

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00012

· 论 著 ·

# 一株产鬼臼毒素内生真菌的分离及其代谢产物抗小鼠 S180 肉瘤的研究

刘 芸<sup>1</sup>, 仇农学<sup>2</sup>, 殷 红<sup>3\*</sup>, 彭 辉<sup>4</sup>

1. 陕西师范大学生命科学院教育部药用植物资源与天然药物化学重点实验室, 西安 710062

2. 陕西师范大学食品工程与营养科学学院食品分离技术实验室, 西安 710062

3. 西北大学生命科学学院生物技术教研室, 西安 710075

4. 西安市食品质量监督检验所食品中心, 西安 710075

**[摘要]** **目的** 从秦岭濒危药用桃儿七(*Sinopodophyllum hexandrum*)植株内分离出产鬼臼毒素(podophyllotoxin)的内生真菌, 研究其发酵液的抑瘤活性。**方法** 采用组织分离法分离、纯化桃儿七植株根、茎部位的内生真菌, 逐一鉴定其代谢产物, 筛选出能够产鬼臼毒素的内生真菌。采用动物体内抑瘤实验研究内生真菌发酵液对小鼠 S180 肉瘤的抑制作用, 并对荷瘤小鼠眼眶取血进行白细胞及淋巴细胞计数。**结果** 分离出一株产鬼臼毒素的内生真菌 T8, 鉴定为 *Cephalosporium* sp.。T8 发酵液实验动物组的肿瘤质量低于模型组, 大于环磷酰胺组( $P < 0.05$ ), 且其抑制率低于环磷酰胺( $P < 0.05$ )。T8 发酵液能够促进白细胞和淋巴细胞的增殖。**结论** T8 发酵液具有一定的抑制肿瘤生长的作用, 经减毒处理后可以作为肿瘤治疗的辅助药物。

**[关键词]** 桃儿七; 鬼臼毒素; 内生真菌; S180 肉瘤**[中图分类号]** R 979.14**[文献标志码]** A**[文章编号]** 0258-879X(2011)01-0012-05

## Isolation of a podophyllotoxin-producing endophytic fungus from *Sinopodophyllum hexandrum* and the anti-S180 sarcoma activity of its fermentation broth in mice

LIU Yun<sup>1</sup>, QIU Nong-xue<sup>2</sup>, YIN Hong<sup>3\*</sup>, PENG Hui<sup>4</sup>

1. Key Laboratory of Medicinal Resources and Natural Pharmaceutical Chemistry of Ministry of Education, College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, Shaanxi, China

2. Laboratory of Food Separation Technology, College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, Shaanxi, China

3. Department of Biological Technology, College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710075, Shaanxi, China

4. Food Center, Xi'an Institute of Food Quality Supervision and Inspection, Xi'an 710075, Shaanxi, China

**[Abstract]** **Objective** To isolate an endophytic fungus, which can produce podophyllotoxin, from an endangered medical plant *Sinopodophyllum hexandrum*, and to investigate the inhibitory effect of its fermentation broth against S180 sarcoma. **Methods** Endophytic fungal strains were isolated and purified by microbiological tissue isolating methods from the fresh roots and stems of *Sinopodophyllum hexandrum*. The fermentation broths of the isolates were investigated by HPLC, so as to screen for podophyllotoxin-producing strains. The antitumor effects of endophytic fungus fermentation broths were evaluated in a mouse model bearing S180 sarcoma. The orbital blood samples were obtained for leukocyte and lymphocyte count. **Results** Strain T8, identified as *Cephalosporium* sp. was podophyllotoxin-producing. The tumor weight of T8 group was lower than that of the model group ( $P < 0.05$ ) and higher than that of the cyclophosphamide group ( $P < 0.05$ ). The inhibitory rate of fermentation broth of T8 group was significantly lower than that of cyclophosphamide group ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the fermentation broth of T8 group significantly promoted the proliferation of leukocytes and lymphocytes. **Conclusion** The fermentation broth of fungus T8 can inhibit tumor growth and may serve as an adjuvant drug for tumor therapy after attenuation.

**[Key words]** *Sinopodophyllum hexandrum*; podophyllotoxin; endophytic fungi; sarcoma 180

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(1):12-16]

**[收稿日期]** 2010-04-20**[接受日期]** 2010-11-26**[基金项目]** 陕西省自然科学基金(2003C1-21). Supported by Natural Science Foundation of Shaanxi Province (2003C1-21).**[作者简介]** 刘 芸, 博士生. E-mail: yunyun800924@yahoo.com.cn

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 029-88302411, E-mail: hyin2006@163.com

桃儿七 (*Sinopodophyllum hexandrum*) 是多年生草本植物, 属小檗科, 具有抗癌作用, 分布于我国甘肃、陕西、云南、四川等省, 已被列入《中国珍稀濒危植物名录》<sup>[1]</sup>。桃儿七植物体内含有抗癌有效成分鬼臼毒素 (podophyllotoxin) 和脱氧鬼臼毒素 (deoxypodophyllotoxin), 具有重要的药用价值和开发利用前景, 已引起植物化学和药物化学家们的关注。特别是近年来, 抗癌药 VP-16 广泛用于临床并获得较好的评价后, 对这类植物的研究更加重视<sup>[2]</sup>。但桃儿七种群数量少, 分布区域有限, 生长缓慢, 且天然植物体内抗癌有效成分含量较低, 加之近年来鬼臼毒素的市场需求量急剧增大, 野生的植物资源又不断遭到人为破坏, 因此目前仅从天然植物中提取有效成分远远满足不了市场需求<sup>[3]</sup>。

1993年, 美国蒙大拿州立大学研究人员从短叶红豆杉的韧皮部分分离到一株产新型抗癌物质紫杉醇的内生真菌 *Taxomyces andreanae*<sup>[4]</sup>, 引起人们对内生真菌产生抗肿瘤活性物质的兴趣<sup>[5-6]</sup>。近年来, 从香榧、八角莲、山荷叶、喜树、人参等传统药用植物中都已经分离出了具有产生抗肿瘤活性物质能力的内生真菌菌株<sup>[7-13]</sup>。

多年来云南大学张玲琪等<sup>[3, 14-15]</sup>以滇桃儿七内生真菌为对象, 研究了其内生真菌作为生物活性物质资源开发利用的价值。有关秦岭濒危植物桃儿七内生真菌的研究报道甚少, 仅西北大学黄建新实验室<sup>[16]</sup>报道过秦岭桃儿七产鬼臼毒素内生真菌发酵条件的探索。本实验分离了一株产鬼臼毒素的桃儿七内生真菌, 参照文献<sup>[16]</sup>报道的发酵条件进行菌种培养, 并通过小鼠体内抑瘤实验研究了内生真菌发酵液抑制小鼠 S180 肉瘤的活性。

## 1 材料和方法

1.1 材料 桃儿七完整植株采自秦岭太白山自然保护区(海拔约 2 100 m)。分离培养基为马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基和马丁 (Martin) 琼脂培养基, 发酵培养基为半合成液体培养基<sup>[16]</sup>(可溶性淀粉 2%, 蔗糖 2%, 蛋白胨 0.1%, 酵母膏 0.1%,  $K_2HPO_4$  0.1%,  $NaCl$  0.1%, pH 6.5), 菌种保藏采用 PDA 斜面培养基。鬼臼毒素标准品购自陕西省药品检验所。

1.2 桃儿七内生真菌的分离和纯化 桃儿七样品采集后立即处理。洗净后, 将根、茎切成小段, 叶切成小片, 按常规方法消毒<sup>[17]</sup>。将消毒过的根、茎在无菌条件下分别切割成 0.5 cm × 0.5 cm × 0.5 cm 的小块, 叶切割成 0.5 cm × 0.5 cm 的小片, 接种于马

丁培养基平板上, 置于 25℃ 温箱培养 3~7 d 后, 即可见样品切割过的边缘长出菌丝, 经平板划线法和平板稀释法反复分离、纯化, 培养观察菌落的形态, 并对菌落的生长情况及特征作相应的记录, 然后对菌株进行编号、保存。

为检查表面消毒是否彻底, 进行对照实验。将上述同样消毒处理过的根、茎切段和叶切片不作切割直接接种于马丁培养基平板上, 置于相同条件下培养。对照用的根、茎切段和叶切片周围无任何菌长出, 证明得到的真菌是植物组织内的, 而不是表面的附生菌。

1.3 产鬼臼毒素内生真菌的筛选 将分离纯化得到的桃儿七内生真菌进行液体发酵培养, 培养条件为 27℃, 100 转/min, 7 d 后分别收集培养液和菌丝浸提液, 对其直接进行薄层色谱 (TLC) 分析。具体流程如下: 发酵液过滤后, 取滤液进行减压浓缩, 追加等体积氯仿后摇匀, 静置过夜, 取氯仿层减压浓缩, 备用。在萃取后的上层溶液中加入等体积正丁醇, 摇匀后静置过夜, 将正丁醇层进行减压浓缩, 与氯仿层同时进行 TLC 分析。

发酵液过滤后得到一定数量的菌丝, 将其置于 -70℃ 冷冻 10 min 后研磨破碎, 然后置于 80% 乙醇中回流 2 h, 反复操作 3 次, 将过滤所得滤液进行减压浓缩, 加入等体积氯仿后摇匀, 静置过夜。取氯仿层减压浓缩, 备用。余下的上层溶液中加入等体积正丁醇, 摇匀后静置过夜。将正丁醇层进行减压浓缩, 与氯仿层同时进行 TLC 分析。

用硅胶 G (青岛海洋化工厂生产, 化学纯) 自制硅胶薄板 (添加 3% 的 CMC-Na)。选用 3 种展开剂: (1) 氯仿: 甲醇 (9:1, V/V); (2) 氯仿: 甲醇 (85:15, V/V); (3) 氯仿: 乙酸乙酯 (8:2, V/V)。显色剂为浓硫酸-乙醇 (1:1, V/V), 显色条件 120℃, 5 min<sup>[18]</sup>。

1.4 采用 HPLC 法分析内生真菌发酵液的成分 通过 TLC 分析筛选出产鬼臼毒素内生真菌, 将发酵产物按照 1.3 项下条件处理后, 合并萃取相并挥发除去有机溶剂, 灭活后以微孔滤膜 (0.45 μm) 过滤, 取滤液进行 HPLC 检测。色谱柱: Discovery C<sub>18</sub> (100 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水 (50:50), 检测波长: 222 nm, 流速: 0.7 ml/min, 柱温: 20℃, 进样量: 50 μl。所用高效液相色谱仪为西北大学现代分离研究所组装。

1.5 内生真菌代谢产物对小鼠 S180 肉瘤的抑制作用

1.5.1 实验分组 昆明种 ICR 小鼠(购自西安交通大学医学院实验动物中心;生产许可证号:陕医动字第 08-004 号,二级合格动物)80 只,雌性,体质量(20±2) g,适应性饲养 1 周后,将腹腔传代的 S180 肉瘤悬液(2×10<sup>6</sup>/ml)注射于小鼠的右前肢腋下,皮下接种 0.2 ml。接种后称质量,将小鼠随机分为 4 组,每组 20 只。设 I 组:生理盐水组;II 组:环磷酰胺(CTX,注射用,购自西安交通大学第一附属医院门诊部,山西普德药业股份有限公司生产,批号:20070102)组;III 组:T8 发酵液组;IV 组:CTX+T8 发酵液组。

1.5.2 给药方法 小鼠接种 S180 瘤细胞 24 h 后,I 组以 0.5 ml 生理盐水每日灌胃 1 次;II 组注射 CTX(以生理盐水配制为 1 mg/ml) 0.5 ml,每日一次;III 组以 T8 发酵液(样品同 1.4 项)0.5 ml,每日灌胃 1 次;IV 组以 0.3 ml CTX 与 0.2 ml T8 发酵液(样品同 1.4 项)混合,每日灌胃 1 次。注射 12 d 后,称体质量,选用颈椎脱臼法处死小鼠,完整取出皮下瘤块,洗净后称质量,观察瘤块的发育情况,并计算各组药物对于 S180 肿瘤的抑制率<sup>[19]</sup>。

抑制率(%)=(空白对照组小鼠平均瘤块质量-实验组小鼠平均瘤块质量)/空白对照组小鼠平均瘤块质量×100%。

1.6 小鼠白细胞及淋巴细胞计数 小鼠荷瘤操作及给药方式同 1.5 项,取荷瘤对照组、阳性药对照组及给药组小鼠进行白细胞及淋巴细胞计数。于末次给药后 24 h,摘除眼球取血进行血常规检验,检验血液中淋巴细胞数量、白细胞数量及白细胞中淋巴细胞的百分率。

1.7 统计学处理 所有实验均重复 3 次,取其平均值,采用 SPSS 12.0 软件对实验数据进行统计学分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,用 *t* 检验比较各组间差异,检验水平( $\alpha$ )为 0.05。

## 2 结果

2.1 桃儿七内生真菌的分离和筛选 从桃儿七根、茎、叶中共分离得到真菌 21 株。先用 PDA 液体培养基分别进行培养,再将培养液、菌丝体分别用氯仿、正丁醇提取、浓缩后进行 TLC 分析,发现有 3 种真菌的菌丝提取物在与鬼臼毒素标准品迁移率相同的位置上有斑点,氯仿:甲醇(85:15,V/V)为最佳展开剂,并且 3 种真菌中的 1 种(T8)其培养液提取物显色后表现出与鬼臼毒素标准品相同的 R<sub>f</sub>值,证

明该菌种不仅能够产鬼臼毒素类代谢产物,且在胞内外均有产生。

2.2 桃儿七内生真菌 T8 的鉴定 T8 菌落近圆形,白色(图 1),背面为暗粉色,气生菌丝稀疏,菌落湿润,菌丝有隔,分枝,分生孢子梗短,从气生菌丝上生出,基部膨大,孢子近圆形,单细胞,无色,分生孢子从顶端溢出后聚集在小梗顶端的周围,推测有黏液成分分泌,将孢子黏成假头状。培养后期,培养基颜色加深,有红色分泌物产生。初步鉴定该菌为半知菌亚门,丝孢纲,丝孢目,头孢霉属 *Cephalosporium* sp. 真菌。

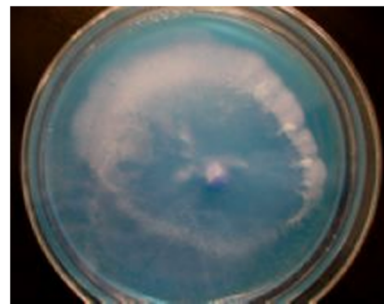


图 1 内生真菌 T8 的形态特征

Fig 1 Morphology of endophytic fungus T8 colony

2.3 桃儿七内生真菌 T8 发酵液的成分分析 按照 1.4 项中 HPLC 检测条件,分别对鬼臼毒素标准品和 T8 发酵液样品进行分析。图 2 显示出鬼臼毒素标准品在 10.265 min 有最大吸收峰,经过预处理的 T8 发酵液样品中组分最大吸收峰在 10.198 min 处。

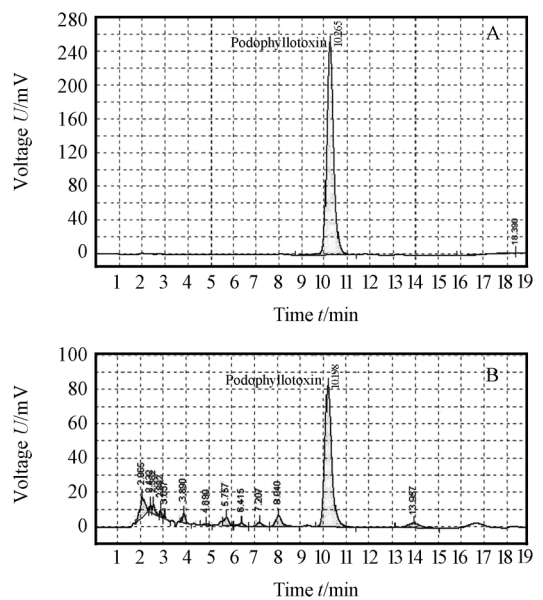


图 2 鬼臼毒素标准品(A)和 T8 发酵液(B)的 HPLC 图谱  
Fig 2 HPLC chromatogram of reference sample (A) and metabolites of T8 (B)

由图 2 可以看出,经过预处理的 T8 发酵液样品中最大吸收峰的保留时间和鬼臼毒素标准品基本相同,表明桃儿七内生真菌 T8 能够产生和其宿主相同的生理活性成分鬼臼毒素。

2.4 内生真菌 T8 发酵液对小鼠 S180 肉瘤的抑制作用 生理盐水组瘤块体积较大,与健康组织间界限不清,质地较软,难以完全剥离;各给药组瘤体较小,界限相对清晰,质地较硬,容易与健康组织分离。

给药前各组小鼠体质量差异无统计学意义,说明随机分组合理,动物给药前的体质量不影响结果。用药组抑瘤率均大于 10%,且以 CTX(Ⅱ组)为最高(43.8%),T8 发酵液(Ⅲ组)次之,可以认为二者均有

较强的抑瘤作用。但通过荷瘤前后小鼠体质量对比,T8 发酵液对小鼠体质量增长无明显抑制作用,而 CTX 对小鼠体质量增长有较强的抑制作用。用药组小鼠给药后体质量均比生理盐水组(I组)低,除 T8 发酵液组外,其他两组与生理盐水对照组相比差异有统计学意义( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),说明 T8 发酵液能抑制 S180 肿瘤,提高荷瘤小鼠的生存质量。实验设计中加入了 CTX 与 T8 发酵液混合组作为对照,即采用 0.3 ml CTX 与 0.2 ml T8 发酵液(样品同 1.4 项)混合,每日灌胃 1 次,结果表明,其混合疗效不仅低于单个供试药物,且抑瘤作用相对较弱(表 1)。

表 1 T8 发酵液对小鼠 S180 肉瘤的抑制作用

Tab 1 Effects of metabolites of T8 against S180 sarcoma in mice

( $n=20$ )

Group	Antitumor effect		Mouse mass $m/g$	
	Tumor mass $m/g$	Inhibition rate (%)	Before S180 cell bearing	After S180 cell bearing
I	1.30±0.41 <sup>△</sup>	—	24.91±0.72	27.65±1.82 <sup>▲</sup>
II	0.73±0.16* <sup>△</sup>	43.8	25.16±1.29	23.74±2.58* <sup>△▲</sup>
III	0.82±0.25*	36.9	24.60±1.13	25.57±0.49
IV	1.14±0.39* <sup>△</sup>	12.3	25.32±0.87	24.31±1.06* <sup>△▲</sup>

I: Saline group; II: Cyclophosphamide(CTX) group; III: T8 group; IV: CTX+T8 group. \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$  vs group I; <sup>△</sup>  $P<0.05$  vs group III; <sup>▲</sup>  $P<0.05$  vs before S180 cell bearing of the same group

2.5 白细胞及淋巴细胞计数 由表 2 可以得出,给药组小鼠血液中白细胞和淋巴细胞数量都有一定程度的增加,且与生理盐水组(I组)相比差异有统计学意义( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),其中尤以 CTX 组(Ⅱ组)、T8 发酵液组(Ⅲ组)效果最为明显,说明二者对促进免疫细胞增殖方面均有较强作用。CTX+T8 发酵液组(Ⅳ组)也有促增殖效果,但是作用劣于另 2 个给药组。

表 2 白细胞及淋巴细胞计数结果

Tab 2 White blood cell and lymphocyte count

( $n=20$ ,  $\bar{x}\pm s$ )

Group	White blood cell ( $\times 10^9/L$ )	Lymphocyte ( $\times 10^9/L$ )	Lymphocyte/white blood cell
I	1.2±0.15 <sup>△</sup>	0.3±0.11 <sup>△</sup>	0.250±0.002 <sup>△</sup>
II	4.1±0.20**	2.5±0.12**	0.610±0.006** <sup>△</sup>
III	3.4±0.13*	1.4±0.17*	0.412±0.007*
IV	2.8±0.22** <sup>△</sup>	0.9±0.03** <sup>△</sup>	0.334±0.012** <sup>△</sup>

I: Saline group; II: Cyclophosphamide(CTX) group; III: T8 group; IV: CTX+T8 group. \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$  vs group I; <sup>△</sup>  $P<0.05$  vs group III

### 3 讨论

鬼臼毒素存在于小檗科的许多种植物中,是一种天然的抗肿瘤物质,是典型的细胞凋亡诱导剂<sup>[20]</sup>。本实验从濒危植物桃儿七完整植株中分离获得了 21 株内生真菌,经鉴定分别属于 *Acremonium*、*Aspergillus*、*Cephalosporium*、*Colletotrichum* 和 *Fusarium*。桃儿七药用部位主要为根和茎,而本研究筛选出的优势真菌 *Cephalosporium* sp. 分离自桃儿七根部,提示内生真菌产生活性物质的能力与其在宿主体内的生长环境密切相关,这一结果与文献报道<sup>[3]</sup>相近。本实验采用 HPLC 法证实桃儿七内生真菌能够产生与宿主相同的活性成分鬼臼毒素,且该菌生长速率快,代谢产物产量比较高,综合本研究的检测结果,内生真菌 T8 发酵液组小鼠瘤质量虽然大于 CTX 组,但是明显小于其他组,对荷瘤小鼠的生存数和体质量没有显著的影响,说明稍经处理后的发酵液具有比较理想的抑瘤及促进机体免疫细胞增殖的作用,进一步证实 T8 发酵

液的抗肿瘤机制可能与提高机体细胞免疫有关,其量效关系尚有待于深入研究。生物勘探是近年来集中研究的热点,旨在全球生物圈内寻找能够替代现有不可再生资源的新产物或者个体<sup>[21]</sup>。今后,有望依靠内生真菌的工业发酵来生产目标代谢物鬼臼毒素,解决桃儿七植物保护与植物资源开发之间的矛盾。

**致谢** 本研究内生真菌筛选部分是在西北大学生命科学学院完成,感谢西安市植物园邱小冬研究员、西北大学植物园盖廷武副教授在植株采集方面给予的支持与帮助。感谢北京师范大学生命科学学院赵长崎教授对本研究实验方面的指导,同时感谢西北大学现代分离所李建军博士在高效液相色谱分析方面给予的建议和帮助。

[参考文献]

[1] 傅志军,张 萍. 太白山国家保护植物优先保护顺序的定量分析[J]. 山地学报,2001,19:161-164.

[2] Gupta R S,Chenchaiah P C. Synthesis and biological activities of the C-4 esters of 4'-demethylepipodophyllotoxin [J]. Anti-cancer Drug Design,1987,2:13-23.

[3] 李海燕,曾松荣,张玲琪. 云南桃儿七植株地下茎内生真菌多样性及有价值菌株的筛选[J]. 西南农业学报,1999,12:123-125.

[4] Stierle A,Strobel G,Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific Yew[J]. Science,1993,260:214-216.

[5] Strobel G A. Taxon from *Pestalotiopsis microspora*, an endophytic fungus of *Taxus wallachiana* [J]. Microbiology, 1996, 142: 435-440.

[6] Li J Y,Strobel G,Sidhu R. Endophytic taxol-producing fungi from bald cypress, *Taxodium distichum* [J]. Microbiology, 1996, 142: 2223-2226.

[7] 戴文君,戴好富,陈 苹,吴 娇,梅文莉. 海南粗榧内生真菌抗肿瘤抗菌活性的筛选[J]. 微生物学通报,2009,36:1217-1221.

[8] 郭仕平,蒋 斌,苏莹珍,刘仕平,张玲琪. 川八角莲内生真菌产鬼臼毒素类似物的初步研究[J]. 生物技术,2004,14:55-57.

[9] 刘仕平. 中华山荷叶内生真菌的分离及其发酵产生药用成分的

初步研究[J]. 中国药物与临床,2003,3:227-228.

[10] 陆 荣,刘小娟,樊美珍,侯 奎,刘玉军. 喜树内生真菌的分离及其抗肿瘤活性菌株的筛选[J]. 安徽农业大学学报,2008,35:76-79.

[11] 徐丽莉,韩 婷,李 琳,秦路平. 人参内生真菌的分离及其体外抗真菌、抗肿瘤活性[J]. 第二军医大学学报,2009,30:99-102.  
Xu L L,Han T,Li L,Qin L P. Isolation of endophytic fungi from *Panax ginseng* and their antifungal and antitumor activities *in vitro* [J]. Acad J Sec Mil Med Univ,2009,30:99-102.

[12] Teles H L,Silva G H,Ian C G,Bolzani V S,Pereira J O,Costa-Neto I,et al. Benzopyrans from *Curvularia* sp., an endophytic fungus associated with *Ocotea corymbosa* (Lauraceae) [J]. Phytochemistry, 2005,66:2363-2367.

[13] Teles H L,Sordi R,Silva G H,Castro-Gamboa I,Bolzani V S,Pfenning L H,et al. Aromatic compounds produced by *Periconia atropurpurea*, an endophytic fungus associated with *Xylopiia aromatica* [J]. Phytochemistry,2006,67:2686-2690.

[14] 王晓鹏,钟 佳,王兴红,李敏湘,张玲琪. 桃儿七和南山荷叶内生真菌的生物活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2006,18:15-19.

[15] 杨显志,郭仕平,张玲琪,邵 华. 鬼臼类植物产鬼臼毒素内生真菌的筛选[J]. 天然产物研究与开发,2003,15:419-422.

[16] 曹 莉,黄建新,李建芳. 桃儿七内生真菌产鬼臼毒素发酵条件研究[J]. 食品与发酵工业,2007,33:28-32.

[17] 张集慧,郭顺星,杨峻山,肖培根. 红豆杉一内生真菌化学成分的研究[J]. 植物学报,2002,44:1239-1242.

[18] 张培楠. 秦岭产两种民间药用植物的化学成分及药理学活性研究[D]. 西北大学硕士学位论文,2004.

[19] 邱根全,赵 云,刘 映,蔡 云. 白术对小鼠移植性肉瘤 S180 的抑瘤作用及对 Bcl-2 基因表达的影响[J]. 西安交通大学学报:医学版,2009,30:759-761.

[20] 郭士方,滕建国,杨团民,张小郁. 邻-氨基酚去甲表鬼臼毒素抗骨肉瘤 SOSP-9607 细胞作用及机理研究[J]. 第四军医大学学报, 2008,29:1153-1156.

[21] Kamm B,Gruber P R,Kamm M. Biorefineries: industrial processes and products[M]. Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. , 2007:394.

[本文编辑] 尹 茶