

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.00310

· 论 著 ·

## 中国南海黑乳海参共附生白色侧齿霉菌中的甾体类成分

宫俊, 汤华, 刘宝姝, 周巍, 孙鹏, 李玲\*, 张文\*

第二军医大学药学院海洋药物研究中心, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 对中国南海黑乳海参共附生白色侧齿霉菌 *Engyodontium album* 的次生代谢产物进行研究。**方法** 运用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、高效液相色谱等分离手段对白色侧齿霉菌 *Engyodontium album* 的乙酸乙酯提取物进行分离纯化, 根据现代波谱技术结合文献报道进行结构鉴定。**结果** 共分离得到 5 个化合物, 分别鉴定为: (22E, 24R)-5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -过氧化麦角甾-6, 22-二烯-3 $\beta$ -醇(1)、(22E, 24R)-麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 $\beta$ -醇(2)、(22E, 24R)-麦角甾-7, 22-二烯-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -三醇(3)、3 $\beta$ , 5 $\alpha$ -二羟基-(22E, 24R)-麦角甾-7, 22-二烯-6-酮(4)、3 $\beta$ , 5 $\alpha$ -二羟基-6 $\beta$ -甲氧基-麦角甾-7, 22-二烯(5)。**结论** 本研究是对黑乳海参共附生白色侧齿霉菌次生代谢产物的首次报道, 这 5 个化合物均为首次从白色侧齿霉菌 *Engyodontium album* 中分离得到。

**[关键词]** 海参纲; 黑乳海参; 白色侧齿霉菌; 甾类**[中图分类号]** R 931.77**[文献标志码]** A**[文章编号]** 0258-879X(2013)03-0310-05

### Steroids from fungus *Engyodontium album* associated with the South China Sea cucumber *Holothuria nobilis* Selenka

GONG Jun, TANG Hua, LIU Bao-shu, ZHOU Wei, SUN Peng, LI Ling\*, ZHANG Wen\*

Research Center for Marine Drugs, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the secondary metabolites of fungus *Engyodontium album* (*E. album*) associated with the South China Sea cucumber *Holothuria nobilis* (*H. nobilis*) Selenka. **Methods** The EtOAc extract of *E. album* was purified by repeated column chromatography on silica gel, Sephadex LH-20, and high-performance liquid chromatography (HPLC). Structures of the obtained compounds were determined by spectroscopic analysis and comparison with previously reported data. **Results** Five compounds were isolated and their structures were determined as: (22E, 24R)-5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -epidioxy-ergosta-6, 22-dien-3 $\beta$ -ol (1), (22E, 24R)-ergosta-5, 7, 22-trien-3 $\beta$ -ol (2), (22E, 24R)-ergosta-7, 22-dien-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -triol (3), 3 $\beta$ , 5 $\alpha$ -dihydroxy-(22E, 24R)-ergosta-7, 22-dien-6-one (4), 3 $\beta$ , 5 $\alpha$ -dihydroxy-6 $\beta$ -methoxy-ergosta-7, 22-dien (5). **Conclusion** This is the first report on the secondary metabolites of *E. album* associated with the sea cucumber *H. nobilis* Selenka, and the five compounds have been reported for the first time from the fungus *E. album*.

**[Key words]** sea cucumbers; *Holothuria nobilis* Selenka; *Engyodontium album*; steroids

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(3): 310-314]

海参为棘皮动物门海参纲动物的总称, 海参纲下设 3 亚纲, 6 目和 24 科, 全世界约有 1 000 多种, 分布在我国的有 140 多种<sup>[1]</sup>。现代研究发现海参中的成分具有抗凝血、抗真菌、抗肿瘤、提高免疫力、保护神经组织等显著的生物活性<sup>[2]</sup>。海参共附生微生物是海参生态体系的共同组成部分, 并且能够产生结构多样、具有多种生物活性的次生代谢产物, 越

来越受到生态学家及药物化学家的重视。近十几年来国内外陆续有对海参共附生微生物次生代谢产物的研究报道, 包括从日本海海参 *Eupentacta fraudatrix* 表皮真菌 *Acremonium striatisporum* 中分离得到一系列具有中等细胞毒活性的二萜皂苷<sup>[3-6]</sup>, 从青岛海域海参 *Stichopus japonicus* 共附生真菌 *Aspergillus fumigatus* 中分离得到 19 个叫

**[收稿日期]** 2013-01-29 **[接受日期]** 2013-02-20**[基金项目]** 国家自然科学基金(30873200, 41176125), 上海浦江人才计划(PJ2008). Supported by National Natural Science Foundation of China (30873200, 41176125) and Shanghai Pujiang Talent Program (PJ2008).**[作者简介]** 宫俊, 硕士生. E-mail: gongjun\_1986@126.com

\* 通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-81871258, E-mail: lilingty@hotmail.com; Tel: 021-81871257, E-mail: wenzhang1968@163.com

啉二酮哌嗪类生物碱<sup>[7]</sup>以及从其共附生真菌 *Aspergillus fumigatus* WFZ-25 中分离得到 pseurotin A 和它的 2 种非对映异构体 pseurotin A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub><sup>[8]</sup>, 从黄海海参共附生真菌 *Epicoccum* spp. 中分离得到甾醇、丁二酸及苯吡喃类化合物<sup>[9]</sup>以及从其共附生真菌 *Alternaria* sp. 中分离得到 1 个新的苯并呋喃衍生物和 2 个已知的芳香类化合物<sup>[10]</sup>, 此外本课题组从仿刺参共附生放线菌 *Brevibacterium* sp. 中分离得到 7 个环二肽类化合物<sup>[11]</sup>。

黑乳海参属棘皮动物门海参纲楯手目海参科, 体型较大, 在我国从福建东山到海南岛的海域均有分布<sup>[1]</sup>。我们课题组采用稻瘟霉模型和体外细胞毒性追踪分离方法, 对黑乳海参体内的活性成分进

行了系统研究, 得到 5 个新的三萜皂苷和 2 个新的四环三萜类化合物<sup>[12-14]</sup>。为了系统研究海参与其共附生微生物间的关系, 我们又开始对黑乳海参共附生微生物的次生代谢产物进行研究, 在得到药源性活性物质的同时, 考察其可能的生态作用。

本研究运用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱以及高效液相色谱(HPLC)等分离纯化技术, 对中国南海黑乳共附生白色侧齿霉菌 *Engyodontium album* 的次生代谢产物进行研究, 分离纯化得到 5 个甾体类化合物, 并运用核磁共振、质谱等现代波谱技术结合文献报道对这些化合物进行了结构鉴定。化合物的结构见图 1。

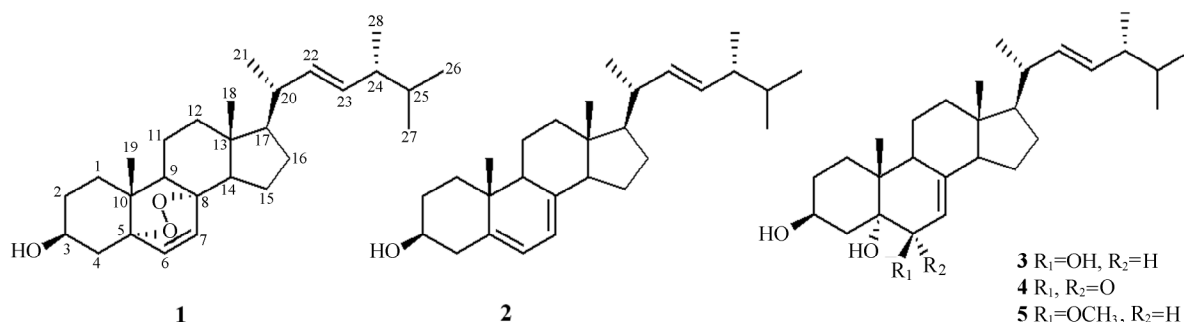


图 1 化合物 1~5 的结构式

Fig 1 Structures of compounds 1-5

## 1 材料和方法

1.1 样品 实验所用菌株由德国布伦瑞克理工大学(Technische Universität Braunschweig)微生物研究所 Barbara Schulz 教授从中国南海黑乳海参中分离得到, 并鉴定为 *Engyodontium album*。现保存在第二军医大学药学院海洋药物研究中心, 编号 10085。将菌株接种到培养基上(50 g 生物麦芽糖, 15 g 琼脂, 800 mL 人工海水, pH 5.6), 培养箱温度 26℃, 固体培养 28 d, 共培养 400 块。

1.2 主要仪器与试剂 HZQ-F280 型全温震荡培养箱; LDZH-200KBS 型立式压力蒸汽灭菌器; Bruker Varian Inova-600、Avance-500、Avance-400 核磁共振仪; MAT-212 质谱仪; XT5 显微熔点测定仪; SGW-1 自动旋光仪; Agilent 1100 高效液相色谱仪[RID 检测器, Zorbax 300-C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 9.4 mm, 5 μm)]; Sephadex LH-20 凝胶由 Amersham Pharmacia Biotech 生产; TLC 薄层板和柱色谱硅胶均由烟台黄务硅胶开发实验厂提供; 开放柱色谱所

用溶剂为分析纯, HPLC 所用试剂为色谱纯, 均由国药集团上海化学试剂公司生产。

1.3 代谢产物的提取与分离 菌体绞碎, 用乙酸乙酯超声提取 3 次(每次 2 L, 30 min), 减压浓缩, 得到粗浸膏 5.2 g。该浸膏经硅胶柱层析梯度洗脱(石油醚: 丙酮=15:1~1:2), 合并得到 20 个组分(Fr. 1~Fr. 20)。Fr. 2(84.6 mg)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(CHCl<sub>3</sub>: MeOH=2:1)及硅胶柱色谱(10~40 μm 硅胶, 石油醚: 丙酮=6:1 洗脱)得化合物 1(2.4 mg); Fr. 7(534.4 mg)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(CHCl<sub>3</sub>: MeOH=2:1)及硅胶柱色谱(10~40 μm 硅胶, 石油醚: 丙酮=6:1 洗脱)得化合物 2(27.4 mg); Fr. 8(58.0 mg)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(CHCl<sub>3</sub>: MeOH=2:1)及 HPLC(甲醇: 水=97:3; 流速: 1.5 mL/min; 柱温: 30℃)得化合物 3(1.5 mg); Fr. 10(17.0 mg)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(CHCl<sub>3</sub>: MeOH=2:1)及 HPLC(甲醇: 水=96:4; 流速: 1.5 mL/min; 柱温: 30℃)得化合物 4(1.7 mg);

Fr. 12(79.5 mg)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 2 : 1)及 HPLC(甲醇 : 水 = 99 : 1;流速:1.5 mL/min;柱温:30℃)得化合物 **5** (1.2 mg)。

## 2 结果

2.1 化合物 **1** 的结构鉴定 白色结晶(甲醇), m. p. 176~178℃;  $[\alpha]_D^{25} = -25^\circ$  (c 0.16, CHCl<sub>3</sub>); ESI-MS(*m/z*): 429.33 ( $[M + H]^+$ ); <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz): 6.50(1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-7), 6.24(1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6), 5.21(1H, dd, *J* = 15.1, 7.7 Hz, H-23), 5.16(1H, dd, *J* = 15.1, 8.0 Hz, H-22), 3.98(1H, tt, *J* = 11.0, 5.0 Hz, H-3), 1.00(3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-21), 0.91(3H, d, *J* = 7.0 Hz, H-28), 0.88(3H, s, H-19), 0.82(3H, d, *J* = 6.9 Hz, H-26), 0.82(3H, s, H-18), 0.83(3H, d, *J* = 7.0 Hz, H-27); <sup>13</sup>C NMR(CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz): 34.9(t, C-1), 30.3(t, C-2), 66.7(d, C-3), 37.1(t, C-4), 82.3(s, C-5), 135.6(d, C-6), 130.9(d, C-7), 79.6(s, C-8), 51.3(d, C-9), 37.1(s, C-10), 23.6(t, C-11), 39.5(t, C-12), 44.8(s, C-13), 51.9(d, C-14), 20.8(t, C-15), 28.8(t, C-16), 56.5(d, C-17), 13.1(q, C-18), 18.4(q, C-19), 39.9(d, C-20), 21.1(q, C-21), 135.4(d, C-22), 132.5(d, C-23), 43.0(d, C-24), 33.3(d, C-25), 20.1(q, C-26), 19.8(q, C-27), 17.7(q, C-28)。以上数据与文献[15-16]对照一致,故化合物 **1** 鉴定为(22*E*, 24*R*)-5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -过氧化麦角甾-6, 22-二烯-3 $\beta$ -醇。

2.2 化合物 **2** 的结构鉴定 白色粉末状结晶(甲醇), m. p. 152~155℃;  $[\alpha]_D^{25} = -129^\circ$  (c 0.22, CHCl<sub>3</sub>); ESI-MS(*m/z*): 397.34 ( $[M + H]^+$ ); <sup>1</sup>H NMR(pyridine-*d*<sub>5</sub>, 500 MHz): 5.78(1H, d, *J* = 5 Hz, H-6), 5.58(1H, s, H-7), 5.33(2H, m, H-22, H-23), 4.03(1H, tt, *J* = 11.0, 5.0 Hz, H-3), 2.87(1H, d, *J* = 14.5 Hz, H-4 $\alpha$ ), 2.74(1H, t, *J* = 13.0, 12.5 Hz, H-4 $\beta$ ), 1.18(3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-21), 1.13(3H, s, H-19), 1.06(3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-28), 0.98(3H, d, *J* = 6.9 Hz, H-26), 0.96(3H, d, *J* = 7.0 Hz, H-27), 0.77(3H, s, H-18); <sup>13</sup>C NMR(pyridine-*d*<sub>5</sub>, 125 MHz): 39.1(t, C-1), 33.1(t, C-2), 70.0(d, C-3), 42.1(t, C-4), 141.0(s, C-5), 119.7(d, C-6), 117.2(d, C-7), 141.4(s, C-8), 46.7(d, C-9), 37.6(s, C-10), 21.5(t, C-11), 39.5(t,

C-12), 44.1(s, C-13), 54.9(d, C-14), 23.5(t, C-15), 28.8(t, C-16), 56.0(d, C-17), 12.3(q, C-18), 16.7(q, C-19), 40.9(d, C-20), 21.5(q, C-21), 136.4(d, C-22), 132.3(d, C-23), 43.2(d, C-24), 33.4(d, C-25), 20.3(q, C-26), 20.0(q, C-27), 18.0(q, C-28)。以上数据与文献[17-18]对照一致,故化合物 **2** 鉴定为(22*E*, 24*R*)-麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 $\beta$ -醇。

2.3 化合物 **3** 的结构鉴定 无色针状结晶(氯仿), m. p. 246~248℃;  $[\alpha]_D^{25} = -75^\circ$  (c 0.16, pyridine); ESI-MS(*m/z*): 431.34 ( $[M + H]^+$ ); <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): 5.38(1H, d, *J* = 5.1 Hz, H-7), 5.23(2H, m, H-22, H-23), 4.11(1H, m, H-3), 3.66(1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-6), 1.12(3H, s, H-19), 1.05(3H, d, *J* = 6.64 Hz, H-21), 0.94(3H, d, *J* = 6.84 Hz, H-28), 0.88(3H, d, *J* = 6.44 Hz, H-26), 0.85(3H, d, *J* = 6.52 Hz, H-27), 0.63(3H, s, H-18); <sup>13</sup>C NMR(CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz): 30.9(t, C-1), 33.0(t, C-2), 67.8(d, C-3), 39.5(t, C-4), 76.0(s, C-5), 73.7(d, C-6), 117.6(d, C-7), 144.1(s, C-8), 43.5(d, C-9), 37.2(s, C-10), 22.1(t, C-11), 39.2(t, C-12), 43.8(s, C-13), 54.8(d, C-14), 22.9(t, C-15), 27.9(t, C-16), 56.0(d, C-17), 12.4(q, C-18), 18.9(q, C-19), 40.4(d, C-20), 21.1(q, C-21), 135.4(d, C-22), 132.2(d, C-23), 42.8(d, C-24), 33.1(d, C-25), 19.7(q, C-26), 20.0(q, C-27), 17.6(q, C-28)。以上数据与文献[19-20]对照一致,故化合物 **3** 鉴定为(22*E*, 24*R*)-麦角甾-7, 22-二烯-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -三醇。

2.4 化合物 **4** 的结构鉴定 白色粉末, m. p. 233~234℃;  $[\alpha]_D^{25} = +9.1^\circ$  (c 0.10, CHCl<sub>3</sub>); ESI-MS(*m/z*): 429.33 ( $[M + H]^+$ ); <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): 5.65(1H, s, H-7), 5.18(2H, m, H-22, H-23), 4.03(1H, m, H-3), 1.02(3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 0.95(3H, s, H-19), 0.84(3H, d, *J* = 6.56 Hz, H-26), 0.81(3H, d, *J* = 6.64 Hz, H-27), 0.91(3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-28), 0.60(3H, s, H-18); <sup>13</sup>C NMR(CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz): 30.4(t, C-1), 30.5(t, C-2), 67.6(d, C-3), 36.7(t, C-4), 78.0(s, C-5), 215.9(s, C-6), 119.8(d, C-7), 165.4(s, C-8), 44.1(d, C-9), 40.6(s, C-10), 22.1(t, C-11), 39.0(t, C-12), 44.9(s, C-13), 56.0(d, C-14), 22.7(t, C-15), 28.0(t, C-16), 56.2(d, C-17), 12.8(q,

C-18), 17.7 (q, C-19), 40.4 (d, C-20), 21.3 (q, C-21), 135.1 (d, C-22), 132.7 (d, C-23), 43.0 (d, C-24), 33.2 (d, C-25), 19.8 (q, C-26), 20.1 (q, C-27), 16.6 (q, C-28)。以上数据与文献[21]对照一致,故化合物**4**鉴定为 $3\beta,5\alpha$ -二羟基-(22*E*,24*R*)-麦角甾-7,22-二烯-6-酮。

2.5 化合物**5**的结构鉴定 白色粉末, m. p. 174~176°C;  $[\alpha]_D^{25} = -30.5^\circ$  (c 0.90, CHCl<sub>3</sub>); ESI-MS (*m/z*): 445.36 ( $[M+H]^+$ ); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 4.05 (1H, m, H-3), 3.16 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-6), 5.39 (1H, dd, *J* = 4.8, 2.4 Hz, H-7), 0.59 (3H, s, H-18), 1.00 (3H, s, H-19), 1.03 (3H, s, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 5.15 (1H, dd, *J* = 15.3, 7.7 Hz, H-22), 5.25 (1H, dd, *J* = 15.2, 6.9 Hz, H-23), 0.81 (1H, d, *J* = 6.52 Hz, H-26), 0.83 (1H, d, *J* = 6.44 Hz, H-27), 0.91 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-28), 3.38 (3H, s, OMe); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz): 32.9 (t, C-1), 31.1 (t, C-2), 68.0 (d, C-3), 39.5 (t, C-4), 76.8 (s, C-5), 82.6 (d, C-6), 115.1 (d, C-7), 143.8 (s, C-8), 44.0 (d, C-9), 37.4 (s, C-10), 22.4 (t, C-11), 39.8 (t, C-12), 44.0 (s, C-13), 55.1 (d, C-14), 23.0 (t, C-15), 28.1 (t, C-16), 56.1 (d, C-17), 12.5 (q, C-18), 18.5 (q, C-19), 40.5 (d, C-20), 19.8 (q, C-21), 135.6 (d, C-22), 132.3 (d, C-23), 43.0 (d, C-24), 33.2 (d, C-25), 20.1 (q, C-26), 21.2 (q, C-27), 17.7 (q, C-28), 58.4 (q, OMe)。以上数据与文献[22-23]对照一致,故化合物**5**鉴定为 $3\beta,5\alpha$ -二羟基-6 $\beta$ -甲氧基-麦角甾-7,22-二烯。

### 3 讨论

本研究是对中国南海黑乳海参共附生白色侧齿霉菌次生代谢产物的首次报道,这5个化合物均为首次从白色侧齿霉菌 *Engyodontium album* 中分离得到。

化合物**1**是普遍存在于真菌中的常规代谢产物,具有多种抑菌活性,最小抑菌浓度范围为50~75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ <sup>[24]</sup>,另外还对藤壶幼虫附着表现出较强的抑制活性,半数有效剂量(EC<sub>50</sub>值)为0.85  $\mu\text{g}/\text{mL}$ <sup>[25]</sup>。化合物**2**在真菌代谢产物中也很常见,但未发现有明显生物活性。化合物**3**对人体中性粒细胞弹性蛋白酶具有抑制活性,其半数抑制剂量(IC<sub>50</sub>值)为(77.5 ± 2.3)  $\mu\text{mol}/\text{L}$ <sup>[26]</sup>,另外还有较好的卤

虫致死活性,在浓度为25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,对卤虫的致死率为47.5%<sup>[25]</sup>。化合物**4**对肺癌细胞A549具有细胞毒活性,其IC<sub>50</sub>值为13.5  $\mu\text{mol}/\text{L}$ <sup>[27]</sup>。化合物**5**对人体中性粒细胞弹性蛋白酶也有抑制活性,其IC<sub>50</sub>值为(14.6 ± 0.8)  $\mu\text{mol}/\text{L}$ <sup>[26]</sup>。

海参中主要活性物质海参皂苷一般为羊毛甾烷型三萜皂苷,之前对黑乳海参的研究发现其体内含有18(16)-或18(20)-内酯-羊毛甾烷皂苷及苷元<sup>[12-14,28]</sup>。另外,黑乳海参中也有胆甾醇、胸腺嘧啶及尿嘧啶等动物中常见代谢产物的报道<sup>[29]</sup>,但没有对麦角甾醇类代谢产物的研究报道。该白色侧齿霉菌及其甾体类代谢产物在黑乳海参化学防御机制中的生态作用还有待进一步的研究。

### 4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

### [参考文献]

- [1] 廖玉麟. 中国动物志[M]. 北京:科学出版社,1997:611.
- [2] 姜健,杨宝灵,郇阳. 海参资源及其生物活性物质的研究[J]. 生物技术通讯,2004,5:537-540.
- [3] Afiyatullo S S, Kuznetsova T A, Isakov V V, Pivkin M V, Prokof'eva N G, Elyakov G B. New diterpenic altrosides of the fungus *Acremonium striatisporum* isolated from a sea cucumber[J]. J Nat Prod, 2000, 63: 848-850.
- [4] Afiyatullo S S, Kalinovsky A I, Kuznetsova T A, Isakov V V, Pivkin M V, Dmitrenok P S, et al. New diterpene glycosides of the fungus *Acremonium striatisporum* isolated from a sea cucumber[J]. J Nat Prod, 2002, 65: 641-644.
- [5] Afiyatullo S S, Kalinovsky A I, Kuznetsova T A, Pivkin M V, Prokof'eva N G, Dmitrenok P S, et al. New glycosides of the fungus *Acremonium striatisporum* isolated from a sea cucumber[J]. J Nat Prod, 2004, 67: 1047-1051.
- [6] Afiyatullo S S, Kalinovsky A I, Pivkin M V, Dmitrenok P S, Kuznetsova T A. New diterpene glycosides of the fungus *Acremonium striatisporum* isolated of a sea cucumber[J]. Nat Prod Res, 2006, 20: 902-908.
- [7] Wang F, Fang Y, Zhu T, Zhang M, Lin A, Gu Q, et al. Seven new prenylated indole diketopiperazine alkaloids from holothurian-derived fungus *Aspergillus fumigatus*[J]. Tetrahedron, 2008, 64: 7986-7991.

- [8] Wang F, Li D, Zhu T, Zhang M, Gu Q. Pseurotin A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub>, two new 1-oxa-7-azaspiro[4.4]non-2-ene-4,6-diones from the holothurian-derived fungus *Aspergillus fumigatus* WFZ-25[J]. Can J Chem, 2011, 89:72-76.
- [9] 夏雪奎, 刘新, 张永刚, 袁文鹏, 张锦松, 王小军, 等. 海参共附微生物 HS-1 *Epicoccum* spp. 次级代谢产物的研究[J]. 中药材, 2010, 33:1577-1579.
- [10] Xia X, Qi J, Wei F, Jia A, Yuan W, Meng X, et al. Isolation and characterization of a new benzofuran from the fungus *Alternaria* sp. (HS-3) associated with a sea cucumber[J]. Nat Prod Commun, 2011, 6:1913-1914.
- [11] 宫俊, 汤华, 耿婉丽, 刘宝姝, 孙鹏, 李玲, 等. 仿刺参共生放线菌 *Brevibacterium* sp. 中的环二肽成分的分离和鉴定[J]. 第二军医大学学报, 2012, 33:1284-1287.
- Gong J, Tang H, Geng W L, Liu B S, Sun P, Li L, et al. Cyclic dipeptides in actinomycete *Brevibacterium* sp. associated with sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka; isolation and identification[J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33:1284-1287.
- [12] Wu J, Yi Y, Tang H, Wu H, Zou Z, Lin H. Nobilisides A-C, three new triterpene glycosides from the sea cucumber *Holothuria nobilis* [J]. Planta Med, 2006, 72:932-935.
- [13] 巫军, 易杨华, 吴厚铭, 贺全山, 邹嵘嵘, 张诗龙. 黑乳海参中两个新的四环三萜化合物[J]. 中国天然药物, 2005, 3:276-279.
- [14] 巫军, 易杨华, 邹嵘嵘, 吴厚铭, 汤海峰. 黑乳海参中两个新的三萜皂苷[J]. 中草药, 2006, 37:497-500.
- [15] 王飞, 刘吉开. 蓝柄丽齿菌的化学成分[J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16:204-206.
- [16] 刘桃芳, 汤华, 李玲, 巩伟, 孙鹏, 张文. 中国南海紫柳珊瑚中过氧化甾醇类化学成分的研究[J]. 第二军医大学学报, 2011, 32:469-472.
- Liu T F, Tang H, Li L, Gong W, Sun P, Zhang W, et al. 5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -epidioxy sterol components in gorgonian *Muriceopsis flavida* collected from the South China Sea[J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32:469-472.
- [17] 刘晶晶, 陈幸, 魏志奇, 李彬. 川木通的化学成分及鉴别研究[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22:998-1000.
- [18] 高锦明, 董泽军, 杨雪, 刘吉开. 紫丁香菇的化学成分[J]. 中草药, 2002, 33:398-401.
- [19] Li F, Li K, Li X M, Wang B G. Chemical constituents of marine algal-derived endophytic fungus *Exophiala oligosperma* EN-21[J]. Chin J Oceanol Limnol, 2011, 29:63-67.
- [20] Piccialli V, Sica D. Four new trihydroxylated sterols from the sponge *Spongionella gracilis*[J]. J Nat Prod, 1987, 50:915-920.
- [21] Ishizuka T, Yaoita Y, Kikuchi M. Sterol constituents from the fruit bodies of *Griфоla frondosa* (Fr.). S. F. GRAY[J]. Chem Pharm Bull, 1997, 45:1756-1760.
- [22] Kawagishi H, Katsumi R, Sazawa T, Mizuno T, Hagiwara T, Nakamura T. Cytotoxic steroids from the mushroom *Agaricus blazei* [J]. Phytochemistry, 1988, 27:2777-2779.
- [23] Kwon H C, Zee S D, Cho S Y, Choi S U, Lee K R. Cytotoxic ergosterols from *Paecilomyces* sp. J300 [J]. Arch Pharm Res, 2002, 25:851-855.
- [24] Lu H, Zou W X, Meng J C, Hu J, Tan R X. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua* [J]. Plant Science, 2000, 151:67-73.
- [25] 赵琨, 孙雪萍, 韩磊, 郑彩娟, 陈敏, 邵长伦, 等. 一株海绵共附生真菌 *Pleosporaceae* sp. 中甾体类化合物及其生物活性[J]. 中国海洋大学学报, 2011, 41:81-85.
- [26] Lee I S, Bae K W, Kuk Yoo J, Ryoo I J, Yeon Kim B, Seog Ahn J, et al. Inhibition of human neutrophil elastase by ergosterol derivatives from the mycelium of *Phellinus linteus* [J]. J Antibiot (Tokyo), 2012, 65:437-440.
- [27] Shang X Y, Li J J, Liu M T, Li S, Liu Y, Wang Y F, et al. Cytotoxic steroids from *Monascus purpureus*-fermented rice [J]. Steroids, 2011, 76:1185-1189.
- [28] 张佳佳. 黑乳海参三萜皂苷的提取分离及其结构鉴定[J]. 中草药, 2011, 42:1467-1472.
- [29] 张佳佳, 戴静波, 陈莉莉, 丁萍月, 巫军. 黑乳海参化学成分的研究[J]. 中药材, 2008, 31:538-539.