内生真菌对生物活性物质代谢转化作用的研究进展

王 宇, 戴传超*

(江苏省生物多样性与生物技术重点实验室, 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210046)

摘 要: 内生真菌广泛存在于健康植物组织内部, 对生物活性物质具有独特的代谢转化能力。综述内生真菌在降解宿主体内有毒物质、模拟药物在哺乳动物体内代谢、选择性转化手性化合物等方面的应用。此外, 还阐述了内生真菌通过自身代谢产生前体活性物质及作为生物诱导子调节植物次生代谢、富集活性产物等方面的研究进展。内生真菌作为微生物转化体系的独特材料具有广泛的应用前景。

关键词: 内生真菌; 活性物质; 代谢; 生物转化

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)09-1496-04

Advances in studies on metabolic transformation of bioactive substances by endophytic fungi

WANG Yu, DAI Chuan2chao

(Jiangsu Provincial Key Laboratory of Biodiversity and Biotechnology, College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China)

Key words: endophytic fungi; active substance; metabolism; biotransformation

生物转化(biotransformation)是以微生物或酶作为催化剂, 以可再生资源取代化石资源, 大规模生产人类所需的化学品、医药、能源、材料等, 是解决人类目前面临的资源、能源和环境危机的有效手段。生物转化是生物学、化学、过程工程科学的交叉领域, 是利用微生物细胞中的酶高效地、选择性地通过某种化学反应催化一种化学成分, 以获得具有高活性成分的过程, 即利用微生物代谢过程中产生的酶将无效或低效成分变为有效和高效成分, 又称微生物酶法转化^[1]。微生物转化具有传统化学工艺无可比拟的优越性, 人们普遍认为生物催化与生物转化将是生物技术革命的第三次浪潮^[2]。

内生真菌是植物体内最主要的生物类群, 存在于所有健康植物组织中。由于其特殊的生活史, 内生真菌引起了国内外广泛的关注和研究, 但目前对于内生真菌参与的生物活性物质代谢及转化还未引起广泛的关注。本文着重阐述内生真菌对植物活性成分的修饰改变以及内生真菌通过自身代谢产生与宿主植物相同、相似的前体物质或活性成分等方面的研究进展。

1 植物内生真菌研究进展

有关植物内生真菌的定义, 现在普遍接受的一般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, 不仅包括了互惠共利的和中性的共生真菌, 也包括了那些潜伏在宿主体内的病原菌。研究发现几乎所有的植物组织中都有内生真菌的存在^[3]。在进化过程中, 内生菌在与宿主植物长期共存逐渐形成了各种对宿

主的适应机制, 除了从宿主吸收营养物质外, 内生真菌还能通过自身的代谢活动减轻宿主产生的有毒物质, 增强其自身生态位的优势; 此外还能为宿主提供一些有益的特性, 如促进植物生长发育, 增强植物对不良环境的各种抗性等^[4]。通过建立体外共培养技术, 观察内生真菌与无菌苗或愈伤组织共培养时的各自生理反应, 表明内生真菌的某些化学成分(多糖、糖蛋白等)作为外源信号分子能明显促进、转化或自身合成宿主体内生物活性物质, 这成为目前很好的研究方向。相比传统的化学合成法, 通过自然选择发现新的活性结构物质明显比通过组合化学研究要优越得多。但是多数自然产物只具有有限的特定功能, 因此研究新颖的次级代谢产物有必要专注于具有特定生活史的微生物群体上。

2 利用生物转化体系对活性成分进行结构修饰的研究

中药活性成分是中药治疗与预防疾病的物质基础, 也是药物化学家寻找新的药理活性分子的重要来源。人们已经从中药中分离纯化出数以万计的活性化合物, 其中许多化合物被成功地开发成为药物, 诸如利血平、地高辛、青蒿素、麻黄碱、紫杉醇等。但很多中药活性成分由于量低、药理作用不显著、不良反应大、水溶性差等原因极大地限制了其广泛应用^[5]。大多数的天然活性物质都具有极其复杂的结构, 其理化性质和生物活性都与其分子的立体构型有关, 尤其是生物活性对结构要求很严格。而应用通常的化学方法进行人工合成或结构修饰改造都是比较困难的。生活转化反应几乎包括所有的体外有机化学反应: 羟基化、氧化、脱氢、氯化、

* 收稿日期: 2009-04-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30770073, 30500066)

作者简介: 王 宇(1986), 男, 江苏南京人, 硕士研究生, 主要从事内生真菌与宿主植物相互关系方面研究。 Tel: 13770541582
E2mail: wycarl@163.com

* 通讯作者 戴传超 Tel: (025)85891382 13951722479 E2mail: daichuan2chao@njnu.edu.cn

还原、水解、水合、酯化、酯转移、脱水、脱羧、酰化、胺化、异构化和芳构化等,而且生物转化还可以合成化学上难以合成的物质,特别是复杂的天然活性物质,在药物合成上具有重要的应用价值^[6]。

若将生物催化技术引入天然化学成分的快速筛选研究,通过生物转化对从已发现具活性的天然化合物进行结构修饰,以期发现新的高活性、高可溶性、低毒副作用的优质药物先导化合物具有重要意义。因此,余伯阳等^[7]提出将天然药物的生物转化研究与组合化学理论相结合建立生物组合化学(bio-combinatorial chemistry)的研究方法。通过筛选高转化效率的活性微生物,提供微生物生长代谢最适环境,实现对药用活性成分的生物转化,以期达到增强中药疗效、产生新的活性、提高活性成分的量、降低药物不良反应和浓缩活性成分等效果^[8]。

生物转化在新药研制方面有广泛的应用,马晶等^[5]在国内首次利用刺囊毛霉对甘草次酸进行微生物转化,优化了转化条件,得到主产物 7 β 羟基甘草次酸,解决了甘草次酸及其水解产物长期服用产生的不良反应,为进一步研究甘草次酸的代谢及新药开发提供理论指导。董玫等^[9]研究发现,六味地黄丸全成分生物转化液对小鼠肝癌 H22 细胞的生长抑制率达到 33%,而等量的六味地黄丸煎剂则无明显抑瘤作用。陈有根等^[10]利用灰色链霉菌 *Streptomyces griseus* 在转化培养基中首次得到了一个新的青蒿素转化产物 9 α 羟基青蒿素(9 α hydroxyartemisinin, QHS21),该化合物的结构与用化学改造方法所得到的生物结构不同,即羟基取代位置不是在 12 位,而是在 9 位。体外抗疟活性研究表明,9 α 羟基青蒿素具有较强的抗疟活性,从而改变了以往半合成青蒿素的衍生物都是在双氢青蒿素的羟基上进行取代反应,需引入其他基团的状况。

综上所述可见微生物转化具有诸多优势,但以往的生物转化体系大都是利用筛选到的真菌或细菌对已有活性成分进行结构改造,具有一定的盲目性,缺乏相关的选择性,而植物内生真菌由于其特定的生活环境,经过长期进化使其在活性物质代谢转化方面具有一些特殊的作用。

3 内生真菌对生物活性成分代谢转化作用的研究

3.1 内生真菌对宿主体内有毒物质的降解转化作用:为了应对微生物病原体的入侵,植物将产生一系列的防御机制,包括产生各种毒性代谢产物。这些次级代谢产物同样也产生于健康植物中以随时应对病原体的入侵。内生真菌生活在植物体内,必需应对植物体产生的毒性防御产物,各种适应性的生物降解能力及一系列的特殊酶系使得它们能够生存在这种特殊环境下^[11]。内生真菌对植物组成型次生代谢产物的生物转化能力在一定程度上也决定了其宿主的范围,而内生真菌作为目前未被广泛研究转化类群越来越受到广泛重视。

苯甲酰喹(benzoxiquine)是一种独特的代谢产物,出现于禾本科、爵床科、玄参科植物中,其作为一种防御物质应对各种虫害包括细菌、真菌或昆虫的侵入,这在禾本科谷类作物中已广泛证实。当细胞的完整性被破坏时异羟氨酸

(hydroxamic acids)迅速转化为 22 苯并噻唑啉酮(22benzoxazolone, BOA)及 α 甲氧基苯并噻唑啉酮(α methoxybenzoxazolone, MBOA),因此入侵的病原菌或真菌便被具有毒性的 BOA 和 MBOA 所抑制。

Zikmundova 等^[11]从爵床科植物 *Aphelandra tetragona* (Vahl) 分离到 4 株内生真菌,通过 HPLC、MS、NMR 分析,接骨木镰刀菌 *Fusarium sambucinum* 能将 BOA、HBOA 降解为 N2(22 羟苯基)丙酰胺; *Plectosporium tabacinum*、*Gladiolium cibotii*、*Chaetosphaeria* sp 能将 BOA、HBOA 降解为 2 羟基 N2(22 羟苯基)乙酰胺、N(22 羟苯基)乙酰胺等无毒物质,体现了内生真菌对宿主体内有毒物质的脱毒过程。

3.2 内生真菌模拟药物在哺乳动物体内代谢的转化过程:白桦脂酸(betulonic acid)是存在于许多植物体中的萜类化合物,具有抗癌、抗 HIV 等药理活性。桦木酮酸(betulonic acid)是其结构类似物,也具有相似的特性。为了获得潜在药理活性,Denise 等^[12]从法国梧桐 *Platanus orientalis* L1 的树皮和叶片中分离到 3 株内生真菌 *Arthrotrichum*、*Chaetophoma* 和 *Dematium*,它们分别能将桦木酮酸转化为 2 α 2 β 7 β hydroxylup20(29)2en22 α oic acid、3 α 2 α 2 β hydroxylup20(29)2en22 α oic acid 等,并且 *Chaetophoma* 和 *Dematium* 都能将白桦脂酸转化为桦木酮酸。而整个转化过程及产物很可能与白桦脂酸、桦木酮酸在哺乳动物体内代谢相似,为研究药物代谢提供了很好的依据。

3.3 内生真菌对手性化合物的转化作用:内生真菌生物转化体系具有诸多优势,不仅仅因为它们生长迅速,极易产生大量胞内、胞外酶,更因为在很多情况下,它们对映异构体具有选择性,能够从外消旋混合物中获得手性化合物。

Keyller 等^[13]研究了内生真菌对药物活性成分的立体选择性转化。甲硫达嗪(THD)是一种神经阻滞剂,对于治疗精神分裂症及其他神经性扰乱具有很好的疗效。THD 的立体异构性十分重要,右旋结构通常显示其神经方面的药效,它在体内能转变为 THD2SO 结构,随后继续被氧化成 THD2SO₂, THD2SO 和 THD2SO₂ 是具有药理活性的代谢产物;而另一种经硫氮杂苯环氧化作用形成的 THD Δ SO 则具有毒性。实验证明,从柄柄菊 *Tithonia diversifolia* Al Gray、*Viguiera arenaria* 及 *Viguiera robusta* 3 种植株中分离得到的 4 株内生真菌拟茎点霉属(*Phomopsis* sp)、*Diaporthes phaseolorum*、烟曲霉 *Aspergillus fumigatus*、炭疽菌 *Glomerella cingulata* 都具有立体选择性的转化作用。它们分别能将 THD 最大限度转化为(S, R) Δ THD2SO、(R, R) Δ THD2SO、(R, S) Δ THD2SO 及(R) Δ THD Δ SO(SE) + (S) Δ THD Δ SO(FE)。这种由相同的前体物质经代谢转化后产生多种不同结构类型的相似产物,体现了内生真菌立体选择性转化作用,也是生物转化体系相对于化学合成法最大的优势之一。

黄烷类化合物是一种自由基清除剂,Agusta 等^[14]从茶树叶片中提取了 5 种不同结构的化合物,均属于黄烷类化合物。从山茶中分离的内生真菌腐皮壳菌 *Diaporthes* sp 可立

体选择性的氧化烷类化合物结构中第 4 位 C 原子, 提供一个 2OH 的结构。随后的实验证明腐皮壳菌的生物氧化作用依赖于胞内酶利用外界分子氧进行的。

目前影响微生物(内生真菌)转化的因素主要包括高转化能力菌株的筛选、培养基组成的优化配置, 及外界转化影响因子的干扰, 如转化时间、投料时间、金属离子、pH、温度等。针对上述问题, 多数研究者认为今后微生物转化的研究方向应致力于优良菌种的选育、转化培养基的优化、转化条件的优化和控制、多菌种混合转化的研究、新型发生器的设计及转化产物纯化条件的优化和新剂型的研究等几方面^[15]。由于内生真菌具有特殊的生活史, 它与植物长期共存形成了相互依赖的关系, 在分离出植物体后是否还具有显著的代谢转化能力, 怎样模拟植体环境, 让其保持高效的转化能力是今后研究的主要方向。

4 内生真菌通过自身代谢产生前体物质或活性成分的研究

宿主植物与其内生真菌由于长期共生, 关系十分密切, 相互影响很大。很多实例已证实, 它们之间具有相同次生代谢产物合成的途径, 获得了相关基因的直接传递, 生活在共同环境中经长期直接接触而传递吸收遗传物质。因此, 植物体内的内生真菌在生长代谢过程中能够产生与宿主细胞相同或相似的生理活性物质^[16]。植物的多样性、复杂性和特殊性使源于其中的内生真菌也同样具有多样性、复杂性和特殊性, 因而内生真菌所产生的次级代谢产物化学结构特殊、生物活性多样, 活性化合物的结构类型远超出其植物代谢产物的范围, 已成为寻找新生物活性物质的重要新资源^[3], 在农业和医药工业中具有重要的应用潜力。近年来, 随着我国药用植物资源的日益匮乏, 植物内生真菌及其活性物质的研究成为了药物研发的重要课题, 对植物内生真菌的研究将有利于我国微生物药物的开发和珍稀植物资源的保护^[16]。

自从 1993 年, Stierle 等^[17]从药用植物太平洋红豆杉 *Taxus brevifolia* Nutt. 树皮中分离到 1 株具有合成与宿主相同抗癌药物紫杉醇的内生真菌 *Taxomyces andreanae*, 内生真菌的研究逐渐成为热点。Barbara 等从草本和木本植物中分离了 6 500 多株内生真菌, 以寻找生物活性物质, 并通过实验研究认为多数活性物质都最初始于几种不同的生物合成途径, 如类异戊二烯、多聚乙醚等, 并属于几种不同结构类型的化合物或其衍生物, 如萜类化合物、固醇、醌、酚类、细胞松弛素及恩镰孢菌素等。

内生真菌在生长过程中会产生各种各样的酶, 如纤维素酶、蛋白酶、酯化酶等。酶是一类具有高效率的生物催化剂, 可以使复杂的化学反应在常温、常压下迅速完成。丰富而强大的酶系可以将植物内的成分分解转化形成新的活性成分, 产生新的药效。内生真菌代谢转化生物活性物质可通过下述途径来生产: (1) 内生真菌以某种有效成分为前体物质, 自身代谢形成新的化合物; (2) 内生真菌在生长过程中产生丰富的次生代谢产物, 有些次生代谢产物自身就是功效良好的药物; (3) 内生真菌的次生代谢产物和某些活性物质发生化学反应生成新的化合物; (4) 在特殊环境中内生真菌也有可

能改变自身的代谢途径, 产生新的活性成分或改变各活性成分的相互比例; (5) 内生真菌的分解作用有可能将有毒物质进行分解, 从而降低药物的毒副作用^[19]。

植物内生真菌代谢产物的类型与其宿主植物息息相关。从植物内生真菌代谢所产生的各种活性成分来看, 不同属的植物因其内环境不同, 所需要的能够帮助其生长的化合物也不同, 因此寄生在不同属植物中的即使同属的内生真菌所产生的化合物也不相同。而同属植物一方面其内环境是相同或相近的, 另一方面所需要的有助于其生长的化合物是相同或相近的, 因此即使寄生在其体内的不同属内生真菌也能够产生相同或相近的化合物。植物内生真菌与寄主植物之间的化学生态学关系即体现在植物内生真菌为其寄主植物提供生长所需要的化合物^[20]。植物内生真菌产生的生理活性物质中, 生物碱是最重要的一类。从香港红树 *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. 种子中分离出的内生真菌 2524 号, 在其发酵液中分离到 2 个神经酰胺: (2, $\text{32dihydroxytetraacosanolyamino}$)₂₁, $\text{32dihydroxy2octadecane}$ 和 (2, $\text{32dihydroxy2docosanoylamino}$)₂₁, $\text{32dihydroxy2octadecane}$, 二者均为细胞内重要的第二信使^[21]。长春花 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don 内生真菌 CY3 可代谢产生长春新碱(vicristine), 长春新碱是一种有效的抗肿瘤药物^[22]。内生真菌代谢产物中萜类化合物也较多, 雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 中内生真菌串珠镰孢胶孢变种 *Fusarium moniliforme* var. *subglutinaris* 代谢物中存在 2 种二萜类化合物 subglutinol A 和 subglutinol B, 均具有免疫抑制作用, 且无细胞毒性^[23]。此外, 还从植物内生真菌中分离出具有生物活性的香豆素类、木质素类化合物等。

内生真菌除了能够代谢产生药理活性成分, 从其发酵液中提取活性物质, 也是一种重要的应用。Souwalak 等^[24]从藤黄属植株中分离到 51 株内生真菌, 根据 ITS 序列分析, 分别属于针尾曲霉 *Aspergillus aculeatus*、弯孢(霉)属(*Curvularia* sp.)、青霉属(*Penicillium* sp.)、拟茎点霉属(*Phomopsis* sp.) 等。80% 的发酵液或菌丝提取物具有生物活性, 主要包括抗分枝杆菌、抗疟、抗病毒、抗增殖、抗氧化、清除羟自由基的活性。Hidayat 等^[25]从树状欧石南 *Erica arborea* L. 分离到一株未知的子囊菌, 其发酵液经醋酸乙酯萃取后具有很强的抗真菌活性, 对灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*) 特别有效; 此外对藻类也有杀灭作用, 在环境保护上极具潜力。Li 等^[26]从几种中国传统药用植物中分离到 130 株内生真菌, 其中 9.2% 的发酵液提取物具有抗癌活性, 30% 具有抗真菌活性, 一些还具有光谱抗菌活性, 充分说明了中国传统药材中的内生真菌具有合成、转化各种新颖的生物活性物质的潜力。Siva 等^[27]从雷公藤中分离到多株内生真菌, 经醋酸乙酯萃取其发酵产物后, 发现有多株真菌对人类外周血单核细胞(PBMC)的增殖具有抑制作用, 且无细胞毒性, 提示真菌提取物能够提供大量显著的免疫调节物质。

5 内生真菌作为生物诱导子的应用

内生真菌除了参与活性物质转化及自身代谢产生活性物

质外,还可作为生物诱导子来调节植物次生代谢,从而获得人类所需的活性产物。王剑文等^[28]研究发现对黄花蒿 *Artemisia annua* L 内生胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 菌丝体进行提取纯化,得到内生菌寡糖提取物,加入到黄花蒿发根培养系统中可显著促进发根青蒿素的合成,青蒿素产量可达 13.15 mg/L,比同期对照产量提高 51.63%。

但是对于诱导子的作用机制,目前只是大体的推测,并没有彻底地阐明。由于控制某些次生代谢产物合成的关键酶还没弄清楚,很难进行有针对性的筛选对其起作用的诱导子。此外,如果清楚诱导子与代谢产物的结构和功能关系,就可以选择特定的诱导子去刺激特定的植物次生代谢物的合成,否则,筛选诱导子就具有很大的盲目性。另外,在诱导子的纯化和结构分析方面也有待进一步研究,如果将人工合成的较纯的诱导子用于大规模生产次生代谢物,将会使次生代谢物的产量大大提高,同时降低生产成本,它所带来的经济和社会效益将是相当可观的^[29]。

6 展望

内生真菌的独特生境使其相对于其他微生物在生物转化领域更具目的性和选择性,因此内生真菌将是微生物转化的一个重要材料,其在合成具有生物活性的代谢产物方面将具有巨大的潜力。今后,一方面可以从生长在极端环境的植物中分离更加新颖的内生真菌;另一方面从众多的内生真菌中寻找更加有效的生物活性化合物;以及对已知产生活性成分的内生真菌进行遗传改良和代谢调控开展研究,以提高活性成分的产量,为大规模生产创造条件。

参考文献:

[1] 胡宇,徐凤花,张永忠. 生物转化的研究进展及在食品医药领域上的应用 [J]. 农业工程技术, 2008, 1: 12-15

[2] 欧阳平凯,林章凛. 工业生物转化过程 [M]. 北京:化学工业出版社, 2005

[3] 顾谦群,温江妮,朱天骄,等. 药用植物内生真菌))) 天然活性产物新资源 [J]. 中国海洋大学学报, 2006, 36(3): 3652-369

[4] 陈利军,陈月华,史洪中,等. 药用植物内生真菌研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2006, 34(11): 24382-2440

[5] 马晶,辛秀兰,张微,等. 刺囊毛霉对甘草次酸的微生物转化研究 [J]. 北京化工大学学报, 2008, 35(1): 72-82

[6] 赵丙勇,杨永红,王东,等. 生物转化及其在药物合成上的应用 [J]. 云南农业大学学报, 2006, 21(6): 762-769

[7] 余伯阳. 以生物组合化学技术发现新高效低毒天然药物先导化合物 [J]. 中国天然药物, 2007, 5(3): 162-173

[8] 汤亚杰,徐小玲,李艳,等. 中药全成分生物转化 [J]. 中国天然药物, 2007, 5(4): 242-244

[9] 董枚,郭芳. 六味地黄发酵液的抗癌和减毒作用 [J]. 现代中西医结合杂志, 2002, 11(18): 1753-1754

[10] 陈有根,余伯阳. 微生物转化青蒿素为 9 α -羟基青蒿素的条件优化 [J]. 药物生物技术, 2001, 8(2): 92-93

[11] Zikmundova M, Drandarov K, Bigler L, et al. Biotransfor-

ation of 2 benzoxazolinone and 2H hydroxy β -, 42 benzoxazin β Zone by endophytic fungi isolated from *Aphelandra tetrago* na [J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 24(8): 4863-4870

[12] Denise Z, Bastos L, Pimentel I C, et al. Biotransformation of betulinic and betulonic acids by fungi [J]. Phytochemistry, 2007, 68: 834-839

[13] Keylller B B, Warley De S B, Monica T P, et al. Endophytic fungi as models for the stereoselective biotransformation of thioridazine [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2007, 77: 662-674

[14] Augusta A, Maehara S, Ohashi K, et al. Stereoselective oxidation at C24 of flavans by the endophytic fungus *Diaporthe spl* isolated from a tea plant [J]. Chem Pharm Bull, 2005, 53(12): 1565-1569

[15] 何文胜. 微生物转化在中草药生产中的应用研究 [J]. 海峡药学, 2006, 18(4): 191-194

[16] 杨春平,陈华保,关文君,等. 植物内生真菌次生代谢产物的多样性和潜在应用价值 [J]. 西北农业学报, 2005, 14(2): 126-132

[17] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces Andreana*, an endophytic fungus of pacific yew [J]. Science, 1993, 260: 2142-216

[18] Barbara S, Christine B, Siegfried D, et al. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites [J]. Mycol Res, 2002, 106(9): 996-1004

[19] 王兴红,李祺德,曹秋娥. 微生物发酵中药应成为中药研究的新内容 [J]. 中草药, 2001, 32(3): 262-268

[20] 马养民,冯成亮. 植物内生真菌抗肿瘤活性成分研究进展 [J]. 有机化学, 2008, 10(28): 1692-1706

[21] Lu H, Zou W X, Meng J C, et al. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum spl*, an endophytic fungus in *Artemisia annua* [J]. Plant Sci, 2000, 151: 62-73

[22] 杨显志,张玲琪,郭波,等. 一株产长春新碱内生真菌的初步研究 [J]. 中草药, 2004, 35(1): 72-81

[23] Lee J C, Lobkovsky E, Pliam N B, et al. Subglutinol A and B: immunosuppressive compounds from the endophytic fungus *Fusarium subglutinans* [J]. J Org Chem, 1995, 60: 7076-7077

[24] Phongpaichit S, Nikom J. Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants [J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2007, 51: 517-525

[25] Hussain H, Krohn K. Bioactive chemical constituents of two endophytic fungi [J]. Biochem Systemat Ecol, 2007, 35: 892-900

[26] Li H Y, Qing C. Screening for endophytic fungi with antimutagen and antifungal activities from Chinese medicinal plants [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2005, 21: 1512-1519

[27] Siva D, Kumara S, Cheung H Y. In Vitro studies of endophytic fungi from *Tripterygium wilfordii* with antiproliferative activity on human peripheral blood mononuclear cells [J]. J Ethnopharmacol, 2004, 94: 295-300

[28] 王剑文,郑丽屏,谭仁祥. 促进黄花蒿发根青蒿素合成的内生真菌诱导子的制备 [J]. 生物工程学报, 2006, 22(5): 822-834

[29] 刘春朝,王玉春,赵兵,等. 生物诱导子调节植物组织次生代谢的研究 [J]. 植物学通报, 1999, 16(2): 131-137