H, s, H-18), 1.08 (3H, s, H-19), 1.00 (1H, d, J = 6.8, H-21), 5.24 (1H, dd, J = 15.2, 7.6, H-22), 5.13 (1H, dd, J = 15.1, 8.0, H-23), 0.83 (3H, d, J = 6.8, H-26), 0.82 (3H, d, J = 7.0, H-27), 0.91 (3H, d, J = 7.0, H-28)。^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 32.9 (C-1), 30.7 (C-2), 66.8 (C-3), 37.0 (C-

4), 82.7 (C-5), 135.3 (C-6), 130.7 (C-7), 78.9 (C-8), 142.6 (C-9), 37.8 (C-10), 119.7 (C-11), 41.1 (C-12), 43.6 (C-13), 51.1 (C-14), 21.3 (C-15), 28.0 (C-16), 56.5 (C-17), 13.1 (C-18), 20.9 (C-19), 37.2 (C-20), 24.3 (C-21), 135.9 (C-22), 131.2 (C-23), 47.7 (C-24), 31.8 (C-25), 19.8 (C-26), 20.1 (C-27), 17.2 (C-28)。以上数据与文献[7]报道的一致,鉴定该化合物为 5α,8α-epidioxy-ergosta-6,9(11),22-trien-3β-ol。

化合物 **3** 白色针状结晶, mp 110 ~ 112 °C, ESI-MS m/z 380.2 $[M+H]^+$。^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.93 (1H, s, H-1), 7.40 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-4), 6.75 (1H, dd, J = 8.0 Hz, 3.0 Hz, H-5), 6.81 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-7), 5.01 (1H, s, H-8), 4.30 (1H, dd, J = 11.0, 7.0 Hz, H-12), 2.41 (1H, m, H-13a), 2.04 (1H, m, H-13b), 1.95 (1H, m, H-14a), 1.87 (1H, m, H-14b), 3.55 (1H, m, H-15a), 3.68 (1H, m, H-15b), 6.75 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-18), 5.51 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-19), 2.09 (3H, s, H-21), 1.78 (3H, s, H-22), 3.80 (3H, s, 6-OMe)。^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 133.51 (C-2), 107.48 (C-3), 120.81 (C-3a), 118.44 (C-4), 109.70 (C-5), 156.71 (C-6), 95.36 (C-7), 136.82 (C-7a), 69.90 (C-8), 84.99 (C-9), 165.58 (C-11), 59.61 (C-12), 29.65 (C-13), 21.77 (C-14), 45.70 (C-15), 167.04 (C-17), 48.09 (C-18), 123.41 (C-19), 137.93 (C-20), 18.21 (C-21), 25.92 (C-22), 55.74 (6-OCH_3)。以上数据与文献[8]报道的一致,故鉴定该化合物为 cyclotryprostatin A。

化合物 **4** 白色针状结晶, ESI-MS m/z 382.2 $[M+H]^+$。^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.91 (1H, s, H-1), 7.88 (1H, d, J = 7.8, H-4), 7.05 (1H, d, J = 7.7, H-5), 7.11 (1H, d, J = 7.7, H-6), 7.29 (1H, d, J = 7.8, H-7), 5.73 (1H, d, J = 2.0, H-8), 4.38 (1H, dd, J = 10.4, 7.0, H-12), 2.45 (1H, m, H-13a), 2.07 (1H, m, H-13b), 1.92 (1H, m, H-14a), 2.05 (1H, m, H-14b), 3.63 (2H, m, H-15), 6.01 (1H, d, J = 10.2, H-18), 4.84 (1H, d, J = 10.2, H-19), 2.03 (3H, s, H-21), 1.68 (3H, s, H-22), 4.63 (1H, s, 8-OH), 4.19 (1H, s, 9-OH)。^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 132.8 (C-2), 106.4 (C-3), 124.7 (C-3a), 119.3 (C-4), 119.6 (C-5), 122.1 (C-6), 111.1 (C-7), 136.7 (C-7a), 69.1 (C-8), 83.4 (C-9), 170.4 (C-11), 58.6 (C-12), 29.1 (C-13), 22.3 (C-14), 45.3 (C-15), 166.5 (C-17), 49.9 (C-18), 123.6 (C-19), 135.2 (C-20), 18.3 (C-21), 25.4 (C-22)。以上数据与文献[8]报道的一致,故鉴定该化合物为 cyclotryprostatin C。

化合物 **5** 白色粉末, mp 197 ~ 198 ℃, ESI-MS m/z 345.2 $[M+H]^+$。^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.46 (1H, s, H-5), 2.64 (3H, s, H-6a), 5.81 (1H, s, H-7), 7.20 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 6.60 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-4'), 3.91 (3H, s, 4-OCH_3), 3.69 (6H, s, 6'-OCH_3 and 5'-OCH_3)。^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 83.96 (C-2), 190.44 (C-3), 107.95 (C-3a), 158.31 (C-4), 105.50 (C-5), 152.45 (C-6), 23.32 (C-6a), 105.77 (C-7), 173.85 (C-7a), 138.52 (C-1'), 137.34 (C-2'), 185.00 (C-3'), 103.20 (C-4'), 168.83 (C-5'), 163.11 (C-6'), 56.29 (4-OCH_3), 52.87 (6'-OCH_3), 56.87 (5'-OCH_3)。以上数据与文献[9]报道的一致,故鉴定该化合物为 trypacidin。

化合物 **6** 无色粉末, mp 179 ~ 182 ℃, ESI-MS m/z 369.2 $[M+Na]^+$。^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 6.62 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-4), 7.04 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6), 3.71 (6H, s, 7-OCH_3 and H-8), 6.48 (1H, s, H-3'), 6.08 (1H, s, H-5'), 2.31 (3H, s, H-7'), 3.39 (3H, s, H-9'), 13.01 (1H, s, 2'-OH)。^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 128.35 (C-1), 127.94 (C-2), 156.27 (C-3), 102.92 (C-4), 157.02 (C-5), 107.98 (C-6), 166.24 (C-7), 56.19 (C-8), 111.00 (C-1'), 164.28 (C-2'), 110.37 (C-3'), 148.18 (C-4'), 103.23 (C-5'), 160.94 (C-6'), 22.54 (C-7'), 199.76 (C-8'), 55.69 (C-9'), 52.31 (7-OCH_3)。以上数据与文献[10]报道的一致,故鉴定该化合物为 monomethylsulochrin。

化合物 **7** 淡黄色粉末, ESI-MS m/z 444.2 $[M+H]^+$, 466.2 $[M+Na]^+$。^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.91 (1H, s, H-2), 7.61 (1H, d, J = 7.9, H-7), 7.72 (1H, t, J = 8.0, H-8), 7.50 (1H, t, J = 7.8, H-9), 8.11 (1H, t, J = 8.0, H-10), 5.70 (1H, d, J = 7.2, H-14), 3.21 (1H, m, H-15a), 2.22 (1H, m, H-15b), 2.01 (3H, s, H-16), 5.55 (1H, s, H-18), 4.06 (1H, s, H-20), 7.42 (1H, d, J = 7.7, H-24), 7.25 (1H, d, J =

8.0, H-25), 7.05 (1H, d, J = 8.0, H-26), 7.57 (1H, d, J = 7.8, H-27), 1.41 (3H, d, J = 6.5, H-29), 5.34 (1H, s, 17-OH)。^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 172.5 (C-1), 70.5 (C-3), 151.7 (C-4), 146.5 (C-6), 127.8 (C-7), 134.6 (C-8), 127.5 (C-9), 126.9 (C-10), 120.8 (C-11), 160.7 (C-12), 53.1 (C-14), 42.8 (C-15), 19.2 (C-16), 83.6 (C-17), 85.5 (C-18), 59.3 (C-20), 171.5 (C-21), 137.4 (C-23), 115.5 (C-24), 130.0 (C-25), 125.3 (C-26), 124.1 (C-27), 138.1 (C-28), 18.1 (C-29)。以上数据与文献[11]报道的一致,故鉴定该化合物为 fumiquinazoline D。

化合物 **8** 白色粉末,ESI-MS m/z 357.2 $[M+H]^+$。^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.21 (1H, s, H-2), 7.63 (1H, d, J = 8.0, H-7), 7.72 (1H, dd, J = 8.0, 6.7, H-8), 7.45 (1H, dd, J = 7.8, 6.7, H-9), 8.26 (1H, t, J = 8.0, H-10), 6.20 (1H, d, J = 7.1, H-14), 3.51 (1H, dd, J = 16.8, 5.0, H-15a), 3.47 (1H, dd, J = 16.8, 4.8, H-15b), 2.34 (3H, s, H-16), 8.01 (1H, s, H-19), 7.32 (1H, d, J = 8.0, H-21), 7.15 (1H, d, J = 7.7, H-22), 7.06 (1H, d, J = 7.7, H-23), 7.39 (1H, d, J = 8.1, H-24)。^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 169.8 (C-1), 55.1 (C-3), 152.7 (C-4), 147.0 (C-6), 127.4 (C-7), 134.6 (C-8), 127.4 (C-9), 127.0 (C-10), 120.7 (C-11), 160.1 (C-12), 54.2 (C-14), 25.6 (C-15), 18.2 (C-16), 108.5 (C-17), 131.9 (C-18), 134.5 (C-20), 111.3 (C-21), 123.4 (C-22), 120.8 (C-23), 117.9 (C-24), 127.8 (C-25)。以上数据与文献[12]报道的一致,鉴定该化合物为 fumiquinazoline J。

这 8 个次生代谢产物是首次从黄芪内生真菌中分离得到,其中 cyclotryprostatins A (**3**), cyclotryprostatins C (**4**), fumiquinazoline D (**7**) 和 fumiquinazoline J(**8**),文献[8-9]和[11-12]研究发现,这 4 个代谢产物具有不同程度的抗肿瘤活性,因而恒山产黄芪内生真菌 *P. griseofulvum* 可以作为一种可产生抗肿瘤活性物质的新来源。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:212.
[2] Schulz B, Boyle C, Draeger S, et al. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites [J]. Mycol Res, 2002, 106(9):996-1004.
[3] Strobel G, Daisy B, Castillo U, et al. Natural products from endophytic microorganisms [J]. J Nat Prod, 2004, 67: 257-268.
[4] 周凤,张弘弛,刘瑞,等. 恒山黄芪内生真菌 *Aspergillus* sp. 代谢产物的分离和生物活性的测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 125-129.
[5] 韩壮. 红树植物内生真菌抗肿瘤次生代谢产物的研究[D]. 汕头:汕头大学,2008.
[6] Yaoita Y, Endo M, Tani Y, et al. Sterol constituents from seven mushrooms [J]. Chem Pharm Bull, 1999, 47(6): 847-851.
[7] Luo X, Li F M, Shinde P B, et al. 26,27-Cyclosterols and other polyoxygenated sterols from a marine sponge *Topsentia* sp [J]. J Nat Prod, 2006, 69(12): 1760-1768.
[8] Cui C B, Kakeya H, Osada H. Novel mammalian cell cycle inhibitor, cyclotryprostatins A-D, produced by *Aspergillus fionigatus*, which inhibit mammalian cell cycle at G_2/M phase [J]. Teterahedron, 1997, 53(39): 59-72.
[9] Balan J, Kjaer A, Kovac S, et al. The structure of trypacidin [J]. Acta Chemica Scandinavica, 1965, 19: 528-530.
[10] Liu J Y, Song Y C, Zhang Z, et al. Aspergillus fumigatus CY018, an endophytic fungus in *Cynodon dactylon* as a versatile producer of new and bioactive metabolites [J]. J Biotech, 2004, 114: 279-287.
[11] Takahashi C, Matsushita T, Doi M, et al. Fumiquinazolines A-G, novel metabolites of a fungus separated from a *Pseudolabrus marine* fish [J]. J Chem,2010,27(3):2345-2353.
[12] 韩小贤,许晓妍,崔承彬,等. 海洋真菌烟曲霉 H1-04 生产的生物碱类化合物及其抗肿瘤活性[J]. 中国药物化学杂志, 2007, 17(4): 232-237.

[责任编辑 邹晓翠]