

· 方药研究 ·

牡蛎状栓菌的化学成分

项 晨^{1,2}, 刘吉开², 杜子伟^{1,2}, 王 刚¹

(1. 安徽中医学院药学院 现代中药安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230031;

2. 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204)

[摘要]目的 研究牡蛎状栓菌(*Trametes ostreiformis* (Berk.) Murr)发酵液的化学成分。方法 牡蛎状栓菌发酵液的乙酸乙酯部位经过硅胶、RP-18、Sephadex LH-20等多种材料进行分离纯化,通过现代波谱技术进行结构鉴定。结果 分离鉴定了7个化合物,分别为邻苯二甲酸二异丁酯(1)、过氧麦角甾醇(2)、dysodensiol(3)、麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇(4)、吡啶乙酸(5)、5-羟甲基糠醛(6)、对羟基苯乙醇(7)。结论 以上化合物均为首次从该种真菌中分得,其中化合物3为首次从该属真菌中发现。

[关键词]牡蛎状栓菌;化学成分;吡啶乙酸

[中图分类号]R284 **[文献标志码]**A **[DOI]**10.3969/j.issn.1000-2219.2011.04.022

牡蛎状栓菌(*Trametes ostreiformis* (Berk.) Murr),属多孔菌科栓菌属高等真菌。目前未见该菌化学成分的文献报道。为了从真菌中寻找具有生物活性的次生代谢产物,笔者对牡蛎状栓菌发酵液进行了系统的化学成分研究,从其乙酸乙酯提取物中分离得到7个已知化合物,经波谱解析分别鉴定为:邻苯二甲酸二异丁酯(1);过氧麦角甾醇(2);dysodensiol(3);麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇(4);吡啶乙酸(5);5-羟甲基糠醛(6);对羟基苯乙醇(7)。

1 仪器与材料

熔点由四川大学科学仪器厂生产的XRC-1型显微熔点仪测定,温度计未校正;比旋光值由Horiba SEPA-300旋光仪测定;IR由BRUKER TENSOR 27 FT-IR型红外光谱仪测定;质谱由VG AutoSpec-3000质谱仪测定;核磁共振由Bruker AV-400和DRX-500测定,其中¹H核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)在400 MHz和500 MHz下

测定,¹³C NMR在100 MHz和125 MHz下测定;柱层析硅胶和GF254薄层色谱(thin layer chromatography, TLC)预制板均为青岛海洋化工厂生产;Sephadex LH-20为瑞典Amersham Biosciences公司产品;RP-18(40~63 μ m)为德国Merck公司产品;显色方法为荧光灯下波长254 nm和365 nm处观察荧光,10%硫酸乙醇溶液和硫酸香草醛处理后加热显色及碘蒸气显色。

牡蛎状栓菌于2000年8月份采集于昆明植物园元宝山,由昆明植物研究所杨祝良研究员鉴定,菌种在中国西南野生生物种质资源库中保存,标本存于昆明植物研究所标本馆。

2 发酵与培养

对该菌种采用斜面转摇瓶液体培养的方法进行发酵培养。培养条件和规模:葡萄糖5%,猪肉蛋白胨0.15%,酵母粉0.5%,KH₂PO₄和MgSO₄各0.05%,160~165 r/min,25℃摇床发酵25 d,装液量为350 ml,发酵液总量为17 L。

3 提取与分离

牡蛎状栓菌发酵液(17L)用乙酸乙酯萃取3次,

作者简介:项晨(1987-)男,硕士研究生

通信作者:王刚,0551-5169227, kunhong_8@163.com

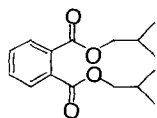
the activities of catalase and superoxide dismutase, and decrease the levels of lactate dehydrogenase and malondialdehyde in *in vitro* cultured H9c2 cells. dichlorofluorescein-diacetate (DCFH) labeling showed that CYDG increased the levels of reactive oxygen species (ROS) in H₂O₂-stressed H9c2 cells. Western blot showed that CYDG increased the expression of heme oxygenase-1 (HO-1) in H₂O₂-stressed H9c2 cells. **Conclusion** CYDG could protect H9c2 myocardial cells from the damage induced by H₂O₂-oxidative stress, and increase the antioxidant capacity of cardiac muscle cells.

[Key words] Compound Yinxing Danshen Granules; H9c2 cells; hydrogen peroxide; oxidative stress damage; haem oxygenase-1

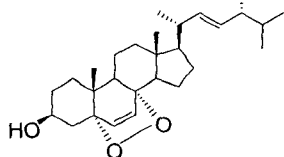
合并减压蒸干得 4.5 g 粗提物,经硅胶柱层析,以氯仿-甲醇梯度洗脱得 7 个流分。流分 2(氯仿-甲醇 50:1 洗脱部分)经硅胶柱层析,以石油醚-乙酸乙酯(8:1)洗脱,再经反相-高效液相色谱法(reverse phase-high performance liquid chromatography, RP-HPLC)制备柱色谱得化合物 1(1.3 mg)。流分 4(氯仿-甲醇 30:1 洗脱部分)经硅胶柱层析,以石油醚-乙酸乙酯(4:1)洗脱,通过重结晶得到化合物 2(5.2 mg);经 Sephadex LH-20 柱层析,以氯仿-甲醇(1:1)洗脱得化合物 3(2.1 mg)。流分 5(氯仿-甲醇 20:1 洗脱部分)经硅胶柱层析,以石油醚-乙酸乙酯(3:1~1:1)洗脱,进一步通过 Sephadex LH-20 柱层析,以氯仿-甲醇(1:1)洗脱,得化合物 4(8.7 mg)、化合物 5(6.5 mg)、化合物 6(1.5 mg)、化合物 7(4.7 mg)。

4 结构鉴定

1) 化合物 1: 邻苯二甲酸二异丁酯, $C_{16}H_{22}O_4$, 无色油状物; 电子轰击-质谱(electron impact-mass spectrometry, EI-MS) m/z (%): 279 $[M+H]^+$ (10), 241 (7), 223 (16), 205 (13), 191 (7), 149 (100), 135 (6), 123 (9), 109 (10), 95 (11), 81 (7), 69 (10), 57 (9); 1H -NMR($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 7.72 (2H, m, H-3 和 H-6), 7.53 (2H, m, H-4 和 H-5), 4.08 (4H, d, $J=6.7$ Hz, H-2' 和 H-2''), 2.03 (2H, m, H-3' 和 H-3''), 0.94 (12H, d, $J=6.6$ Hz, H-4', H-4'', H-5' 和 H-5''); ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 125 MHz) δ : 167.7 (s, C-1' 和 C-1''), 132.3 (s, C-1 和 C-2), 130.9 (d, C-4 和 C-5), 128.8 (d, C-3 和 C-6), 71.8 (t, C-2' 和 C-2''), 27.7 (d, C-3' 和 C-3''), 19.1 (q, C-4', C-4'', C-5' 和 C-5'')。以上波谱数据与文献[1]相符。



化合物 1

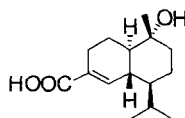


化合物 2

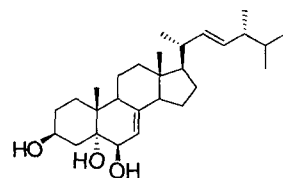
2) 化合物 2: 过氧麦角甾醇, $C_{28}H_{44}O_3$, 无色针晶; 熔点 186~187 $^{\circ}C$; EI-MS m/z (%): 428 $[M]^+$ (10), 410 (4), 395 (100), 393 (35), 271 (7), 255 (37), 251 (14), 152 (30), 107 (22), 69 (63); 1H -NMR($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 6.50 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-7), 6.24 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6), 5.22 (1H, dd, $J=7.6, 7.5$ Hz, H-22), 5.13 (1H, dd, $J=7.6, 7.5$ Hz, H-23), 3.97 (1H, m, H-3), 0.99 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-21), 0.90 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-28), 0.88 (3H, s, H-19), 0.83 (3H, d, $J=6.5$

Hz, H-27), 0.82 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-26), 0.80 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 100 MHz) δ : 135.4 (C-22), 135.2 (C-7), 132.3 (C-23), 130.7 (C-6), 82.1 (C-8), 79.4 (C-5), 66.4 (C-3), 56.2 (C-17), 51.6 (C-9), 51.0 (C-4), 44.5 (C-13), 42.7 (C-24), 39.7 (C-20), 39.3 (C-12), 36.9 (C-1), 36.9 (C-14), 34.7 (C-10), 33.0 (C-25), 30.1 (C-2), 28.6 (C-16), 23.4 (C-15), 20.8 (C-11), 20.6 (C-26), 19.9 (C-27), 19.6 (C-21), 18.1 (C-19), 17.5 (C-28), 12.8 (C-18)。以上波谱数据与文献[2]一致。

3) 化合物 3: dysodensiol, $C_{15}H_{22}O_2$, 白色粉末; EI-MS m/z (%): 234 $[M-H_2O]^+$ (38), 219 (5), 191 (100), 173 (10), 145 (24), 123 (9), 105 (19), 91 (21); 1H -NMR($CDCl_3$, 400 MHz) δ : 1.28 (1H, m, H-1), 1.23 (1H, m, H-2'), 2.14 (1H, m, H-2''), 2.17 (1H, m, H-3'), 2.48 (1H, m, H-3''), 7.18 (1H, br. s, H-5), 1.90 (1H, m, H-6), 1.18 (1H, m, H-7), 1.67 (1H, m, H-8'), 1.20 (1H, m, H-8''), 1.84 (1H, m, H-9'), 1.44 (1H, m, H-9''), 2.21 (1H, m, H-11), 0.80 (3H, d, $J=7.0$ Hz, H-12), 0.93 (3H, d, $J=7.0$ Hz, H-13), 1.11 (3H, s); ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 100 MHz) δ : 48.9 (C-1), 21.9 (C-2), 24.8 (C-3), 130.2 (C-4), 142.6 (C-5), 40.7 (C-6), 45.7 (C-7), 22.1 (C-8), 41.9 (C-9), 72.3 (C-10), 26.1 (C-11), 15.2 (C-12), 21.4 (C-13), 20.5 (C-14), 172.4 (C-15)。以上波谱数据与文献[3]一致。



化合物 3

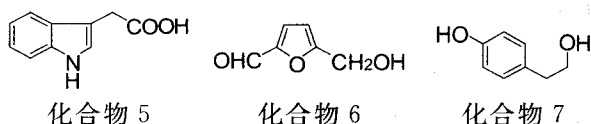


化合物 4

4) 化合物 4: 麦角甾-7, 22-二烯-3 β , 5 α , 6 β -三醇, $C_{28}H_{46}O_3$, 白色无定型粉末; 熔点 253~255 $^{\circ}C$; EI-MS m/z (%): 430 $[M]^+$, 412 $[M-H_2O]^+$ (35), 394 $[M-2H_2O]^+$ (37), 379 (65), 376 $[M-3H_2O]^+$ (15), 269 (33), 251 (62), 69 (100); 1H -NMR(C_5D_5N , 400 MHz) δ : 0.54 (3H, s, H-18), 0.84 (3H, d, $J=6.7$ Hz, H-26), 0.85 (3H, d, $J=6.7$ Hz, H-27), 0.94 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-28), 1.07 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-21), 1.53 (3H, s, H-19), 4.32 (1H, br. d, $J=4.8$ Hz, H-6), 4.84 (1H, m, H-3), 5.16 (1H, dd, $J=15.3, 7.4$ Hz, H-22), 5.24 (1H, dd, $J=15.3, 7.4$ Hz, H-23), 5.74 (1H, s, H-7); ^{13}C -NMR(C_5D_5N , 100 MHz) δ : 32.6 (t, C-1), 33.8 (t, C-2),

67.6(d, C-3), 42.0(t, C-4), 76.1(s, C-5), 74.3(d, C-6), 120.4(d, C-7), 141.6(s, C-8), 43.8(d, C-9), 38.1(s, C-10), 22.4(t, C-11), 40.1(t, C-12), 43.9(s, C-13), 55.2(d, C-14), 23.5(t, C-15), 28.2(t, C-16), 56.5(d, C-17), 12.3(q, C-18), 18.8(q, C-19), 40.4(d, C-20), 21.3(q, C-21), 135.2(d, C-22), 132.5(d, C-23), 42.8(d, C-24), 33.1(d, C-25), 19.9(q, C-26), 20.1(q, C-27), 17.6(q, C-28)。以上波谱数据与文献[4]一致。

5) 化合物 5: 吲哚乙酸, $C_{10}H_9NO_2$, 无色晶体; EI-MS m/z (%): 175(35), 130(100); 1H -NMR($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 10.11(1H, br. s, H-9), 7.60(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-7), 7.38(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-4), 7.29(1H, d, $J=2.1$ Hz, H-2), 7.10(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5), 7.01(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-6), 3.75(2H, s, H-8); ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 125 MHz) δ : 124.5(d, C-2), 109(s, C-3), 128.5(s, C-3'), 122.1(d, C-4), 119.5(d, H-5), 119.5(d, H-6), 137.5(s, C-7a), 31.4(t, C-8), 173.3(s, C-9)。以上波谱数据与文献[5]一致。



6) 化合物 6: 5-羟甲基糠醛, $C_6H_6O_3$, 黄色油状物; EI-MS m/z (%): 126 $[M]^+$ (13), 125(13), 109(100), 97(27), 81(14), 69(6), 53(5); 1H -NMR($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 9.56(1H, s, 2-CHO), 7.22(1H, d, $J=3.5$ Hz, H-3), 6.51(1H, d, $J=3.5$ Hz, H-4), 4.71(1H, s, 5- CH_2OH); ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 125 MHz) δ : 152.3(s, C-2), 122.9(d, C-3), 109.9

(d, C-4), 160.7(s, C-5), 177.7(d, CHO), 57.5(t, CH_2OH)。以上波谱数据与文献[6]一致。

7) 化合物 7: 对羟基苯乙醇, $C_8H_{10}O_2$, 无色晶体; EI-MS m/z (%): 138 $[M]^+$ (28), 107(100), 77(14); 1H -NMR($CDCl_3$, 500 MHz) δ : 6.94(2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2, 6), 6.66(2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3, 5), 3.61(2H, t, $J=6.8$ Hz, H-8), 2.63(2H, t, $J=6.8$ Hz, H-7); ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 125 MHz) δ : 129.4(s, C-1), 129.6(d, C-2/6), 115.0(d, C-3/5), 154.8(s, C-4), 37.8(t, C-7), 64.2(t, C-8)。以上波谱数据与文献[7]一致。

参考文献:

- [1] Mishra PD, Wahidullah S, DeSouza L, et al. Lipid constituents of marine sponge *Suberites carnosus*[J]. Ind J Chem, 1996, 35: 806-809.
- [2] Yue JM, Chen SN, Lin ZW, et al. Sterols from the fungus *Lactarium volemus*[J]. Phytochemistry, 2001, 56(8): 801-806.
- [3] Xie BJ, Yang SP, Yue JM. Terpenoids from *Dysoxylum densiflorum*[J]. Phytochemistry, 2008, 69(17): 2993-2997.
- [4] Kavagishi H, Katsumi R, Sazawa T, et al. Cytotoxic steroids from the mushroom *Agaricus blazei*[J]. Phytochemistry, 1988, 27(9): 2777-2779.
- [5] 蒋孟圆. 七种高等真菌的化学成分及其生物活性研究[D]. 昆明: 中国科学院昆明植物研究所, 2010: 74.
- [6] 尹宏权, 齐秀兰, 华会明, 等. 云木香化学成分研究[J]. 中国药物化学杂志, 2005, 15(4): 217-220.
- [7] 邵红军. 高等真菌化学成分的结构多样性研究[D]. 昆明: 中国科学院昆明植物研究所, 2007: 34.

(收稿日期: 2011-04-29)

Chemical Constituents of *Trametes ostreiformis*

XIANG Chen^{1,2}, LIU Ji-Kai², DU Zi-wei^{1,2}, WANG Gang¹

(1. School of Pharmacy, Anhui College of Traditional Chinese Medicine & Anhui Key Laboratory for Modern Chinese Materia Medica, Anhui Hefei 230031, China; 2. State Key Laboratory for Phytochemistry and Sustained Utilization of Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Yunnan Kunming 650204, China)

[Abstract] **Objective** To investigate into the chemical constituents from the fermentation broth of *Trametes ostreiformis* (Berk.) Murr. **Methods** The ethyl acetate extracts of the fermentation broth of *Trametes ostreiformis* (Berk.) Murr were separated and purified by silica gel, RP-18, Sephadex LH-20 column chromatography, respectively. Their structures were elucidated using spectroscopic analysis. **Results** A total of 7 compounds were isolated and identified as Diisobutyl phthalate(1), 5 α , 8 α -Epidiory-(22E, 24R)-ergosta-6, 22-dien-3 β -ol(2), dysodensiol(3), (22E, 24R)-Ergosta-7, 22-dien-3 β , 5 α , 6 β -triol(4), 3-indoleacetic acid(5), 5-Hydroxymethyl-2-furancarboxaldehyde(6), 4-Hydroxy phenethylalcohol(7). **Conclusion** All compounds are isolated from this fungus for the first time. Compound 3 is firstly isolated from this genus.

[Key words] *Trametes ostreiformis*; chemical components; 3-indoleacetic acid