

红树尖瓣海莲内生真菌 *Penicillium* sp. J41221 的代谢产物及其抗菌活性研究

郑彩娟 黄国雷 唐雄肇 王德能 龚小路
张强 宋小平* 陈光英*

(海南师范大学热带药用植物化学教育部重点实验室 海南师范大学化学与化工学院 海口 571158)

摘要 在生物活性指导下, 从一株来源于药用红树尖瓣海莲的内生真菌 *Penicillium* sp. (J41221) 中分离鉴定了 6 个化合物, 包括 4 个四环三萜类化合物和 2 个甾醇类化合物, 结构分别为: 11-羰基-12 α -乙酰氧基-4,4-二甲基-24-甲基-5 α -胆甾-8,14-二烯-2 α ,3 β -二醇(1), 12 α -乙酰氧基-4,4-二甲基-24-甲基-5 α -胆甾-8-单烯-3 β ,11 β -二醇(2), 12 α -乙酰氧基-4,4-二甲基-24-甲基-5 α -胆甾-8,14-二烯-3 β ,11 β -二醇(3), 12 α -乙酰氧基-4,4-二甲基-24-甲基-5 α -胆甾-8,14-二烯-2 α ,3 β ,11 β -三醇(4), 啤酒甾醇(5)和(3 β ,5 α ,6 β ,22 E)-6-甲氧基麦角甾-7,22-二烯-3,5-二醇(6). 其中化合物 1 为首次从生物中获得, 且 1 和 2 的波谱数据迄今未见任何报道. 抗菌活性结果表明, 化合物 2 和 4 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和四联球菌均显示一定的抑制活性, 最小抑菌浓度(MIC)分别为 5 和 4.86 $\mu\text{mol/L}$.

关键词 尖瓣海莲; *Penicillium* sp.; 次级代谢产物; 三萜类化合物; 抗菌活性

Secondary Metabolites and Antibacterial Activities of a *Bruguiera sexangula* var. *Rhynchospetala*-Derived Fungus *Penicillium* sp. (J41221)

Zheng, Caijuan Huang, Guolei Tang, Xiongzhaoh Wang, Deneng Gong, Xiaolu
Zhang, Qiang Song, Xiaoping* Chen, Guangying*

(Key Laboratory of Tropical Medicinal Plant Chemistry of Ministry of Education, College of Chemistry and Chemical Engineering, Hainan Normal University, Haikou 571158)

Abstract Under the guidance of bioassay, four tetracyclic triterpenoids and two steroids were isolated from the fermentation products of *Penicillium* sp. (J41221), a fungus obtained from a mangrove *Bruguiera sexangula* var. *Rhynchospetala*. Their structures were identified as 11-oxo-12 α -acetoxy-4,4-dimethyl-24-methylene-5 α -cholesta-8,14-diene-2 α ,3 β -diol (1), 12 α -acetoxy-4,4-dimethyl-24-methylene-5 α -cholesta-8-monoene-3 β ,11 β -diol (2), 12 α -acetoxy-4,4-dimethyl-24-methylene-5 α -cholesta-8,14-diene-3 β ,11 β -diol (3), 12 α -acetoxy-4,4-dimethyl-24-methylene-5 α -cholesta-8,14-diene-2 α ,3 β ,11 β -triol (4), cereviserol (5) and (3 β ,5 α ,6 β ,22 E)-6-methoxyergosta-7,22-diene-3,5-diol (6). Among them, compound 1 was a new naturally occurring compound, and 1 and 2 have no spectroscopic data reported until now. Compounds 2 and 4 showed inhibitory activities against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Micrococcus tetragenus*, with minimum inhibitory concentration (MIC) values of 5 and 4.86 $\mu\text{mol/L}$, respectively.

Keywords *Bruguiera sexangula* var. *Rhynchospetala*; *Penicillium* sp.; secondary metabolites; triterpenoids; antibacterial activities

红树林生态系统处于热带、亚热带的海陆交界处, 因高盐度的生境使红树根部长处于缺氧状态, 并使红

树植物长年受高强度光照, 特殊的生长环境使其体内富含特殊的内生微生物. 近几十年来从红树植物内生微生

* E-mail: chgying123@163.com

Received January 9, 2014; revised January 26, 2014; published online February 14, 2014.

Project supported by the Natural Science Foundation of Hainan Province (No. 213021), the National Natural Science Foundation of China (Nos. 81160391, 81360478, 21162009) and the National Undergraduate Innovation Training Programs (No. 2013116580).

海南省自然科学基金(No. 213021)、国家自然科学基金(Nos. 81160391, 81360478, 21162009)、海南省大学生创新训练(No. 2013116580)资助项目.

物的发酵产物中分离了具有多种生物活性且骨架新颖的次级代谢产物, 已成为海洋天然产物研究的热点之一^[1]. 尖瓣海莲为海南特有药用红树植物, 民间用于治疗疟疾^[2~4]. 本研究从采自海南东寨港红树林保护区的红树尖瓣海莲(*Bruguiera sexangula* var. *rhynchopetala*) 中分离获得一株青霉属真菌 *Penicillium* sp. (J41221), 该菌发酵液的乙酸乙酯粗提物对革兰氏阴性菌大肠杆菌(*Escherichia coli*)具有较强的抑制活性. 在抗菌活性指导下对发酵液的乙酸乙酯粗提物进行次级代谢产物的分离与结构鉴定, 获得 4 个三萜类化合物 **1~4** 和 2 个甾醇类化合物 **5, 6**, 结构分别为: 11-羰基-12 α -乙酰氧基-4,4-二甲基-24-甲烯基-5 α -胆甾-8,14-二烯-2 α ,3 β -二醇(**1**), 12 α -乙酰氧基-4,4-二甲基-24-甲烯基-5 α -胆甾-8-单烯-3 β ,11 β -二醇(**2**), 12 α -乙酰氧基-4,4-二甲基-24-甲烯基-5 α -胆甾-8,14-二烯-3 β ,11 β -二醇(**3**), 12 α -乙酰氧基-4,4-二甲基-24-甲烯基-5 α -胆甾-8,14-二烯-2 α ,3 β ,11 β -三醇(**4**), 啤酒甾醇(**5**)和(3 β ,5 α ,6 β ,22 E)-6-甲氧基麦角甾-7,22-二烯-3,5-二醇(**6**). 其中化合物 **1** 为首次从生物中获得, 且 **1** 和 **2** 的波谱数据迄今未见任何报道. 抗菌活性结果表明, 化合物 **2** 和 **4** 对多株细菌显示一定的抗菌活性.

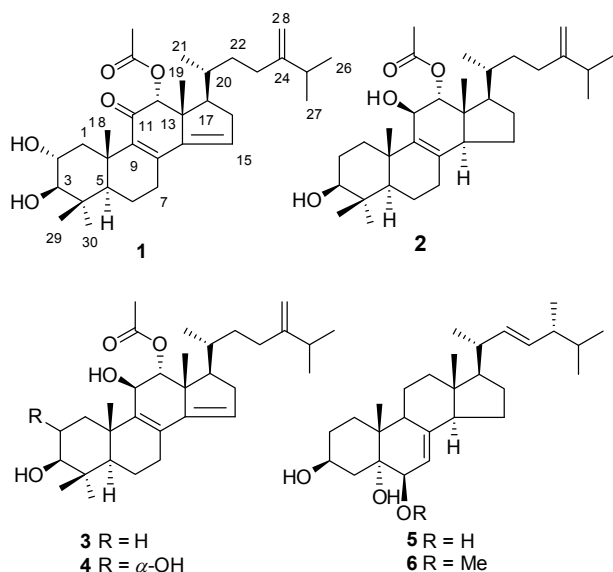


图 1 化合物 **1~6** 的结构
Figure 1 Structures of compounds **1~6**

1 结果与讨论

1.1 化合物 **1** 的结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末状固体, 微溶于甲醇, 易溶于氯仿, $[\alpha]_D^{25} + 12.6$ (c 0.11, MeOH). 其 HRESIMS 给出该化合物分子式为 $C_{32}H_{48}O_5$ ($[M+H]^+$ 513.3560, calcd for 513.3575), 不饱和度为 9. IR 显示分子中有羟基 (3401

cm^{-1})和羰基(1702 cm^{-1})的存在. 1H NMR 谱在低场区给出 1 个烯氢质子信号 δ_H 5.92 (t, $J=1.6$ Hz, 1H), 一对末端双键质子信号 [δ_H 4.73 (brs, 1H)和 4.66 (brs, 1H)], 在连氧区给出 3 个质子信号 δ_H 4.96 (brs, 1H), 3.76 (ddd, $J=10.8, 9.2, 4.4$ Hz, 1H)和 3.05 (d, $J=9.2$ Hz, 1H). 在高场区 δ_H 2.03 (s, 3H)处有 1 个乙酰甲基信号, 在 1.32 (s, 3H), 1.25 (s, 3H), 1.09 (s, 3H), 1.03 (d, $J=6.4$ Hz, 3H), 1.01 (d, $J=6.4$ Hz, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.90 (s, 3H)和 0.88 (d, $J=7.2$ Hz, 3H)处有 8 个甲基信号(表 1). 在 ^{13}C NMR 谱中给出了 32 个碳信号, 其中在低场区出现 1 个酯羰基碳信号 δ_C 169.7 (C). 结合 DEPT 谱分析, 确定分子中另外还存在 9 个 CH_3 , 6 个 CH_2 , 9 个 CH 和 8 个 C 信号. 以上 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据提示该化合物为连有一个乙酰基的三萜类化合物. 将化合物 **1** 的 1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱数据与化合物 **4**^[5]的数据进行比较, 发现两者非常相似, 进一步确定 **1** 为三萜类化合物. 在 1H NMR 谱中化合物 **1** 与 **4** 的不同之处在于 **1** 少了一个连氧质子信号 δ_H 4.24 (brs, 1H). 同时在 ^{13}C NMR 谱中, 化合物 **1** 比 **3** 的少了 1 个连氧碳信号 δ_C 68.8 (CH), 而多了 1 个羰基碳信号 δ_C 193.9 (C)(表 1). 结合质谱, 推测化合物 **1** 的 11 位的连氧 CH 被 1 个羰基取代(表 1). 结合 1H - 1H COSY 谱以及 HMBC 谱给出的相关信号也证明了这一推测. 由此化合物 **2** 的平面结构得以确定(图 2). 该化合物的立体结构是通过与化合物 **4** 的波谱数据、偶常数比较以及 NOESY 谱来确定的. 在 1H NMR 谱中, $J_{H_1-H_2} = 10.8, 4.4$ Hz, 说明 H-2 处于 α 键, $J_{H_2-H_3} = 9.2$ Hz 说明 H-2 和 H-3 同处于 α 键且构型相反. 在 NOESY 谱中, H-3 与 H-5 和 21-Me 有相关信号, H-17 与 H-5 有相关信号, 说明 H-3, H-5, H-17 与 21-Me 同处于 α 位, H-2 与 H-18 和 H-19 有相关信号, H-12 与 H-18 有相关信号, 说明 H-2, H-12, H-18 和 H-19 同处于 β 位. 至此化合物 **1** 的结构得以确定, 命名为 11-羰基-12 α -乙酰氧基-4,4-二甲基-24-甲烯基-5 α -胆甾-8,14-二烯-2 α ,3 β -二醇. SciFinder 检索发现该化合物是在 2000 年由 Singh^[6]对化合物 integracide A 采用二氧杂环乙烷水解后经氧化重排得到的副

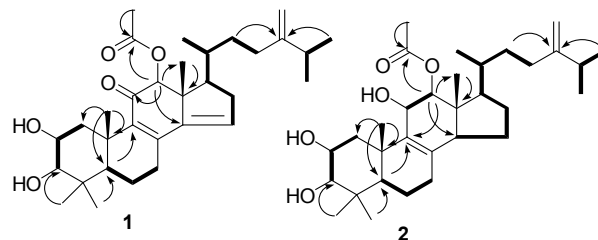


图 2 化合物 **1** 和 **2** 的 1H - 1H COSY 相关和主要的 HMBC (\rightarrow) 相关

Figure 2 1H - 1H COSY (—) and key HMBC (\rightarrow) correlations for compounds **1** and **2**

表 1 化合物 1 和 2 的 NMR 数据(CDCl₃)
Table 1 NMR data of compounds 1 and 2 (CDCl₃)

Position	1		2	
	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}
1	2.82 (dd, 12.0, 4.4) 0.82 (dd, 12.0, 10.8)	41.7 t	2.12~2.21 (m) 1.48~1.62 (m)	34.4 t
2	3.76 (ddd, 10.8, 9.2, 4.4)	69.0 d	1.89~2.00 (m) 1.33~1.43 (m)	27.6 t
3	3.05 (d, 9.2)	83.1 d	3.25 (t, 8.0)	79.1 d
4		37.4 s		37.0 s
5	1.20 (dd, 12.5, 3.0)	50.4 d	1.09 (dd, 12.0, 2.8)	50.4 d
6	1.77~1.86 (m)	17.7 t	1.57~1.71 (m)	18.2 t
7	2.49~2.51 (m)	28.0 t	2.14~2.25 (m)	27.9 t
8		127.1 s		132.0
9		138.3 s		135.2 s
10		38.8 s		39.1 s
11		193.9 s	4.10 (brs)	71.3 d
12	4.97 (s)	80.4 d	4.93 (brs)	81.7 d
13		50.9 s		42.4 s
14		145.5 s	1.53~1.60 (m)	47.2 d
15	5.92 (t, 1.6)	127.1 s	1.59~1.67 (m) 1.37~1.44 (m)	22.9 t
16	2.59~2.60 (m)	35.6 t	2.02~2.12 (m) 1.82~1.89 (m)	31.0 t
17	2.06~2.09 (m)	46.4 d	2.32~2.43 (m)	45.9 d
18	1.34 (s)	21.4 q	1.20 (s)	22.2 q
19	0.96 (s)	15.4 q	0.83 (s)	11.7 q
20	1.57 (overlap)	33.8 d	1.63~1.69 (m)	33.8 d
21	0.89 (d, 6.0)	18.0 q	0.86 (d, 6.4)	17.8 q
22	1.20~1.29 (m)	29.7 t	1.92~2.01 (m) 1.05~1.14 (m)	34.5 t
23	1.89~1.92 (m) 2.07~2.11 (m)	30.9 t	2.16~2.23 (m) 1.35~1.46 (m)	34.4 t
24		156.4 s		156.6 s
25	2.19~2.30 (m)	33.9 d	2.34~2.41 (m)	35.4 d
26	1.03 (d, 6.4)	21.8 q	1.02 (d, 7.0)	22.0 q
27	1.01 (d, 6.4)	21.3 q	1.00 (d, 7.0)	21.8 q
28	4.75 (brs) 4.67 (brs)	106.2 t	4.71 (brs) 4.65 (brs)	106.0 d
29	0.87 (s)	17.3 q	0.83 (s)	15.4 q
30	1.09 (s)	28.7 q	1.02 (s)	28.3 q
1'		169.7 s		171.0 s
2'	2.05 (s)	20.8 q	2.08 (s)	21.2 q

产物, 但迄今未见该化合物的任何波谱数据方面的报道. 利用现代 1D 和 2D NMR 核磁共振技术, 我们首次完成该化合物谱图数据的归属.

1.2 化合物 2 的结构鉴定

化合物 2 为白色粉末状固体, 微溶于甲醇, 易溶于氯仿, [α]_D²⁵ +9.2 (c 0.16, MeOH). 其 HRESIMS 给出该化合物分子式为 C₃₂H₅₂O₄ ([M+Na]⁺ 523.3761, calcd

for 523.3763), 不饱和度为 7. IR 显示分子中有羟基 (3406 cm⁻¹)和羰基(1701 cm⁻¹)的存在. 化合物 2 的 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 谱与化合物 3 非常相似(表 1), 提示 2 为三萜类化合物. 在 ¹H NMR 谱中, 化合物 2 与 3 的不同之处在于 2 少了 1 个烯氢质子信号 δ_{H} 5.63 (s, 1H), 而多了 1 个次甲基氢信号 δ_{H} 1.53~1.60 (m)和 1 组亚甲基氢信号 δ_{H} 1.59~1.67 (m)和 1.37~1.44 (m). 而且在 ¹³C

NMR 谱中, 化合物 **2** 比 **3** 少了 2 个烯碳信号 δ_c 128.8 (CH) 和 146.6 (C), 而多了 1 个次甲基碳信号 δ_c 47.2 (CH) 和 1 个亚甲基碳信号 δ_c 22.9 (CH₂). 综合以上信息并结合质谱数据, 推测化合物 **2** 的 C(14) 和 C(15) 之间为碳碳单键^[7]. 化合物 **2** 的相对构型是通过与 **3** 的核磁数据比较以及 NOESY 谱确定的(图 2). 在 NOESY 谱中, H-11 和 21-Me 与 H-14 有相关信号, 说明 H-14 处于 α 位. 至此, 化合物 **2** 的结构得以确定, 命名为 12 α -乙酰氧基-4,4-二甲基-24-甲烯基-5 α -胆甾-8-单烯-3 β ,11 β -二醇. 通过文献检索发现, 该化合物仅在专利^[8]报道过质谱数据, 并没有报道 **2** 的核磁数据. 利用现 1D 和 2D NMR 核磁共振技术, 完成该化合物谱图数据的归属.

化合物 **3**~**6** 为已知化合物, 经旋光数据分析($[\alpha]_D^{25} + 8.3$ (c 0.14, MeOH) (**3**), $[\alpha]_D^{25} + 15.6$ (c 0.25, MeOH) (**4**), $[\alpha]_D^{25} - 67$ (c 0.12, MeOH) (**5**) 和 $[\alpha]_D^{25} - 46$ [c 0.28, MeOH] (**6**)), 波谱数据分析及文献对照, 分别鉴定为: 12 α -乙酰氧基-4,4-二甲基-24-甲烯基-5 α -胆甾-8,14-二烯-3 β ,11 β -二醇(**3**)^[7], 12 α -乙酰氧基-4,4-二甲基-24-甲烯基-5 α -胆甾-8,14-二烯-2 α ,3 β ,11 β -三醇(**4**)^[5], 啤酒甾醇(**5**)^[9] 和 (3 β ,5 α ,6 β ,22 E)-6-甲氧基麦角甾-7,22-二烯-3,5-二醇(**6**)^[9]. 查阅文献发现三萜类化合物 **3** 和 **4** 对 HIV-1 整合酶具有较强的抑制作用^[5], 而甾醇类化合物 **6** 对宫颈癌细胞显示较强的抑制活性^[9].

采用微量稀释法对化合物 **1**~**6** 进行 7 种供试致病细菌的抑制活性测试, 结果表明化合物 **1**, **2** 和 **4** 显示一定的抗菌活性(表 2).

采用 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)比色法测定化合物 **1**~**6** 对 DPPH 自由基的清除能力, 没有显示强的清除作用, 在浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 时对 DPPH \cdot 的清除率均 <50%. 采用 Solis 改良法对 **1**~**6** 进行卤虫 *Artemia salina* 致死活性测试, 在 50 $\mu\text{mol/L}$ 时对卤虫的致死率均 <50%, 没有显示强的卤虫致死活性.

2 实验部分

2.1 仪器与材料

Bruker AV-400 MHz 型核磁共振仪; LCMS-IT-TOF 超高效液相色谱-高分辨质谱联用仪(日本岛津公司);

Thermo Nicolet 6700(美国 Nicolet 公司); 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20[安法玛西亚技术(上海)有限公司]; 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)(美国 Sigma 公司); 柱层析硅胶和薄层层析硅胶板(青岛海洋化工厂); 色谱试剂均为分析纯.

红树尖瓣海莲(*Bruguiera sexangula* var. *rhynchopetala*)于 2012 年 8 月采自海南东寨港红树林保护区, 从中分离获得一株内生真菌. 结合形态、生理生化特征及分子鉴定(GenBank accession number KJ001171), 确定该菌株为青霉属真菌 *Penicillium* sp. 菌株保藏在海南师范大学热带药用植物化学教育部重点实验室(保藏号: DZG-J41221). 菌种以 PDA 为培养基, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存.

2.2 内生真菌的分离培养与发酵提取

无菌状态下取尖瓣海莲样品, 用无菌水冲洗 3 遍, 1% 汞 1 L 浸泡 1 min, 无菌水冲洗 3 遍, 75% 酒精浸泡 30 s, 无菌水冲洗 3 遍. 将组织切块, 置于马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)(马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 15 g, 陈海水 1000 mL, pH 7.2)培养基中, 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温倒置培养. 待菌丝长出后, 挑取尖端菌丝转接至新的培养基上, 几次纯化后得到共附生真菌并转接到试管斜面上保存备用.

发酵培养基: 土豆汁液体培养基(马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 陈海水 1000 mL, pH 7.2, 蒸馏水), 静置培养, 发酵温度 28 $^{\circ}\text{C}$, 发酵时间 28 d. 保藏菌株经复苏后, 从斜面转接到装有 100 mL 土豆汁液体培养基的三角瓶(500 mL)中, 在 28 $^{\circ}\text{C}$ 摇床培养 48~72 h, 获得种子培养液. 取种子培养液 5 μL 加入到装有 300 mL 土豆汁液体培养基的 50 个 1000 mL 的三角瓶中, 按上述发酵条件进行培养, 获得发酵液 15 L, 经纱布过滤, 分为发酵液和菌丝体. 发酵液减压浓缩并用乙酸乙酯萃取 3 次, 得发酵液乙酸乙酯提取物(12.0 g). 菌丝体用甲醇浸泡, 提取 3 次, 减压浓缩, 再用乙酸乙酯萃取 3 次并减压浓缩至干, 得到菌丝体的乙酸乙酯提取物(4.0 g).

2.3 提取与分离

对发酵液乙酸乙酯提取物(12.0 g)进行减压硅胶柱层析(100~200 目), 以石油醚-乙酸乙酯、乙酸乙酯-甲醇为溶剂进行梯度洗脱, 分为 6 个组分. 组分 Fr.3 (1.5

表 2 化合物 **1**, **2** 和 **4** 抑菌活性测试结果

Table 2 The antibacterial activity test results of compounds **1**, **2** and **4**

化合物	最小抑制浓度 MIC/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$						
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>M. luteus</i>	<i>M. tetragenus</i>	<i>S. albus</i>	<i>B. cereus</i>
1	>20	>20	9.76	>20	>20	9.76	9.76
2	5	10	5	>20	5	10	10
4	4.86	9.72	4.86	9.72	4.86	>20	>20
CPFX ^a	0.47	1.88	0.94	0.47	0.94	1.88	0.94

^a 阳性对照: CPFX 为环丙沙星.

g)经反复的硅胶柱层析(200~300 目, 300~400 目), 后经凝胶柱层析[Sephadex LH-20, $V(\text{石油醚}) : V(\text{氯仿}) : V(\text{甲醇}) = 2 : 1 : 1$ 洗脱], 再用高效液相色谱(HPLC) [$V(\text{甲醇}) : V(\text{水}) = 98 : 2$, 2 mL/min]纯化后得到化合物 **1** ($R_t = 18.2$ min; 5.0 mg)和 **2** ($R_t = 21.48$ min; 7.0 mg). 组分 Fr.4 (2.0 g)依次经硅胶柱层析和凝胶柱层析[Sephadex LH-20, $V(\text{氯仿}) : V(\text{甲醇}) = 1 : 1$ 洗脱], 得到 Fr.4-1 和 Fr.4-2. 对 Fr. 4-1 用反相硅胶柱层析 [$V(\text{甲醇}) : V(\text{水}) = 85 : 15$]纯化后得到化合物 **5** (10.0 mg)和 **6** (13.0 mg), 对 Fr.4-2 用 HPLC ($V(\text{甲醇}) : V(\text{水}) = 96 : 4$, 2 mL/min)纯化后得到化合物 **3** ($R_t = 15$ min, 10.0 mg)和 **4** ($R_t = 19.5$ min, 4.0 mg).

2.4 活性测试

抗菌活性采用 7 株陆地致病菌: 大肠杆菌 (*Escherichia coli* ATCC 25922)、白色葡萄球菌 (*Staphylococcus albus* ATCC 8799)、金黄色葡萄球菌 (*S. aureus* ATCC 27154)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis* ATCC 6633)、蜡状芽孢杆菌 (*B. cereus* ATCC 11778)、四联球菌 (*Micrococcus tetragenus* ATCC 13623)和藤黄八叠球菌 (*M. luteus* ATCC 49732), 采用传统的肉汤稀释法^[10]. 有机自由基 DPPH•清除能力的测定, 采用 DPPH 比色法^[11]. 卤虫 *Artemia salina* 致死活性测定按照 Solis 改良法^[12]. 以上活性测定方法均按照文献^[13]方法进行.

辅助材料(Supporting Information) 化合物 **1** 和 **2** 的谱图数据. 这些材料可以免费从本刊网站 ([http://sioc-](http://sioc-journal.cn/)

journal.cn/)上下载.

References

- [1] Blunt, J. W.; Copp, B. R.; Keyzers, R. A.; Munro, M. H. G.; Prinsep, M. R. *Nat. Prod. Rep.* **2013**, *30*, 237.
- [2] Lin, P. *Mangrove*, Ocean Press, Beijing, **1984**, p. 96 (in Chinese). (林鹏, 红树林, 海洋出版社, 北京, **1984**, p. 96.)
- [3] Wang, Y.-S.; He, L.; Wang, Q.-J.; Zhang, S. *Chin. J. Mar. Drugs* **2004**, *24*, 26 (in Chinese). (王友绍, 何磊, 王清吉, 张恩, 中国海洋药物, **2004**, *24*, 26.)
- [4] Shao, C.-L.; Fu, X.-M.; Wang, C.-Y.; Han, L.; Liu, X.; Fang, Y.-C.; Liu, G.-X.; Guan, H.-S. *J. Ocean Univ. China* **2009**, *39*, 712 (in Chinese). (邵长伦, 傅秀梅, 王长云, 韩磊, 刘新, 方玉春, 李国强, 刘光兴, 管华诗, 中国海洋大学学报, **2009**, *39*, 712.)
- [5] Singh, S. B.; Zink, D.; Dombrowski, A. W.; Polishook, J. D.; Ondeyka, J. G.; Hirshfield, J.; Felock, P.; Hazuda, D. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 1577.
- [6] Singh, S. B. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6973.
- [7] Yagen, B.; Horn, P.; Joffe, A. Z.; Cox, R. H. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1980**, 2914.
- [8] Ashe, B. M.; Fletcher, D. S. *US 4874755*, **1989** [*Chem. Abstr.* **1989**, 4872727].
- [9] Kawagishi, H.; Katsumi, R.; Sazawa, T.; Mizuno, T.; Hagiwara, T.; Nakamura, T. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 2777.
- [10] Ling, S. K.; Komorita, A.; Tanaka, T.; Fujioka, T.; Mihashi, K.; Kouno, I. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 656.
- [11] Xiang, Z.-J.; Zhao, G.-R.; Yuan, J.-J.; Guo, Z.-X. *Chin. Trad. Herb. Drugs* **2006**, *37*, 211 (in Chinese). (向志军, 赵广荣, 元英进, 郭治昕, 中草药, **2006**, *37*, 211.)
- [12] Solis, P. N.; Wright, C. W.; Anderson, M. M.; Gupta, M. P.; Philipson, J. D. *Planta Med.* **1993**, *59*, 250.
- [13] Meyer, B. N.; Ferrigni, N. R.; Putnam, J. E.; Jacobsen, L. B.; Nichols, D. E.; McLaughlin, J. L. *Planta Med.* **1982**, *45*, 31.

(Qin, X.)