

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201708027

引文格式: 刘坤, 刘名飞, 王俊丽, 等. 毛咀地星的抗氧化、抗菌和抗肿瘤活性和化学成分研究 [J]. 广西植物, 2018, 38(7): 953-959
LIU K, LIU MF, WANG JL, et al. Antioxidant, antibacterial and antitumor activities and chemical constituents of *Geastrum fimbriatum* [J].
Guihaia, 2018, 38(7): 953-959

毛咀地星的抗氧化、抗菌和抗肿瘤活性和化学成分研究

刘坤^{1,2}, 刘名飞³, 王俊丽^{3*}, 于子箫⁴

(1. 河北经贸大学 生物科学与工程学院, 石家庄 050061; 2. 河北经贸大学 食品安全管理研究所, 石家庄 050061; 3. 中央民族大学 生命与环境科学学院, 北京 100081; 4. 西南科技大学 生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621010)

摘要: 毛咀地星是一种药用蘑菇, 为了进一步开发利用毛咀地星, 该研究探讨了毛咀地星乙醇提取物的抗氧化、抗菌和抗肿瘤活性, 并采用硅胶柱色谱、制备薄层色谱和重结晶等方法, 对毛咀地星乙醇提取物进行分离纯化, 研究了其化学成分。结果表明: 毛咀地星乙醇提取物多酚含量为 $10.53 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, DPPH 和 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除能力的 IC_{50} 值分别为 91.35 和 $148.76 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 乙醇提取物对金黄葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌均无抑制作用; 乙醇提取物在浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 对燕麦镰刀菌的抑制率为 36.11%; 乙醇提取物在浓度为 $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 对 BG-803、NCI-H502 和 MDA-MB-231 肿瘤细胞的抑制率分别为 18.87%、17.71% 和 41.23%。并从乙醇提取物中分离纯化到 6 个化合物, 根据理化性质和波谱数据分析, 化合物结构分别鉴定为 $5\alpha, 8\alpha$ -过氧化麦角甾-6, 9(11), 22-三烯- 3β -醇(1)、 $5\alpha, 8\alpha$ -过氧化麦角甾-6, 22-二烯- 3β -醇(2)、D-阿拉伯糖醇(3)、L-谷氨酸(4)、麦芽糖(5)和蔗糖(6), 以上化合物均为首次从该菌中分离得到。

关键词: 毛咀地星, 抗氧化活性, 抗菌活性, 抗肿瘤活性, 化学成分

中图分类号: Q946, R284 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2018)07-0953-07

Antioxidant, antibacterial and antitumor activities and chemical constituents of *Geastrum fimbriatum*

LIU Kun^{1,2}, LIU Mingfei³, WANG Junli^{3*}, YU Zixiao⁴

(1. College of Bioscience and Bioengineering, Shijiazhuang 050061, China; 2. Institute of Food Safety Management, Hebei University of Economics and Business, Shijiazhuang 050061, China; 3. College of Life and Environmental Sciences, Minzu University of China, Beijing 100081, China; 4. School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, Sichuan, China)

Abstract: *Geastrum fimbriatum* is a kind of medicinal mushroom with hemostasis, clearing lung and alexipharmic functions. For the further study on the development and utilization of *G. fimbriatum*, the antioxidant, antibacterial and anti-cancer activities and the chemical constituents of the ethanol extract (EE) from *G. fimbriatum* were evaluated. The present

收稿日期: 2017-09-22

基金项目: 国家教育部、国家外国专家局高等学校学科创新引智计划项目(B08044); 河北省高等学校科学技术研究项目(QN2014087); 河北经贸大学校内科研基金(2016KYQ07) [Supported by the Innovation and Introduction Intellectual Resources Program in Institute of Higher Learning of the Ministry of Education and the State Administration of Foreign Experts (B08044); Science Research Program for Colleges and Universities of Hebei Province (QN2014087); Foundation from Hebei University of Economics and Business (2016KYQ07)]。

作者简介: 刘坤(1976-), 女, 河北保定市人, 博士, 副教授, 主要从事药用资源与利用研究, (E-mail) liuqueen2003@163.com。

*通信作者: 王俊丽, 博士, 教授, 主要从事植物资源与利用研究, (E-mail) wangjunli1698@163.com。

study exhibited that the total phenolic content of EE was $10.53 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ EE DPPH and $\cdot\text{OH}$ radical-scavenging activities with IC_{50} values of 91.35 and $148.76 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. EE showed no antibacterial activity on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. Meanwhile, EE displayed antifungal activity on *Fusarium avenaceum* with inhibition ratio of 36.11% at the concentration of $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. EE displayed anticancer activities against tumor cells BG-803, NCI-H502 and MDA-MB-231 with the inhibition ratio of 18.87% , 17.71% and 41.23% respectively at the concentration of $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (MTT assay). Six compounds were isolated from EE by the methods of column chromatography, thin layer chromatography, recrystallization and so on. The structures were elucidated by the analysis of spectral data and physical-chemical properties and identified as 5α , 8α -epidioxyergosta-6, 9(11), 22-triene- 3β -ol (**1**), 5α , 8α -epidioxyergosta-6,22-dien- 3β -ol (**2**), *D*-allitol (**3**), *L*-glutamic acid (**4**), maltose (**5**), saccharose (**6**). All the six compounds were isolated from *G. fimbriatum* for the first time.

Key words: *Geastrum fimbriatum*, antioxidant activity, antibacterial activity, antitumor activity, chemical constituents

毛咀地星 (*Geastrum fimbriatum*) 是一种药用蘑菇,为地星科地星属的一种,子实体较小,夏末秋初生于林中腐枝落叶层地上,在西藏、云南、河北、青海、河南、湖南、黑龙江等地都有分布。孢子粉有止血、消炎和解毒的作用(袁明生,2013)。目前地星属的研究主要集中在资源调查和分类学上,Kirk et al(2008)记载全世界有 50 多个种,韩冰雪和图力古尔(2016)记载目前中国有地星 16 种和 1 变种,其中 3 个中国地星属新种和新记录种。地星属已有菌种被报道具有抗氧化、抗菌和细胞毒性,如 Guerra Dore et al(2007)报道袋形地星 (*Geastrum saccatum*) 含有丰富的 β 葡聚糖,有消炎、抗氧化和细胞毒活性;Kim et al(2012)报道葫芦地星 (*G. lageniforme*) 甲醇提取物有抗氧化活性;Chittaragi et al(2013)报道尖顶地星 (*G. triplex*) 的石油醚、氯仿和甲醇提取物有抗菌活性。但目前尚未见有毛咀地星生物活性和化学成分分析的研究报道。笔者首次对毛咀地星子实体的乙醇提取物进行抗氧化、抗菌和抗肿瘤活性研究,从乙醇浸提物中分离到 6 个化合物,均为首次从该菌中分离得到,为毛咀地星的开发利用提供了科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材料、仪器与试剂

材料:毛咀地星 (*Geastrum fimbriatum*) 采自内蒙古克什克腾旗,经河北经贸大学张香美教授鉴定,标本放在中央民族大学生命科学与环境学院。

金黄葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 购自中国科学院微生物菌种保藏管理中心;禾谷镰刀菌 (*Fusarium graminearum*)、白斑小尾孢 (*Cercospora albo-maculans*) 和燕麦镰刀菌 (*Fusarium avenaceum*) 由沈阳农业大学提供;NCI-H502(人肺鳞状上皮细胞癌)、BG-803(人胃癌细胞)和 MDA-MB-231(人乳腺癌细胞)由中国医学科学院基础所细胞中心提供。

仪器:Bruker DRX 500 超导核磁共振波谱仪;Agilent 6890N-5975N 质谱仪;Thermo Lab systems 全自动酶标仪;VERTEX 70 傅立叶红外光谱仪;Olympus CH 普通倒置显微镜。试剂:DPPH 为美国 Sigma 公司生产;抗坏血酸标准对照品为广东汕头西陇化工厂生产;其余试剂均为国产分析纯试剂。

1.2 提取与分离

毛咀地星子实体(干重 1.5 kg),用 95% 乙醇浸提 4 次,每次 7 d,合并减压蒸干得 100 g 粗体物,留取 10 g 粗提物做活性。以石油醚:丙酮(10:1、8:1、5:1、3:1、2:1、0:1)为洗脱剂进行梯度洗脱,经薄层层析检测,合并相同部分,得 6 个组分(Fr.A-Fr.F)。Fr.C 组分经硅胶柱层析进行分离,以石油醚:乙酸乙酯(1:1)为洗脱剂进行洗脱,得 2 个亚组分(Fr.C1 和 Fr.C2)。Fr.C1 亚组分经 Sephadex LH-20 色谱柱层析,再经 TLC 制备色谱(GF_{254} ,石油醚:乙酸乙酯=2:1,展 1 次),得化合物 **1**(4.4 mg)。Fr.C2 亚组分经重结晶得化合物 **2**(5.7 mg)。Fr.E 组分经硅胶柱层析进行分离,以石

油醚:丙酮(2:1)为洗脱剂进行洗脱,得2个亚组分(Fr.E1和Fr.E2)。Fr.E1组分经Sephadex LH-20色谱柱层析,得化合物**3**(3.1 mg)。Fr.E2组分经Sephadex LH-20色谱柱层析,硅胶柱层析进行分离,以氯仿:丙酮(1:1)为洗脱剂进行洗脱,得化合物**4**(2.2 mg)。Fr.F组分经硅胶柱层析进行分离,以石油醚:丙酮(1:1)为洗脱剂进行洗脱,重结晶得化合物**5**(4.1 mg)和**6**(4.7 mg)。

1.3 乙醇提取物抗氧化活性分析

1.3.1 总酚含量测定 参照Liu et al(2013)的方法,根据标准品没食子酸标准曲线确定的方程计算酚含量,线性范围为2~14 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。方程为 $Y = 0.006 2X + 0.064 7$, $R^2 = 0.999 3$ 。

1.3.2 DPPH 自由基清除实验 参照何月秋等(2017)的方法,并稍作改动。配制不同浓度的样品,分别取100 μL 样品和100 μL 60 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的DPPH乙醇(95%)溶液混合,放入酶标仪中震动摇匀,暗反应30 min。517 nm下测量吸光度(A)。对照组和处理组都重复3次。

$$\text{DPPH 自由基清除率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{样品}}) / A_{\text{对照}} \times 100\% \quad (1)$$

式中, $A_{\text{对照}}$ 为对照的吸光值, $A_{\text{样品}}$ 为加样品反应液的吸光度值。抗坏血酸作为阳性对照。

1.3.3 羟自由基清除实验 参照Grymonpré et al(2001)的方法,并稍作改动。200 μL 反应体系中含有各种不同浓度的待测化合物100 μL , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (9 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 20 μL , H_2O_2 (8.8 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 20 μL ,水杨酸-乙醇溶液(9 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 20 μL ,在37 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温水中反应30 min后,用酶标仪在510 nm下测量吸光度(A)。羟自由基清除率同公式(1),抗坏血酸作为阳性对照。

1.4 乙醇提取物抗菌活性分析

1.4.1 抗细菌试验 抑菌圈采用打孔法进行测定(赵能等,2017)。将活化的供试菌调至浓度为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的菌悬液。取0.1 mL菌悬液加到平板培养基表面,涂布均匀。用直径为0.6 cm打孔器在涂布均匀的平板上打孔。每孔加入50 μL (100 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)样品,37 $^{\circ}\text{C}$ 倒置培养24 h,观察抑菌圈,每样品3个平行板。5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 青

霉素钠溶液为革兰氏阳性菌的对照品,10 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 青霉素钠溶液为革兰氏阴性菌的对照品。

1.4.2 抗真菌试验 待测样品对真菌的抑制作用采用侯颖等(2014)的菌丝生长速率法。空白对照(甲醇)、阳性对照(克霉唑,浓度为0.10 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)、加药处理(乙醇提取物,浓度为1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$),每个处理设3个重复。

相对抑制率 = (加药处理菌落平均直径 - 菌饼直径) / (空白对照菌落平均直径 - 菌饼直径)

1.5 乙醇提取物抗肿瘤活性分析

参照汪婷等(2017)的方法(MTT法),研究乙醇提取物对肿瘤细胞BG-803、NCI-H502和MDA-MB-231增殖的抑制活性。将计数后肿瘤细胞悬液先用培养基稀释至 1×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$,再加至96空板,每孔100 mL,放于培养箱培养12 h。将不同浓度的样品加入各个孔中,培养48 h;吸出各孔培养基,每孔先加入100 μL 无菌PBS,再加入20 μL MTT(过程避光),培养4 h;吸出上清,各孔加入100 μL DMSO,摇10 min至各孔中澄清,检测570 nm的OD吸光值。阳性药物为紫杉醇。所有试剂均用0.2 μm 无菌滤器除菌以保证整个实验过程严格无菌。

2 结果与分析

2.1 化合物结构鉴定

化合物**1** 白色不定型粉末(甲醇),mp 165~167 $^{\circ}\text{C}$ 。EI-MS: $m/z = 426.3$ 。 ^1H NMR(500 MHz, CDCl_3 , δ , ppm, J/Hz): 0.75(3H, s, H-18), 0.84(3H, d, $J = 7.0$, H-26), 0.84(3H, d, $J = 7.0$, H-27), 0.93 d(3H, d, $J = 7.0$, H-28), 1.00(3H, d, $J = 6.5$, H-21), 1.10(3H, s, H-19), 3.96(1H, m, H-3), 5.16(1H, dd, $J = 15.3, 7.5$, H-23), 5.24(1H, dd, $J = 15.3, 7.5$, H-22), 5.45(1H, dd, $J = 4.4$, H-11), 6.26(1H, d, $J = 8.5$, H-6), 6.52(1H, d, $J = 8.5$, H-7); ^{13}C NMR(125 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 32.4(C-1), 30.9(C-2), 65.9(C-3), 35.9(C-4), 82.6(C-5), 135.5(C-6), 130.4(C-7), 78.2(C-8), 142.5(C-9), 37.8(C-10), 119.6(C-11), 41.0(C-12), 43.5(C-13), 48.0(C-13), 20.8(C-15), 28.5(C-16),

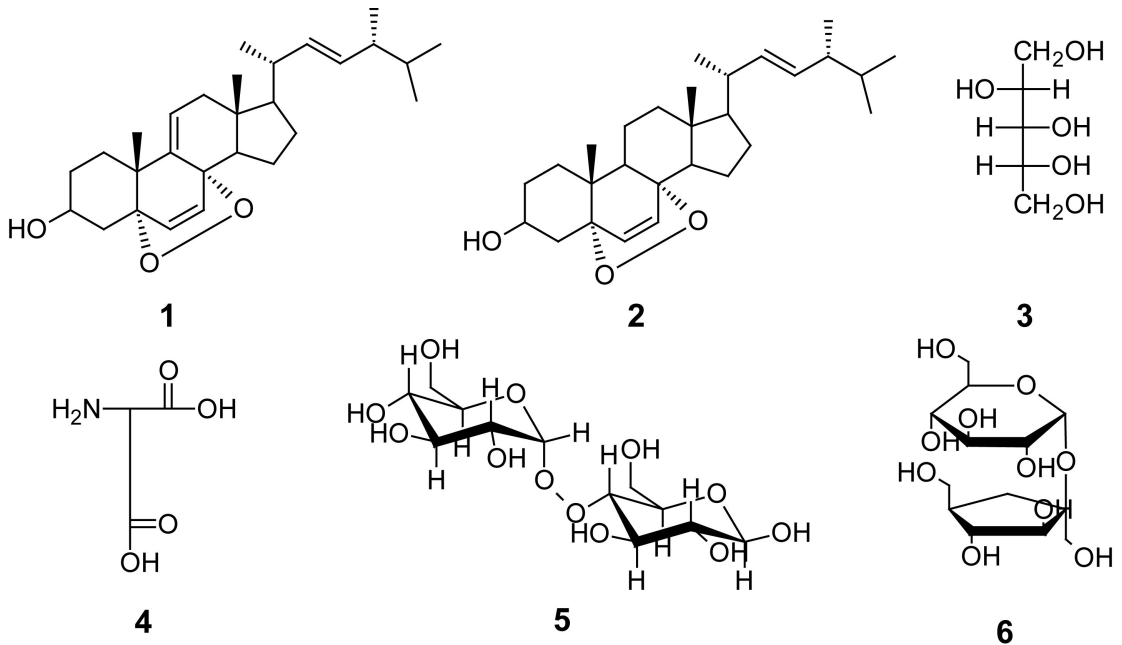


图 1 化合物 1-6 的化学结构式
Fig. 1 Chemical structure of compounds 1-6

55.7 (C-17), 12.7 (C-18), 25.4 (C-19), 39.7 (C-20), 20.5 (C-21), 135.0 (C-22), 132.3 (C-23), 42.6 (C-24), 32.9 (C-25), 19.5 (C-26), 19.8 (C-27), 17.4 (C-28)。数据与 Kobor et al (2006) 的一致, 故鉴定为 5 α , 8 α -过氧化麦角甾-6, 9(11), 22-三烯-3 β 醇。

化合物 2 白色晶体 (甲醇), mp 182~183 $^{\circ}\text{C}$ 。EI-MS: $[M]^+$ $m/z = 428.3$ 。 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ , ppm, J/Hz): 0.82 (3H, s, H-18), 0.83 (3H, d, $J = 7.0$, H-26), 0.83 (3H, d, $J = 7.0$, H-27), 0.89 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, d, $J = 7.0$, H-28), 1.00 (3H, d, $J = 6.5$, H-21), 3.97 (1H, m, H-3), 5.14 (1H, dd, $J = 15.3, 7.5$, H-23), 5.21 (1H, dd, $J = 15.3, 7.5$, H-22), 6.23 (1H, d, $J = 8.5$, H-6), 6.49 (1H, d, $J = 8.5$, H-7); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 34.6 (C-1), 30.3 (C-2), 74.02 (C-3), 36.7 (C-4), 82.1 (C-5), 135.4 (C-6), 130.5 (C-7), 79.3 (C-8), 51.0 (C-9), 36.7 (C-10), 20.6 (C-11), 39.2 (C-12), 44.4 (C-13), 51.5 (C-13), 23.2 (C-15), 28.5 (C-16), 56.0 (C-17), 12.7 (C-18), 18.0 (C-19), 39.5 (C-20), 20.7 (C-21), 135.1 (C-22), 132.2 (C-23), 42.6 (C-24), 32.9 (C-

25), 19.5 (C-26), 19.8 (C-27), 17.4 (C-28)。数据与甘秀海等 (2013) 的一致, 故鉴定为 5 α , 8 α -过氧化麦角甾-6, 22-二烯-3 β 醇。

化合物 3 无色棱状晶体 (甲醇), mp 106 $^{\circ}\text{C}$ 。 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO, δ , ppm, J/Hz): 3.54 (1H, dd, $J = 11.8, 2.3$, 1-Hax), 3.53 (1H, dd, $J = 11.9, 6.8$, 1-Heq), 3.69 (1H, ddd, $J = 11.9, 5.6, 2.4$, H-2), 3.79 (1H, dd, $J = 12.0, 5.6$, H-3), 3.65 (1H, ddd, $J = 8.5, 6.0, 2.6$, H-4), 3.45 (1H, dd, $J = 11.5, 5.68$, 5-Hax), 3.43 (1H, dd, $J = 11.5, 8.4$, 5-Heq); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, DMSO, δ , ppm): 63.3 (C-1), 70.6 (C-2), 70.8 (C-3), 71.3 (C-4), 63.3 (C-5)。数据与李元伟 (2016) 的一致, 故鉴定为 D-阿拉伯糖醇。

化合物 4 白色无定型粉末 (甲醇), mp 169~172 $^{\circ}\text{C}$ 。EI-MS: M^+ $m/z = 147.1$ 。 $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO, δ , ppm, J/Hz): 4.68 (1H, ddd, $J = 15.5, 5.6, 5.5$, H-2), 2.63 (1H, dd, $J = 15.5, 5.6$, H-3a), 2.55 (1H, dd, $J = 15.5, 5.6$, H-3b), 3.08 (2H, t, $J = 15.5, 6.2$, H-4), 7.71 (2H, d, $J = 5.5$, NH_2); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, DMSO, δ , ppm): 175.8 (C-1), 56.4 (C-2), 26.7

(C-3), 30.8 (C-4), 173.8 (C-5)。数据与肖皖(2011)的一致,故鉴定为 *L*-谷氨酸。

化合物 5 无色方晶(甲醇), mp 102~103 °C。¹H NMR(500 MHz, DMSO, δ , ppm, *J*/Hz): 5.02(1H, d, *J*=1.6, H-1), 4.71(1H, d, *J*=3.6, H-1'); ¹³C NMR(125 MHz, DMSO, δ , ppm): 93.7(C-1), 71.2(C-2), 73.5(C-3), 74.7(C-4), 74.7(C-5), 61.2(C-6), 99.8(C-1'), 72.7(d, C-2'), 72.6(d, C-3'), 69.7(C-4'), 70.7(C-5'), 60.2(C-6')。数据与参考文献(黄悦, 2002; 李小第等, 2015)的一致, 固鉴定为麦芽糖。

化合物 6 无色方晶(甲醇), mp 185~186 °C。¹H NMR(500 MHz, D₂O, δ , ppm, *J*/Hz): 4.45(1H, d, *J*=5.4, H-1), 4.61(1H, s, H-6), 4.72(1H, d, *J*=3.6, H-1'); ¹³C NMR(125 MHz, D₂O, δ , ppm): 62.3(C-1), 102.9(C-2), 81.7(C-3), 77.3(C-4), 74.3(C-5), 62.2(C-6), 91.9(C-1'), 71.9(C-2'), 72.5(C-3'), 69.4(C-4'), 74.4(C-5'), 70.1(C-6')。数据与张文静等(2016)的一致, 故鉴定为蔗糖。

2.2 乙醇提取物活性研究

2.2.1 抗氧化活性 毛咀地星乙醇提取物的多酚含量为(10.53 ± 0.53) $\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, DPPH 和 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除活性呈浓度正相关关系(图 2)。当浓度为 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时 DPPH 和 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除率分别为(65.27 ± 0.71)% 和(49.34 ± 0.44)%。IC₅₀ 是清除率为 50% 时对应的样品浓度, 值越大, 表明清除活性越弱, 反之, 越强。毛咀地星乙醇提取物 DPPH 和 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除能力的 IC₅₀ 分别为(91.35 ± 1.93) 和(148.76 ± 1.60) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与抗坏血酸的 IC₅₀ [(5.00 ± 0.31) 和(20.55 ± 0.25) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$] 差异显著($P < 0.05$)。表明毛咀地星乙醇提取物有一定的 DPPH 和 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除活性但低于抗坏血酸。目前已有同属菌的抗氧化研究报道, Guerra Dore et al(2007) 指出袋形地星多糖提取物在 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, $\cdot\text{OH}$ 自由基清除率为(64.0 ± 2.92)%, 高于毛咀地星乙醇提取物。

2.2.2 抗菌活性 毛咀地星乙醇提取物对三种病原

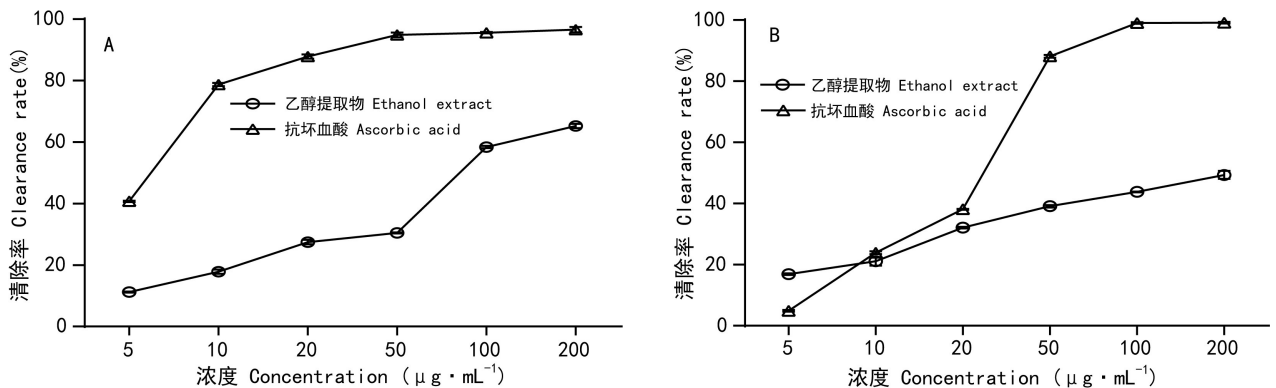


图 2 毛咀地星乙醇提取物的 DPPH (A) 和 $\cdot\text{OH}$ (B) 自由基清除作用

Fig. 2 DPPH (A) and $\cdot\text{OH}$ (B) scavenging activities of ethanol extract from *Geastrum fimbriatum*

细菌(金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌)均没有表现出抑制作用, 无抑菌圈出现。Chittaragi et al(2013)报道了同属尖顶地星甲醇提取物的抑菌活性, 其抑菌活性与毛咀地星乙醇提取物表现出一致性, 浓度为 25%、50% 和 100% 的尖顶地星甲醇提取物对大肠杆菌均无抑制活性, 12.5% 的尖顶地星甲醇提取物对金黄色葡萄球菌也无抑制活性。表 1 显示, 毛咀地星乙醇提取物对禾谷

镰刀菌和白斑小尾孢的抑制作用较小, 差异不显著($P > 0.05$), 浓度为 1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 抑制率分别为(19.10 ± 0.19)% 和(20.24 ± 1.12)%。对燕麦镰刀菌的抑制率相对较高, 1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时为(36.11 ± 1.6)%, 但低于阳性对照克霉唑(69.55 ± 2.46)%, 且差异显著($P < 0.05$)。

2.2.3 抗肿瘤活性 毛咀地星乙醇提取物对 BG-803(人胃癌细胞)、NCI-H502(人肺鳞状上皮细胞

癌)和MDA-MB-231(人乳腺癌细胞)都有较低的抑制作用,且呈浓度正相关关系(图3)。在浓度为 $200\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时对BG-803、NCI-H502和MDA-MB-231细胞的抑制率分别为 $(18.87\pm 0.62)\%$ 、 $(17.71\pm 0.84)\%$ 和 $(41.23\pm 0.39)\%$,都低于紫杉醇 $(98.32\pm 1.4)\%$ 、 $(92.67\pm 1.53)\%$ 和 $(98.11\pm 1.85)\%$,且差异显著($P < 0.05$)。其中毛咀地星乙醇提取物对MDA-MB-231的抑制性最强但低于紫杉醇。目前还未见到关于毛咀地星抗肿瘤活性研究的其它报道,但Guerra Dore et al(2007)指出袋形地星多糖提取物在 $0.5\sim 1.5\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,可抑

表1 毛咀地星乙醇提取物抗真菌活性

Table 1 Antifungal activity of the ethanol extract from *Geastrum fimbriatum*

样品 Sample	抑制率 Inhibition ratio (%)		
	禾谷镰刀菌 <i>Fusarium graminearum</i>	燕麦镰刀菌 <i>F. avenaceum</i>	白斑小尾孢 <i>Cercospora albo-maculans</i>
乙醇提取物 Ethanol extract	19.10±0.19	36.11±1.66	20.24±1.12
克霉唑 Clotrimazole	69.55±2.46	77.96±2.23	70.44±1.76
甲醇 Methyl alcohol	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

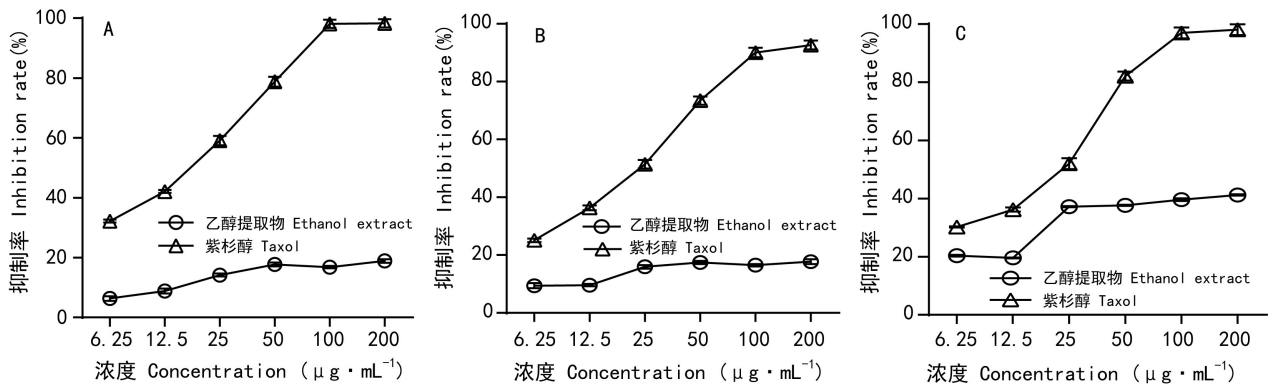


图3 毛咀地星乙醇提取物对BGC-803(A)、NCI-H520(B)和MDA-MB-231(C)的抑制作用

Fig. 3 Inhibiting effects of ethanol extract from *Geastrum fimbriatum* on BGC-803 (A), NCI-H520 (B) and MDA-MB-231 (C) cells

制PMBC(外周血单核细胞)的存活,这也说明地星属的菌具有一定细胞毒活性,但活性不高。

3 讨论与结论

由于地星属蘑菇种类相对较少,大量采集相对困难,目前地星属蘑菇的研究主要集中在资源调查和分类学上,关于此属的生物活性研究仅见几篇报道。本研究从毛咀地星中首次分离到6个化合物,包括2个甾体、1个氨基酸、1个糖醇、2个糖。其中 $5\alpha, 8\alpha$ -过氧化麦角甾-6, 22-二烯- 3β -醇有抗氧化活性和抗肿瘤活性(刘坤等, 2013, 2014),说明毛咀地星的抗氧化和抗肿瘤活性与这种甾体可能有一定的相关性。毛咀地星乙醇提取物DPPH和·OH自由基清除能力的 IC_{50} 分别为

(270.43 ± 4.52) 和 $(340.95\pm 2.83)\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,在 $200\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,毛咀地星乙醇提取物·OH自由基清除率为 $(49.34\pm 0.44)\%$,低于袋形地星多糖提取物的·OH自由基清除率 $(64.0\pm 2.92)\%$ (Guerra Dore et al, 2007),说明地星菌多糖提取物的抗氧化活性可能要好于乙醇提取物,也可能是袋形地星的抗氧化活性好于毛咀地星,这有待进一步考证。毛咀地星乙醇提取物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和枯草芽孢杆菌无抑制作用,与Chittaragi et al(2013)的结论基本一致,说明地星属的蘑菇可能对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑制活性较差。毛咀地星乙醇提取物在浓度为 $1\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,对燕麦镰刀菌的抑制率为 $(36.11\pm 1.6)\%$;在浓度为 $200\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时对MDA-MB-231细胞的抑制率为 $(41.23\pm 0.39)\%$,因此有待于进

一步研究,纯化出活性更高的组分,用于抑制燕麦镰刀菌和MDA-MB-231细胞的生长。以上研究可为毛咀地星进一步的开发利用提供参考。

参考文献:

- CHITTARAGI A, NAIKA R, ASHWINI HS, et al, 2013. Antibacterial potential of *Geastrum triplex* jungh. against plant and human pathogens [J]. Intern J Pharm Res, 5(4): 1456-1464.
- GAN XH, ZHAO C, LIANG ZY, et al, 2013. Antitussive constituents of *Disporum cantoniense* [J]. Chin J Chin Mat Med, 38(23): 4099-4103. [甘秀海,赵超,梁志远,等,2013.百尾参止咳活性成分研究[J].中国中药杂志,38(23):4099-4103.]
- GRYMONPRÉ DR, SHARMA AK, FINNEY WC, et al, 2001. The role of Fenton's reaction in aqueous phase pulsed streamer corona reactors [J]. Biochem Eng J, 82(1-3): 189-207.
- GUERRA DORE CMP, AZEVEDO TCG, DE SOUZA MCR, et al, 2007. Antiinflammatory, antioxidant and cytotoxic actions of β -glucan-rich extract from *Geastrum saccatum* mushroom [J]. Int Immunopharmacol, 7(9): 1160-1169.
- HAN BX, BAU T, 2016. New records of *Geastrum* from China [J]. Mycosystema, 35(11): 1416-1424. [韩冰雪,图力古尔,2016.中国地星属新记录种[J].菌物学报,35(11):1416-1424.]
- HE YQ, LIN L, DU TD, et al, 2017. Analysis of chemical constituents by GC-MS and antioxidant capacity on essential oil from *Tulbaghia violacea* [J]. Guihaia, 37(5): 627-633. [何月秋,林立,杜甜钿,等,2017.紫娇花挥发油成分的GC-MS分析及抗氧化能力测定[J].广西植物,37(5):627-633.]
- HOU Y, XU JQ, SONG YZ, et al, 2014. Effects of carbendazim, difenoconazole and azoxystrobin on mycelial growth and conidial germination of *Alternaria suffruticosa* [J]. Acta Phytophyl Sin, 41(3): 367-372. [侯颖,徐建强,宋宇州,等,2014.三种杀菌剂对牡丹黑斑病菌菌丝生长及分生孢子萌发的影响[J].植物保护学报,41(3):367-372.]
- HUANG Y, 2002. Study on the chemical constituents of four species of higher fungi and two species of tropical plants [D]. Kunming: Kunming Institute of Botany: 20-22. [黄悦,2002.四种高等真菌和两种热带植物的化学成分研究[D].昆明:中国科学院昆明植物研究所:20-22.]
- KIM JH, YOO KH, KIM YS, et al, 2012. Detection of biological activities of wild mushroom methanol extracts [J]. Kor J Mycol, 40(4): 296-298.
- KIRK PM, CANNON PF, STALPERS JA, et al, 2008. Ainsworth and bisby's dictionary of the fungi (10 ed) [M]. Wallingford: CABI: 1-771.
- KOBOR M, YOSHIDA M, OHNISHI-KAMEYAMA M, et al, 2006. 5α , 8α -Epidioxy-22E-ergosta-6,9(11),22-trien- 3β -ol from an edible mushroom suppresses growth of HL60 leukemia and HT29 colon adenocarcinoma cells [J]. Biol Pharm Bull, 29(4): 755-759.
- LI XD, JIANG HM, HUO YY, et al, 2015. Chemical constituents of petroleum ether fraction of the pericarps of *Rosa daurica* pall. and their inhibitory activity on lipase and α -glucosidase [J]. Nat Prod Res Dev, 27(6): 1011-1015. [李小第,姜会敏,霍雅玉,等,2015.刺玫果果肉石油醚层化学成分及胰脂酶和 α -糖苷酶抑制活性研究[J].天然产物研究与开发,27(6):1011-1015.]
- LI YW, 2016. Studies on chemical composition and antioxidant activity *in vitro* from *Tremella aurantialba* fruiting bodies [D]. Changchun: Jilin Agricultural University: 20. [李元伟,2016.金耳子实体化学成分及其体外抗氧化活性研究[D].长春:吉林农业大学:20.]
- LIU K, WANG J, ZHAO L, et al, 2014. Anticancer, antioxidant and antibiotic activities of mushroom *Ramaria flava* [J]. Food Chem Toxicol, 58(3): 375-380.
- LIU K, WANG JL, LI HX, et al, 2013. Research progress on antitumor low-molecular-weight compounds from macrofungi [J]. Nat Prod Res Dev, 25(6): 866-873. [刘坤,王俊丽,李会宣,等,2013.源于大型真菌的小分子抗肿瘤化合物研究进展[J].天然产物研究与开发,25(6):866-873.]
- LIU K, WANG JL, LI HX, et al, 2014. Recent progress in the research on low-molecular-weight secondary metabolites with antioxidant activity from macrofungi [J]. Microbiol Chin, 41(6): 1219-1230. [刘坤,王俊丽,李会宣,等,2014.大型真菌抗氧化活性小分子次生代谢产物的研究进展[J].微生物学通报,41(6):1219-1230.]
- WANG T, SI XQ, ZHOU GL, et al, 2017. *In vivo* anti-tumor effect and *in vitro* anti-angiogenic effect of alcohol extract from *Euphorbia prostrata* [J]. Chin J Chin Mat Med, 42(9): 1722-1729. [汪婷,司小琴,周国丽,等,2017.匍匐大戟醇提取物抗肿瘤及抑制血管新生作用[J].中国中药杂志,42(9):1722-1729.]
- XIAO Y, 2011. Research on the anti-inflammatory constituents of three plants from Xinjiang Uygur Autonomous Region [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University: 43. [肖皖,2011.三种新疆植物的抗炎活性成分研究[D].沈阳:沈阳药科大学:43.]
- YUAN MS, 2013. Color atlas of large fungus in China [M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press: 153. [袁明生,2013.中国大型真菌彩色图谱[M].成都:四川科学技术出版社:153.]
- ZHANG WJ, WONG LJ, YI LT, et al, 2017. Chemical constituents in whole herb of *Euphorbia lunulata* [J]. Chin Trad Herbal Drugs, 47(4): 554-558. [张文静,翁连进,易立涛,等,2016.猫眼草化学成分的研究[J].中草药,47(4):554-558.]
- ZHAO N, YUAN XL, HUA M, et al, 2017. Antimicrobial activity of secondary metabolites from lichen forming fungi [J]. Guihaia, 37(2): 242-247. [赵能,原晓龙,华梅,等,2017.地衣型真菌次级代谢产物抗菌活性初步研究[J].广西植物,37(2):242-247.]