2 株红树内生真菌共培养产生的甾醇类化合物的分离鉴定

丁唯嘉[1], 陈洁怡[1], 王锦华[1], 李春远[1], 林永成[2], 周世宁[3]
(1 华南农业大学 理学院,生物材料研究所, 广东 广州 510642; 2 中山大学 化学与化学工程学院, 广东 广州 510275; 3 中山大学 生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘要:将来自南海红树林的内生真菌 E33 和 K38 混合发酵共培养,从菌丝体中分离到 9 种代谢产物,利用波谱技术确定它们为:24 - 甲基胆甾 -5,24(28) - 二烯 -3β,15β, 19 - 三醇(化合物 1)、24 - 甲基胆甾 -5,24(28) - 二烯 -3β,19 - 二醇(化合物 2)、3β,11α - 二羟基麦角甾 -8,24(28) - 二烯 -7 - 酮 (化合物 3)、(22E, 24R) - 麦角甾 -5, 22 - 二烯 -3β - 羟基 -7 - 酮(化合物 4)、(22E, 24R) -6β - 甲氧基麦角甾 -7, 22 - 二烯 -3β, 5α - 二醇(化合物 5)、22E, 24R -25α, 6α - 环氧麦角甾 -8 (9) 22 - 二烯 -3β, 7α - 二醇(化合物 6)及麦角甾醇、过氧化麦角甾醇和(22E, 24R) - 麦角甾 -7, 22 - 二烯 -3β,5α,6β - 三醇,其中化合物 1、2 为首次从海洋红树林真菌里分离得到. 化合物 1 ~ 6 以往未从单独发酵的两菌中分离得到.

关键词:海洋红树林真菌; 共培养; 甾醇
中图分类号:O629 **文献标志码**:A **文章编号**:1001-411X(2013)02-0267-05

Isolation and Identification of Sterols Produced by Two Mangrove Endophytic Fungi in Competing Co-culture

DING Weijia[1], CHEN Jieyi[1], WANG Jinhua[1], LI Chunyuan[1], LIN Yongcheng[2], ZHOU Shining[3]
(1 Institute of Biomaterial, College of Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2 School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China; 3 School of Life Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Two mangrove endophytic fungi K38 and E33 from the South China Sea Coast were chosen to be co-clutured. Nine sterols, 24-methylcholesta-5,24(28)-diene-3β,15β,19-triol(compound 1),24-methylcholesta-5, 24(28)-diene-3β,19-diol (compound 2), 3β,11α-dihydroxyergosta-8, 24(28)-diene-7-one(compound 3),(22E, 24R)-ergosta-5, 22-diene-3β-hydroxyl-7-one (compound 4), (22E, 24R)-6β-methoxyergosta-5, 22-diene-3β, 5α-diol(compound 5), (22E, 24R)-5α, 6α-epoxyergosta-8, 22-diene-3β,7α-diol(compound 6), ergosterol, ergosterol peroxide and (22E, 24R)-ergosta-7, 22-diene-3β, 5α, 6β-triol were isolated from the crude extracts of mycelia. Among them, compound 1 and compound 2 were found in marine mangrove fungi for the first time, and compounds 1 ~ 6 were not obtained from these two strains by previous pure fermentation.

Key words: marine mangrove fungus; co-culture; sterol

收稿日期:2012-10-09 **网络出版时间**:2013-01-22
网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20130122.1709.005.html
作者简介:丁唯嘉(1979—),女,讲师,博士;通信作者:李春远(1978—),副教授,博士,E-mail:chunyuanli@scau.edu.cn
基金项目:国家自然科学基金(21102049);广东省自然科学基金(9451064201003751);广州市科技计划项目(11C12100771);广东省学校高层次人才项目(2011 年度人才引进专项基金);华南农业大学"211 工程"三期重点建设项目(2009B010100001);合生珠江大学生创新实验计划资助项目(H11005)

微生物共培养技术被广泛应用在食品和酶工业上以提高产量,但较少应用在微生物代谢产物的发现上. 由于自然界微生物之间的竞争无时无处不在,因此,将不同微生物放入同一容器中共培养,有可能促进其代谢某些拮抗物质[1]. 经过筛选,本研究以我国湛江红树植物秋茄叶片及麒麟菜枝干的内生真菌K38和E33为对象,在系统研究2株菌单独培养产物的基础上,深入开展二者共培养研究,已分离鉴定了10多种化合物,并筛选出3种具有较好抗植物病原菌活性的先导物[2-6]. 本文在上述基础上继续对2株菌共培养菌丝体的代谢产物进行研究,从中分离到9种甾醇类化合物,包括以往未从单独发酵的K38和E33菌丝中获得过的24-甲基胆甾-5,24(28)-二烯-3β,15β,19-三醇(化合物1)、24-甲基胆甾-5,24(28)-二烯-3β,19-二醇(化合物2)、3β,11α-二羟基麦角甾-8,24(28)-二烯-7-酮(化合物3)、(22E,24R)-麦角甾-5,22-二烯-3β-羟基-7-酮(化合物4)、(22E,24R)-6β-甲氧基麦角甾-7,22-二烯-3β,5α-二醇(化合物5)和22E,24R-25α,6α-环氧麦角甾-8(9)22-二烯-3β,7α-二醇(化合物6),以及以往曾从K38和E33单独培养的菌丝体中分离得到的麦角甾醇、过氧化麦角甾醇和(22E,24R)-麦角甾-7,22-二烯-3β,5α,6β-三醇. 化合物1和2未见从海洋红树林真菌里分离到的报道.

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

Varian Mercury2Plus 300 (TMS内标)核磁共振波谱仪为美国瓦里安公司生产, Thermo DSQ质谱仪为Thermo Finnigan公司生产,X4型显微熔点仪为上海济成分析仪器有限公司生产,薄层层析和柱层析硅胶为青岛海洋化工厂生产. 所用溶剂为分析纯. 菌株采自中国湛江海域,由中山大学周世宁教授提供,保存于中山大学. 发酵培养基为:葡萄糖10 g/L,蛋白胨2 g/L,酵母膏1 g/L,粗海盐2 g/L,pH 7.

1.2 菌种培养

500 mL三角瓶,内装培养液300 mL,经121 ℃高温灭菌15 min后接种,25 ℃静置培养30 d,过滤,收集发酵液和菌体,共培养200 L.

1.3 提取与分离

菌丝体快速烘干后粉碎,室温下用甲醇浸泡,每隔7 d将提取液浓缩1次,共浓缩3次,合并浓缩液,经硅胶柱层析,用石油醚-乙酸乙酯、乙酸乙酯-甲醇梯度洗脱分别得到化合物1(5 mg)、2(4 mg)、3(8 mg)、4(5 mg)、5(4 mg)、6(4 mg). 麦角甾醇、过氧化麦角甾醇和(22E,24R)-麦角甾-7,22-二烯-3β,5α,6β-三醇分别得到35、18和12 mg.

1.4 结构鉴定

通过分析化合物的氢谱(^{1}H NMR),碳谱(^{13}C NMR),质谱(EIMS)等试验数据,鉴定了化合物1~6的结构. 通过与标准品对照鉴定了另外3种化合物的结构.

2 结果与分析

2.1 试验数据

化合物1:$C_{28}H_{46}O_3$,无色片状晶体. 熔点mp 204~205 ℃, EIMS(m/z) 430 [M]$^+$, 412, 382. ^{1}H NMR(300 MHz, CH_3OD):δ 0.77(m, 1H), 0.93(m, 1H), 0.96 (d, 6.3 Hz, 3H), 0.98(m, 1H), 1.01(s, 3H), 1.02(d, 6.6 Hz, 3H) 1.04 (d, 6.9 Hz, 3H), 1.09(m, 1H), 1.10(m, 1H), 1.15(m, 2H), 1.29(m, 1H), 1.43(m, 1H), 1.54(m, 1H), 1.55(m, 1H), 1.68(m, 1H), 1.77(m, 1H), 1.78(m, 1H), 1.86(m, 2H), 1.97(m, 1H), 2.15(m, 1H), 2.17(m, 1H), 2.19(m, 1H), 2.25(m, 2H), 2.36(m, 1H), 3.55(m, 1H), 3.63(d, 11.7 Hz, 1H), 3.86(d, 11.7 Hz, 1H), 4.16(m, 1H), 4.65(br s, 1H), 4.73(br s, 1H), 5.78(m, 1H). ^{13}C NMR(75 MHz, CH_3OD):δ 157.9, 138.3, 126.4, 107.1, 72.5, 70.8, 63.7, 63.6, 57.8, 52.7, 43.6, 43.6, 43.1, 42.8, 42.2, 36.9, 36.1, 35.1, 34.5, 32.8, 32.2, 32.0, 30.2, 23.2, 22.6, 22.5, 19.4,15.4.

化合物2:$C_{28}H_{46}O_2$,无色针状晶体. mp 240~241 ℃, EIMS(m/z) 414[M]$^+$, 396, 366. ^{1}H NMR (300 MHz, CH_3OD): δ 0.72 (s, 3H), 0.95(d, 6.3 Hz, 3H), 1.03 (d, 6.9 Hz, 3H), 1.02 (d, 6.9 Hz, 3H), 1.08~2.35(overlap, 26H), 3.57(m, 1H), 3.61 (d, 11.7 Hz, 1H), 3.84 (d, 11.7 Hz, 1H), 4.67 (br s, 1H), 4.73(br s, 1H), 5.75(m, 1H). ^{13}C NMR (300 MHz, CH_3OD): δ 156.9, 106.0, 135.5, 127.4, 71.5, 62.7, 57.6, 55.9, 50.4, 42.6, 42.3, 41.5, 40.4, 35.7, 34.7, 33.8, 33.8, 33.4, 32.0, 31.2, 31.0, 28.2, 24.1, 22.0, 21.8, 21.8, 18.7, 12.2.

化合物3:$C_{28}H_{44}O_3$, 白色粉末状固体,EIMS(m/z)428 [M]$^+$, 410, 395. ^{1}H NMR($CDCl_3$, 300 MHz): δ 4.72(s, 1H), 4.66(s, 1H), 4.56 (dd, 4.6, 7.8Hz, 1H), 3.66(m, 1H), 2.43(m, 1H), 2.42(m, 1H), 2.40(m, 1H), 2.33(m, 1H), 2.23(dd, 3.8, 16.2 Hz, 1H), 2.21(m, 1H), 2.07(m, 2H), 2.05(m,

1H), 1.96(m, 1H), 1.92(m, 1H), 1.86(m, 1H), 1.77(m, 1H), 1.70(m, 1H), 1.65 (dd, 4.6, 14.0 Hz, 1H), 1.58(m, 1H), 1.56(m, 1H), 1.55(m, 1H), 1.46(m, 1H), 1.39(m, 1H), 1.32(m, 1H), 1.31(m, 1H), 1.19(s, 3H), 1.14(m, 1H), 1.03(d, 6.9 Hz, 3H), 1.01 (d, 6.9 Hz, 3H), 0.97 (d, 6.3 Hz, 3H), 0.56(s, 3H). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz): δ 199.4, 161.4, 156.6, 136.1, 106.1, 70.0, 66.7, 55.0, 49.3, 46.8, 46.5, 42.6, 41.5, 38.7, 37.5, 36.0, 34.4, 34.0, 33.8, 31.2, 31.0, 28.8, 24.6, 22.0, 21.8, 18.6, 17.5, 13.7.

化合物 4: $C_{28}H_{44}O_2$, 白色针状晶体, mp 170 ~ 171 ℃, EIMS (m/z) 412 [M]$^+$, 397, 314, 285. ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 5.67(d, 1H), 5.17 (m, 2H), 3.65(m, 1H), 2.48(m, 1H), 2.35(m, 1H), 2.23(dd, 1H), 1.94(m, 1H), 1.82(m, 1H), 1.44(m, 1H), 1.17(s, 3H), 0.99(d, 6.6 Hz, 3H), 0.89(d, 6.8 Hz, 3H), 0.81 (d, 6.7 Hz, 3H), 0.79 (d, 6.8 Hz, 3H), 0.67 (s, 3H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): 202.5, 165.6, 135.6, 131.9, 125.9, 70.5, 54.8, 50.1, 49.9, 45.3, 43.1, 42.8, 41.8, 39.9, 38.5, 38.5, 36.4, 33.2, 31.0, 28.6, 26.4, 21.1, 21.1, 20.0, 19.6, 17.7, 17.3, 12.2.

化合物 5: $C_{29}H_{48}O_2$, 无色针状结晶, mp 174 ~ 176 ℃, EIMS(m/z): 444[M]$^+$, 426, 411, 393, 377, 283, 269, 251. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ 0.61 (s, 3H), 0.82 (d, 6.8 Hz, 3H), 0.83 (d, 6.8 Hz, 3H), 0.91 (d, 3H, 6.8 Hz), 1.00 (s, 3H), 1.02 (d, 3H, 6.8 Hz), 2.12 (dd, 12.8, 11.9 Hz, 1H), 3.18 (bd, 5.0 Hz, 1H), 3.39 (s, 3H), 4.05 (m, 1H), 5.16 (dd, 15.1, 8.2 Hz, 1H), 5.23 (dd, 15.1, 7.6 Hz, 1H), 5.40 (m, 1H). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): δ 143.6, 135.4, 132.1, 115.0, 82.4, 76.3, 67.8, 58.3, 55.9, 54.9, 43.8, 42.8, 40.4, 39.6, 39.3, 37.2, 33.1, 32.7, 30.9, 27.9, 22.9, 22.1, 21.1, 19.9, 19.6, 18.3, 17.6, 12.3.

化合物 6: $C_{28}H_{44}O_3$, 无色针状晶体, mp 172 ~ 173 ℃, EIMS(m/z) 428[M]$^+$, 410, 392, 285, 267. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz): δ 0.58 (s, 3H), 0.82 (d, 7.0 Hz, 3H), 0.83 (d, 6.9 Hz, 3H), 0.92 (d, 7.3Hz, 3H), 1.03 (d, 6.6 Hz, 3H), 1.15 (s,3H), 2.18 (dd, 12.4, 11.7 Hz, 1H), 3.33 (bd, 2.6 Hz, 1H), 3.91 (m, 1H), 4.22 (br s, 1H), 5.17 (1H, 15.4, 7.8 Hz, dd), 5.22 (dd, 15.4, 7.4 Hz,1H). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): δ 135.5, 134.4, 131.9, 126.9, 68.5, 67.0, 65.6, 62.6, 53.6, 49.5, 42.8, 42.0, 40.4, 39.1, 37.9, 35.6, 33.0, 30.7, 30.1, 28.9, 23.4, 23.4, 22.7, 20.9, 19.9, 19.6, 17.6, 11.2.

麦角甾醇、过氧化麦角甾醇和(22E, 24R) - 麦角甾 - 7, 22 - 二烯 - 3β,5α,6β - 三醇数据略.

2.2 结构鉴定

化合物 1 氢谱和碳谱提示属于甾醇类, ^{1}H NMR δ 3.63(d, 11.7 Hz, 1H), 3.86(d, 11.7 Hz, 1H), 3.55 (m, 1H), 4.16(m, 1H)从化学位移值判断是连有羟基的碳上的 H,其中 3.63(d, 11.7 Hz, 1H), 3.86(d, 11.7 Hz, 1H)属于同碳质子且不与其他质子偶合,因此推测分子中存在 1 个连接在季碳上的-CH_2OH 和 2 个仲羟基,该推论与^{13}C NMR 中 δ 63.7(CH_2), 72.5 (CH), 70.8(CH)3 个环上连氧的碳相符合. ^{1}H NMR δ 0.96 (d, 6.3Hz, 3H), 1.02(d, 6.6 Hz, 3H), 1.04 (d, 6.9 Hz, 3H), 1.01(s, 3H)表明分子中存在 4 个甲基,其中前 3 个连接在 CH 上,另 1 个连接在季碳上. ^{1}H NMR δ 4.65(br s, 1H), 4.73(br s, 1H)是典型的甾醇 D 环侧链上双键末端 CH_2 上同碳 2 个 H 的信号,该双键分别对应^{13}C NMR δ 157.9(C), 107.1 (CH_2)的碳,此外分子还存在 1 个 3 取代的双键,对应于^{1}H NMR δ 5.78 (m, 1H)和^{13}C NMR δ 138.3(C), 126.4(CH), 在此基础上推测化合物 1 具有胆甾醇骨架,并结合 EIMS 中分子离子峰 m/z 430 [M]$^+$, 推导出分子式 $C_{28}H_{46}O_3$,进而查阅文献,波谱数据与文献[7]报道基本一致,鉴定化合物 1 为 24 - 甲基胆甾 - 5,24(28) - 二烯 - 3β,15β, 19 - 三醇. 其分子结构见图 1.

化合物 2 ^{1}H NMR 从峰形和数据上看,与化合物 1 十分类似,不同之处在于其只有 δ 3.57(m, 1H), 3.61 (d, 11.7 Hz, 1H), 3.84 (d, 11.7 Hz, 1H)3 个连羟基的信号,分别对应连羟基的 1 个 CH 和 1 个 CH_2,因此化合物 2 比化合物 1 少了 1 个羟基,该推论与化合物 1 ^{13}C NMR 中只有 δ 71.5(CH), 62.7(CH_2)2 个环上连氧的碳信号相符合. 此外化合物 1 EIMS 分子离子峰 m/z 414[M]$^+$ 与化合物 1 相比少了 16,也进一步证实化合物 2 是化合物 1 脱去 1 个羟基的衍生物. 在此基础上查阅文献[8],对照有关物理常数和波谱数据,确定化合物 2 为 24 - 甲基胆甾 - 5,24(28) - 二烯 - 3β, 19 - 二醇. 其分子结构见图 1.

化合物 3 氢谱和碳谱提示属于甾醇类, ^{1}H NMR δ 4.56 (dd, 4.6, 7.8 Hz, 1H), 3.66(m, 1H)判断是连有羟基的碳上的 H,因此推测分子中存在 2 个仲羟基. ^{1}H NMR δ 1.19(s, 3H), 1.03(d, 6.9 Hz,

3H), 1.01 (d, 6.9 Hz, 3H), 0.97 (d, 6.3 Hz, 3H), 0.56(s, 3H)表明分子中存在5个甲基,其中裂分为d峰的CH_3连接在CH上,s峰CH_3连接在季碳上.^{1}H NMR存在与化合物1和化合物2类似的δ 4.72(s, 1H), 4.66(s, 1H)的甾醇D环侧链上双键末端CH_2上同碳2个H的信号,该双键分别对应^{13}C NMR δ 156.6(C), 106.1(CH_2)的碳,由此推测化合物3的D环具有与前两者相同的侧链. 此外分子中还存在一个四取代的双键,对应^{13}C NMR δ161.4和136.1, ^{13}C NMR δ 199.4的信号表明分子中存在1个α,β不饱和羰基,在此基础上推测化合物1具有麦角甾醇骨架,并结合EIMS中分子离子峰m/z 428[M]$^+$, 推导出分子式$C_{28}H_{44}O_3$,查阅文献,发现波谱数据与文献[9]基本一致,鉴定化合物3为3β,11α-二羟基麦角甾-8,24(28)-二烯-7-酮. 其分子结构见图1.

化合物4氢谱和碳谱提示属于甾醇类.^{1}H NMR δ 3.65(m, 1H)表明分子中存在1个仲羟基,^{1}H NMR δ 5.67(d, 1H), 5.17(m, 2H)及^{13}C NMR δ 165.6, 135.6, 131.9, 125.9说明分子中存在2个双键,^{13}C NMR δ 202.5的信号表明分子中存在1个α,β不饱和羰基,^{1}H NMR δ 1.17(s, 3H), 0.99(d, 6.6 Hz, 3H), 0.89(d, 6.8 Hz, 3H), 0.81(d, 6.7 Hz, 3H), 0.79(d, 6.8 Hz, 3H), 0.67 (s, 3H)表明分子中有6个CH_3. 据此推测化合物4也具有麦角甾醇骨架. EIMS谱给出分子离子峰m/z 412[M]$^+$,结合氢谱和碳谱,推出分子式为$C_{28}H_{44}O_2$,进一步查阅文献,发现波谱数据与文献报道[10]基本一致,鉴定化合物4为3β,11α-二羟基麦角甾-8,24(28)-二烯-7-酮. 其分子结构见图1.

化合物5无色针状晶体,其^{1}H NMR从峰形和数据上看与我们以往分离到的(22E, 24R)-麦角甾-7, 22-二烯-3β,5α,6β-三醇[5]十分相似,不同之处在于^{1}H NMR多出1个δ 3.39 (s, 3H)的甲氧基信号,推测化合物5是(22E, 24R)-麦角甾-7, 22-二烯-3β,5α,6β-三醇其中的1个羟基甲基化后的产物. 其EIMS中分子离子峰m/z 444 [M]$^+$也与此推论符合,据此查阅文献[11],对照波谱数据基本一致. 化合物5确定为(22E, 24R)-6β-甲氧基麦角甾-7, 22-二烯-3β, 5α-二醇. 其分子结构见图1.

化合物6 EIMS中分子离子峰m/z 428 [M]$^+$,结合氢谱和碳谱,推出分子式为$C_{28}H_{44}O_3$,其分子式与(22E, 24R)-麦角甾-7, 22-二烯-3β,5α,6β-三醇相比少了2个H, 多出1个不饱和度,同时^{1}H NMR δ 3.33 (bd, 2.6 Hz, 1H), 3.91 (m, 1H), 4.22 (br s, 1H)表明分子中可能存在3个连羟基的CH,但^{13}C NMR δ 68.5, 67.0, 65.6, 62.6出现4个环上连氧的碳的信号,因此推测分子不具有3个仲羟基,而是具有2个仲羟基和1个环氧结构单元,据此查阅文献[11],对照波谱数据,基本一致. 确定化合物6为22E, 24R-25α, 6α-环氧麦角甾-8 (9) 22-二烯-3β, 7α-二醇. 其分子结构见图1.

麦角甾醇、过氧化麦角甾醇和(22E, 24R)-麦角甾-7, 22-二烯-3β, 5α, 6β-三醇曾被我们从单独培养的K38和E33菌株中分离到过,其结构通过与实验室标准品进行薄层层析、熔点对照得到确定[5].

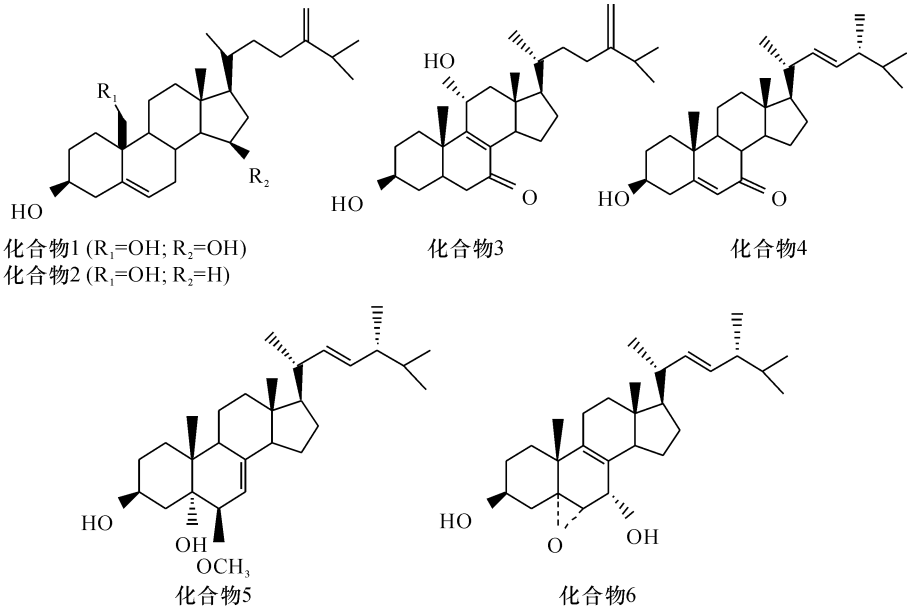

图1 化合物1~6的分子结构

Fig. 1 The structures of compounds 1~6

3　结论

从该菌培养液的乙酸乙酯萃取部分得到 9 个化合物,分别鉴定为 24 - 甲基胆甾 - 5,24(28) - 二烯 - 3β,15β, 19 - 三醇(化合物 1)、24 - 甲基胆甾 - 5,24(28) - 二烯 - 3β, 19 - 二醇(化合物 2)、3β, 11α - 二羟基麦角甾 - 8,24(28) - 二烯 - 7 - 酮(化合物 3)、(22E, 24R) - 麦角甾 - 5, 22 - 二烯 - 3β - 羟基 - 7 - 酮(化合物 4)、(22E, 24R) - 6β - 甲氧基麦角甾 - 7, 22 - 二烯 - 3β, 5α - 二醇(化合物 5) 和 22E, 24R - 25α, 6α - 环氧麦角甾 - 8 (9) 22 - 二烯 - 3β, 7α - 二醇(化合物 6)、麦角甾醇、过氧化麦角甾醇和(22E, 24R) - 麦角甾 - 7, 22 - 二烯 - 3β, 5α,6β - 三醇. 化合物 1 和 2 以往未见从海洋红树林真菌里分离到的报道. 化合物 1 ~ 6 以往未曾从单独发酵的 K38 或 E33 菌株中分离得到. 上述化合物的相关生物活性尚在研究中.

参考文献:

[1] CUETO M, JENSEN P R, KAUFFMAN C, et al. Pestalone, a new antibiotic produced by a marine fungus in response to bacterial challenge[J]. J Nat Prod, 2001, 64: 1444-1446.

[2] LI Chunyuan, DING Weijia, SHAO Changlun, et al. A new diimide derivative from the co-culture broth of two mangrove fungi (strain no. E33 and K38)[J]. J Asian Nat Prod Res, 2010, 12(9): 809-813.

[3] 李春远, 佘志刚, 林永成, 等. 红树林内生真菌 K38 和 E33 混合发酵代谢产物研究[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2010, 49(6): 136-138,144.

[4] LI Chunyuan, ZHANG Jie, SHAO Changlun, et al. A new xanthone derivative from the co culture broth of two marine fungi (Strain No. E33 and K38)[J]. Chem Nat Compd, 2011, 47(3): 382-384.

[5] 李春远,张杰,钟嘉升,等. 2 株红树内生真菌混合发酵培养液中代谢产物的分离鉴定[J]. 华南农业大学学报,2011, 32(1): 117-119.

[6] 丁唯嘉,黎荣棠,李春远, 等. 两株红树林真菌共培养液抗植物病菌成分研究[J]. 广东农业科学, 2011, 38(9): 72-74.

[7] DUH C Y, WANG S K, CHU M J, et al. Cytotoxic sterols from the soft coral *Nephthea erecta*[J]. J Nat Prod, 1998, 61(8): 1022-1024.

[8] IGUCHI K, SAITOH S, YAMAHA Y. Novel 19-oxygenated strols from the okinawan soft coral *Litophyton viridis*[J]. Chem Pharm Bull, 1989, 37(9): 2553-2554.

[9] CUI Chuanming, LI Xiaoming, MENG Li, et al. 7-Norergosterolide, a pentalactone-containing norsteroid and related steroids from the marine-derived endophytic *Aspergillus ochraceus* EN-31[J]. J Nat Prod, 2010, 73(11): 1780-1784.

[10] NOTARO G, PICCIALLI V, SICA D. New steroidal hydroxyketones and closely related diols from the marine sponge *Cliona copiosa*[J]. J Nat P rod, 1992, 55(11): 1588-1594.

[11] 李冬利, 李晓明, 崔传明, 等. 鸭毛藻内生真菌 *Hypocreales* sp. 的化学成分研究[J]. 海洋科学, 2008, 32(11): 51-55.

[12] 杨小龙, 王飞, 邵红军, 等. 褐薄小齿菌的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2007, 19(4): 605-609.

【责任编辑　霍　欢】