

一株毛壳属内生真菌次生代谢产物研究

王富乾, 蒋捷, 马浩然, 程璐, 张耕*

华中科技大学同济医学院附属武汉市中西医结合医院 药学部, 湖北 武汉 430022

摘要: 目的 研究一株毛壳属内生真菌 *Chaetomium* sp. 的次生代谢产物。方法 采用硅胶、凝胶和半制备等多种色谱方法进行分离纯化, 根据波谱学数据鉴定化合物结构。结果 从发酵提取物中共分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为 chetoseminudin B (1)、gonytolide C (2)、chaetone D (3)、1*H*-indole-3-carbaldehyde (4)、1*H*-吲哚-3-羧酸 (5)、indole-3-methylethanoate (6)、3*R**,4*R**-二羟基-3-甲基戊烷-2-酮 (7)、大黄素 (8)、3β,5α,9α-trihydroxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-6-one (9)、(3β,5α,6β,22*E*)-6-methoxyergosta-7,22-diene-3,5-diol (10)。结论 化合物 1~10 均为首次从该菌种中分离得到。

关键词: 内生真菌; 次生代谢产物; 毛壳霉; 1*H*-吲哚-3-羧酸; 3*R**,4*R**-二羟基-3-甲基戊烷-2-酮; 大黄素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)07-1298-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.07.006

Study on secondary metabolites of endophytic *Chaetomium* sp.

WANG Fu-qian, JIANG Jie, MA Hao-ran, CHENG Lu, ZHANG Geng

Pharmaceutical Department, Wuhan Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

Abstract: **Objective** To study the secondary metabolites of endophytic fungus *Chaetomium* sp. **Methods** The compounds were isolated and purified by chromatographic methods on silica gel, Sephadex-LH20 columns, and semi-prep HPLC. The structures were established on the basis of spectroscopic data interpretation. **Results** Ten compounds were isolated and identified as chetoseminudin B (1), gonytolide C (2), chaetone D (3), 1*H*-indole-3-carbaldehyde (4), 1*H*-indole-3-carboxylic acid (5), indole-3-methylethanoate (6), 3*R**,4*R**-dihydroxy-3-methylpentan-2-one (7), emodin (8), 3β,5α,9α-trihydroxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-6-one (9), and (3β,5α,6β,22*E*)-6-methoxyergosta-7,22-diene-3,5-diol (10). **Conclusion** All compounds are isolated from *Chaetomium* sp. for the first time. **Key words:** endophytic fungi; secondary metabolites; *Chaetomium* sp.; 1*H*-indole-3-carboxylic acid; 3*R**,4*R**-dihydroxy-3-methylpentan-2-one; emodin

植物内生真菌 (Endophyte) 是指一类部分或全部生活史存在于健康植物组织内部, 而不使宿主植物表现出明显感染症状的微生物^[1]。内生真菌与植物长期互利共生, 使其不同于其他环境中的微生物, 除了可产生与宿主次生代谢产物相似的物质外还可以产生其他的活性物质, 内生菌对宿主植物外界环境的应激耐受性、生长发育、有效活性成分的产生与积累等方面有重要影响^[2]。由于共生物种、代谢途径的多样性以及生存环境胁迫等因素的影响, 使其次生代谢产物具有结构新颖、类群丰富、生物活性显著的特点, 越来越多具有显著活性的微生物次

生代谢产物被发现^[3-6]。最典型的代表是从短叶红豆杉的韧皮部分离得到 1 株产紫杉醇的内生真菌安德氏紫杉霉 *Taxomyces andreanae*, 掀起了对内生真菌研究的热潮。植物内生真菌已成为了活性天然产物发现的重要资源^[7-9]。

兰科植物春兰 *Cymbidium goeringii* (Rchb. f.) Rchb. f. 多生长在潮湿、富含腐殖质的环境中, 长期对外界环境的应激作用使其具有种类丰富的内生真菌, 所以本实验选取自春兰根部分离纯化内生菌种, 得到了 1 株毛壳属内生真菌, 并对其次生代谢产物进行研究, 通过多种色谱分离方法从中分离

收稿日期: 2016-11-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31670351, 31400298); 武汉市应用基础研究计划项目 (2015061701011620); 湖北省自然科学基金项目 (2012FFA106)

作者简介: 王富乾 (1985—), 男, 甘肃天水人, 硕士, 研究方向为中药及药用植物活性成分。E-mail: wangfuqian.c@163.com

*通信作者 张耕 (1965—), 男, 湖北仙桃人, 硕士, 主任药师, 研究方向为中药及天然药物活性成分。E-mail: zhanggen888@126.com

得到了10个化合物,分别鉴定为 chetoseminudin B (1)、gonytolide C (2)、chaetone D (3)、1*H*-indole-3-carbaldehyde (4)、1*H*-吲哚-3-羧酸 (1*H*-indole-3-carboxylic acid, 5)、indole-3-methylethanoate (6)、3*R**,4*R**-二羟基-3-甲基戊烷-2-酮 (3*R**,4*R**-dihydroxy-

3-methylpentan-2-one, 7)、大黄素 (emodin, 8)、3β,5α,9α-trihydroxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-6-one (9)、(3β,5α,6β,22*E*)-6-methoxyergosta-7,22-diene-3,5-diol (10)。化合物1~10为首次从该菌种中分离得到,结构见图1。

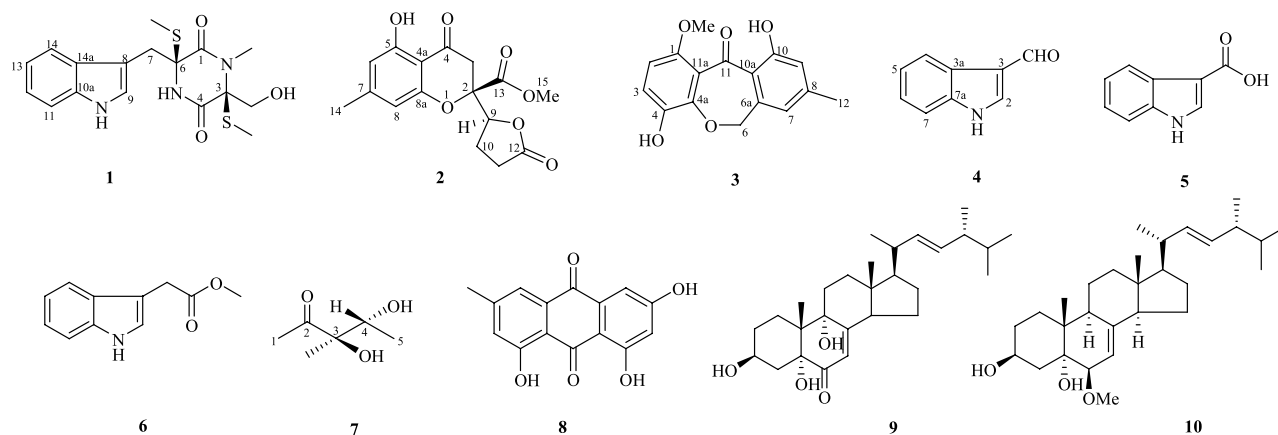


图1 化合物1~10的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—10

1 仪器与试剂

Bruker AM-400 和 Bruker Avance 600 型核磁共振仪 (德国 Bruker); AB SCIEX API 4000 质谱仪, Waters (2535/2998) 半制备液相 (美国 Waters); Waters SunFire™ 半制备色谱柱 (250 mm×10 mm, 5 μm); RV 10 旋转蒸发仪 (德国艾卡); EZ Plus 中压色谱仪 (利穗科技); ZF-7 型三用紫外分析仪 (上海嘉鹏科技有限公司); 硅胶 H、硅胶 G (青岛海洋化工厂); 硅胶 G₂₅₄ 薄层板 (烟台市化学工业研究所); Sephadex™ LH-20 凝胶 (GE Healthcare Bio-Sciences AB); 反相硅胶 (日本 YMC), 色谱甲醇 (Tedia), 提取用 95% 工业乙醇, 其余试剂均为分析纯。

菌种从春兰根部经表面消毒后分离得到。经形态学分析和 ITS 序列测定鉴定为毛壳属真菌 *Chaetomium* sp., 序列结果提交至 GenBank 数据库 (GenBank 注册号 KP171518)。菌种保存于华中科技大学同济医学院附属武汉市中西医结合医院药学部。

2 发酵、提取与分离

菌种接种于 PDA 培养基上 25 °C 培养 5 d, 切碎后接种于装有 200 g 大米培养基 (200 g 大米和 200 mL 水) 的 1 000 mL 锥形瓶中, 25 °C 培养 25 d。发酵产物经 95% 乙醇室温浸提 3 次, 每次 3 d, 回收乙醇后混悬于温水中, 醋酸乙酯萃取, 回收醋酸乙酯得浸膏 39 g。浸膏经硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇梯度 (100:1→1:1) 洗脱得到 3 个部分 Fr. 1~3。

Fr. 1 经硅胶色谱, 石油醚-醋酸乙酯 (10:1→1:1) 洗脱得到 Fr. 1.1 和 Fr. 1.2。Fr. 1.1 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱得到化合物 9 (21.5 mg)。Fr. 1.2 凝胶纯化后经 HPLC 得到化合物 10 (95% CH₃OH, *t_R*=27.0 min, 15.9 mg)。Fr. 3 部分经反复硅胶柱色谱, 甲醇-二氯甲烷梯度洗脱得到 3 个部分; 第 2 部分经过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱得到 5 个部分 Fr. 3.1~3.5。经半制备 HPLC 从 Fr. 3.1 分离得到化合物 7 (30% CH₃OH, *t_R*=9.0 min, 12.0 mg), Fr. 3.2 中得到化合物 4 (49% CH₃OH, *t_R*=18.2 min, 7.6 mg)、5 (65% CH₃CN, *t_R*=6.9 min, 4.8 mg) 和 6 (70% CH₃OH, *t_R*=16.5 min, 8.7 mg)。Fr. 3.3 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 甲醇 (100%) 洗脱得到化合物 8 (3.4 mg)。Fr. 3.4 经半制备 HPLC 分离, 得到化合物 1 (55% CH₃OH, *t_R*=19.0 min, 4.2 mg)、2 (60% CH₃OH, *t_R*=19.5 min, 5.0 mg) 和 3 (70% CH₃OH, *t_R*=18.0 min, 3.8 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色粉末状固体, ESI-MS *m/z*: 416.1 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 8.42 (1H, brs, H-10), 7.64 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-14), 7.33 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-11), 7.19 (1H, t, *J* = 7.2 Hz, H-12), 7.13 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-13), 7.12 (1H, s, H-9), 7.03 (1H, brs, H-5), 3.90 (1H, d, *J* = 14.6 Hz, H-7a), 3.85

(1H, d, $J = 11.9$ Hz, H-CH₂OH), 3.33 (1H, d, $J = 11.9$ Hz, H-CH₂OH), 3.26 (1H, d, $J = 14.6$ Hz, H-7b), 3.00 (3H, s, 2-NCH₃), 2.40 (3H, s, 6-SCH₃), 2.16 (3H, s, 3-SCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 166.8 (C-1), 165.5 (C-4), 135.9 (C-10a), 127.3 (C-14a), 125.8 (C-9), 122.3 (C-12), 119.9 (C-14), 119.0 (C-13), 111.4 (C-11), 107.6 (C-8), 73.4 (C-3), 66.0 (C-6), 63.6 (3-CH₂OH), 36.7 (C-7), 29.1 (2-CH₃), 14.6 (6-SCH₃), 12.9 (3-SCH₃)。以上数据与文献报道一致^[10], 因此化合物 **1** 确定为 chetoseminudin B。

化合物 **2**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 343.0 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 11.39 (1H, s, 5-OH), 6.40 (1H, s, H-6), 6.38 (1H, s, H-8), 4.86 (1H, dd, $J = 8.1, 5.7$ Hz, H-9), 3.74 (3H, s, H-15), 3.11 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-3a), 2.95 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-3b), 2.71 (1H, ddd, $J = 18.1, 10.2, 6.6$ Hz, H-11a), 2.59 (1H, ddd, $J = 18.1, 10.2, 6.6$ Hz, H-11b), 2.44 (2H, m, H-10), 2.31 (3H, s, H-14); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 193.0 (C-4), 175.5 (C-12), 168.9 (C-13), 161.8 (C-5), 159.0 (C-8a), 151.6 (C-7), 111.1 (C-8), 108.5 (C-6), 105.6 (C-4a), 84.0 (C-2), 80.9 (C-9), 53.6 (C-15), 39.4 (C-3), 27.6 (C-11), 22.6 (C-14), 22.0 (C-10)。以上数据与文献报道一致^[11], 因此化合物 **2** 确定为 gonytolide C。

化合物 **3**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 309.1 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 13.27 (1H, s, 10-OH), 7.07 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-3), 6.83 (1H, s, H-9), 6.71 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-2), 6.50 (1H, s, H-7), 5.45 (1H, s, 4-OH), 5.20 (2H, s, H-6), 3.85 (3H, s, 1-OCH₃), 2.34 (3H, s, H-12); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 193.3 (C-11), 165.2 (C-10), 154.2 (C-1), 146.9 (C-4a), 146.8 (C-8), 140.8 (C-4), 139.8 (C-6a), 125.4 (C-11a), 119.0 (C-7), 118.9 (C-9), 118.6 (C-10a), 117.6 (C-3), 109.3 (C-2), 77.8 (C-6), 57.2 (1-OCH₃), 21.7 (C-12)。以上数据与文献报道一致^[12], 因此化合物 **3** 确定为 chaetone D。

化合物 **4**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 168.0 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 9.88 (1H, s, -CHO), 8.16 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-4), 8.10 (1H, s, H-2), 7.47 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7), 7.28 (1H, dd, $J = 7.1, 1.0$ Hz, H-5), 7.24 (1H, dd, $J = 7.1, 1.0$ Hz, H-6); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 187.8 (C-CHO), 140.1 (C-2), 139.3 (C-7a), 126.1 (C-3a), 125.4 (C-6),

124.0 (C-4), 122.8 (C-5), 120.5 (C-3), 113.5 (C-7)。以上数据与文献报道一致^[13], 因此化合物 **4** 确定为 1H-indole-3-carbaldehyde。

化合物 **5**: 无色油状物。ESI-MS m/z : 184 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.09 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-4), 7.93 (1H, s, H-2), 7.42 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-7), 7.18 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, H-5), 7.16 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-6); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 170.2 (-COOH), 138.2 (C-7a), 133.1 (C-2), 127.7 (C-3), 123.4 (C-5), 122.2 (C-4), 122.1 (C-6), 112.8 (C-7), 109.5 (C-3a)。以上数据与文献报道一致^[14], 因此化合物 **5** 确定为 1H-吲哚-3-羧酸。

化合物 **6**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 212.0 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 8.06 (1H, brs, -NH), 7.62 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-4), 7.37 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-7), 7.21 (1H, t, $J = 7.1$ Hz, H-5), 7.19 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2), 7.15 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, H-6), 3.79 (2H, s, H-8), 3.70 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 172.5 (-COOH), 136.1 (C-7a), 127.3 (C-3a), 123.0 (C-2), 122.3 (C-6), 119.8 (C-5), 118.9 (C-4), 111.2 (C-7), 108.6 (C-3), 51.9 (-OCH₃), 31.2 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[15], 故化合物 **6** 确定为 indole-3-methylethanoate。

化合物 **7**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 155.1 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 4.03 (1H, q, $J = 6.4$ Hz, H-4), 2.29 (3H, s, H-1), 1.27 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-5), 1.26 (3H, s, 3-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 211.7 (C-2), 81.4 (C-3), 71.3 (C-4), 24.1 (C-5), 21.8 (C-1), 17.2 (3-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[16], 故化合物 **7** 确定为 3R*,4R*-二羟基-3-甲基戊烷-2-酮。

化合物 **8**: 橙色粉末。ESI-MS m/z : 293.0 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.06 (1H, s, 8-OH), 11.99 (1H, s, 1-OH), 7.47 (1H, s, H-4), 7.17 (1H, s, H-2), 7.07 (1H, s, H-5), 6.57 (1H, s, H-7), 2.41 (3H, s, 3-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 189.6 (C-9), 181.0 (C-10), 165.6 (C-3), 164.4 (C-1), 161.4 (C-8), 148.3 (C-6), 124.1 (C-7), 120.4 (C-5), 108.8 (C-4), 107.9 (C-2), 21.5 (3-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[17], 故化合物 **8** 确定为大黄素。

化合物 **9**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 467.3 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.65 (1H, s, H-7), 5.24 (1H, dd, $J = 15.2, 7.6$ Hz, H-23), 5.17 (1H,

dd, $J = 15.2, 8.3$ Hz, H-22), 4.06 (1H, m, H-3), 1.03 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 1.00 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-28), 0.84 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-27), 0.82 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-26), 0.62 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 199.9 (C-6), 164.7 (C-8), 135.2 (C-22), 132.6 (C-23), 119.9 (C-7), 79.8 (C-5), 74.8 (C-9), 67.3 (C-3), 56.1 (C-17), 51.9 (C-14), 45.5 (C-13), 43.0 (C-24), 41.9 (C-10), 40.4 (C-20), 37.2 (C-4), 35.0 (C-12), 33.2 (C-25), 30.2 (C-2), 28.9 (C-11), 28.0 (C-16), 25.6 (C-1), 22.5 (C-15), 21.2 (C-21), 20.6 (C-19), 20.1 (C-26), 19.8 (C-27), 17.7 (C-28), 12.4 (C-18)。以上数据与文献报道一致^[18], 故化合物 **9** 确定为 3 β ,5 α ,9 α -trihydroxy-(22 E ,24 R)-ergosta-7,22-dien-6-one。

化合物 **10**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 467.3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.40 (1H, m, H-7), 5.22 (1H, dd, $J = 15.3, 7.5$ Hz, H-23), 5.16 (1H, dd, $J = 15.3, 8.2$ Hz, H-22), 4.05 (1H, m, H-3), 3.17 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-6), 2.13 (1H, dd, $J = 12.9, 11.8$ Hz, H-4), 2.04 (1H, m, H-20), 1.90 (1H, m, H-9), 1.90 (1H, m, H-14), 1.84 (1H, m, H-24), 1.77 (1H, dd, $J = 12.9, 1.9$ Hz, H-4), 1.30 (2H, m, H-16, 17), 1.02 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 1.00 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-28), 0.84 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-26), 0.82 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-27), 0.60 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 143.7 (C-8), 135.4 (C-22), 132.1 (C-23), 115.0 (C-7), 82.4 (C-6), 76.4 (C-5), 67.8 (C-3), 58.3 (6-OCH₃), 56.0 (C-17), 54.9 (C-14), 43.9 (C-13), 43.8 (C-9), 42.8 (C-24), 40.4 (C-20), 39.6 (C-4), 39.4 (C-12), 37.3 (C-10), 33.1 (C-25), 32.7 (C-1), 30.9 (C-2), 27.9 (C-16), 22.9 (C-15), 22.2 (C-11), 21.1 (C-21), 19.9 (C-26), 19.6 (C-27), 18.4 (C-19), 17.6 (C-28), 12.3 (C-18)。以上数据与文献报道一致^[19], 故化合物 **10** 确定为 (3 β ,5 α ,6 β ,22 E)-6-methoxyergosta-7,22-diene-3,5-diol。

参考文献

- [1] Arnold A E. Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges, and frontiers [J]. *Fungal Biol Rev*, 2007, 21(2): 51-66.
- [2] 刘蕴哲, 何 劲, 张 杰, 等. 植物内生真菌及其活性代谢产物研究进展 [J]. *菌物研究*, 2005, 3(4): 30-36.
- [3] Chiang Y M, Ahuja M, Oakley C E, *et al.* Development of genetic dereplication strains in *Aspergillus nidulans* results in the discovery of aspercryptin [J]. *Angew Chem*

Int Ed, 2016, 55(5): 1662-1665.

- [4] Kagiya I, Kato H, Nehira T, *et al.* Taichunamides: prenylated indole alkaloids from *Aspergillus taichungensis* (IBT 19404) [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2016, 55(3): 1128-1132.
- [5] Tang Y, Xue Y B, Du G, *et al.* Structural revisions of a class of natural products: Unraveling new scaffolds of aglycon analogs of fusicoicins and cotylenins isolated from fungi [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2016, 55(12): 4069-4073.
- [6] 车永胜. 特殊生境真菌来源的新结构活性物质研究 [J]. *国际药学研究杂志*, 2011, 38(1): 12-27.
- [7] Strobel G A. Methods of discovery and techniques to study endophytic fungi producing fuel-related hydrocarbons [J]. *Nat Prod Rep*, 2014, 31(2): 259-272.
- [8] Shen B. A new golden age of natural products drug discovery [J]. *Cell*, 2015, 163(6): 1297-1300.
- [9] Jing X. Bioactive natural products derived from mangrove-associated microbes [J]. *RSC Adv*, 2015, 5: 841-892.
- [10] Fujimoto H, Sumino M, Okuyama E, *et al.* Immunomodulatory constituents from an ascomycete, *Chaetomium seminudum* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67(1): 98-102.
- [11] Kikuchi H, Isobe M, Sekiya M, *et al.* Structures of the dimeric and monomeric chromanones, gonytolides A-C, isolated from the fungus *Gonytrichum* sp. and their promoting activities of innate immune responses [J]. *Org Lett*, 2011, 13(17): 4624-4627.
- [12] Shen K Z, Gao S, Gao Y X, *et al.* Novel dibenzo [b, e]oxepinones from the freshwater derived fungus *Chaetomium* sp. YMF 1. 02105 [J]. *Planta Med*, 2012, 78(17): 1837-1843.
- [13] Yang Q, Ye G. A new c-glucoside from *Commelina communis* [J]. *Chem Nat Compd*, 2009, 45(1): 59-60.
- [14] 来国防, 朱向东, 罗士德, 等. 野拔子化学成分研究 [J]. *中草药*, 2008, 39(5): 661-664.
- [15] Nieman J A, Coleman J E, Wallace D J, *et al.* Synthesis and antimitotic/cytotoxic activity of hemiasterlin analogues [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(2): 183-199.
- [16] Ui S, Hosaka T, Watanabe K, *et al.* Discovery of a new mechanism of 2, 3-butanediol stereoisomer formation in *Bacillus cereus* YUF-4 [J]. *J Ferment Bioeng*, 1998, 85(1): 79-83.
- [17] 梁桥丽, 孔丽娟, 吴启南, 等. 三棱的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2012, 43(6): 1061-1064.
- [18] Xiong H Y, Fei D Q, Zhou J S, *et al.* Steroids and other constituents from the mushroom *Armillaria lueo-virens* [J]. *Chem Nat Compd*, 2009, 45(5): 759-761.
- [19] Gao H, Hong K, Zhang X, *et al.* New sterol esters of fatty acids from the mangrove fungus *Aspergillus awamori* [J]. *Helv Chim Acta*, 2007, 90(6): 1165-1178.