

植物内生菌在药物研究中的应用

郑江松(综述) 李继扬[△](审校)
(复旦大学药学院生物合成教研室 上海 201203)

【摘要】 内生菌是指一类在其部分或全部生活史中存活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。几乎每种植物都有内生菌并且能够产生具有生物活性的天然代谢产物。本文综述了近几年来发现的具有不同生物功能的内生菌代谢产物及具有很大潜力的内生菌微生物转化作用。

【关键词】 内生菌; 天然产物; 抗肿瘤; 抗菌; 微生物转化

【中图分类号】 Q 946 **【文献标志码】** B **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2013.05.021

The application of endophyte in drug research

ZHENG Jiang-song, LI Ji-yang[△]
(Department of Biosynthesis Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai, 201203)

【Abstract】 Endophytes reside in the interior tissues of living plants, having no pathogenic effects on the hosts. They are found almost in every plant species and produce various novel natural metabolites that exhibit a variety of biological activities. This article mainly reviews the research progress on bioactive natural products from endophytes and their different functional roles. It also describes microbial transformation as potential method to obtain novel bioactive compounds from microbes. The prospect and problems of isolating natural products from endophytes are also discussed.

【Key words】 endophytes; natural products; anticancer; antibacterial; microbial transformation

* The work was supported by the Technological Special Projects of China (2009ZX09301-011).

内生菌(endophyte)是指一类在其部分或全部生活史中存活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,包括细菌、真菌、放线菌等。从1866年Anton等^[1]首次提出的“生活在植物组织内的微生物”到1991年Petrini^[2]指出的“一类在其部分或全部生活史中存活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”,再到2005年Schulz等^[3]共同指出“不管任何时候,生活在植物中,没有引起明显感染症状的真菌”,关于内生菌的定义众说纷纭,其中1991年

Petrini^[2]对内生菌的解释是被广泛接受的。长期进化过程中,内生菌与植物的关系是共栖、互利、共生的。一方面,对于植物内生菌来说,植物组织能够为其提供良好的环境,如提供丰富的营养物质,避免外界生物或非生物的干扰等;另一方面,对于植物本身来说,生长在植物体内的内生菌能够产生次级代谢产物使植物免受病原菌的危害,同时能够促进植物本身的生长^[4]。

关于内生菌的研究要追溯到1898年Vogl从黑麦草 *Lolium temulentum* L. 种子内分离出来第一株

国家重大新药创制专项(2009ZX09301-011)

[△]Corresponding author E-mail: lijyang@fudan.edu.cn

内生真菌,到如今已有 100 多年的历史。但由于内生菌生活在没有外在感染症状的健康植物组织内部,其存在和作用长期以来一直为人们所忽视。20 世纪 30 年代发现造成畜牧业重大损失的牲畜中毒是由于食用了感染内生真菌的牧草,内生菌的研究才得以广泛深入地开展起来。具有产紫杉醇活性物质的内生真菌被 Sterile 等^[5]从短叶紫衫(*Taxus brevifolia*)分离后,启发人们从植物内生菌寻找植物产生的相同或相近的活性物质,从而为研发新药奠定了基础,促进了内生菌在药物研究中的应用。

近年来,随着耐药菌和流行性病毒的高发及癌症发病率的增高,从天然产物中筛选生物活性成分或先导化合物成为研究创制新药的有效途径之一。美国食品与药品监督管理局(FDA)报道,近 20 年来新注册的化学药品有 49%是来自天然产物或其衍生物。科学家们从植物内生菌中成功地发现了具有抗癌、抗菌或抗氧化剂等活性物质并进行了研究,这些活性物质包括萜类化合物、生物碱、黄酮类、甾体、醌类、木脂素类、酚类和内酯类等^[6]。一些植物内生菌具有和宿主植物产生的相同或相似活性物质,这对研究两者的关系是极其有利的,并且可能找到更加环保并可持续地产生活性物质的方法^[7]。

本文从不同视角对内生菌产生活性物质的生物合成作用及对已有药物微生物转化的作用进行了阐述。图 1 是部分植物内生菌产生的相关活性产物结构。

内生菌活性物质的生物合成

产生抗癌活性物质 癌症是指体内具有生长和分裂速度异常,不受调控,且往往可转移到其他组织的细胞,为导致人类死亡的主要原因之一。据世界卫生组织称,2008 年全球死于癌症的人数高达 760 万,估计到 2030 年,死亡数将超过 1 300 万,所以急需新型、有效及特异性好的抗癌药。

紫杉醇(Paclitaxel)是一类二萜衍生物,化学结构式见图 2。早在 1971 年 Wani 等^[8]就从短叶红豆杉的树皮中分离到紫杉醇,并成为首个销售额超过十亿的抗癌药。紫杉醇可以抑制微管解聚和促进癌细胞微管聚合,进而影响有丝分裂,对卵巢癌、乳腺癌、肺癌、食道癌、前列腺癌以及直肠癌等具有良好的治疗效果。研究发现所有红豆杉属的植物中都能找到紫杉醇^[9],但是由于紫杉醇在植物中含量很低,加上植物生长比较缓慢,找到一种合理的生产紫杉醇的方法显得极其迫切。近 40 年来,人工种植、细胞培

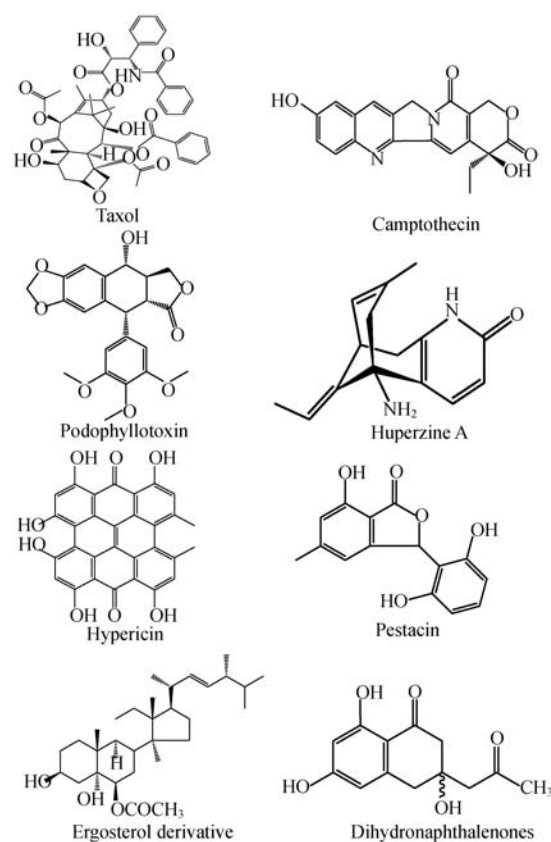


图 1 来自于内生菌的活性化合物的结构

Fig 1 Structures of the bioactive compounds from the endophytes

养、组织培养以及人工合成取得了很大的进步,但是这些方法都存在相应的问题,如耗时较长、经济成本高、产量低等。1993 年美国学者 Sterile 等^[5]首次从短叶紫杉(*Taxus brevifolia*)的韧皮部中分离出一种新的内生真菌(*Taxomyces andreanae*),可在半合成培养液中产生紫杉醇和紫杉烷类化合物。这一发现提供了一种生产这类活性物质的新方法,即植物内生菌微生物发酵法,很好地解决了资源危机问题,进而掀起了一股从植物中分离内生菌的狂潮。Deng 等^[10]在中国红豆杉(*T. chinensis*)中发现腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)能够产生紫杉醇,产量达到 163.35 $\mu\text{g/L}$; Zhang 等^[11]在曼地亚红豆杉(*Taxus media*)中分离到产紫杉醇的麦苞芽枝菌(*Cladosporium cladosporioides*); Li 等^[12]在南方红豆杉(*Taxus mairei*)中分离到瘤座胞属(*Tubercularia* sp. TF5.)。以上结果说明产生紫杉醇的内生菌普遍存在于紫杉属植物中。同时在其他植物属种也发现能够产生紫杉醇的内生菌,如 Li 等^[13]从秃柏(*Taxodium distichum*)的树皮、韧皮部和木质部分离到产生紫杉醇的内生真菌 *Pestalotiopsis microspora*,其中有些菌株

产生紫杉醇的产量为 14~1487 ng/L;Gangadevi 等^[14]从阿江榄仁树(*Terminalia arjuna*)中分离到能够产生紫杉醇的内生菌,经鉴定为 *Pestalotiopsis terminaliae*,产量达到 211.1 $\mu\text{g/L}$,具有一定的开发前景,显示了紫杉醇产生菌宿主植物的多样性。

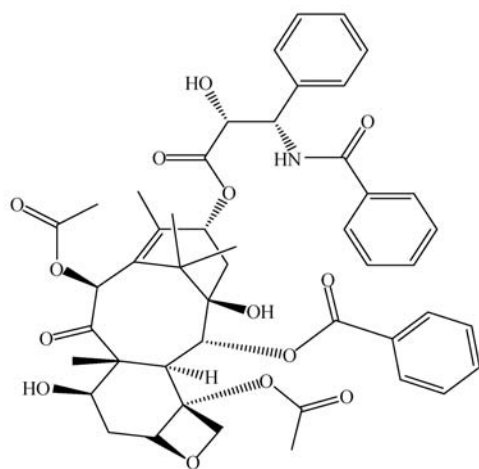


图2 紫杉醇的结构

Fig 2 The structure of paclitaxel

喜树碱(Camptothecin)为具有五环喹啉结构的生物碱,通过抑制复制过程中 DNA 拓扑异构酶 I 而使肿瘤细胞死亡。1966 年,喜树碱首次从我国植物喜树(*Camptotheca acuminata*)中被分离得到,具有较强的抗白血病和抗肿瘤作用,再加上喜树入药历史悠久,所以引起了医药工作者的高度关注^[15]。近几年,科学家们陆续从不同植物中分离到产生喜树碱的内生菌。Rehman 等^[16]在青脆枝(*C. acuminata*)种子中分离到粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*),能够更简捷地得到喜树碱;Kusari 等^[17]在喜树的内树皮中分离到川芎根腐病菌(*Fusarium solani*);王玉美等^[18]从喜树树皮和果实中分离得到能够产喜树碱的拟茎点霉(*Phomopsis sp.*),产量达 774 $\mu\text{g/L}$,同样显示了喜树碱内生菌的多样性。

Isaka 等^[19]从香蕉中分离到一株内生真菌 *Botryosphaeria sp.* BBC 8200,能产生香豆素类抗癌物,其对入肺癌细胞(NCI-H187)、人乳腺腺癌细胞(MCF-7)、口腔表皮样癌细胞(KB)均具有较好的抗癌活性;Chen 等^[20]从瑞香科沉香属植物土沉香(*Aquilaria sinensis*)成熟的茎中分离出一株内生真菌 *Preussia sp.*,能够产生抗卵巢癌和肝癌的 spiropreussion A 物质,其对入卵巢癌细胞 A2780 和人肝癌细胞 BEL-7404 的 IC_{50} 为 2.4 和

3.0 $\mu\text{mol/L}$;宣群等^[21]从莪术根和根状茎中分离到内生菌,经鉴定为青霉 EF03 和巴恩青霉 EF11,其发酵产物中分离到抗癌药物 β -榄香烯。

产生抗菌活性物质 由于抗生素的不合理利用,目前耐药菌已成为国内外临床重要的致病菌,其中对革兰阴性菌的耐药更为严重,用药的选择更少,如多重耐药鲍曼不动杆菌、多重耐药铜绿假单胞菌、产 ESBLs 肠杆菌。寻找新机制多靶点的抗生素显得迫在眉睫。

大量内生真菌次生代谢产物体外抗菌试验表明:约有 30% 的内生菌能够产生具有抗菌活性的物质。这些内生菌主要来源于一些药用植物、农作物和特殊环境下的植物。近几年,人们从内生菌中分离了很多的抗感染药物(表 1),孢菌属、链霉菌属和拟茎点霉属是最主要的内生菌类型。但到目前为止,已被分离的内生菌的量很少,而据估计自然界有一万多种内生菌。从内生菌中筛选出对耐药菌有较好活性、较新结构、较新作用机制的抗菌活性产物是可能的。

产生抗氧化活性物质 活性氧(reactive oxygen species, ROS),会致癌或引起细胞的恶化,给人类的健康带来危害,如癌症、冠心病、动脉粥样硬化、高血压、糖尿病、神经性疾病、风湿性关节炎及老化。抗氧化剂可以通过调节体内 ROS 的水平来治疗和改善 ROS 引起的疾病。从植物内生菌中得到抗氧化作用物质越来越多地引起人们的关注。

Huang 等^[44]从 29 种传统中草药[其中有 13 种夹竹桃科(*Apocynaceae*),7 种萝藦科(*Asclepiadaceae*),4 种蓼科(*Polygonaceae*)]中分离出了 292 种不同形态类型的内生真菌,分别检测抗氧化剂和酚酸的量,其中有 65% 以上的内生真菌均表现很强的抗氧化的作用。Shukla 等^[45]从罗勒(*Ocimum basilicum* Linn.)根中分离到的宛氏拟青霉(*Paecilomyces variotii* Bain)在自由基(DPPH)清除测试中的 IC_{50} 值为 71.83 $\mu\text{g/mL}$,羟基测试中活性 IC_{50} 值为 110.85 $\mu\text{g/mL}$,显示了较好的抗氧化活性。Liu 等^[46]从银杏叶(*Ginkgo biloba*)中分离的炭角菌属(*Xylaria sp.*)的甲醇提取物,富含黄酮类和酚类物质,具有很高的清除 DPPH 作用,表现出很强的抗氧化作用。于洪升等^[47]从天目山地区野生银杏植株树皮、枝条、树叶中分离到了毛壳属、炭角菌属等内生菌的代谢产物,抗氧化活性较好,丰富了抗氧化新药资源库。

表 1 来自于内生菌的具有抗菌活性的代谢物
Tab 1 Metabolites isolated from tree endophytes against microbes

Types of antimicrobial compounds	Host plant	Endophyte	Test microbes	Ref.
Aliphatic compounds	Exoecaria agallocha	Phomopsis sp.	Candida albicans and Fusarium oxysporum	[22]
	Quercus variabilis	Cladosporium sp.	Trichophyton rubrum, Candida albicans, Asperillus niger, Epidermophyton floccosum, Microsporum canis	[23]
Alkaloids	Garcinia dulcis	Phomopsis sp.	Myconacterium tuberculosis	[24]
	Ginkgo biloba	Chaetomium globosum	Mucor miehei	[25]
	Cutunaregam tomentosa	Curvularia geniculata	Candida albiicans	[26]
Flavonoids	Gentinana nubigena	Bacillus amyloliquefaciens	Staphylococcus aureus, Escherichia coil	[27]
	Picea glauca	Unidentified	Choristoneura fumiferana, Saccharomyces	[28]
	Acrostichum aureurm	Penicillium sp.	Staphylococcus aureus, Candida albicans	[29]
Peptides	Paris polyphylla var. chinensis	Paris polyphylla var. chinensis PCE45	Curvularia lunata (Walk) Boed, Pyricularia oryzae Cav, Escherichil coil	[30]
	Unidentified	Paenibacillus polymyxa HKA-15	Xanthnomnas campestris pv. phaseoli M-5, Rhizoctonia bataticola	[31]
Phenols	Cerbera manghas	Penicillium sp.	Staphylococcus aureus	[32]
	Saurauia scaberrinae	Phoma species	Staphylococcus aureus	[33]
	Unidentified	Pestalotiopsis asusta	Fusarium culmorum, Gibberellazeae and Verticiliumailboatrum	[34]
Quinones	Callicarpa acuminata	Edenia gomezpompae	Phythophthora capsici, Phythophthora parasitica, Fusarium oxysporum and Alternaria solani	[35]
	Urospermum picroides	Ampelomyces sp.	Staphylococcus aureusn, Staphylococcus epidermidis and Enterococcus faecalis	[36]
Steroids	Melia azedarach	Sphaceloma sp. LN-15	Colletotrichum loeosporioides, Alternaria solani	[37]
	Pyrethrum cinerariifolium	Trichoderma sp. MFF-1	Bacillus megaterium, Microbotryum violaceum, Septoria tritici, Chlorella fusca	[38]
	Maytenus hookeri	Botryospareia sp	Candida albicans, Saccharomyces cervisiae	[39]
Terpenoids	Garcinia dulcis	Xylaria sp	Candida albicans	[40]
	Paris polyphylla	Pichia guilliermondil	Escherichia coil, Pseudomonas lachrymans	[41]
	Pinus sp.	Microdiplodia sp. KS 75 - 1	Bacillus subtilis, Staphylcococcus aureus	[42]
	Heterosiphonia japonica	Aspergillus oryzae	Pseudomonsa aeruginosa	[43]
			Escherichia coil	[43]

内生菌参与微生物转化 微生物转化是利用微生物代谢过程中的某一种酶或一组酶系对底物进行催化的反应,具有高度选择性、催化条件温和、反应广泛、环境友好、保护资源等优点。内生菌参与的微生物转化同样可以产生新结构的产物,提高所需物质的产率,克服化学方法很难完成的反应及阐明生物合成的途径。内生菌已用于萜类、甾体、生物碱、木脂素及脂肪族、烯烃的合成和转化。虽然内生菌资源广泛,有巨大的应用前景,但是目前为止这方面的研究还是较少。近几年来内生菌用于微生物转化的研究主要包括:参与化学反应,如氧化、磺化、还原

水解等,提高溶解度,模拟体内的代谢等,具有较强的实际应用价值。

鬼臼毒素(Podophyllotoxin, PTOX)是一种新型木脂素类抗癌药物,通过抑制微管蛋白的聚合从而抑制肿瘤细胞的产生。但是由于其很大的毒性作用,所以临床上限制了它的使用。据报道,对碳环的4位进行适当修饰能够获得活性更强、毒性更低的产物^[48],尤其是4β位被具有吸电子的S取代时效果更佳^[49]。微生物转化法对其PTOX进行修饰具有很大的优势。在绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)的水解^[50]和异构化作用及梭型芽孢杆

菌(*Bacillus fusiformis*)对 PTOX 的类似物去甲基表鬼臼毒(demethylepipodophyllotoxin, DMEP)水解反应^[51]的基础上, Bai 等^[52]从中华山荷叶(*D. sinensis* Li)中分离 21 株内生菌,通过筛选,发现产紫青霉(*Penicillium purpurogenum* Y. J. Tang)在添加相应的底物 3-巯基三唑(MT)和 2-巯基噻二唑(MTD)的条件下分别对 PTOX 和 DMEP 进行转化,得到 4 种产物,分别为 4-MT-PTOX、4-MTD-PTOX、4-MT-DMEP、4-MTD-DMEP(图 3)。体外

实验结果显示,4 种产物均具有较高抗肿瘤活性,尤其是 4-MT-PTOX。相对于依托泊苷,4-MT-PTOX 对人胃癌细胞 BGC-823、肺癌细胞 A549 和肝癌细胞 HepG2 的活性提高到 91、221 和 2.73 倍,对人正常肾小管上皮细胞的活性提高了 19 倍。4 β 位磺基取代的鬼臼毒素及衍生物是首次通过微生物转化法得到,具有较高的体外抗肿瘤活性,并且对后期的构效关系的研究奠定了基础,具有很大的研究价值。

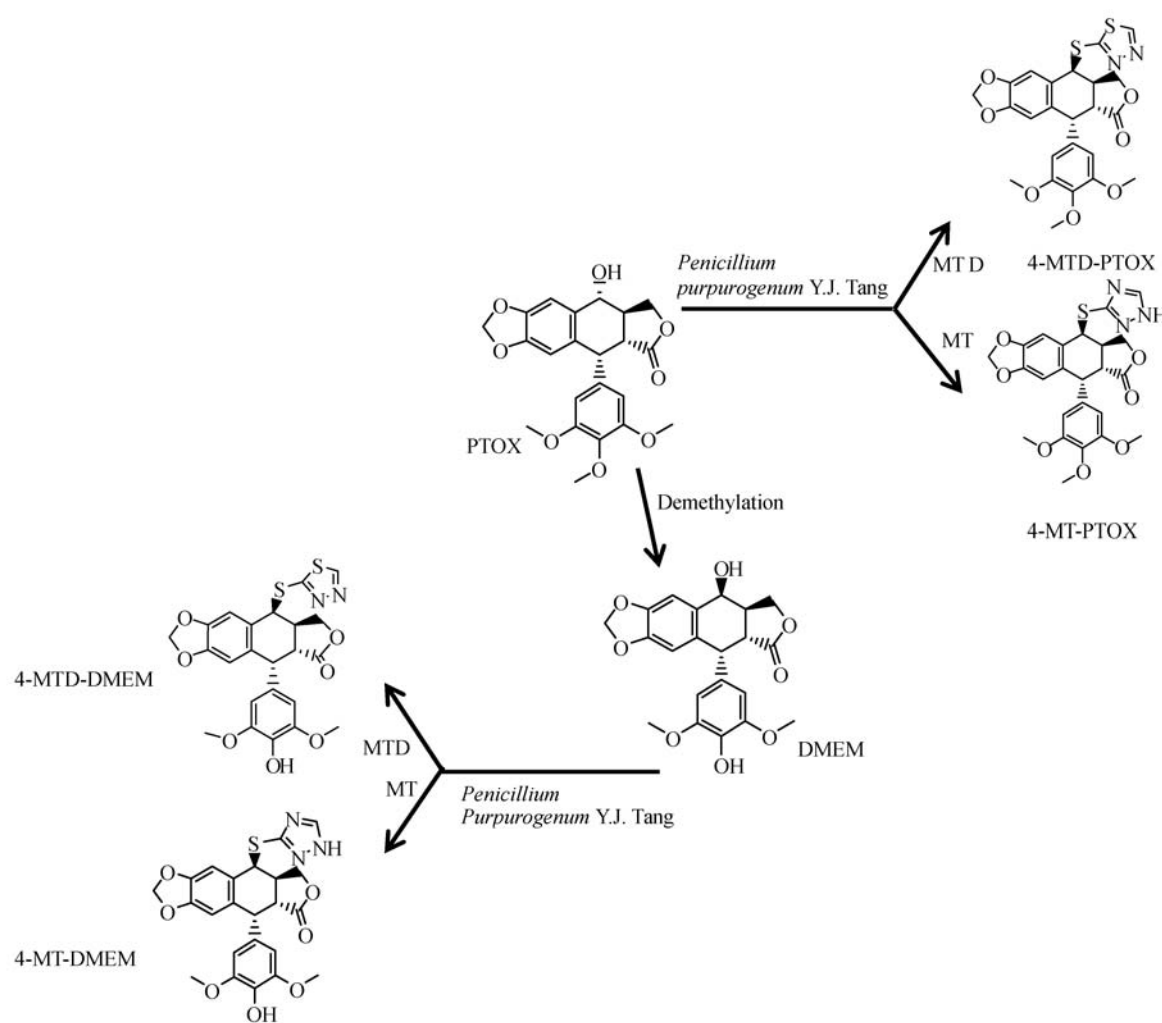


图 3 微生物转化 PTOX 或 DMEP 生成 4 β -硫代鬼臼毒素衍生物

Fig 3 Microbial transformation process for the production of 4 β -sulfur-substituted podophyllum derivatives from PTOX or DMEP

查尔酮(chalcone),又叫二苯基丙烯酮,是合成黄酮类化合物的重要中间体,具有广谱的活性,如抗炎、抗菌、抗病毒。为了解黄酮的结构和活性的关系,通过微生物转化合成及修饰得到不同的查尔酮类。Marivaldo 等^[53]通过筛选发现黄曲霉

(*Aspergillus flavus*)对查尔酮具有很好的转化效果,能将查尔酮、三甲氧基查尔酮、四甲氧基查尔酮转化成相应的酮类,产率分别达到 74.4%、36.6%和 15.6%,且转化后的产物三甲氧基酮和四甲氧基酮为新的化合物(图 4),具有广阔的应用前景。

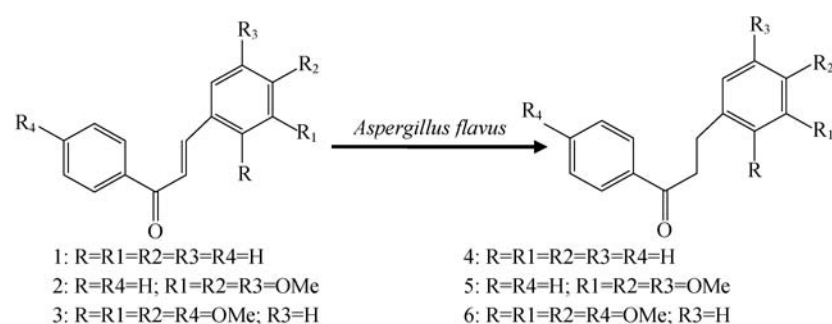


图4 黑曲霉转化查尔酮 1,2 和 3 相应生成 4,5 和 6

Fig 4 Microbial transformation of the chalcones 1,2 and 3 into products 4,5 and 6 respectively by *Aspergillus flavus*.

甲硫达嗪(THD)是吩噻嗪类的神经松弛药,常用其外消旋混合物来治疗精神分裂症及其他精神病。其 2 位磺化产物是主要药效活性成份,而 5 位的磺化产物具有一定的心脏毒性。Borges 等^[54]从肿柄菊(*Tithonia diversifolia*)、罗布斯塔(*Viguiera robusta*)和雪灵芝(*Viguiera arenaria*)等植物中分离了 12 种内生真菌,其中 4 种对 THD 具有较好的立体选择性

的转化作用,拟茎点霉(*Phomopsis sp.*)、腐皮壳菌(*Diaporthe phaseolorum*)、曲霉属真菌(*Aspergillus fumigatus*)能将 THD 的 2 位磺氧化,而杉木炭疽病菌(*Glomerella cingulate*)能将 5 位磺氧化。这种转化使得 THD 能够更好地发挥药效,对减少心脏毒性起到了很好的效果(图 5)。

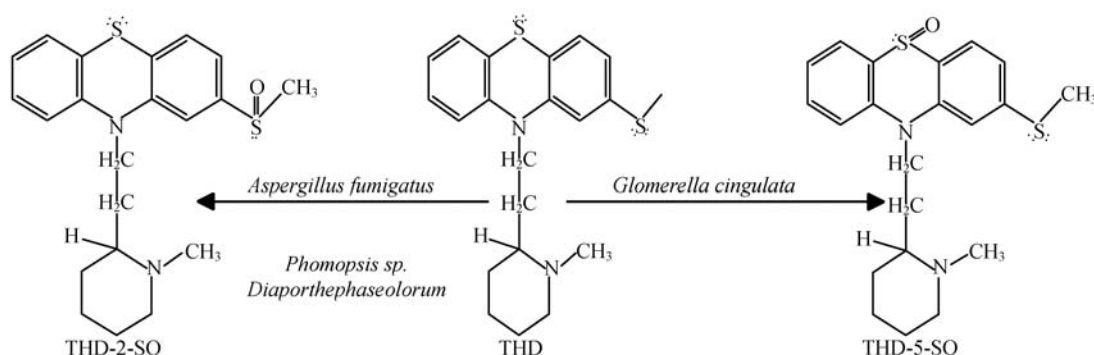


图5 甲硫达嗪,2-磺氧化甲硫达嗪和 5-磺氧化甲硫达嗪的结构

Fig 5 Molecular structures of THD, THD-2-SO and THD-5-SO

苯并恶唑酮(BOA)是一种独特的植物抗毒素,常见于禾本科、毛茛科和玄参科植物中,具有杀虫、抗菌功效。2-羟基苯并恶唑酮(HBOA)是具有内酰胺结构的类似物。由于两者的毒性问题,Zikmundová 等^[55]从爵床科的红冠单药花(*Aphelandra tetragona*)中分离到 20 株内生菌,并从中选出转化效果较好的 4 种内生菌做了进一步的代谢途径研究,分别为烟草镰刀菌(*Fusarium tabacinum*)、帚霉菌(*Gliocladium cibotii*)、刺球菌(*Chaetosphaeria sp.*)、接骨木镰刀菌(*Fusarium sambucinum*)。烟草镰刀菌能将 BOA 和 HBOA 水解酰化成毒性较低的羟苯基丙酰胺酸,帚霉菌、刺球菌和接骨木镰刀菌能够将 HBOA 转化成更多的产物,降低了毒性及增加了产物多样性(图 6)。

具有光学活性的四氢呋喃木脂素 grandisin 具有抗寄生虫和抗菌的活性,Verza 等^[56]从雪灵芝(*Viguiera arenaria*)中分离出拟茎点霉菌(*Phomopsis sp.*),能将 grandisin 的甲氧基转化成羟基及 C-5 的氧化(图 7)并且转化后产物的抗锥虫病活性与底物相当,底物和产物的 IC₅₀ 分别为 3.7 和 9.8 μmol/mL,同时增加了其溶解度。

普萘洛尔(Propranolol),又名心得安,为 β 肾上腺素受体阻断药,广泛用于治疗心血管疾病。普萘洛尔的对映体中,S 构型的 β 阻断作用是 R 构型的 100 倍,是主要活性构型。心得安在体内的代谢产物为 4-OH 的普萘洛尔,活性保持不变。Borges 等^[57]研究发现来自无心菜属(*V. arenaria*)植物的围小丛壳菌(*Glomerella cingulate*)能够经过 72 h

的培养将普萘洛尔(S 构型)专一性地转化成 4-OH 化的普萘洛尔(S 构型), 而不产生 R 构型。这一发

现有望能够得到大量的 4-OH 化的心得安, 从而模拟体内来进行药效学的研究(图 8)。

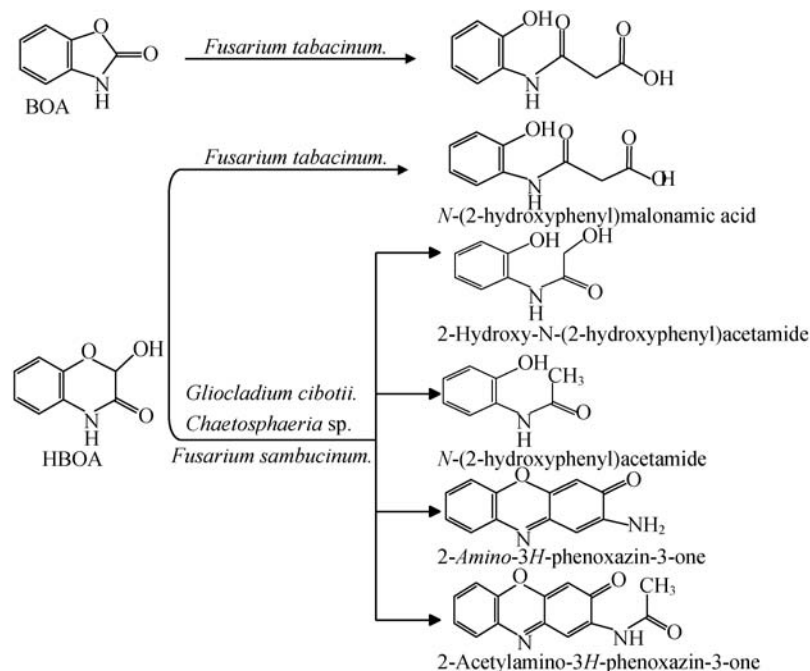


图 6 来自于红冠单药花的内生菌转化苯并恶唑酮和 2-羟基苯并恶唑酮的微生物转化过程

Fig 6 Scheme of microbial transformation of BOA and HBOA by endophytic fungi isolated from *Aphelandra tetragona*

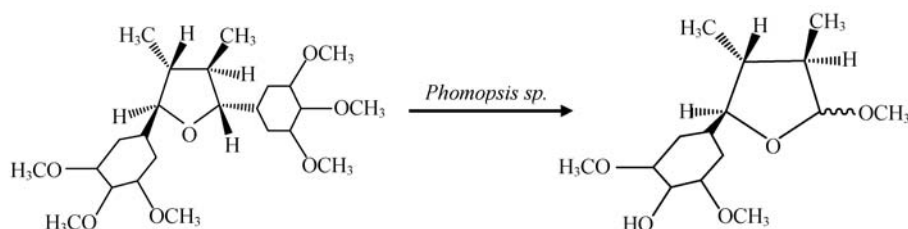


图 7 拟茎点霉菌转化木脂素 grandisin

Fig 7 Microbial transformation of grandisin by *Phomopsis* sp.

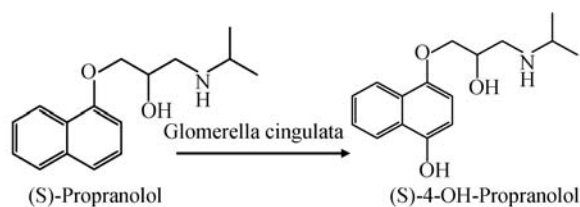


图 8 来自于无心菜属小丛壳菌生物转化 S-普萘洛尔

Fig 8 Biotransformation of (S)-Propranolol by *Glomerella cingulata* isolated from *V. arenaria*

植物内生菌的多样性及代谢产物的多样性, 是人们发现新药及先导化合物的不竭来源。如近两年来从内生真菌中分离得到的 194 个活性化合物, 其中 126 个是新化合物, 占 64.9%。由于内生菌能够

与宿主产生相同或相近的活性物质, 这极大地激发了研究者浓厚的兴趣, 近 20 年对内生菌的生物多样性, 内生菌与宿主植物的关系及从内生菌中分离提取活性产物做了大量研究, 也取得了一定进展。

随着人们对内生菌的开发, 首先需要注意的是内生菌培养方法的问题, 研究发现即使用不同种类的培养基也很难将植物中的内生菌全都培养, 或许生长快的覆盖生长慢的, 这都将阻碍内生菌的生物多样性的发现。随着生物技术的快速发展, 我们需要结合分子生物学的方法来提高内生菌分离鉴定的效率, 如分子杂交、DNA 指纹技术、rDNA 序列分析等。另外, 随着对植物资源的大量开发及环境的破坏, 植物数量及种类快速减少。据统计, 相对于

1 000~2 000 年前来说,目前只存在 12%~15% 的植林面积^[58]。所以需要世界各国的共同努力,例如建立生物多样性信息库及微生物(内生菌)库,来挽救濒危的植物资源。

有人把内生菌比喻成会下金蛋的“超级鹅”。的确,内生菌作为巨大的微生物资源,从中筛选具有药用价值的新型化合物,从而利用内生真菌发酵生产新型药物是可能的,同时这将在很大程度上丰富人类的药物宝库。

参 考 文 献

- [1] Anton B. Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten [M]. Verlag Von Wilhelm Engelmann; Leipzig, 1866; 1-316.
- [2] Pertrini O. Fungal endophytes of tree leaves [J]. *Microbiol Ecol Leaves*, 1991; 179-197.
- [3] Schulz B, Boyle C. The endophyte continuum [J]. *Mycol Res*, 2005, 109(Pt 6): 661-686.
- [4] 郝晓娟. 植物内生菌 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2010; 11-14.
- [5] Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of *Pacific yew* [J]. *Science*, 1993, 260(5105): 214-216.
- [6] 徐利剑, 周立刚, 赵江林. 植物内生真菌抗菌活性物质的研究进展 [J]. *天然产物的研究与开发*, 2008, 20(4): 731-740.
- [7] Yu HS, Zhang L, Li L, et al. Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes [J]. *Microbiol Res*, 2010, 165(6): 437-449.
- [8] Wani MC, Taylor HL, Wall ME, et al. Plant antitumor agent VI: The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia* [J]. *J Am Chem Soc*, 1971, 93: 2325-2327.
- [9] Matthew Suffness. In Taxol: Science and Applications [M]. Boca Raton: CRC Press, 1995, 3-25.
- [10] Deng BW, Liu KH, Chen WQ, et al. *Fusarium solani*, tax-3, a new endophytic taxol-producing fungus from *Taxus chinensis* [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2009, 25(1): 139-143.
- [11] Zhang P, Zhou PP, Yu LJ. An endophytic taxol-producing fungus from *Taxus media*, *Cladosporium cladosporioides* MD2 [J]. *Curr Microbiol*, 2009, 59(7): 227-232.
- [12] Li Y, Lu C, Hu Z, et al. Secondary metabolites of *Tubercularia sp.* TF5, an endophytic fungal strain of *Taxus mairei* [J]. *Nat Prod Res Part A*, 2009, 23(1): 70-76.
- [13] Li JY, Strobel GA, Sidhu R, et al. Endophytic taxol producing fungi from *Bald Cypress*, *Taxodium distichum* [J]. *Microbiol*, 1996, 142(8): 2223-2226.
- [14] Gangadevi V, Muthumary J. Taxol production by *Pestalotiopsis terminaliae*, an endophytic fungus of *Terminalia arjuna* (arjun tree) [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2009, 52(1): 9-15.
- [15] Wall ME, Wani MC, Cook CE, et al. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *camptotheca acuminata* [J]. *J Am Chem Soc*, 1966, 88: 3888-3890.
- [16] Rehman S, Shawl SA, Kour AR, et al. An endophytic *Neurospora sp.* from *Nothapodytes foetida* producing camptothecin [J]. *Appl Biochem Microbiol*, 2008, 44(2): 203-209.
- [17] Kusari S, Zuhlke A, Spitelle M, et al. An endophytic fungus from *Camptotheca acuminata* that produces camptothecin and analogues [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(1): 2-7.
- [18] 王玉美, 陈洪章. 产喜树碱内生真菌的筛选与鉴定 [J]. *微生物学通报*, 2011, 38(6): 884-886.
- [19] Isaka M, Yangchuma A, Rachdawee P, et al. Dihydronaphthalenones from the endophytic fungus *Botryosphaeria sp.* BCC 8200 [J]. *Phytochem Lett*, 2009, 2(4): 207-210.
- [20] Chen XM, Shi QY, Lin G, et al. Spirobisnaphthalene analogues from the endophytic fungus *Preussia sp.* [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(9): 1712-1715.
- [21] 宣群, 张玲琪, 杨娟, 等. 莪术内生真菌产卢一榄香烯代谢产物的研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2011, 23(3): 473-475.
- [22] Huang ZJ, Cai XL, Shao CL, et al. Chemistry and weak antimicrobial activities of phomopsins produced by mangrove endophytic fungus *Phomopsis sp.* ZSU-H76 [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(7): 1604-1608.
- [23] Wang FW, Jiao RH, Cheng AB, et al. Antimicrobial potentials of endophytic fungi residing in *Quercus variabilis* and brefeldin A obtained from *Cladosporium sp.* [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2007, 23(1): 79-83.
- [24] Rukachaisirikul V, Sommart U, Phongpaichit S, et al. Metabolites from the endophytic fungus *Phomopsis sp.* PSU-D15 [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(3): 783-787.
- [25] Qin JC, Zhang YM, Gao JM, et al. Bioactive metabolites produced by *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus isolated from *Ginkgo biloba* [J]. *Bioorg Chem Lett*, 2009, 19(6): 1572-1574.
- [26] Chomcheon P, Wiyakrutta S, Aree T, et al. Curvularides A-E: Antifungal hybrid peptide-polyketides from the endophytic fungus *Curvularia geniculata* [J]. *Chem Eur J*, 2010, 16(36): 11178-11185.
- [27] 黄海东, 杨红澎, 王玉, 等. 云雾龙胆内生菌的分离鉴定级抗菌活性分析 [J]. *微生物学报*, 2010, 37(7): 1017-1021.
- [28] Sumarah MW, Puniani E, Blackwell BA, et al. Characterization of polyketide metabolites from foliar endophytes of *Picea glauca* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(8): 1393-1398.
- [29] 崔海滨, 梅文莉, 缪承杜, 等. 红薯植物卤蕨内生菌 *Penicillium sp.* 0935030 中的抗菌活性成分研究 [J]. *中国抗生素杂志*, 2008, 33(7): 407-410.
- [30] 程媛媛, 雍彬, 张超, 等. 华重楼内生菌抗菌肽的分离纯化及其特性 [J]. *微生物学报*, 2009, 49(4): 498-503.
- [31] Mageshwaran V, Walia S, Annapurna K. Isolation and partial characterization of antibacterial lipopeptide

- produced by *Paenibacillus polymyxa* HKA-15 against phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* M-5 [J]. *World J Microb Biot*, 2012, 28(3): 909–917.
- [32] 韩壮, 梅文莉, 崔海滨, 等. 红树植物海芒果内生真菌 *Penicillium* sp. 中的抗菌活性成分 [J]. 高等学校化学学报, 2008, 29(4): 749–752.
- [33] Hoffman AM, Mayer SG, Strobel GA, et al. Purification, identification and activity of phomodione, a furandione from an endophytic *Phoma* species [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(4): 1049–1056.
- [34] Li EW, Jiang LH, Guo LD, et al. Pestalotioides A-C, antifungal metabolites from the plant endophytic fungus *Pestalotiopsis adusta* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16(17): 7894–7899.
- [35] MacI'as-Rubalcava ML, Herna' ndez-Bautista BE, Jimenez Estrada M, et al. Naphthoquinone spiroketal with allelochemical activity from the newly discovered endophytic fungus *Edenia gomezpompae* [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(5): 1185–1196.
- [36] Aly AH, Edrada-Ebel R, Wray V, et al. Bioactive metabolites from the endophytic fungus *Ampelomyces* sp. isolated from the medicinal plant *Urospermum picroides* [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(8): 1716–1725.
- [37] Zhang AL, He LY, Gao JM, et al. Metabolites from an endophytic fungus *Sphaceloma* sp. LN-15 isolated from the leaves of *Melia azedarach* [J]. *Lipids*, 2009, 44(8): 745–751.
- [38] Li GH, Wang XB, Liu FF, et al. The chemical constituents of endophytic fungus *Trichoderma* sp. MFF-1 [J]. *Chem Biodivers*, 2010, 7(7): 1790–1795.
- [39] Yuan L, Zhao PJ, Ma J, et al. Labdane and tetranorlabdane diterpenoids from *Botryosphaeria* sp. MHF, an endophytic fungus of *Maytenus hookeri* [J]. *Helv Chim Acta*, 2009, 92(6): 1118–1125.
- [40] Pongcharoen W, Rukachaisirikul V, Phongpaichit S, et al. Metabolites from the endophytic fungus *Xylaria* sp. PSU-D14 [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(9): 1900–1902.
- [41] Zhao J, Mou Y, Shan T, et al. Antimicrobial metabolites from the endophytic fungus *Pichia guilliermondii* isolated from *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. *Molecules*, 2010, 15(11): 7961–7970.
- [42] Hatakeyama T, Koseki T, Murayama T, et al. Eremophilane sesquiterpenes from the endophyte *Microdiplodia* sp. KS 75-1 and revision of the stereochemistries of phomadecalins C and D [J]. *Phytochem Lett*, 2010, 3(3): 148–151.
- [43] Qiao MF, Ji NY, Liu XH, et al. Indoloditerpenes from an algicolous isolate of *Aspergillus oryzae*. [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(19): 5677–5680.
- [44] Huang WY, Cai YZ, Xing J, et al. A Potential antioxidant resource: endophytic fungi from medicinal plants [J]. *Econ Bot*, 2007, 61(1): 14–30.
- [45] Shukla ST, Kulkarni VH, Habbu PV, et al. Hepatoprotective and antioxidant activities of crude fractions of endophytic fungi of *Ocimum sanctum* Linn. in rats [J]. *Orient Pharm Exp Med*, 2012, 12(2): 81–91.
- [46] Liu X, Dong M, Chen X, et al. Antioxidant activity and phenolics of an endophytic *Xylaria* sp. from *Ginkgo biloba* [J]. *Food Chemistry*, 2007, 105(2): 548–554.
- [47] 于洪升, 张磊, 李琳, 等. 银杏内生真菌的分离鉴定及其生物活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 16: 2133–2137.
- [48] Chen H, Bi WC, Cao B, et al. A novel podophyllotoxin derivative (YB-1EPN) induces apoptosis and down-regulates express of P-glycoprotein in multidrug resistance cell line KBV200 [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 627(1): 69–74.
- [49] Werneburg M, Busch B, He J, et al. Exploiting enzymatic promiscuity to engineer a focused library of highly selective antifungal and antiproliferative aureothin analogues [J]. *J Am Chem Soc*, 2010, 132, 10407–10413.
- [50] Tang YJ, Li Y, Zhong JJ. Novel biotransformation process of podophyllotoxin to produce podophyllic acid and picropodophyllotoxin by *Pseudomonas aeruginosa* CCTCC AB93066. Part I: Process development [J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2009, 32(5): 663–671.
- [51] Tang YJ, Xu XL, Zhong JJ. A novel biotransformation process of 4 β -demethylepipodophyllotoxin to 4 β -demethylepipodophyllic acid by *Bacillus fusiformis* CICC 20463, Part II: process optimization. [J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2010, 33(2): 237–246.
- [52] Bai JK, Zhao W, Li HM, et al. Novel biotransformation process of podophyllotoxin to 4-sulfur-substituted podophyllum derivatives with anti-tumor activity by *Penicillium purpurogenum* Y. J. Tang [J]. *Curr Med Chem*, 2012, 19(6): 927–936.
- [53] Marivaldo JC, Fátima M, Heriberto R, et al. Biotransformation of chalcones by the endophytic fungus *Aspergillus flavus* isolated from *Paspalum maritimum* trin [J]. *J Braz Chem Soc*, 2011, 22(7): 1333–1338.
- [54] Borges KB, Borges WDS, Pupo MT, et al. Stereoselective analysis of thioridazine-2-sulfoxide and thioridazine-5-sulfoxide; an investigation of rac-thioridazine biotransformation by some endophytic fungi [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2008, 46(5): 945–952.
- [55] Zikmundová M, Drandarov K, Bigler L, et al. Biotransformation of 2-benzoxazolinone and 2-hydroxy-1, 4-benzoxazin-3-one by endophytic fungi isolated from *Aphelandra tetragona* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68(10): 4863–4870.
- [56] Verza M, Arakawa NS, Lope NP, et al. Biotransformation of a tetrahydrofuran lignin by the endophytic fungus *Phomopsis* sp. [J]. *J Braz Chem Soc*, 2009, 20(1): 195–200.
- [57] Borges KB, Pupo MT, Bonato PS. Enantioselective analysis of propranolol and 4-hydroxypropranolol by CE with application to biotransformation studies employing endophytic fungi [J]. *Electrophoresis*, 2009, 30(22): 3910–3917.
- [58] Rajesh KT, Firoz NK, Sadaf Q. Endophytes-Mines of Pharmacological Therapeutics [J]. *World J Sci Technol*, 2011, 1(5): 127–149.

(收稿日期: 2012-07-09; 编辑: 王蔚)