

高盐条件下红树植物内生异色拟盘多毛孢菌 *Pestalotiopsis versicolor* 次级代谢产物的研究

洗嘉韵^{1,2}, 林秀萍¹, 王俊锋¹, 艾文¹, 秦淳^{1,3}, 钟志龙¹, 刘永宏^{1*}

¹中国科学院南海海洋研究所 中国科学院热带海洋生物资源与生态重点实验室, 广州 510301;

²中国科学院大学, 北京 100049; ³暨南大学化学系, 广州 510301

摘要:对红树植物桐花树内生异色拟盘多毛孢菌 (*Pestalotiopsis versicolor*) 高盐条件下固体发酵培养物的化学成分进行研究。利用硅胶柱层析, Sephadex LH-20 凝胶柱层析, 半制备高效液相色谱仪等分离手段对内生异色拟盘多毛孢菌 (*P. versicolor*) 的提取物进行分离纯化, 并利用各种波谱方法, 结合文献对照, 确定化合物结构。从提取物中分离得到 9 个化合物, 经鉴定为 pestalachloride B (**1**)、1,6,8-三羟基-3-(羟甲基)蒽醌 (**2**)、大黄素 (**3**)、麦角甾-6,22-二烯-5 α ,8 α -环二氧-3-醇 (**4**)、3 β -羟基-5-胆甾烯-6-酮 (**5**)、3-吲哚甲醛 (**6**)、4,6-二羟基-1(3H)-异苯并呋喃酮 (**7**)、2-(4-羟苯基)乙醇 (**8**)、对羟苯基甲醛 (**9**)。其中, 化合物 **1~3**、**6~8** 为首次从该种真菌中分离得到。

关键词: 红树林; 桐花树; 内生真菌; 异色拟盘多毛孢菌; 高盐

中图分类号: R931.77

文献标识码: A

Secondary Metabolites from Mangroves Endophytic Fungus *Pestalotiopsis versicolor* under High Salinity Environment

XIAN Jia-yun^{1,2}, LIN Xiu-ping¹, WANG Jun-feng¹, AI Wen¹, QIN Chun^{1,3}, ZHONG Zhi-long¹, LIU Yong-hong^{1*}

¹CAS Key Laboratory of Tropical Marine Bio-resources and Ecology, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China; ²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

³Department of Chemistry, Jinan University, Guangzhou 510301, China

Abstract: Secondary metabolites of mangrove endophytic fungus *Pestalotiopsis versicolor* fermented in solid medium under high salinity environment were studied. Nine compounds were isolated using various chromatographic purification methods, including column chromatography (CC), preparative thin-layer chromatography (PTLC), high-performance liquid chromatography (HPLC), and Sephadex LH-20. Their structures were identified as pestalachloride B (**1**), 1,6,8-trihydroxy-3-(hydroxymethyl) anthraquinone (**2**), emodin (**3**), ergosterol-6,22-diene-5 α ,8 α -epidioxy-3-ol (**4**), 3 β -hydroxyl-5-cholestene-6-ketone (**5**), indole-3-carboxaldehyde (**6**), 4,6-dihydroxy-1(3H)-isobenzofuranone (**7**), 2-(4-hydroxyphenyl) ethanol (**8**), and 4-hydroxybenzaldehyde (**9**) according to their physicochemical properties and spectral data. Compound **1-3**, **6-8** were isolated from *P. versicolor* for the first time.

Key words: mangrove; *Aegiceras corniculatum*; endophytic fungus; *Pestalotiopsis versicolor*; high salinity

红树是生长在海洋与陆地间的本木植物, 红树植物中可能存在某些特殊的化学反应和化学物质用以适应这种特殊的高盐潮汐环境, 提高自身的生存能力。生长于这类特殊植物体内的内生真菌在物种分布、代谢途径或代谢产物多样性方面也有其特性。近年来, 许多天然产物学家率先开展红树林植物内

生真菌活性物质的研究, 已分离出一批骨架新颖的化合物, 具有抗菌^[1]、抗肿瘤^[2]、抗氧化^[3]等活性。已报道的红树林内生真菌主要类群有链格孢霉属 (*Alternaria*)、曲霉属 (*Aspergillus*)、芽枝霉属 (*Cladosporium*)、炭疽菌属 (*Colletotrichum*)、链孢霉属 (*Fusarium*)、拟青霉属 (*Paecilomyces*)、拟盘多毛孢属 (*Pestalotiopsis*)、青霉属 (*Penicillium*)、茎点霉属 (*Phoma*)、镰孢霉属 (*Fusarium*)、拟茎点霉属 (*Phomopsis*)、叶点霉属 (*Phyllosticta*) 和木霉属 (*Trichoderma*) 等^[4]。

收稿日期: 2013-09-22 接受日期: 2014-03-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31270402); 国家海洋局海洋生物活性物质与现代分析技术重点实验室资助项目 (MBSMAT-2013-02)

* 通讯作者 Tel: 86-20-89023244; E-mail: yonghongliu@scsio.ac.cn

本研究的红树植物内生真菌为 *Pestalotiopsis versicolor*。*Pestalotiopsis* 属的真菌广泛存在于自然界中,主要作为热带植物内生或是病原真菌。近年来,发现该属真菌能够产生许多结构类型丰富、活性广泛的次级代谢产物,如著名的抗肿瘤药物紫杉醇(Paclitaxel)^[5]。其他次级代谢产物主要包括生物碱、萜类化合物、异香豆素衍生物、多肽、氧杂蒽酮及其衍生物、简单的酚类化合物、酚酸和内酯等,具有抗菌、抗病毒、抗癌等药理作用^[6]。本文对红树植物内生真菌异色拟盘多毛孢菌(*P. versicolor*)高盐条件下的次级代谢产物进行研究,分离得到9个化合物,分别为 pestalachloride B(**1**)、1,6,8-三羟基-3-(羟甲基)蒽醌(**2**)、大黄素(**3**)、麦角甾-6,22-二烯-5 α ,8 α -环二氧-3-醇(**4**)、3 β -羟基-5-胆甾烯-6-酮(**5**)、3-吡啶甲醛(**6**)、4,6-二羟基-1(3H)-异苯并呋喃酮(**7**)、2-(4-羟苯基)乙醇(**8**)、对羟基苯甲醛(**9**)。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

MCO-15AC 型 CO₂ 培养箱(SANYO);BS110S 型电子天平(德国塞多利斯股份公司);EYELA N-1001 型旋转蒸发器(上海爱朗仪器有限公司);SHZ-CB 型循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限公司);DLSB 5L/25 型低温冷却循环泵(巩义市予华仪器有限公司);ZF-20D 型紫外分析仪(巩义市予华仪器有限公司);KQ-250DB 型超声仪(巩义市予华仪器有限公司);DHG-9101-2SA 型电热恒温鼓风干燥箱(上海三发科学仪器有限公司);AVANCE500 核磁共振仪(美国 BRUKER 公司);MAT 95XP 快原子轰击质谱仪(美国热电公司);DSQ 电子电离质谱仪(美国热电公司);XT5 显微熔点测定仪(北京科仪电光仪器厂);FCD-270GSA 型卧式双层冷冻冷藏柜(青岛海尔电器有限公司);JASCO FT/IR-480 plus spectrometers 红外色谱仪;JASCO P-1020 digital polarimeter 旋光仪。薄层硅胶板(烟台江友硅胶开发有限公司);硅胶 H(青岛海洋化学试剂厂);RP-18 反相硅胶(80~100目)(德国 Merck 公司);Sephadex LH-20(Pharmacia);显色剂:10% 硫酸乙醇溶液,碘。

所用试剂均为分析纯,购自广州化学试剂厂。

1.2 实验材料

异色拟盘多毛孢菌 *P. versicolor* 分离自我国南

海海域红树植物桐花树的树枝,经本课题组林秀萍博士鉴定为 *P. versicolor*。该菌株现存放于中国科学院热带海洋生物资源与生态重点实验室。

1.3 菌株发酵

将菌株接种到平板上,置 25 °C 培养 7 d 后,接种到 10 mL 液体培养基中,置 25 °C,180 rpm 振荡培养 2 d,然后全部转接至装有 200 g 大米固体培养基(大米 200 g,自来水 200 mL,粗海盐 2 g)的 1 L 三角瓶中,共接种 30 瓶,静置培养 65 d,得到固体发酵培养物。

1.4 提取与分离

将固体发酵培养物捣碎,加入丙酮(V_{丙酮}:V_{捣碎的培养物}=2:1),充分搅拌后,超声提取 10 min,再浸泡过夜,抽滤,收集上清液。残渣再以乙酸乙酯(V_{乙酸乙酯}:V_{残渣}=1:1)浸提 3 次,每次充分搅拌后,超声提取 10 min,再浸泡过夜,抽滤,收集上清液。将 4 次浸提得到的上清液合并。用循环式真空泵(SHZ-CB 型)及旋转蒸发器(EYELA N-1001 型)进行减压蒸馏以除去样品的有机溶剂,水浴控制温度低于 60 °C,收集残余物(油膏)。将油膏混悬于水中(V_水:V_{油膏}=1:1),以水饱和的乙酸乙酯(V_{乙酸乙酯}:V_{油膏水混悬物}=1:1)进行萃取,经减压蒸馏除去乙酸乙酯后,得到浸膏(约 160 g)。

浸膏经 300~400 目的硅胶柱层析(CHCl₃:MeOH=100:0~1:1)梯度洗脱得到 10 个馏分。馏分 5 经 Sephadex LH-20 凝胶柱层析(CHCl₃:MeOH=1:1),重结晶后得到化合物 **4**(10.0 mg)。馏分 6 经 Sephadex LH-20 凝胶柱层析(CHCl₃:MeOH=1:1),Sephadex LH-20 凝胶柱层析(MeOH),硅胶柱层析(Petroleum:Acetone=5:1)后得到化合物 **8**(7.5 mg),馏分 7 经 Sephadex LH-20 凝胶柱层析(CHCl₃:MeOH=1:1),重结晶后得到化合物 **5**(11.4 mg),硅胶柱层析(CHCl₃:MeOH=50:1)后得到化合物 **6**(6.9 mg)、**7**(4.6 mg)和 **1**(9.7 mg)。馏分 7 经 Sephadex LH-20 凝胶柱层析(CHCl₃:MeOH=1:1),硅胶柱层析(CHCl₃)分离得到化合物 **2**(14.8 mg)和 **3**(11.6 mg),重结晶分离得到化合物 **9**(10.4 mg)。

2 结构鉴定

化合物 **1** 黄色固体,C₂₀H₁₈Cl₂O₅,254 nm 下有紫外吸收,TLC 展开 10% 硫酸乙醇显黄绿色斑点;ESI-MS *m/z* 407 [M-H]⁻;¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ_{H} : 5.28 (2H, s, H-1), 6.47 (1H, s, H-4),

3.31 (2H, d, $J = 6.0$ Hz, H-1'), 5.12 (1H, t, $J = 6.0$ Hz, H-2'), 1.68 (3H, s, H-4'), 1.73 (3H, s, H-5'), 2.53 (3H, s, H-1''), 6.07 (1H, s, 5-OH), 6.64 (1H, s, 3-OH), 12.87 (1H, s, 10-OH); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ_{C} : 66.1 (t, C-1), 114.6 (s, C-2), 151.3 (s, C-3), 106.8 (d, C-4), 156.5 (s, C-5), 119.5 (s, C-6), 141.3 (s, C-7), 198.2 (s, C-8), 111.7 (s, C-9), 155.6 (s, C-10), 114.9 (s, C-11), 144.1 (s, C-12), 114.9 (s, C-13), 155.3 (s, C-14), 25.7 (t, C-1'), 121.9 (d, C-2'), 135.3 (s, C-3'), 25.6 (q, C-4'), 17.9 (q, C-5'), 19.1 (q, C-1'')。以上数据与文献^[7]对照基本一致,确定化合物结构为 pestalachloride B。

化合物 2 黄色绒毛状结晶, $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$, 254 nm 下有紫外吸收, TLC 展开 10% 硫酸乙醇显黄色斑点; ESI-MS m/z 285 $[\text{M} - \text{H}]^-$; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ_{H} : 7.26 (1H, s, H-2), 7.66 (1H, s, H-4), 7.14 (1H, s, H-5), 6.61 (1H, s, H-7), 4.61 (2H, s, H-1'), 12.08 (1H, s, 1-OH), 5.57 (1H, s, 6-OH), 12.11 (1H, s, 8-OH); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 125 MHz) δ_{C} : 161.5 (s, C-1), 120.9 (d, C-2), 152.9 (s, C-3), 117.1 (d, C-4), 133.0 (s, C-4a), 108.9 (d, C-5), 164.5 (s, C-6), 108.0 (d, C-7), 165.7 (s, C-8), 109.1 (s, C-8a), 189.8 (s, C-9), 114.2 (s, C-9a), 181.5 (s, C-10), 135.3 (s, C-10a), 62.1 (t, C-1')。以上数据与文献^[8]对照基本一致,确定化合物结构为 1,6,8-三羟基-3-(羟甲基)萹酮。

化合物 3 黄色针状结晶, $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$, 254 nm 下有紫外吸收, TLC 展开 10% 硫酸乙醇显黄色斑点; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ_{H} : 7.18 (1H, s, H-2), 7.51 (1H, s, H-4), 7.12 (1H, s, H-5), 6.58 (1H, s, H-7), 2.43 (3H, s, H-1'), 12.10 (2H, brs, 1-OH, 8-OH), 5.60 (1H, s, 6-OH); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 125 MHz) δ_{C} : 161.2 (s, C-1), 123.8 (d, C-2), 148.2 (s, C-3), 120.2 (d, C-4), 132.6 (s, C-4a), 108.6 (d, C-5), 164.6 (s, C-6), 107.9 (d, C-7), 165.2 (s, C-8), 108.9 (s, C-8a), 189.4 (s, C-9), 112.9 (s, C-9a), 181.0 (s, C-10), 134.8 (s, C-10a), 21.4 (q, C-1')。以上数据与文献^[9]对照基本一致,确定化合物结构为大黄素。

化合物 4 白色针状结晶, $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$, 254 nm 下无紫外吸收, TLC 展开 10% 硫酸乙醇显蓝色斑点; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ_{H} : 3.98 (1H, m, H-

3), 6.24 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 6.51 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7), 0.82 (3H, s, H-18), 0.88 (3H, s, H-19), 1.01 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 5.14 (1H, m, H-22), 5.24 (1H, m, H-23), 0.82 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-26), 0.83 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-27), 0.91 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-28); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ_{C} : 34.8 (t, C-1), 30.2 (t, C-2), 66.5 (d, C-3), 36.9 (t, C-4), 82.2 (s, C-5), 135.5 (d, C-6), 131.0 (d, C-7), 80.1 (s, C-8), 51.9 (d, C-9), 37.1 (s, C-10), 23.6 (t, C-11), 40.6 (t, C-12), 44.8 (s, C-13), 52.0 (d, C-14), 21.0 (t, C-15), 29.3 (t, C-16), 56.1 (d, C-17), 13.0 (q, C-18), 18.0 (q, C-19), 40.1 (d, C-20), 21.2 (q, C-21), 135.9 (d, C-22), 132.3 (d, C-23), 43.0 (d, C-24), 33.5 (d, C-25), 19.6 (q, C-26), 20.6 (q, C-27), 18.5 (q, C-28)。以上数据与文献^[10]对照,基本一致,确定化合物结构为麦角甾-6,22-二烯-5 α ,8 α -环二氧-3-醇。

化合物 5 白色针状结晶, $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_2$, 254 nm 下有紫外吸收, TLC 展开 10% 硫酸乙醇显棕红色斑点; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ_{H} : 3.70 (1H, m, H-3), 5.69 (1H, s, H-6), 0.68 (3H, s, H-18), 1.20 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-21), 0.84 (6H, d, $J = 7.5$ Hz, H-26, H-27); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ_{C} : 37.7 (t, C-1), 31.9 (t, C-2), 71.4 (d, C-3), 35.8 (t, C-4), 169.3 (s, C-5), 126.4 (d, C-6), 202.4 (s, C-7), 44.4 (d, C-8), 46.7 (d, C-9), 39.8 (s, C-10), 22.3 (t, C-11), 40.8 (t, C-12), 42.8 (s, C-13), 49.9 (d, C-14), 27.5 (t, C-15), 29.3 (t, C-16), 54.9 (d, C-17), 12.5 (q, C-18), 17.7 (q, C-19), 37.1 (d, C-20), 19.5 (q, C-21), 29.7 (t, C-22), 23.3 (t, C-23), 39.5 (t, C-24), 28.1 (d, C-25), 22.9 (q, C-26), 22.8 (q, C-27)。以上数据与文献^[11]对照基本一致,因此确定化合物为 3 β -羟基-5-胆甾烯-6-酮。

化合物 6 白色无定性粉末, $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$, 254 nm 下有紫外吸收, TLC 展开 10% 硫酸乙醇显红色斑点; ^1H NMR (MeOD , 500 MHz) δ_{H} : 8.13 (1H, s, H-2), 8.18 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 7.25 ~ 7.32 (2H, m, H-6, H-7), 7.50 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-8), 9.90 (1H, s, H-10); ^{13}C NMR (MeOD , 125 MHz) δ_{C} : 139.7 (d, C-2), 120.2 (s, C-3), 126.9 (s, C-4), 122.7 (d, C-5), 125.0 (d, C-6), 125.8 (d, C-7),

111.3 (d, C-8), 138.7 (s, C-9), 187.4 (d, C-10)。以上数据与文献^[12]对照基本一致,确定化合物结构为3-吡啶甲醛。

化合物7 白色固体, $C_8H_6O_4$, 254 nm 下有紫外吸收, TLC 展开 10% 硫酸乙醇显棕色斑点; 1H NMR (MeOD, 500 MHz) δ_H : 5.22 (2H, s, H-3), 6.61 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-5), 6.73 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-7); ^{13}C NMR (MeOD, 125 MHz) δ_C : 171.3 (s, C-1), 67.4 (t, C-3), 152.3 (s, C-4), 126.7 (s, C-4a), 107.4 (d, C-5), 159.2 (s, C-6), 100.5 (d, C-7), 124.3 (s, C-7a)。以上数据与文献^[13]对照基本一致,确定化合物结构为4,6-二羟基-1(3H)-异苯并呋喃酮。

化合物8 白色固体, $C_8H_{10}O_2$, 254 nm 下有紫外吸收, TLC 展开 10% 硫酸乙醇显棕色斑点; ESI-MS m/z 137 [M - H]⁻; 1H NMR (MeOD, 500 MHz) δ_H : 7.04 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, H-6), 6.71 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3, H-5), 2.72 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 3.68 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2')。以上数据与文献^[14]对照基本一致,确定化合物结构为2-(4-羟苯基)乙醇。

化合物9 白色固体, $C_7H_6O_2$, 254 nm 下有紫外吸收, TLC 展开 10% 硫酸乙醇显棕色斑点; 1H NMR (CD_3COCD_3 , 500 MHz) δ_H : 9.55 (1H, s, H-1), 7.80 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3, H-7), 7.00 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-4, H-6), 9.85 (1H, s, 4-OH); ^{13}C NMR (CD_3COCD_3 , 125 MHz) δ_C : 192.5 (s, C-1), 129.9 (s, C-2), 133.4 (d, C-3, C-7), 166.9 (s, C-5), 117.8 (d, C-4, C-6)。以上数据与文献^[15]对照基本一致,确定化合物结构为对羟基苯甲醛。

3 结论

从红树植物桐花树内生真菌异色拟盘多毛孢菌 (*P. versicolor*) 高盐条件下的大米发酵物中共提取得到9个化合物,其中化合物**1**为含氮化合物,化合物**1~3**、**6~8**为首次从该种真菌中分离得到。

参考文献

- Huang ZJ, Cai XJ, Shao CL, *et al.* Chemistry and weak antimicrobial activities of phomopsins produced by mangrove endophytic fungus *Phomopsis* sp. ZSU-H76. *Phytochemistry*, 2008, 69: 1604-1608.
- Xie G, Zhu X, Li Q, *et al.* SZ-685C, a marine anthraquinone,

is a potent inducer of apoptosis with anticancer activity by suppression of the Akt/FOXO pathway. *Brit J Pharmacol*, 2010, 159: 689-697.

- Chen Y, Mao WJ, Tao HW, *et al.* Structural characterization and antioxidant properties of an exopolysaccharide produced by the mangrove endophytic fungus *Aspergillus* sp. Y16. *Bioresource Technol*, 2011, 102: 8179-8184.
- Liu AR (刘爱荣), Wu XP (吴晓鹏), Xu T (徐同), Research advances in endophytic fungi of mangrove. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 2007, 18: 912-918.
- Kathiravan G, Raman VS. *In vitro* TAXOL production, by *Pestalotiopsis breviseta*-A first report. *Fitoterapia*, 2010, 81: 557-564.
- Xu J, Ebada SS, Proksch P. *Pestalotiopsis* a highly creative genus: chemistry and bioactivity of secondary metabolites. *Fungal Divers*, 2010, 44: 15-31.
- Li EW, Jiang LH, Guo LD, *et al.* Pestalochlorides A-C, antifungal metabolites from the plant endophytic fungus *Pestalotiopsis adusta*. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16: 7894-7899.
- Fujimoto H, Nakamura E, Okuyama E, *et al.* Six immunosuppressive features from an Ascomycete, *Zopfiella longicaudata*, found in a screening study monitored by immunomodulatory activity. *Chem Pharm Bull*, 2004, 52: 1005-1008.
- Hua Y (华燕), Zhou JY (周建于), Ni W (倪伟), *et al.* Study on the constituents of *Reynoutria japonica* Houtt. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2001, 13: 16-18.
- Zhong HM (钟惠民), Wang XJ (王现杰), Tang XL (唐旭利), *et al.* Study on cytotoxic constituents of soft coral *Sinularia* sp. from the South China Sea. *J Qingdao Univ Sci Technol, Nat Sci* (青岛科技大学学报, 自科版), 2009, 30: 26-30.
- Sun JF (孙见凡), Li YQ (李云秋), Yang B (杨斌), *et al.* Steroids from south China sea sponge *Halichondria* sp. *J Trop Ocean* (热带海洋学报), 2013, 32: 55-59.
- Shen MX (沈明曦), Chen G (陈刚), Li W (李文), *et al.* Isolation and structure identification of chemical constituents from marine bacterium *Pantoea agglomerans*. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 2012, 22: 127-130.
- Gao YJ (高云佳), Zhao QC (赵庆春), Min P (闵鹏), *et al.* Chemical constituents of *Lasiosphaera fenzlii* Reich. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 2010, 20: 47-49.
- Park CH, Kim KH, Lee IK, *et al.* Phenolic constituents of *Acorus gramineus*. *Arch Pharm Res*, 2011, 34: 1289-1296.
- Chae J. Practical demethylation of aryl methyl ethers using an odorless thiol reagent. *Arch Pharm Res*, 2008, 31: 305-309.