

# 红树林植物无瓣海桑内生真菌 *Neofusicoccum* sp. *SaBA3* 次级代谢产物的研究

秦 淳<sup>1,2</sup>, 林秀萍<sup>2</sup>, 艾 文<sup>2</sup>, 钟志龙<sup>2</sup>, 冼嘉韵<sup>2</sup>, 徐石海<sup>1\*</sup>, 刘永宏<sup>2\*</sup><sup>1</sup>暨南大学化学系, 广州 510632; <sup>2</sup>中国科学院南海海洋研究所 广东省海洋药物重点实验室, 广州 510301

**摘要:** 采用硅胶 MPLC、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、常压硅胶柱色谱以及 PTLC 等方法从红树植物无瓣海桑内生真菌 *Neofusicoccum* sp. *SaBA3* 的大米发酵物中分离到 8 个化合物, 通过波谱数据、理化性质及文献对照分别鉴定为: (3*S*<sup>\*</sup>, 4*S*<sup>\*</sup>)-3, 4-二氢-3, 4, 8-三羟基-7-乙基-6-甲氧基萘-1-酮 (**1**), 4, 7-二甲氧基-5-甲基香豆素 (**2**), 麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 $\beta$ -醇 (**3**), 麦角甾-6, 2-二烯-5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -环-二氧-3-醇 (**4**), 麦角甾醇-5-烯-3-酮 (**5**), 3 $\beta$ -羟基-胆甾醇 (**6**), 邻苯二甲酸二甲酯 (**7**), 尿嘧啶 (**8**)。除化合物 **1** 外, 其余化合物均首次从 *Neofusicoccum* 属中分离得到。

**关键词:** 红树林植物; 无瓣海桑; *Neofusicoccum* sp.; 次级代谢产物

中图分类号: R284. 2

文献标识码: A

## Secondary Metabolites from Mangrove *Sonneratia apetala* Endophytic Fungus *Neofusicoccum* sp. *SaBA3*

QIN Chun<sup>1,2</sup>, LIN Xiu-ping<sup>2</sup>, AI Wen<sup>2</sup>, ZHONG Zhi-long<sup>2</sup>, XIAN Jia-yun<sup>2</sup>, XU Shi-hai<sup>1\*</sup>, LIU Yong-hong<sup>2\*</sup><sup>1</sup>Jinan University, Guangzhou 510632, China; <sup>2</sup>Guangdong Key Laboratory of Marine Materia*Medica*, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China

**Abstract:** Eight compounds were isolated from the fermentation of mangrove *Sonneratia apetala* endophytic fungus *Neofusicoccum* sp. *SaBA3* by using silica gel, Sephadex LH-20, MPLC, and PTLC. On the basis of 1D and 2D-NMR, ESI, and by comparison with reported data, their structures were identified as (3*S*<sup>\*</sup>, 4*S*<sup>\*</sup>)-3, 4-dihydro-3, 4, 8-trihydroxy-6-methoxynaphthalen-1(2*H*)-one (**1**), 4, 7-two methoxy-5-methy coumarin (**2**), ergosta -5, 7, 22- trien-3 $\beta$ -ol (**3**), 5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -epidioxo-(22*E*, 24*R*)- ergosta-6, 22-dien-3 $\beta$ -ol (**4**), ergost-5-en-3-one (**5**), cholesterol (**6**), dimethy phthalate (**7**), and uracil (**8**). The compounds 2-8 are isolated from the genus *Neofusicoccum* for the first time.

**Key words:** mangrove; *Sonneratia apetala*; *Neofusicoccum* sp.; secondary metabolites

红树林作为自然生长在热带和亚热带海湾河口潮间带的一种特殊的木本植物群落, 一直处于高盐、强风、高温、强紫外辐射和缺氧污泥的特殊环境。内生真菌指生活在生物组织内部, 不会引发生物组织产生明显病症的一类真菌<sup>[1]</sup>。植物内生真菌全部或部分生活周期都在植物体内, 与植物形成互惠共生的关系。由于红树林生存环境独特, 根据自然进化理论, 可以推测红树植物及其内生真菌的次级代谢产物可能蕴含着生物活性多样、结构新颖的代谢产物<sup>[1]</sup>。近年来, 世界各地的多个研究小组开展了

对红树林内生真菌次级代谢产物的研究, 已分离出一批结构新颖, 具有细胞毒活性、抗菌、抗氧化, 抗炎, 保肝等生物活性的化合物<sup>[2-6]</sup>。

为了获得结构新颖、生物活性良好的化合物, 作者对分离来自红树植物无瓣海桑 *Sonneratia apetala* 的一株内生真菌 *Neofusicoccum* sp. *SaBA3* 进行了大米发酵。从其发酵产物中分离得到 8 个化合物, 通过 1D 和 2D NMR 以及文献对照等手段鉴定了这些化合物的结构, 化合物 2-8 首次从 *Neofusicoccum* 属中分离得到。

## 1 仪器与材料

NMR 谱用 Bruker AV-500 核磁共振仪测定; 质谱图采用 API2000 型 ESI 质谱仪测定; 中压制备柱

收稿日期: 2013-09-10 接受: 2013-12-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31270402, 21172094)

\* 通讯作者 Tel: 86-20-89023244; E-mail: yonghongliu@scsio. ac. cn;

E-mail: tkush@jnu. edu. cn

色谱为 Buchi 公司产品 (C615/605); 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (Pharmacia); 薄层色谱硅胶、柱色谱硅胶和薄层制备板 (20 × 20 × 0.03 cm) 均购自青岛海洋化工厂, 化学试剂均为国产分析纯。

海洋真菌 *Neofusicoccum* sp. SaBA3 从红树植物无瓣海桑 *Sonneratia apetala* 的树枝中分离得到, 无瓣海桑 *Sonneratia apetala* 与 2010 年 10 月采自广东省广州市南沙区红树林。采集后的红树植物装于干净容器中, 避免挤压。放置于冰箱中, 次日对其进行内生真菌的分离。

发酵培养基及条件: 大米 200 g, 粗海盐 2 g, 自来水 200 mL, 装于 1000 mL 三角瓶中, 浸泡过夜, 121 °C 灭菌 20 分钟。将种子液接种到 20 瓶大米培养基中, 25 °C 恒温发酵一个月。

## 2 提取分离

固体发酵物用丙酮浸泡过夜, 切成小块, 充分搅拌后, 超声提取 10 min, 抽滤, 收集上清液。残渣再用乙酸乙酯浸提三次, 每次充分搅拌后, 超声提取 10 分钟, 抽滤, 收集上清液。将四次得到的上清液合并, 减压旋转蒸发, 水浴控制温度低于 60 °C, 得浸膏 30.3 g。粗浸膏溶解后按 1:1 的比例与 100-200 的硅胶 H 拌匀, 干燥完全后用中低压正相硅胶柱分离, 石油醚-丙酮 (1:0 ~ 0:1) 梯度洗脱, 经 TLC 薄层检测合并, 得到 15 个馏分 Frs. 1-15。Frs. 2 经 SephadexLH-20 凝胶柱 (氯仿-甲醇, 1:1) 分离, 得到 6 个馏分 Frs. 21-Frs. 26, 其中 Frs. 23 经硅胶柱分离, 氯仿-丙酮 (100:1, 50:1, 20:1) 梯度洗脱, TLC 检测合并, 减压蒸馏得到化合物 5 (86 mg); Frs. 3 经重结晶, 得到化合物 3 (139 mg); Frs. 4 经 SephadexLH-20 凝胶柱 (氯仿-甲醇, 1:1) 分离, 得到 3 个馏分 Frs. 41-Frs. 43, Frs. 41 经硅胶柱分离, 石油醚-氯仿 (100:0, 50:1, 0:100) 梯度洗脱, TLC 检测合并, 减压蒸馏得到化合物 7 (16 mg); Frs. 6 经 Sephadex LH-20 凝胶柱 (氯仿-甲醇, 1:1) 分离, 得到 4 个馏分 Frs. 61-Frs. 64, 其中 Frs. 62 经正相硅胶柱分离, 石油醚乙酸乙酯 (100:0, 50:1, 20:1, 5:1) 梯度洗脱, TLC 检测合并, 减压蒸馏得到化合物 4 (150 mg); Frs. 9 经 SephadexLH-20 凝胶柱 (氯仿-甲醇, 1:1) 分离, 得到 6 个馏分 Frs. 91-Frs. 96, 其中 Frs. 95 经硅胶柱分离, 氯仿-甲醇 (100:0, 50:1, 20:1, 10:1, 5:1) 梯度洗脱, TLC 检测合并, 经薄层制备板 (氯仿-丙酮, 2:1) 分离, 得到化合物 1 (1.6 mg); Frs. 10 经 Sephadex LH-

20 凝胶柱 (氯仿-甲醇, 1:1) 分离, 得到 3 个馏分 Frs. 101-Frs. 103, 其中 Frs. 102 经硅胶柱分离, 氯仿-甲醇 (100:0, 20:1, 10:1, 2:1) 梯度洗脱, TLC 检测合并, 经薄层制备板 (石油醚-丙酮, 5:1) 分离, 得到化合物 2 (1.9 mg); Frs. 15 经 SephadexLH-20 凝胶柱 (甲醇) 分离, 得到 4 个馏分 Frs. 151-Frs. 154, 其中 Frs. 151 经硅胶柱分离, 氯仿-丙酮 (100:0, 50:1, 20:1, 10:1), TLC 检测合并, 经薄层制备板 (石油醚-丙酮, 10:1) 分离, 得到化合物 6 (3.1 mg); Frs. 154 经硅胶柱分离, 氯仿-甲醇 (50:1, 20:1, 10:1, 2:1, 0:1), 经 TLC 检测合并, 得化合物 8 (10.2 mg)。

## 3 结构鉴定

化合物 1 白色固体, 分子式为  $C_{13}H_{16}O_5$ 。ESI-MS  $m/z$  253  $[M + H]^+$ , 此化合物在紫外 (甲醇) 222 和 288 nm 处有最强吸收。 $^{13}C$  NMR (DEPT) 显示 13 个碳信号, 两个甲基其中包括一个氧甲基, 两个亚甲基, 三个次甲基其中包括两个连氧的次甲基, 六个季碳其中包括一个羰基, 两个连氧的季碳。通过 HSQC 把相应的氢原子和碳原子连接起来。 $^1H$ - $^1H$ -COSY 显示 H-C(2)/H-C(3)/H-C(4) 相关, 在结合 HMBC 里面的 H-C(2) 跟 C(1), C(3), C(4) 相关可以得到片段 1b (Fig. 1)。通过 H-C(4) 跟 C(4a), C(5), C(8a) 相关就能够把 1a, 1b 这两个片段连接起来。该化合物 3, 4 位的相对立体构型是通过 NOESY 确定的, NOESY 显示 H-3 和 H-4 不相关, 说明 H-3 和 H-4 不在同一侧, 是反式构型。以上数据和文献<sup>[7]</sup>报道基本一致, 故确定该化合物为 (3*S*\*, 4*S*\*)-3, 4-二氢-3, 4, 8-三羟基-7-乙基-6-甲氧基萘-1-酮。具体的 NMR 数据归属如下: $^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_H$ : 6.85 (1H, s, H-5), 4.58 (1H, m, H-4), 4.03 (1H, m, H-3), 3.95 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.03 (1H, dd,  $J = 4.0, 4.5$  Hz, H-2), 2.68 (1H, m, H-2), 2.68 (2H, m, H-2'), 1.08 (3H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-1');  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_C$ : 202.3 (C-1), 165.3 (C-6), 162.7 (C-8), 145.8 (C-4a), 119.3 (C-7), 111.3 (C-8a), 102.9 (C-5), 73.9 (C-4), 71.9 (C-3), 56.3 (-OCH<sub>3</sub>), 44.5 (C-2), 16.3 (C-2'), 13.5 (C-1')。

化合物 2 无色针状结晶 (氯仿), 分子式为  $C_{12}H_{12}O_4$ 。ESI-MS  $m/z$  221  $[M + H]^+$ , 此化合物在紫外 (甲醇) 308 nm 处有最强吸收。 $^{13}C$  NMR (DEPT) 显示 12 个碳信号, 三个甲基其中包括两个氧甲基, 三

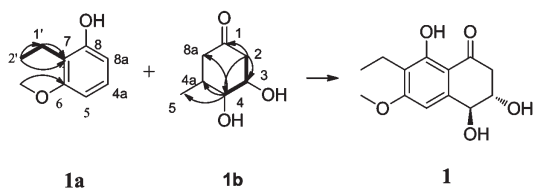


图1 化合物1的结构片段,部分重要的HMBC(H→C),<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY(—)相关

Fig.1 Structure fragments of 1, and selected HMBC(H→C),<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY(—) correlations

个次甲基(双键),6个季碳其中包括三个连氧季碳和一个酯羰基。<sup>1</sup>H NMR显示 $\delta_{\text{H}}$ :6.66(1H,d, $J = 2.5$  Hz,H-8),6.61(1H,d, $J = 2.5$  Hz,H-6),这是苯环上间位的两个氢原子的相互耦合裂分的特征峰。通过HSQC把相应的氢原子和碳原子连接起来。HMBC显示CH<sub>3</sub>-C(7)跟C(10),C(6),C(7)相关,CH<sub>3</sub>O-( $\delta_{\text{H}}$  3.86)跟C(7),CH<sub>3</sub>O-( $\delta$ :3.93)跟C(4)都有相关,就能够把三个甲基的相对位置给定下来。H-C(3)跟C(4),C(10)相关,H-C(8)跟C(7),C(9),C(6),C(10)相关,H-C(6)跟C(10),C(8),CH<sub>3</sub>-C(5)也有相关,这样把化合物2的结构连接起来,如图Fig.2。以上数据和文献<sup>[8]</sup>报道基本一致,故鉴定为4,7-二甲氧基-5-甲基香豆素。具体NMR数据归属如下:<sup>1</sup>H NMR(500 MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta_{\text{H}}$ :6.66(1H,d, $J = 2.5$  Hz,H-8),6.61(1H,d, $J = 2.5$  Hz,H-6),5.53(1H,s,H-3),3.93(3H,s,-OCH<sub>3</sub>),3.83(3H,s,-OCH<sub>3</sub>),2.61(3H,s,-CH<sub>3</sub>);<sup>13</sup>C NMR(125 MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta_{\text{C}}$ :169.7(C-4),163.1(C-2),162.0(C-7),156.7(C-9),138.5(C-5),115.6(C-6),107.9(C-10),98.8(C-8),87.6(C-3),55.9(-OCH<sub>3</sub>),55.5(-OCH<sub>3</sub>)。

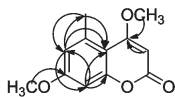


图2 化合物2的结构,部分HMBC(H→C)相关

Fig.2 Structure of 2, and selected HMBC(H→C) correlations

**化合物3** 白色针状结晶(甲醇),分子式为C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O。254 nm下有紫外吸收,碘熏显色,TLC展开10%硫酸乙醇显红色斑点。<sup>1</sup>H NMR(500 MHz,CDCl<sub>3</sub>)显示有6个甲基1.03(3H,d, $J = 6.5$  Hz,H-21),0.94(3H,s,H-19),0.91(3H,d, $J = 7.0$  Hz,H-28),0.83(3H,d, $J = 7.0$  Hz,H-27),0.80

(3H,d, $J = 7.0$  Hz,H-26),0.63(3H,s,H-18),0.91(3H,d, $J = 7.0$  Hz,H-28)和3.36(1H,m,H-3)连氧次甲基的信号,推测该化合物为甾醇类。 $\delta_{\text{H}}$  5.56(1H,brs,H-6),5.38(1H,brs,H-7),为环上的双键,5.22(1H,dd, $J = 15.3,7.0$  Hz,H-22),5.18(1H,dd, $J = 15.3,7.1$  Hz,H-23),为侧链上的反式双键。<sup>13</sup>C NMR(125 MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta_{\text{C}}$ :38.4(C-1),32.0(C-2),70.5(C-3),40.8(C-4),139.8(C-5),119.6(C-6),116.3(C-7),141.3(C-8),46.3(C-9),37.1(C-10),21.1(C-11),39.1(C-12),42.8(C-13),54.6(C-14),23.0(C-15),28.2(C-16),55.8(C-17),12.0(C-18),16.3(C-19),40.4(C-20),21.1(C-21),135.6(C-22),132.0(C-23),42.8(C-24),33.1(C-25),19.8(C-26),19.6(C-27),17.6(C-28)。以上数据和文献<sup>[9]</sup>报道基本一致,故鉴定为麦角甾-5,7,22-三烯-3 $\beta$ -醇。

**化合物4** 无色针状结晶(甲醇),分子式为C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub>。254 nm下有紫外吸收,碘熏显色,TLC展开10%硫酸乙醇显黑色斑点。<sup>1</sup>H NMR(500 MHz,CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>)显示C-3位连氧次甲基质子信号 $\delta_{\text{H}}$ :3.76(1H,m),C-3位羟基 $\delta_{\text{H}}$ 3.68(1H,brs)和6个甲基信号,分别为1.02(3H,d, $J = 6.6$  Hz),0.93(3H,d, $J = 6.8$  Hz),0.89(3H,s),0.86(3H,s),0.85(3H,d, $J = 7.2$  Hz),0.83(3H,d, $J = 6.8$  Hz),初步推测为该化合物为一甾醇类化合物。<sup>1</sup>H NMR中还显示两对邻位烯质子信号 $\delta_{\text{H}}$ 6.22(1H,d, $J = 8.5$  Hz,H-6),6.48(1H,d, $J = 8.5$  Hz,H-7),5.19(1H dd, $J = 15.5,7.5$  Hz,H-22),5.25(1H,dd, $J = 15.5,7.5$  Hz,H-23);<sup>13</sup>C NMR(125 MHz,CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>) $\delta_{\text{C}}$ :36.3(C-1),31.7(C-2),66.8(C-3),38.4(C-4),83.0(C-5),137.0(C-6),131.7(C-7),80.0(C-8),53.1(C-9),38.6(C-10),24.6(C-11),40.9(C-12),45.8(C-13),53.3(C-14),21.9(C-15),29.9(C-16),57.6(C-17),13.8(C-18),19.0(C-19),44.1(C-20),21.9(C-21),137.1(C-22),133.5(C-23),44.3(C-24),34.4(C-25),20.5(C-26),20.8(C-27),18.6(C-28)。以上波谱数据与文献<sup>[10]</sup>对照基本一致,故鉴定为麦角甾-6,22-二烯-5 $\alpha,8\alpha$ -环二氧-3-醇。

**化合物5** 白色粉末状固体,分子式为C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>O。<sup>1</sup>H NMR(500 MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta_{\text{H}}$  5.70(1H,s,H-4),1.16(3H,s),0.89(3H,d, $J = 5.5$  Hz),0.82(3H,d, $J = 8.0$  Hz),0.81(3H,d, $J = 7.0$  Hz),

0.78 (3H, d,  $J = 7.0$  Hz), 0.69 (3H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 35.6 (C-1), 33.9 (C-2), 199.3 (C-3), 123.7 (C-4), 171.4 (C-5), 32.0 (C-6), 28.1 (C-7), 35.6 (C-8), 53.8 (C-9), 38.5 (C-10), 21.0 (C-11), 39.5 (C-12), 42.2 (C-13), 55.8 (C-14), 22.6 (C-15), 26.1 (C-16), 56.0 (C-17), 11.9 (C-18), 17.3 (C-19), 35.7 (C-20), 19.7 (C-21), 32.8 (C-22), 24.1 (C-23), 45.8 (C-24), 29.1 (C-25), 18.6 (C-26), 18.5 (C-27), 11.9 (C-28)。以上波谱数据与文献<sup>[11]</sup>对照基本一致,故鉴定为麦角甾醇-5-烯-3-酮。

**化合物 6** 白色晶体(甲醇),分子式为  $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}$ 。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 0.66 (3H, s, 18- $\text{CH}_3$ ), 0.86 (6H, d,  $J = 6.5$  Hz), 0.95 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz, 21- $\text{CH}_3$ ), 1.05 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz), 1.16 (3H, s), 3.78 (1H, m, H-3), 5.23 (2H, m)。以上数据与文献<sup>[12]</sup>对照基本一致,与胆甾醇标准品进行 TLC 展开对照,发现  $R_f$  值及显色行为均一致,故鉴定为  $3\beta$ -羟基胆甾醇。

**化合物 7** 无色油状物,分子式为  $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$ 。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 7.73 (1H, dd,  $J = 5.5, 3.0$  Hz, H-3), 7.54 (1H, dd,  $J = 5.5, 3.5$  Hz, H-4), 3.91 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 168.0 (C-1), 132.0 (C-2), 131.0 (C-3), 128.8 (C-4), 52.5 ( $-\text{OCH}_3$ )。以上数据与文献<sup>[13]</sup>报道的数据基本一致,故鉴定为邻苯二甲酸二甲酯。

**化合物 8** 白色固体,分子式为  $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2$ 。ESI-MS  $m/z$  113  $[\text{M} + \text{H}]^+$ ,  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 10.99 (1H, brs, 3-NH), 10.82 (1H, brs, 1-NH), 7.39 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-5), 5.45 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-6)。以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道的数据基本一致,故鉴定为尿嘧啶。

**致谢:**衷心感谢中国科学院南海海洋研究所核磁室李传荣老师、肖志会老师和质谱室孙爱君老师、张云老师为本文样品代测核磁共振波谱和质谱所付出的辛勤劳动。

## 参考文献

1 Li YY(李瑶瑶), Shen YM(沈月毛). Chemical components of some microorganisms isolated from specific habitats and their antitumor activities. *Chin J Org Chem* (有机化学),

2013, 33:1135-1143.

- Xie G, Zhu X, Li Q, et al. SZ-685C, a marine anthraquinone, is a potent inducer of apoptosis with anticancer activity by suppression of the Akt/FOXO pathway. *British J Pharmacol*, 2010, 159:689-697.
- Liu F, Cai X, Yang H, et al. The bioactive metabolites of the mangrove endophytic fungus *Talaromyces* sp. ZH-154 isolated from *Kandelia candel* (L.) Druce. *Planta Med*, 2010, 76:185-189.
- Li D, Li X, Wang B. Natural anthraquinone derivatives from amarine mangrove plant-derived endophytic fungus *Eurotium rubrum*: structural elucidation and DPPH radical scavenging activity. *J Microbil Biotechnol*, 2009, 19:675-680.
- Roome T, Dar A, Naqvi S, et al. Evaluation of antinociceptive effect of *Aegiceras corniculatum* stems extracts and its possible mechanism of action in rodents. *J Ethnopharmacol*, 2011, 135:351-358.
- Xu MJ. Chemical constituents from the mangrove plant *Aegiceras corniculatum*. *J Nat Prod*, 2004, 67:762-766.
- Xu YH, Lu CH, Zheng ZH, et al. New polyketides isolated from *Botryosphaeria australis* strain ZJ12-1A. *Helv Chim Acta*, 2011, 94:897-902.
- Qi SH(漆淑华), Wu DG(吴大刚), Ma YB(马云宝), et al. Chemical constituents of *Ailanthus triphysa*. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34:90-592.
- Zou JH(邹建华), Dai JG(戴均贵). Study on Chemical Constituents in Marine Fungus of *Cladosporium cladosporioides*. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2009, 44:418-421.
- Ioannou E, Abdel-Razik AF, Zervou M, et al.  $5\alpha, 8\alpha$ -Epidioxysterols from the gorgonian *Eunicella cavolini* and the ascidian *Trididemnum inarmatum*: Isolation and evaluation of their antiproliferative activity. *Steroids*, 2009, 74:73-80.
- Georges P, Sylvestre M, Ruegger H, et al. Ketosteroids and hydroxysteroids minor metabolites of sugarcane wax. *Steroids*, 2006, 71:647-652.
- Eraman TR, Thomson RH. Sterols from the sponges *Cliona celata* grant and *Hymeniacidon perleve* montagu. *Tetrahedron*, 1971, 28:5163-5173.
- Tonjock RK, Afui MM. Secondary metabolites of oil palm isolates of *Ganoderma zonatum* Murill. from Cameroon and their cytotoxicity five human tumour cell lines. *African J Biotechnol*, 2011, 10:8440-8447.
- Huang RM(黄日明), Peng Y(彭燕), Zhou XF(周雪峰). Chemical constituents of *Callyspongia* sp. from South China Sea. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2010, 45:338-340.