

亚洲兰茂牛肝菌的化学成分及其活性

汤婧^{1,2}, 徐锐², 赵雪², 王雨婷^{1,2}, 谭鸿雨^{2,3}, 单俊杰^{2*}, 李长伟^{2*}, 崔承彬²

1 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046

2 军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所 抗毒药物与毒理学国家重点实验室, 北京 100850

3 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

摘要: 对亚洲兰茂牛肝菌 *Lanmaoa asiatica* (“见手青”) 的化学成分和生物活性进行研究。采用多种柱色谱技术以及重结晶等方式对其 95%乙醇提取物的乙酸乙酯萃取物进行分离纯化, 共得到 17 个单体化合物。根据波谱数据及文献比对鉴定了化合物的结构, 其中 9 个为甾体类化合物: citreanthrasteroid (1)、1(10→6)*abeo*-麦角甾-5,7,9,22-四烯-11 β -甲氧基-3 α -醇(2)、3 β ,5 α ,9 α -trihydroxy-6 β -methoxyergosta-7,22-dien (3)、过氧化麦角甾醇(4)、9(11)-去氢过氧化麦角甾醇(5)、3 β -羟基-(22*E*,24*R*)-麦角甾-5,8(9),22-烯-7-酮(6)、(24*S*)-麦角甾-7-烯-3 β -醇(7)、22*E*,24*R*-麦角甾-7,22-二烯-3 β -醇(8)和麦角甾醇(9); 其余化合物分别为: 腺嘌呤核苷(10)、5'-deoxy-5'-methylamino-adenosine (11)、5'-deoxy-5'-methylamino-9-(α -L-lyxofuranosyl)adenine (12)、(*R*)-4-methylpiperidin-2-one (13)、尿嘧啶核苷(14)、尿嘧啶(15)、烟酰胺(16)和 1(2)-linolyl-2(1)-palmityl-glycero-*O*-4'-(*N,N,N*-trimethyl)homoserine (17)。其中化合物 1-3 的核磁信号全归属为首次报道, 化合物 13 为新天然产物, 化合物 1-17 均为该种首次分离。利用 MTT 法测定化合物对肿瘤细胞的细胞毒活性, 结果显示甾体类化合物 1、3-6 和 9 对人乳腺癌细胞(MCF-7)、小鼠小胶质细胞(BV2)和人肺癌细胞(A549)均有较强的细胞毒活性。化合物 10 对 BV2 细胞呈现出中等强度的细胞毒活性, 其 IC₅₀ 值为 48.34 μ mol/L。本研究对亚洲兰茂牛肝菌的化学成分进行了较为系统的研究, 对亚洲兰茂牛肝菌的进一步开发利用具有重要意义。

关键词: 亚洲兰茂牛肝菌; 化学成分; 细胞毒活性

[引用本文]

汤婧, 徐锐, 赵雪, 王雨婷, 谭鸿雨, 单俊杰, 李长伟, 崔承彬, 2023. 亚洲兰茂牛肝菌的化学成分及其活性. 菌物学报, 42(6): 1345-1359

Tang J, Xu R, Zhao X, Wang YT, Tan HY, Shan JJ, Li CW, Cui CB, 2023. Chemical constituents and their biological activities of *Lanmaoa asiatica*. Mycosystema, 42(6): 1345-1359

*Corresponding authors. E-mail: SHAN Junjie, shanjunjie001@126.com; LI Changwei, sdrclw@126.com

ORCID: LI Changwei (0000-0002-8998-1508)

Received: 2022-06-30; Accepted: 2022-08-01

Chemical constituents and their biological activities of *Lanmaoa asiatica*

TANG Jing^{1,2}, XU Rui², ZHAO Xue², WANG Yuting^{1,2}, TAN Hongyu^{2,3}, SHAN Junjie^{2*}, LI Changwei^{2*}, CUI Chengbin²

1 School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu, China

2 State Key Laboratory of Toxicology and Medical Countermeasures, Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China

3 School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, Liaoning, China

Abstract: The chemical constituents and their biological activities of the fruiting bodies of *Lanmaoa asiatica*, a kind of “lurid boletes”, were studied. Seventeen compounds including nine steroids were isolated from the ethyl acetate extract of 95% ethanol extract of the fungus by various column chromatography techniques or recrystallization. The structures of the isolated compounds were identified as citreanthrasteroid (1), 1(10→6)*abeo*-ergosta-5,7,9,22-tetraen-11 β -methoxy-3 α -ol (2), 3 β ,5 α ,9 α -trihydroxy-6 β -methoxyergosta-7,22-dien (3), ergosterol peroxide (4), 9(11)-dehydroergosterol peroxide (5), 3 β -hydroxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-5,8(9),22-trien-7-one (6), (24*S*)-ergost-7-en-3 β -ol (7), (22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-3 β -ol (8), ergosterol (9), adenosine (10), 5'-deoxy-5'-methylamino-adenosine (11), 5'-deoxy-5'-methylamino-9-(α -L-lyxofuranosyl)adenine (12), (*R*)-4-methylpiperidin-2-one (13), uridine (14), uracil (15), nicotinamide (16) and 1(2)-linolyl-2(1)-palmityl-glycero-*O*-4'-(*N,N,N*-trimethyl)homoserine (17). Among them, the exact assignments of the NMR signals of 1–3 were reported for the first time, compound 13 was a new natural product, and compounds 1–17 were reported to be isolated from *Lanmaoa asiatica* for the first time. The cytotoxic activity of 1–17 was evaluated by MTT assay, and the results showed that 1, 3–6 and 9 displayed relatively strong cytotoxic activity against human breast cancer cells (MCF-7), mouse microglia cells (BV2) and human lung cancer cells (A549). Compound 10 displayed moderate cytotoxic activity against BV2 cells, with an IC₅₀ of 48.34 μ mol/L. The chemical constituents of *Lanmaoa asiatica* were comprehensively investigated, and this study will be meaningful in utilization of *Lanmaoa asiatica*.

Keywords: *Lanmaoa asiatica*; chemical constituent; cytotoxic activity

亚洲兰茂牛肝菌 *Lanmaoa asiatica* 隶属牛肝菌科 Boletaceae、牛肝菌属 *Boletus*，因子实体菌盖及菌柄基部颜色呈砖红色，被当地人俗称“红葱”；当受到机械损伤菌褶内部组织很快氧化变色，所以也称“见手青”（杨利梅等 2020）。亚洲兰茂牛肝菌一直被误认为双色牛肝菌 *Boletus bicolor* Raddi、华美牛肝菌 *Boletus speciosus*（孙达锋等 2021），直到 Wu *et al.* (2016) 结合现代分子手段，才将其定名为亚洲兰茂牛肝菌 *Lanmaoa asiatica* G. Wu & Zhu L. Yang。

亚洲兰茂牛肝菌子实体(g/100 g)含有蛋白 56.0、脂肪 2.0、粗纤维 17.0、粗多糖 7.20、可溶性糖 7.60、必需氨基酸 13.76、总氨基酸 33.40、鲜味氨基酸 13.04 等营养成分(伍燕等 2021)。在其菌柄及菌盖中分离得到了一些鲜味肽：FKDLGEENFK (1 225.598 Da)、KMDDFAAFVEK (1 357.622 Da)、Phe-Phe-Ala-Lys 和 Val-Leu-Leu-Leu-Arg (张蓝云 2020；梁佳明等 2021)。在药理方面，亚洲兰茂牛肝菌可通过增强以 T、B 细胞为代表的适应性免疫功能，对机体免疫系统产生潜

在的正向调节作用(苏璐等 2018)。亚洲兰茂牛肝菌还有一定的保肝作用,该作用可能与其含有的麦角硫因成分密切相关(万安露 2019)。

亚洲兰茂牛肝菌因其子实体黏软多汁、香滑可口,而深受人们喜爱,但因其加工不当而造成中毒的现象也屡见不鲜。目前有关于亚洲兰茂牛肝菌的研究多集中在鉴定、营养成分以及鲜味肽的分离等方面,关于其化学活性成分研究的报道较少,且尚未阐明其导致中毒的物质基础。本研究对亚洲兰茂牛肝菌 95%乙醇提取物的乙酸乙酯萃取物的化学成分进行了较为系统的分析,并对分离得到的化合物进行了细胞毒活性的初步评价,为该菌菇的进一步开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 亚洲兰茂牛肝菌

供试牛肝菌购自保定凯升商贸有限公司,采自云南楚雄地区,由中国科学院微生物研究所赵瑞琳研究员鉴定为亚洲兰茂牛肝菌 *Lanmaoa asiatica* G. Wu & Zhu L. Yang, 其标本保藏于毒物药物研究所。

1.1.2 细胞株

细胞株:人乳腺癌细胞(MCF-7)、人肺癌细胞(A549)和小鼠小胶质细胞(BV2)分别由军事医学研究院毒物药物研究所的骆媛和肖智勇副研究员提供。

1.1.3 试剂及耗材

柱层析硅胶(200–300 目)(青岛海洋化工厂分厂), HSGF254 薄层色谱硅胶预制板(烟台华阳新材料科技有限公司), 色谱溶剂(乙腈、甲醇, 赛默飞世尔科技有限公司), 乙醇、甲醇、乙酸乙酯、二氯甲烷和丙酮等其他试剂为分析纯(国药集团化学试剂有限公司), 羟丙基葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (GE Healthcare), 反相硅胶填料 ODS (50 μm , 北京英莱克科技发展有限公司),

DMEM 培养基(批号 RNBj7482, Amresco)、RPMI-1640 培养基(批号 RNBj6706, Sigma-Aldrich)和 MTT 试剂(批号 0793, Sigma-Aldrich), 胎牛血清(浙江天杭生物科技股份有限公司)、5-氟尿嘧啶(5-FU, 批号 5402, 阿拉丁试剂有限公司)。Venusil XBP C4 (5 μm , 4.6 mm $\times$ 250 mm; 博纳艾杰尔), Capcell pak C18 AQ、Capcell pak C18 MGII、Capcell pak C18 UG80 (5 μm , 4.6 mm $\times$ 250 mm; 资生堂) 用于分析型 HPLC; Venusil XBP C4 (5 μm , 21.5 mm $\times$ 250 mm; 博纳艾杰尔), Capcell pak C18 AQ、Capcell pak C18 MGII、Capcell pak C18 UG80 (5 μm , 20 mm $\times$ 250 mm; 资生堂), Positsil C18 (8 μm , 30 mm $\times$ 250 mm; 英莱克)用于制备型 HPLC。

1.1.4 仪器

高效液相色谱仪(沃特世公司 Waters600、岛津公司 LC-15C、上海三为科学仪器有限公司); Bruker-600 核磁共振仪(布鲁克公司); MCO-18AIC 型二氧化碳培养箱(三洋); 1360B 超净工作台(北京亚泰科隆仪器技术有限公司); 离心机(贺力氏公司 Biofuge fresco 型离心机、Labofuge 400R 型离心机); 倒置荧光显微镜(麦克奥迪 AE31 EF-INV 型显微镜); 旋转蒸发仪(东京理化 EYELA-N1000 型旋转蒸发仪); SpectraMax ABS Plus 酶标仪(MD 公司); API-3000 型 ESI-MS 质谱仪(AB 公司)。

1.2 方法

1.2.1 化学成分的提取、分离

称取约 6.2 kg 新鲜亚洲兰茂牛肝菌子实体, 手撕呈细条状, 用约 4 倍量 95%乙醇(24 L)超声浸提 3 次, 每次 50 min, 抽滤后合并滤液, 于旋转蒸发仪 45 $^{\circ}\text{C}$ 减压浓缩后得亚洲兰茂牛肝菌醇提物 273.26 g, 将其在 5 L 蒸馏水中分散, 用 5 L 乙酸乙酯萃取 6 次, 合并萃取液, 减压浓缩后得乙酸乙酯萃取物 24.51 g, 水溶浸膏约 245 g。

将乙酸乙酯萃取物进行减压硅胶柱层析(柱

床 6.7 cm×18.0 cm)分离,以石油醚-丙酮(体积比 10:1、8:1、6:1、4:1、2:1)→丙酮→丙酮-甲醇(体积比 2:1)→甲醇梯度洗脱,经薄层色谱(TLC)分析后合并,得到 5 个粗组分(Fr.1–Fr.5)。Fr.2 (4.58 g)进行减压 ODS 柱层析(柱床 4.4 cm×15.9 cm)分离,以水-甲醇(40/60-0/100)→甲醇-二氯甲烷(体积比 1:1)梯度洗脱得 5 个流分(Fr.2.1–Fr.2.5)。Fr.2.2 (0.68 g)经高效液相色谱(HPLC)制备(MGII 色谱柱),87%甲醇等度洗脱,得到化合物 4 (390.0 mg, t_R =75.5 min)、化合物 5 (26.0 mg, t_R =61.0 min)和化合物 6 (8.6 mg, t_R =57.8 min)。Fr.2.4 (2.70 g)经 HPLC 制备(UG80 色谱柱),95%甲醇等度洗脱得 2 个流分:Fr.2.4.1 (76.0 mg, t_R =66.3 min)和 Fr.2.4.2 (其余流分);Fr.2.4.1 经甲醇重结晶后,通过 HPLC 制备(AQ 色谱柱),92%甲醇等度洗脱,得化合物 9 (16.5 mg, t_R =95.5 min);Fr.2.4.2 (2.13 g)进行减压硅胶柱层析(柱床 3.7 cm×14.7 cm)分离,以石油醚-丙酮(体积比 15:1、13:1、8:1、5:1)→丙酮梯度洗脱得 7 个流分(Fr.2.4.2.1–Fr.2.4.2.7);Fr.2.4.2.3 (0.88 g)经 HPLC 制备得到化合物 1 (8.1 mg, Venusil XBP C4, 72%乙腈, t_R =102.5 min)和化合物 2 (1.8 mg, Venusil XBP C4, 75%乙腈, t_R =87.0 min)。Fr.2.4.2.5 (0.95 g)经 HPLC 制备(AQ 色谱柱),67%乙腈等度洗脱得到化合物 3 (21.5 mg, t_R =95.8 min)。Fr.2.4.2.6 (0.14 g)经甲醇重结晶后,通过 HPLC 制备(UG80 色谱柱),95%甲醇等度洗脱,得化合物 7 (4.3 mg, t_R =122.2 min)和化合物 8 (15.2 mg, t_R =100.8 min)。

Fr.3 (5.26 g)进行减压 ODS 柱层析(柱床 3.6 cm×18.0 cm)分离,以水-甲醇(90/10-0/100)→甲醇-二氯甲烷(体积比 1:1)梯度洗脱得 9 个流分(Fr.3.1–Fr.3.9),Fr.3.1 (0.60 g)经 HPLC 制备(Positil 色谱柱),10%甲醇等度洗脱,得到包含化合物 15 (8.8 mg, t_R =7.1 min)在内的 10 个流分(Fr.3.1.1–Fr.3.1.10),分别将粗品 Fr.3.1.3 (23.0 mg)、Fr.3.1.5 (30.0 mg)、Fr.3.1.7 (44.0 mg)、Fr.3.1.8

(26.0 mg)和 Fr.3.1.9 (14.0 mg)经 HPLC 制备(C4 色谱柱,5%甲醇等度洗脱)纯化,得到化合物 14 (7.7 mg, t_R =18.8 min)、16 (18.3 mg, t_R =40.0 min)、11 (10.5 mg, t_R =79.0 min)、12 (13.5 mg, t_R =90.0 min)、10 (13.2 mg, t_R =86.8 min)以及 13 (5.8 mg, t_R =86.5 min)。

Fr.4 (10.20 g)进行减压 ODS 柱层析(柱床 5.5 cm×23.0 cm)分离,以水-甲醇(90/10-0/100)→甲醇-二氯甲烷(体积比 1:1)梯度洗脱得 8 个流分(Fr.4.1–Fr.4.8),Fr.4.6 (6.09 g)经 HPLC 制备(UG80 色谱柱),97%甲醇等度洗脱,得到 14 个流分(Fr.4.6.1–Fr.4.6.14)。Fr.4.6.12 (1.57 g, t_R =76.3 min)进行 2 次 Sephadex LH-20 凝胶柱层析(柱床 2.0 cm×136.0 cm)分离,以二氯甲烷-甲醇(体积比 1:1)等度洗脱得 3 个流分(Fr.4.6.12.1–Fr.4.6.12.3),Fr.4.6.12.2 (0.80 g)进行常压 ODS 柱层析(柱床 2.0 cm×82.0 cm)分离,以水-甲醇(10/90-0/100)梯度洗脱得 6 个流分(Fr.4.6.12.2.1–Fr.4.6.12.2.6),Fr.4.6.12.2.6 (297.0 mg)进行 Sephadex LH-20 凝胶柱层析(柱床 2.0 cm×138.0 cm)分离,以 80%甲醇等度洗脱得化合物 17 (134.0 mg)。

1.2.2 体外细胞毒活性测试

使用 MTT 法测定化合物 1–17 的细胞毒活性。以甲醇为空白对照,以 5-氟尿嘧啶(5-FU)为阳性对照。在甲醇中配制 5 mmol/L 待测化合物原液,在 DMSO 中配制 10 mg/mL 5-FU 原液,并进行一系列的稀释用于测定。以人肺癌细胞(A549)、人乳腺癌细胞(MCF-7)和小鼠小胶质细胞(BV2)为受试细胞,37 °C 处理 48 h,实验步骤参考 Wu *et al.* (2014)的方法。抑制率 $IR\% = (OD_{\text{空白}} - OD_{\text{样品}}) / OD_{\text{空白}} \times 100\%$,按 OD 平均值计算,抑制率为 50%时对应的浓度即为 IC_{50} 。

2 结果与分析

2.1 化合物的结构鉴定

从亚洲兰茂牛肝菌 95%乙醇提取物的乙酸乙酯萃取物中分离得到 17 个单体化合物,其中 9 个

为甾体类化合物(化合物 1–9), 4 个为核苷类化合物(化合物 10–12、14), 1 个甜菜碱脂类化合物(化合物 17), 结构见图 1。

化合物 1: 无色油状 (CH_2Cl_2), $[\alpha]_D^{28} -7.8$ (c 0.15, CH_2Cl_2), ESI-MS m/z 447 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_2$ 。 ^1H NMR 数据表明, 化合物 1 存在一个芳香环上的氢 δ 6.62 (1H, s, H-7); 2 个烯氢质子信号 δ 5.25 (1H, dd, $J=15.2, 7.0$ Hz, H-23)、 δ 5.21 (1H, dd, $J=15.2, 7.5$ Hz, H-22), 且耦合常数提示该双键为反式双键; 一个甲氧基氢信号 δ 3.25 (3H, s, -OMe); 6 个甲基氢信号, 其中 4 个甲基氢为二重峰: δ 1.09 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-21)、 δ 0.93 (3H, d, $J=6.7$ Hz, H-28)、 δ 0.84 (3H, d, $J=6.8$ Hz,

H-26)、 δ 0.84 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-27), 2 个甲基氢为单峰: δ 2.20 (3H, s, H-19)和 δ 0.44 (3H, s, H-18)。 ^{13}C NMR 数据显示化合物 1 的分子中含有 29 个碳原子, 其中包括 8 个 sp^2 杂化的碳: δ 139.1 (C-8)、 δ 136.4 (C-5)、 δ 135.5 (C-22)、 δ 135.0 (C-6)、 δ 132.4 (C-23)、 δ 131.5 (C-9)、 δ 130.7 (C-10) 和 δ 123.6 (C-7), 结合氢谱可推测化合物 1 是具有芳环骨架的甾体类化合物。经文献对比, 化合物 1 的 ^{13}C NMR 数据与文献报道的 citreanthrasteroid 的数据(Kosemura *et al.* 1995; Li *et al.* 2017)一致。3、7、11、18、19、21、22、23、26、27、28、-OMe 位上的 ^1H NMR 数据与刘向红(2012)和蒙春旺等(2018)的数据一致。通过 HSQC 谱图,

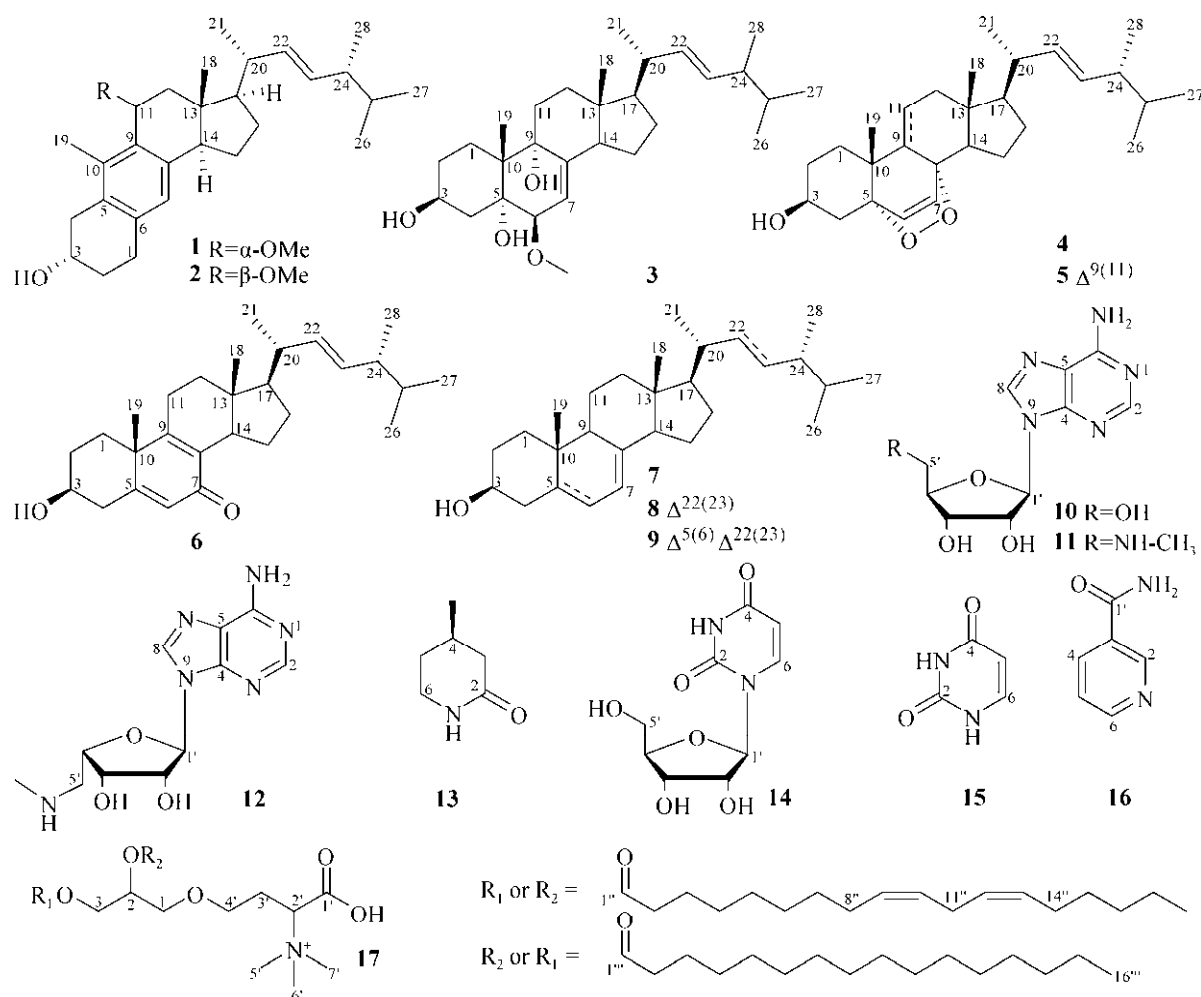


图 1 亚洲兰茂牛肝菌子实体中提取分离得到的化合物 1–17 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1–17 extracted from the fruiting bodies of *Lanmaoa asiatica*.

本实验首次对该化合物的氢谱数据进行了完整归属,并利用 ^1H - ^1H COSY 谱图(图 2)对数据归属进行了佐证。 ^1H and ^{13}C NMR 数据见表 1。

化合物 2: 无色油状 (CH_2Cl_2), $[\alpha]_{\text{D}}^{29} +27.0$ (c 0.12, CH_2Cl_2), ESI-MS m/z 406 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 分子式 $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_2$ 。化合物 2 的 ^1H 和 ^{13}C NMR 数据和化合物 1 基本一致。经文献对比,化合物 2 的 ^{13}C NMR 数据与 1(10 $\rightarrow$ 6)*abeo*-麦角甾-5,7,9,22-四烯-11 β -甲氧基-3 α -醇的数据(Nakada & Yamamura 2000)一致。3、7、11、18、19、21、22、23、26、27、28、-OMe 位上的 ^1H NMR 数据与刘向红(2012)和蒙春旺等(2018)的数据一致。本研究同样通过 HSQC 谱图首次对该化合物的氢谱数据进行了完整归属,并利用 ^1H - ^1H COSY 谱图(图 2)对数据归属进行了佐证。 ^1H and ^{13}C NMR 数据见表 1。

化合物 1 与 2 为一对差向异构体,尽管二者的核磁共振碳谱和氢谱数据非常接近,但其部分碳化学位移仍有较大差别,例如,化合物 1 中 C-8、C-12、C-13 的化学位移值均大于化合物 2 相应碳化学位移值,二者差值 $\Delta\delta$ 为 1.7 以上;而化合物 1 中 C-14 的化学位移值则明显低于化合物 2 相应碳化学位移值;化合物 2 中 H-18 的化学位移值(δ 0.71)显著大于化合物 1 (δ 0.44),二者差值 $\Delta\delta$ 为 0.27。将前述核磁以及比旋光度数据与 Nakada & Yamamura (2000)、刘向红(2012)和蒙春旺等(2018)数据比对可进一步确

定化合物 1 的 11 位甲氧基为 α 构型,化合物 2 的 11 位甲氧基为 β 构型。因此,化合物 1 鉴定为 citreanthrasteroid, 化合物 2 鉴定为 1(10 $\rightarrow$ 6)*abeo*-麦角甾-5,7,9,22-四烯-11 β -甲氧基-3 α -醇。

化合物 3: 白色结晶 (CH_2Cl_2), $[\alpha]_{\text{D}}^{28} -77.8$ (c 0.14, CH_2Cl_2), ESI-MS m/z 483 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 5.48 (1H, dd, $J=5.1, 2.3$ Hz, H-7), 5.22 (1H, dd, $J=15.2, 7.5$ Hz, H-23), 5.17 (1H, m, H-22), 4.10 (1H, tt, $J=11.3, 5.0$ Hz, H-3), 3.41 (3H, s, -OMe), 3.23 (1H, dd, $J=5.1, 2.3$ Hz, H-6), 2.44 (1H, m, H-14), 2.17 (2H, m, Ha-1, Ha-4), 2.03 (1H, m, H-20), 1.93 (1H, m, Ha-2), 1.85 (1H, m, H-24), 1.84 (1H, m, Ha-12), 1.80 (1H, m, Ha-11), 1.77 (1H, m, Ha-16), 1.71 (1H, ddd, $J=13.5, 5.0, 2.1$ Hz, Hb-4), 1.61 (1H, m, Hb-11), 1.58 (1H, m, Hb-12), 1.57 (1H, m, Ha-15), 1.54 (1H, m, Hb-2), 1.46 (1H, m, H-25), 1.45 (1H, m, Hb-15), 1.38 (1H, dt, $J=13.4, 3.8$ Hz, Hb-1), 1.34 (1H, m, H-17), 1.30 (1H, m, Hb-16), 1.06 (3H, s, H-19), 1.02 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-21), 0.92 (3H, d, $J=6.9$ Hz, H-28), 0.84 (3H, d, $J=6.7$ Hz, H-26/27), 0.82 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-26/27), 0.61 (3H, s, H-18)。 ^{13}C NMR 数据见表 2。

^1H NMR 数据表明,化合物 3 存在 3 个烯氢质子信号 δ 5.48 (1H, dd, $J=5.1, 2.3$ Hz, H-7)、 δ 5.22 (1H, dd, $J=15.2, 7.5$ Hz, H-23)和 δ 5.17 (1H, m, H-22), 且耦合常数提示其中一个为反式双键、两个连氧碳上的氢信号 δ 4.10 (1H, tt, $J=11.3, 5.0$ Hz, H-3)和 δ 3.23 (1H, dd, $J=5.1, 2.3$ Hz, H-6), 以及一个甲氧基氢信号 δ 3.41 (3H, s, -OMe)。

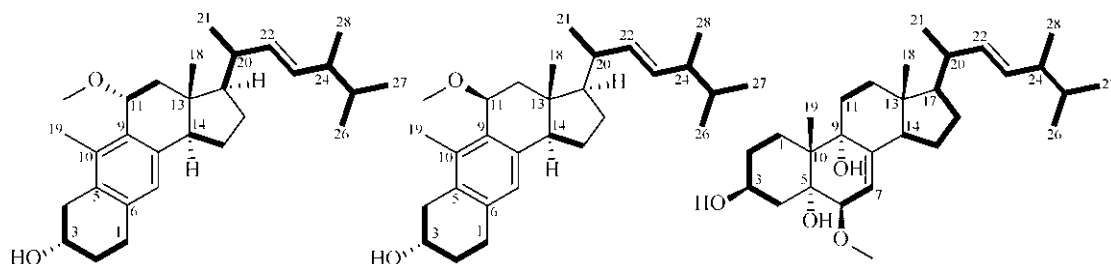


图 2 化合物 1 (左)、化合物 2 (中)及化合物 3 (右)的 ^1H - ^1H COSY (加粗)相关

Fig. 2 ^1H - ^1H COSY (bold lines) correlations of compound 1 (left), compound 2 (middle) and compound 3 (right).

表 1 化合物 1 和 2 的 ¹H NMR 和 ¹³C NMR (600/150 MHz, CDCl₃)数据
Table 1 ¹H and ¹³C NMR spectroscopic data of compounds 1 and 2 (600/150 MHz, CDCl₃)

No.	化合物 1 Compound 1			化合物 2 Compound 2		
	δ_C		δH (mult., J in Hz)	δ_C		δH (mult., J in Hz)
1	27.7	Ha	2.81 (ddd, J =16.5, 9.5, 5.6 Hz)	28.2	Ha	2.70 (m)
		Hb	2.87 (m)		Hb	2.80 (ddd, J =16.5, 10.3, 5.5 Hz)
2	31.2	Ha	1.73 (dtd, J =12.3, 9.5, 5.5 Hz)	31.7	Ha	1.74 (dtd, J =12.3, 10.3, 5.5 Hz)
		Hb	1.99 (m)		Hb	2.03 (m)
3	68.2		4.16 (m)	68.5		4.09 (m)
4	36.6	Ha	2.53 (m)	36.9	Ha	2.54 (m)
		Hb	3.04 (dd, J =16.5, 5.4 Hz)		Hb	3.08 (dd, J =16.3, 5.5 Hz)
5	136.4		/	137.3		/
6	135.0		/	135.1		/
7	123.6		6.62 (s)	123.8		6.65 (s)
8	139.1		/	137.4		/
9	131.5		/	132.3		/
10	130.7		/	131.2		/
11	75.2		4.75 (dd, J =8.0, 5.8 Hz)	76.2		4.39 (d, J =5.2 Hz)
12	44.4	Ha	1.82 (m)	40.1	Ha	1.88 (m)
		Hb	2.52 (m)		Hb	2.53 (m)
13	44.9		/	43.0		/
14	50.4		2.90 (m)	52.8		2.88 (dt, J =16.8, 5.1 Hz)
15	24.1	Ha	1.49 (m)	24.2	Ha	1.52 (m)
		Hb	1.98 (m)		Hb	2.00 (m)
16	29.1	Ha	1.40 (m)	29.2	Ha	1.36 (q, J =9.3 Hz)
		Hb	1.90 (m)		Hb	1.91 (m)
17	56.1		1.50 (m)	56.0		1.53 (m)
18	13.5		0.44 (s)	12.6		0.71 (s)
19	15.1		2.20 (s)	15.8		2.16 (s)
20	40.6		2.05 (m)	40.0		2.11 (m)
21	21.0		1.09 (d, J =6.5 Hz)	21.2		1.14 (d, J =6.6 Hz)
22	135.5		5.21 (dd, J =15.2, 7.5 Hz)	135.6		5.21 (dd, J =15.3, 8.0 Hz)
23	132.4		5.25 (dd, J =15.2, 7.0 Hz)	132.8		5.27 (dd, J =15.3, 7.3 Hz)
24	43.0		1.87 (m)	40.7		1.88 (m)
25	33.2		1.47 (m)	33.2		1.49 (m)
26 or 27	19.8		0.84 (d, J =6.8 Hz)	19.8		0.86/0.84 (d, J =6.8 Hz)
26 or 27	20.1		0.84 (d, J =6.8 Hz)	20.1		0.86/0.84 (d, J =6.8 Hz)
28	17.8		0.93 (d, J =6.7 Hz)	17.8		0.94 (d, J =6.8 Hz)
-OMe	54.3		3.25 (s)	55.3		3.43 (s)

¹³C NMR 数据显示化合物 3 的分子中含有 29 个碳原子, 其中包括 4 个 sp² 杂化的碳 δ 142.6 (C-8)、 δ 135.5 (C-22)、 δ 132.3 (C-23)、 δ 116.3 (C-7); 4 个连氧碳 δ 82.7 (C-6)、 δ 78.1 (C-5)、 δ 75.4 (C-9)、 δ 67.7 (C-3); 一个甲氧基碳信号 δ 58.9, 结合氢谱可推测化合物 3 可能含有 3 个羟基, 且其中两个羟基与季碳相连; 两个双

键, 且其中一个双键碳为季碳。经文献对比, 化合物 3 的核磁以及比旋光度数据与 3 β ,5 α ,9 α -trihydroxy-6 β -methoxyergosta-7,22-dien 的数据 (Valisolalao *et al.* 1983; Luo *et al.* 2006)一致。通过 HSQC 以及 ¹H-¹H COSY 谱图分析(图 2), 本研究首次对该化合物的氢谱数据进行了完整归属。

化合物 **4**: 白色结晶 (CH_2Cl_2), ESI-MS m/z 451 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 6.50 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-7), 6.24 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-6), 5.22 (1H, dd, $J=15.3, 7.7$ Hz, H-23), 5.14 (1H, dd, $J=15.3, 8.4$ Hz, H-22), 3.97 (1H, tt, $J=11.5, 5.0$ Hz, H-3), 2.11 (1H, ddd, $J=13.8, 5.0, 2.0$ Hz, Ha-4), 2.01 (1H, m, H-20), 1.99-1.90 (3H, m, Ha-1, Hb-4, Ha-12), 1.85 (2H, m, Ha-2, H-24), 1.74 (1H, m, Ha-16), 1.69 (1H, dt, $J=13.5, 3.5$ Hz, Hb-1), 1.60 (1H, m, Ha-15), 1.58-1.53 (2H, m, Hb-2, H-14), 1.53-1.47 (3H, m, H-9, Ha-11, H-25), 1.40 (1H, m, Hb-15), 1.34 (1H, m, Hb-16), 1.27-1.17 (3H, m, Hb-11, Hb-12, H-17), 1.00 (3H,

d, $J=6.6$ Hz, H-21), 0.90 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-28), 0.88 (3H, s, H-19), 0.83 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-27), 0.81 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-26), 0.81 (3H, s, H-18)。 ^{13}C NMR 数据见表 2。以上 NMR 数据与过氧化麦角甾醇(ergosterol peroxide)的数据(Kobori *et al.* 2006; 崔香等 2013a)一致。

化合物 **5**: 白色结晶 (CH_2Cl_2), $[\alpha]_{\text{D}}^{28}+81.2$ (c 0.13, CH_2Cl_2), ESI-MS m/z 449 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{O}_3$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 6.59 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-7), 6.28 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-6), 5.42 (1H, dd, $J=6.1, 1.9$ Hz, H-11), 5.24 (1H, dd, $J=15.3, 7.6$ Hz, H-23), 5.16 (1H, dd, $J=15.3, 8.5$ Hz, H-22), 4.01 (1H, tt, $J=11.4, 5.1$ Hz, H-3), 2.26 (1H,

表 2 化合物 **3-9** 的 ^{13}C -NMR 数据

Table 2 ^{13}C -NMR data of compounds **3-9** (150 MHz, CDCl_3)

No.	^{13}C -NMR data						
	3	4	5	6	7	8	9
1	26.9	34.8	32.7	34.8	37.3	37.3	38.5
2	29.2	30.3	30.7	30.8	31.64	31.6	32.2
3	67.7	66.6	66.5	72.0	71.2	71.2	70.6
4	40.62	37.1	36.2	42.0	38.2	38.1	41.0
5	78.1	82.3	82.9	161.2	40.4	40.4	139.9
6	82.7	135.7	135.6	126.9	29.8	29.8	119.7
7	116.3	130.9	130.9	186.5	117.6	117.6	116.4
8	142.6	79.6	78.6	134.2	139.8	139.7	141.5
9	75.4	51.2	142.7	161.9	49.6	49.6	46.4
10	40.7	37.1	38.1	43.0	34.4	34.4	37.2
11	30.9	23.5	119.9	24.7	21.7	21.7	21.3
12	35.3	39.5	41.3	35.7	39.7	39.6	39.2
13	43.9	44.7	43.7	42.0	43.5	43.5	42.97/42.99
14	51.1	51.8	48.3	48.5	55.2	55.3	54.7
15	23.1	20.8	21.0	24.9	23.1	23.1	23.2
16	28.1	28.8	28.8	29.6	28.1	28.3	28.5
17	56.0	56.3	56.0	53.5	56.2	56.1	55.9
18	11.9	13.0	13.1	12.1	12.0	12.2	12.2
19	21.9	18.3	25.7	23.9	13.2	13.2	16.4
20	40.55	39.9	40.0	40.5	36.8	40.6	40.6
21	21.2	21.0	20.8	21.2	19.2	21.3	21.3
22	135.5	135.3	135.3	135.6	33.8	135.8	135.7
23	132.3	132.4	132.6	132.3	30.8	132.0	132.1
24	43.0	42.9	42.9	42.5	39.2	43.0	42.97/42.99
25	33.2	33.2	33.2	33.2	31.61	33.2	33.2
26 or 27	19.8	20.1	20.1	20.1	20.7	19.8	20.1
26 or 27	20.1	19.8	19.8	19.8	17.7	20.1	19.8
28	17.8	17.7	17.7	17.8	15.6	17.8	17.8
-OMe	58.9						

dd, $J=17.0, 6.1$ Hz, Ha-12), 2.14-1.99 (4H, m, Ha-1, Ha-4, Hb-12, H-20), 1.95-1.88 (2H, m, Ha-2, Hb-4), 1.88-1.74 (3H, m, H-14, Ha-16, H-24), 1.69 (1H, m, Ha-15), 1.66 (1H, m, Hb-1), 1.58 (1H, m, Hb-15), 1.54 (1H, m, Hb-2), 1.47 (1H, m, H-25), 1.42-1.31 (2H, m, Hb-16, H-17), 1.09 (3H, s, H-19), 1.00 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-21), 0.91 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-28), 0.83 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-26), 0.82 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-27), 0.73 (3H, s, H-18)。

^{13}C NMR 数据见表 2。以上核磁以及比旋光度数据与(22*E*,24*R*)-5 α ,8 α -过氧化麦角甾-6,9(11),22-三烯-3 β -醇[(22*E*,24*R*)-5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,9(11),22-trien-3 β -ol]亦称 9(11)-去氢过氧化麦角甾醇[9(11)-dehydroergosterol peroxide]的数据(崔香等 2013a)一致。

化合物 6: 白色固体 (CH_2Cl_2), $[\alpha]_{\text{D}}^{28} +7.2$ (c 0.14, CH_2Cl_2), ESI-MS m/z 433 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{O}_2$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 6.04 (1H, d, $J=1.4$ Hz, H-6), 5.23 (1H, dd, $J=15.3, 7.5$ Hz, H-23), 5.19 (1H, dd, $J=15.3, 7.0$ Hz, H-22), 3.66 (1H, m, H-3), 2.60 (1H, ddd, $J=12.7, 5.0, 2.2$ Hz, Ha-4), 2.55 (1H, m, Ha-15), 2.52 (1H, dd, $J=12.7, 1.4$ Hz, Hb-4), 2.47 (1H, m, Ha-11), 2.40 (1H, ddt, $J=19.4, 7.5, 1.9$ Hz, Hb-11), 2.26 (1H, m, H-14), 2.07 (3H, m, Ha-1, Ha-12, H-20), 1.97 (1H, m, Ha-2), 1.85 (1H, m, H-24), 1.82 (1H, m, Ha-16), 1.71 (1H, m, Hb-2), 1.49 (1H, m, Hb-12), 1.46 (1H, m, H-25), 1.34 (3H, s, H-19), 1.28 (1H, dd, $J=13.7, 4.1$ Hz, Hb-1), 1.26-1.19 (3H, m, Hb-15, Hb-16, H-17), 1.05 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-21), 0.92 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-28), 0.84 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-26), 0.82 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-27), 0.65 (3H, s, H-18)。

^{13}C NMR 数据见表 2。以上核磁数据及比旋光度数据与 3 β -羟基-(22*E*,24*R*)-麦角甾-5,8(9),22-烯-7-酮的数据(旷歧轩等 2021)一致。

化合物 7: 白色结晶 (CH_2Cl_2), $[\alpha]_{\text{D}}^{28} +3.6$ (c 0.11, CH_2Cl_2), ESI-MS m/z 401 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式 $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 5.16 (1H, m, H-7), 3.59 (1H, tt, $J=11.0, 4.6$ Hz, H-3), 2.02 (1H, ddd, $J=12.7, 4.3, 2.8$ Hz), 1.89 (1H, dtd, $J=12.3, 9.4, 6.4$ Hz), 1.85-1.68 (6H, m), 1.64 (1H, m), 1.61-1.48 (4H, m), 1.48-1.31 (7H, m), 1.31-

1.16 (6H, m), 0.95 (1H, m), 0.92 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-21), 0.86 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-27), 0.79 (3H, s, H-19), 0.78 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-26), 0.77 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-28), 0.53 (3H, s, H-18)。 ^{13}C NMR 数据见表 2。以上核磁数据及比旋光度数据与(24*S*)-麦角甾-7-烯-3 β -醇[(24*S*)-ergost-7-en-3 β -ol]的数据(Kim *et al.* 2008)一致。

化合物 8: 白色针晶 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}=1:1$), $[\alpha]_{\text{D}}^{29} -24.4$ (c 0.12, $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}=1:1$), ESI-MS m/z 398 $[\text{M}]^+$, 分子式 $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 5.20 (2H, m, H-22, H-23), 5.15 (1H, m, H-7), 3.59 (1H, tt, $J=11.0, 4.5$ Hz, H-3), 2.06-1.96 (2H, m), 1.88-1.68 (8H, m), 1.65 (1H, m), 1.58 (1H, m), 1.54-1.43 (4H, m), 1.43-1.33 (3H, m), 1.31-1.19 (4H, m), 1.08 (1H, m), 1.01 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-21), 0.91 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-28), 0.83 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-26), 0.82 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-27), 0.80 (3H, s, H-19), 0.54 (3H, s, H-18)。 ^{13}C NMR 数据见表 2。以上 NMR 数据与 (22*E*, 24*R*)-麦角甾-7, 22-二烯-3 β -醇的数据(Barrero *et al.* 1998)一致, 比旋光度的符号与 Keller *et al.* (1996)的报道一致, 故鉴定其为(22*E*,24*R*)-麦角甾-7, 22-二烯-3 β -醇。

化合物 9: 白色结晶(CH_2Cl_2), ESI-MS m/z 397 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式 $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 5.57 (1H, dd, $J=5.5, 2.4$ Hz, H-6), 5.38 (1H, dt, $J=5.5, 2.7$ Hz, H-7), 5.22 (1H, dd, $J=15.3, 7.3$ Hz, H-22), 5.17 (1H, dd, $J=15.3, 7.9$ Hz, H-23), 3.64 (1H, tt, $J=11.2, 4.4$ Hz, H-3), 2.47 (1H, ddd, $J=14.3, 4.4, 2.4$ Hz, Ha-4), 2.28 (1H, m, Hb-4), 2.09-2.00 (2H, m, Ha-12, H-20), 1.97 (1H, m, H-9), 1.92-1.82 (4H, m, Ha-1, Ha-2, H-14, H-24), 1.80-1.63 (3H, m, Ha-11, Ha-15, Ha-16), 1.59 (1H, m, Hb-11), 1.54-1.43 (2H, m, Hb-2, H-25), 1.38 (1H, m, Hb-15), 1.35-1.22 (4H, m, Hb-1, Hb-12, Hb-16, H-17), 1.04 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-21), 0.95 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-28), 0.84 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-27), 0.82 (3H, d, $J=6.9$ Hz, H-26), 0.63 (3H, s, H-18)。 ^{13}C NMR 数据见表 2。

以上 NMR 数据与麦角甾醇(ergosterol)的数据(McCloskey *et al.* 2017)一致。

化合物 10: 白色固体 ($\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}=3:1$),

ESI-MS m/z 290 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{10}H_{13}N_5O_4$ 。

1H NMR (600 MHz, $D_2O:CD_3OD=2:1$) δ_H : 8.35 (1H, s, H-2), 8.23 (1H, s, H-8), 6.05 (1H, d, $J=5.6$ Hz, H-1'), 4.78 (1H, m, H-2', 与溶剂峰重叠), 4.42 (1H, s, H-3'), 4.29 (1H, s, H-4'), 3.93 (1H, d, $J=12.9$ Hz, Ha-5'), 3.84 (1H, d, $J=12.9$ Hz, Hb-5')。 ^{13}C NMR (150 MHz, $D_2O:CD_3OD=2:1$) δ_C : 156.8 (C-6), 153.4 (C-2), 149.4 (C-4), 141.7 (C-8), 120.3 (C-5), 89.8 (C-1'), 87.2 (C-4'), 74.9 (C-2'), 71.9 (C-3'), 62.7 (C-5')。以上 1H NMR 数据与腺嘌呤核苷(adenosine)的数据(胡金陵等 2014)一致, ^{13}C NMR 数据与史社坡(2003)的数据一致。

化合物 **11**: 白色固体 (MeOH:H₂O=3:1), $[\alpha]_D^{28} -0.8$ (c 0.13, MeOH:H₂O=3:1), ESI-MS m/z 314 $[M+MeOD+H]^+$, 分子式 $C_{11}H_{16}N_6O_3$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 8.28 (1H, s, H-8), 8.22 (1H, s, H-2), 6.02 (1H, d, $J=4.7$ Hz, H-1'), 4.86 (1H, m, H-2', 与溶剂峰重叠), 4.53 (1H, dt, $J=7.8$, 4.6 Hz, H-4'), 4.49 (1H, t, $J=4.6$ Hz, H-3'), 3.43 (1H, dd, $J=13.9$, 7.8 Hz, Ha-5'), 3.36 (1H, dd, $J=13.9$, 4.6 Hz, Hb-5'), 2.68 (3H, s, N-CH₃)。 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C : 157.4 (C-6), 153.9 (C-2), 150.5 (C-4), 141.3 (C-8), 122.6 (C-5), 91.1 (C-1'), 79.4 (C-4'), 74.9 (C-3'), 74.4 (C-2'), 56.1 (C-5'), 38.3 (N-CH₃)。化合物 **11** 与化合物 **10** 的核磁数据较为相似, 推测该化合物含有腺苷结构, 且其脱氧核糖的 C-5' 被 N-CH₃ 取代, 以上 NMR 数据与 5'-deoxy-5'-methylamino-adenosine 的数据(洪奎等 2014)一致, 化合物 **11** 鉴定为 5'-deoxy-5'-methylamino-adenosine。

化合物 **12**: 白色固体 (MeOH:H₂O=3:1), $[\alpha]_D^{29} +81.9$ (c 0.12, MeOH:H₂O=3:1), ESI-MS m/z 314 $[M+MeOD+H]^+$, 分子式 $C_{11}H_{16}N_6O_3$ 。 1H NMR (600 MHz, $CD_3OD:D_2O=15:2$) δ_H : 8.20 (1H, s, H-8), 8.13 (1H, s, H-2), 5.95 (1H, d, $J=5.1$ Hz, H-1'), 4.84 (1H, t, $J=5.1$ Hz, H-2', 与溶剂峰重叠), 4.40-4.32 (2H, m, H-3', H-4'), 3.44 (1H, dd, $J=13.3$, 10.3 Hz, Ha-5'), 3.16 (1H, dd, $J=13.3$, 2.8 Hz, Hb-5'), 2.62 (3H, s, N-CH₃)。 ^{13}C NMR (150 MHz, $CD_3OD:D_2O=15:2$) δ_C : 157.2 (C-6), 153.9 (C-2), 150.3 (C-4), 142.5 (C-8), 120.3 (C-5), 90.8 (C-1'),

79.1 (C-4'), 74.8 (C-3'), 74.3 (C-2'), 58.6 (C-5'), 39.1 (N-CH₃)。化合物 **12** 与化合物 **11** 的 NMR 数据相似, 推测化合物 **12** 与化合物 **11** 存在相同的平面结构; 以上 NMR 数据与 5'-deoxy-5'-methylamino-9-(α -L-lyxofuranosyl) adenine 的数据(Miao *et al.* 2018)一致, 其 C-4' 为 *S* 构型, 化合物 **12** 鉴定为 5'-deoxy-5'-methylamino-9-(α -L-lyxofuranosyl) adenine。

化合物 **13**: 白色固体 (MeOH), $[\alpha]_D^{24} -75.3$ (c 0.12, MeOH), ESI-MS m/z 136 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_6H_{11}NO$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 3.35-3.24 (2H, m, H-6), 2.39 (1H, m, Ha-3), 2.00-1.89 (2H, m, Hb-3, H-4), 1.85 (1H, m, Ha-5), 1.41 (1H, dtd, $J=13.3$, 10.7, 5.6 Hz, Hb-5), 1.04 (3H, d, $J=6.3$ Hz, -CH₃)。 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C : 174.9 (C-2), 42.0 (C-3), 40.2 (C-6), 30.9 (C-4), 28.8 (C-5), 21.3 (C-CH₃)。以上 NMR 数据与 (*R*)-4-methylpiperidin-2-one 的数据(Wagener *et al.* 2021)一致, 但 Wagener *et al.* (2021)并未报道该化合物比旋光度数据。据文献调研, 该化合物的 $[\alpha]_D$ 与具有相似手性中心化合物 [(2*S*)-5-azido-2-methylvaleric acid]的 $[\alpha]_D^{24} [+14.6$ (c 2.18, MeOH)]符号相反(Orwig & Dix 2005), 由此亦可进一步推断该化合物立体结构为 *R* 构型。化合物 **13** 鉴定为 (*R*)-4-methylpiperidin-2-one。

化合物 **14**: 白色固体(MeOH), ESI-MS m/z 267 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_9H_{12}N_2O_6$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 8.02 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-6), 5.91 (1H, d, $J=4.7$ Hz, H-1'), 5.71 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5), 4.19 (1H, t, $J=5.1$ Hz, H-3'), 4.16 (1H, t, $J=5.1$ Hz, H-2'), 4.02 (1H, dt, $J=5.1$, 2.7 Hz, H-4'), 3.85 (1H, dd, $J=12.2$, 2.7 Hz, Ha-5'), 3.74 (1H, dd, $J=12.2$, 2.7 Hz, Hb-5')。 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C : 166.2 (C-4), 152.5 (C-2), 142.7(C-6), 102.6 (C-5), 90.7 (C-1'), 86.4 (C-4'), 75.7 (C-3'), 71.3 (C-2'), 62.3 (C-5')。以上 NMR 数据与尿嘧啶核苷(uridine)的数据(Hu *et al.* 2006)一致。

化合物 **15**: 白色固体(MeOH:H₂O=3:1), ESI-MS m/z 135 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_4H_4N_2O_2$ 。 1H NMR (600 MHz, $CD_3OD:D_2O=2:3$) δ_H : 7.55 (1H,

d, $J=7.6$ Hz, H-6), 5.80 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-5)。¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD:D₂O=2:3) δ_c : 168.1 (C-4), 154.3 (C-2), 144.2 (C-6), 101.9 (C-5)。以上 NMR 数据与尿嘧啶(uracil)的数据(马琳等 2016)基本一致。

化合物 **16**: 白色固体(MeOH), ESI-MS m/z 145 [M+Na]⁺, 分子式 C₆H₆N₂O。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ_H : 9.03 (1H, s, H-2), 8.69 (1H, d, $J=3.2$ Hz, H-6), 8.29 (1H, dt, $J=7.9$, 1.7 Hz, H-4), 7.55 (1H, dd, $J=7.9$, 4.9 Hz, H-5)。¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ_c : 169.8 (C-1'), 152.8 (C-2), 149.5 (C-6), 137.3 (C-4), 131.5 (C-3), 124.2 (C-5)。以上 NMR 数据与烟酰胺(nicotinamide)的数据(张之昊等 2013)一致。

化合物 **17**: 无色蜡状物(MeOH), $[\alpha]_D^{25} +6.6$ (c 0.14, MeOH), ESI-MS m/z 759 [M+Na]⁺, 分子式 C₄₄H₈₂NO₇。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ_H : 5.40-5.29 (4H, m, H-9'', H-10'', H-12'', H-13''), 5.23 (1H, dtd, $J=6.9$, 5.3, 3.1 Hz, H-2), 4.42 (1H, dd, $J=12.0$, 3.1 Hz, Ha-3), 4.17 (1H, dd, $J=12.0$, 6.9 Hz, Hb-3), 3.71 (1H, dd, $J=11.4$, 2.7 Hz, H-2'), 3.68 (1H, m, Ha-4'), 3.65-3.58 (2H, m, H₂-1), 3.55 (1H, td, $J=9.6$, 4.5 Hz, Hb-4'), 3.21 (9H, s, H₃-5', H₃-6', H₃-7'), 2.78 (2H, t, $J=6.7$ Hz, H₂-11''), 2.36-2.29 (4H, m, H₂-2'', H₂-2'''), 2.23 (1H, m, Ha-3'), 2.12-2.04 (5H, m, Hb-3', H₂-8'', H₂-14''), 1.67-1.54 (4H, m, H₂-3'', H₂-3'''), 1.41-1.24 (38H, m, H₂-4''-H₂-7'', H₂-15''-H₂-17'', H₂-4'''-H₂-15'''), 0.93-0.88 (6H, m, H₃-16'', H₃-18'')。¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ_c : 174.9 (C-1''), 174.5 (C-1'), 171.6 (C-1'), 131.0 (C-9'' or C-13''), 130.8 (C-13'' or C-9''), 129.2 (C-10'' or C-12''), 129.0 (C-12'' or C-10''), 77.5 (C-2'), 71.5 (C-2), 70.5 (C-1), 68.7 (C-4'), 63.9 (C-3), 52.4 (3C, C-5', C-6', C-7'), 35.1 (C-2'' or C-2'''), 35.0 (C-2''' or C-2''), 33.1 (C-16'' or C-14''), 32.7 (C-14''' or C-16'), 30.9-30.1 (15C, C-4''-C-7'', C-15'', C-4'''-C-13'''), 29.1 (C-3'), 28.2 (2C, C-8'', C-14''), 26.6 (C-11''), 26.07 (C-3'' or C-3'''), 26.05 (C-3''' or C-3''), 23.8 (C-17'' or C-15'''), 23.7 (C-15''' or C-17''), 14.5 (2C, C-18'', C-16'')。以上核磁数据及比旋光度数据与 1(2)-linolyl-2(1)-palmityl-glycero-O-4'-(N,N,N-trimethyl)homoserine 的数据(崔香等 2013b)一致。

2.2 体外细胞毒活性测试结果

对亚洲兰茂牛肝菌乙酸乙酯萃取物中分离得到的化合物 **1-17** 进行了肿瘤细胞 MCF-7、BV2 和 A549 的体外细胞毒活性测试。结果显示化合物 **1**、**3-6**、**9**、**10** 对 MCF-7、BV2 和 A549 细胞的增殖有不同程度的抑制作用, 其中甾体类化合物 **1**、**3-6** 和 **9** 对 MCF-7、BV2 和 A549 细胞均有较强的细胞毒活性。化合物 **10** 对 BV2 细胞呈现出中等强度的细胞毒活性(表 3)。其余化合物在浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 时对以上 3 种肿瘤细胞无明显的细胞毒性。

表 3 化合物对 MCF-7、BV2 和 A549 细胞的 IC₅₀ 值(n=3)

Table 3 IC₅₀ values of the isolated compounds against MCF-7, BV2 and A549 cells (n=3)

化合物 Compound	IC ₅₀ ($\mu\text{mol/L}$)		
	MCF-7	BV2	A549
1	35.29±0.61	31.43±0.80	42.32±2.56
3	26.36±0.05	13.13±0.41	35.31±3.88
4	32.68±0.41	29.86±1.39	36.35±0.21
5	35.51±0.62	18.93±0.37	38.86±2.13
6	33.06±0.81	14.81±0.47	41.10±3.25
9	38.90±6.99	25.12±2.89	40.95±4.25
10	>50	48.34±5.83	>50
5-氟尿嘧啶 ^a 5-fluorouracil ^a	72.26±3.38	1.54±0.06	112.62±0.23

^a 阳性对照

^a Positive control.

3 讨论

亚洲兰茂牛肝菌 *Lanmaoa asiatica*, 俗称“见手青”, 为云南野生菌市场中一种常见菌菇, 但近年来时有因加工不当而导致中毒的报道。目前关于亚洲兰茂牛肝菌的化学活性成分研究的报道较少, 且尚未阐明其导致中毒的物质基础。本研究从亚洲兰茂牛肝菌 95%乙醇提取物的乙酸乙酯萃取物中分离得到了 17 个化合物, 其中 9 个为甾体类化合物(化合物 **1-9**), 4 个为核苷类化合物(化合物 **10-12**、**14**), 1 个为甜菜碱脂类化合物(化合物 **17**), 其中化合物 **1-3** 的核

磁信号全归属为首次报道, 化合物 **13** 为新天然产物, 化合物 **1**–**17** 均为该种首次分离。

化合物 **1** 于 1995 年从 *Penicillium citreo-viride* 的一株杂交菌株中分离得到(Kosemura *et al.* 1995), 并由 Nakada & Yamamura (2000) 以 citreanthrasteroid A 为原料合成得到, 并得到了其差向异构体 **2**。研究表明: 化合物 **2** 对 *E. coli* 显示出微弱的抑制活性; 化合物 **1** 和 **2** 均对卤虫有较弱的致死率, 分别为 12.90% 和 24.08% (100 $\mu\text{g/mL}$); 化合物 **1** 对乙酰胆碱酯酶有微弱的抑制活性, 而化合物 **2** 有微弱的促进活性(刘向红 2012; Liu *et al.* 2014)。Li *et al.* (2017) 和蒙春旺等(2018)后续还从猴头菇 *Hericium erinaceus* 及红鬼笔 *Phallus rubicundus* (Bosc.) Fr. 子实体中分别得到化合物 **1** 和 **2**。化合物 **3** 则最早是由 Valisolalao *et al.* (1983) 合成得来, 并证实了其在 33 $\mu\text{g/mL}$ 作用浓度下对大鼠肝癌细胞(HTC)有较强的细胞毒活性; Luo *et al.* (2006) 及 Irokawa *et al.* (2008) 还从海绵 *Topsentia* sp. 以及大肉齿耳菌 *Climacodon septentrionalis* (Fr.) Karst. 的子实体中分离得到化合物 **3**。上述报道均未对化合物 **1**、**2** 和 **3** 进行完整的核磁信号(^1H NMR、 ^{13}C NMR)归属, 本文首次进行了全归属。

化合物 **11** 曾从褐藻海带 *Laminaria japonica* Areschoug (Kuwada *et al.* 2006) 和海洋来源真菌 *Neosartorya facheri* (Tan *et al.* 2012) 中分离得到, 该化合物还具有促进真菌生长(Kuwada *et al.* 2006) 以及较强抑制烟草花叶病毒复制和对部分肿瘤细胞的较弱增殖抑制(Tan *et al.* 2012) 等活性。Marasco *et al.* (2002) 还利用合成的方法得到化合物 **11**, 体外试验结果表明化合物 **11** 对锥虫的生长无抑制作用, 对众多人源肿瘤细胞的增殖均无明显抑制活性。化合物 **12** 则为化合物 **11** 的差向异构体, 关于化合物 **12** 的文献报道较少, 目前仅 1 篇, 由 Miao *et al.* (2018) 在蔬菜芜菁的花中分离。核苷类化合物是抗病毒药物的

重要化合物类型之一, 本研究也未检测到化合物 **11** 和 **12** 的细胞毒活性, 若进一步对其进行抗病毒等活性筛选或可取得更好的结果。

化合物 **17** 属于甜菜碱脂(betaine lipid, BL), 是一种 1,2-二酰基甘油-*O*-4'-(*N,N,N*-三甲基)高丝氨酸 [1,2-diacylglycerol-*O*-4'-(*N,N,N*-trimethyl)homoserine, DGTS]。DGTS 广泛存在于绿藻、苔藓植物和蕨类植物等低等绿色植物、变形虫和真菌中(刘华伟等 2013)。在大部分藻类的 DGTS 中, 甘油部分的 sn-1 位上的脂肪酸以饱和脂肪酸为主(14:0 和 16:0), 而 sn-2 位上的脂肪酸以 C18 不饱和脂肪酸为主[18:2(n-6) 和 18:3(n-3)] (Sato 1992)。DGTS 被鉴定为一种细胞膜无磷脂, 在低磷胁迫条件下它可以取代磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC) 构成细胞膜(Riekhof *et al.* 2014)。Vaskovsky *et al.* (1991) 从美味牛肝菌中分离得到过 DGTS。DGTS 类化合物具有多样化的生物活性, DGTS 可以下调诱导一氧化氮合酶(iNOS)的水平, 从而抑制巨噬细胞中 NO 的产生, 且这种抑制效果与脂肪酸相关, 增加脂肪酸侧链的不饱和度可能会增强 NO 抑制活性, 这个发现表明该类化合物可作为一种潜在的抗炎剂(翁倩等 2015); DGTS 具有明显的抗氧化活性和抑制过氧化脂质的作用, 对人肝癌细胞(HepG2)有明显的抑制增殖与诱导凋亡作用, 对四氯化碳引起的急性肝损伤有肝保护作用; DGTS 对链脲佐菌素引起的糖尿病大鼠有抗糖尿病作用(Heo *et al.* 2007; 金英善等 2009); DGTS 还具有降低动脉粥样硬化风险的潜力(Dahli *et al.* 2018); 此外, 该类化合物对肿瘤细胞还呈较弱的抑制活性(崔香等 2013b)。本研究分析结果表明, 6.2 kg 亚洲兰茂牛肝菌子实体含有包括化合物 **17** 在内的 4 种以上的 DGTS 类化合物共约 6 g, 约占菌菇鲜重的 0.1%, 约占提取物重量的 2.2%, 故而从亚洲兰茂牛肝菌中提取 DGTS 或可成为获取 DGTS 类化合物的重要途径

之一。

本研究评价了化合物 **1-17** 对肿瘤细胞 MCF-7、BV2 和 A549 的体外细胞毒活性, 化合物 **1**、**3-6**、**9**、**10** 对 MCF-7、BV2 和 A549 细胞的增殖有不同程度的抑制作用, 其中甾体类化合物 **1**、**3-6** 和 **9** 对 MCF-7、BV2 和 A549 细胞均有较强的细胞毒活性, $IC_{50} \leq 42.32 \mu\text{mol/L}$ 。化合物 **10** 对 BV2 细胞呈现出中等强度的细胞毒活性, IC_{50} 值为 $48.34 \mu\text{mol/L}$ 。目前, 本研究对所得化合物仅进行了细胞毒活性检测, 如进行更为广泛的活性检测或可发现更多的潜在应用。另外, 本研究尚未从该菌菇中发现已报道食用可导致幻觉等中毒反应的化学成分, 或许存在以下原因: (1) 尚有微量可导致中毒的物质并未分离得到; (2) 食用导致的中毒是因所食用菌菇掺杂了其他有毒品种。本研究通过对亚洲兰茂牛肝菌化学成分及生物活性较为系统地分析, 为该菌菇的进一步开发利用奠定了初步基础。

[REFERENCES]

- Barrero AF, Oltra JE, Poyatos JA, Jiménez D, Oliver E, 1998. Phytosterols and other sterols from the fungus *Phycomyces blakesleeana*. *Journal of Natural Products*, 61(12): 1491-1496
- Cui X, Li CW, Wu CJ, Hua W, Cui CB, Zhu TJ, Gu QQ, 2013a. Metabolites of *Paecilomyces lilacinus* ZBY-1 from deep-sea water and their antitumor activity. *Journal of International Pharmaceutical Research*, 40(2): 177-186 (in Chinese)
- Cui X, Li CW, Wu CJ, Hua W, Cui CB, Zhu TJ, Gu QQ, 2013b. Secondary metabolites of *Paecilomyces lilacinus* ZBY-1 and their antitumor activity. *Journal of International Pharmaceutical Research*, 40(6): 765-771, 794 (in Chinese)
- Dahli L, Atrahimovich D, Vaya J, Khatib S, 2018. Lyso-DGTS lipid isolated from microalgae enhances PON1 activities *in vitro* and *in vivo*, increases PON1 penetration into macrophages and decreases cellular lipid accumulation. *Biofactors*, 44(3): 299-310
- Heo SI, Jin YS, Jung MJ, Wang MH, 2007. Antidiabetic properties of 2,5-dihydroxy-4,3'-di(β -D-glucopyranosyloxy)-trans-stilbene from mulberry (*Morus bombycis* Koidzumi) root in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Food*, 10(4): 602-607
- Hong K, Xie X, Wang XJ, Liu JC, Huang WZ, Wang ZZ, Xiao W, 2014. Nitrogenous chemical constituents from *Carthamus tinctorius*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 45(21): 3071-3073 (in Chinese)
- Hu JL, Hu H, Yang L, 2014. Studies on the chemical constituents from the seeds of *Vaccaria segetalis*. *Journal of Pharmaceutical Research*, 33(2): 71-72, 86 (in Chinese)
- Hu XY, Dou DQ, Pei YP, Fu WW, 2006. Chemical constituents of roots of *Ranunculus ternatus* Thunb. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 15(2): 127-129
- Irokawa S, Yaoita Y, Kikuchi M, 2008. Constituents of mushrooms. XXVIII. Sterol constituents from the fruiting body of *Climacodon septentrionalis* (Fr.) Karst. *Journal of Tohoku Pharmaceutical University*, 55: 51-55
- Jin YS, Xuan YH, Wang MX, 2009. Antidiabetic effect of trans-stilbene from *Morus bombycis* Koidzumi root. *Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition)*, 30(1): 18-21 (in Chinese)
- Keller AC, Maillard MP, Hostettmann K, 1996. Antimicrobial steroids from the fungus *Fomitopsis pinicola*. *Phytochemistry*, 41(4): 1041-1046
- Kim KH, Choi SU, Park KM, Seok SJ, Lee KR, 2008. Cytotoxic constituents of *Amanita subjunquillea*. *Archives of Pharmacal Research*, 31(5): 579-586
- Kobori M, Yoshida M, Ohnishi-Kameyama M, Takei T, Shinmoto H, 2006. 5 α ,8 α -epidioxy-22E-ergosta-6,9(11),22-trien-3 β -ol from an edible mushroom suppresses growth of HL60 leukemia and HT29 colon adenocarcinoma cells. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 29(4): 755-759
- Kosemura S, Uotsu S, Yamamma S, 1995. Citreanthrasteroid, a new metabolite of a hybrid strain KO 0011 derived from *Penicillium citreo-viride* B. IF0 6200 and 4692. *Tetrahedron Letters*, 36(41): 7481-7482
- Kuang QX, Tan L, Luo Y, Feng D, Zhou Y, Guo DL, Ren B, Deng Y, 2021. Chemical constituents of the endophytic fungus *Fusarium proliferatum* from *Ligusticum chuanxiong* Hort. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 27(5): 1318-1325 (in Chinese)
- Kuwada K, Kuramoto M, Utamura M, Matsushita I, Ishii T, 2006. Isolation and structural elucidation of a growth stimulant for arbuscular mycorrhizal fungus from *Laminaria japonica* Areschoug. *Journal of Applied Phycology*, 18: 795-800
- Li W, Bang SH, Lee C, Ma JY, Shim SH, Kim YH, 2017. Sterols, aromatic compounds, and cerebrosides from the *Hericium erinaceus* fruiting body. *Biochemical*

- Systematics and Ecology, 70: 254-259
- Liang JM, Wang XX, Zhang LY, Hu XJ, 2021. Analysis of umami components in stipe and pileus of *Lanmaoa asiatica* and identification of umami peptides in pileus. Food Science, 42(22): 232-239 (in Chinese)
- Liu HW, Ma XT, Wang XM, Li XA, Zou XL, Sun JG, Gao JL, 2013. Membrane lipids analysis of a bacterial strain 17560 isolated from nodule of alfalfa and cloning and expression of the genes for diacylglycerol trimethylhomoserine (DGTS) biosynthesis. Microbiology China, 40(6): 1008-1017 (in Chinese)
- Liu XH, 2012. Secondary metabolites from three *Codium fragile*-endophytic fungi and their bioactivities. Master Thesis, Shandong Agricultural University, Tai'an. 1-67 (in Chinese)
- Liu XH, Miao FP, Liang XR, Ji NY, 2014. Ergosteroid derivatives from an algicolous strain of *Aspergillus ustus*. Natural Product Research, 28(15): 1182-1186
- Luo X, Li F, Shinde PB, Hong J, Lee CO, Im KS, Jung JH, 2006. 26,27-cyclosterols and other polyoxygenated sterols from a marine sponge *Topsentia* sp. Journal of Natural Products, 69(12): 1760-1768
- Ma L, Zhang YZ, Dang J, 2016. Chemical constituents from water extract of *Armillaria luteo-virens*. Journal of China Pharmaceutical University, 47(3): 291-293 (in Chinese)
- Marasco CJ, Kramer DL, Miller J, Porter CW, Bacchi CJ, Rattendi D, Kucera L, Iyer N, Bernacki R, Pera P, Sufrin JR, 2002. Synthesis and evaluation of analogues of 5'-[(Z)-4-amino-2-butenyl]methylamino)-5'-deoxyadenosine as inhibitors of tumor cell growth, trypanosomal growth, and HIV-1 infectivity. Journal of Medicinal Chemistry, 45(23): 5112-5122
- McCloskey S, Noppawan S, Mongkolthanaruk W, Suwannasai N, Senawong T, Prawat U, 2017. A new cerebroside and the cytotoxic constituents isolated from *Xylaria allantoidea* SWUF76. Natural Product Research, 31(12): 1422-1430
- Meng CW, Zhou QM, Wang Y, Zhang X, He YL, Xiong L, Peng C, 2018. Ergost steroids constituents from the sporocarp of *Phallus rubicundus*. Journal of Chinese Medicinal Materials, 41(12): 2827-2831 (in Chinese)
- Miao BJ, Chen J, Shao JH, Xu XQ, Zhao CC, Wang YP, 2018. A new adenine glycoside from the flowers of *Brassica rapa*. Chemistry of Natural Compounds, 54(2): 327-329
- Nakada T, Yamamura S, 2000. Three new metabolites of hybrid strain KO 0231, derived from *Penicillium citreoviride* IFO 6200 and 4692. Tetrahedron, 56(17): 2595-2602
- Orwig KS, Dix TA, 2005. Synthesis of C^α methylated carboxylic acids: isosteres of arginine and lysine for use as N-terminal capping residues in polypeptides. Tetrahedron Letters, 46(41): 7007-7009
- Riekhof WR, Naik S, Bertrand H, Benning C, Voelker DR, 2014. Phosphate starvation in fungi induces the replacement of phosphatidylcholine with the phosphorus-free betaine lipid diacylglycerol-*N,N,N*-trimethylhomoserine. Eukaryotic Cell, 13(6): 749-757
- Sato N, 1992. Betaine lipids. The Botanical Magazine, 105: 185-197
- Shi SP, 2003. Studies on the chemical constituents of *Selaginella tamariscina*. Master Thesis, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou. 1-94 (in Chinese)
- Su L, Su JY, Li D, Xie YZ, Jiao CW, Lai Y, Li WZ, 2018. Effects of *Lanmaoa Asiatica* extracts administered mice serum on mice splenocytes. Acta Edulis Fungi, 25(2): 113-120 (in Chinese)
- Sun DF, Hu XS, Zhang SS, 2021. Changes in volatile compounds of *Lanmaoa asiatica* during controlled atmosphere storage using electronic nose combined with gas chromatography-ion mobility spectroscopy. Science and Technology of Food Industry, 42(21): 111-117 (in Chinese)
- Tan QW, Ouyang MA, Shen S, Li W, 2012. Bioactive metabolites from a marine-derived strain of the fungus *Neosartorya fischeri*. Natural Product Research, 26(15): 1402-1407
- Valisolalao J, Luu B, Ourisson G, 1983. Steroides cytotoxiques de *Polyporus versicolor*. Tetrahedron, 39(17): 2779-2785
- Vaskovsky VE, Khotimchenko SV, Benson AA, 1991. Identification of diacylglycerol-4'-*O*-(*N,N,N*-trimethyl) homoserine in mushrooms. Lipids, 26(3): 254-256
- Wagener T, Lückemeier L, Daniliuc CG, Glorius F, 2021. Interrupted pyridine hydrogenation: asymmetric synthesis of δ -lactams. Angewandte Chemie International Edition, 60(12): 6425-6429
- Wan AL, 2019. Study of protective effects of ergothioneine in five boletus on liver injury induced by carbon tetrachloride in mice. Master Thesis, Kunming University of Science and Technology, Kunming. 1-72 (in Chinese)
- Weng Q, Xu JL, Zhou CX, Yan XJ, 2015. Progress in betaine lipid research. Journal of Biology, 32(2): 87-91, 109 (in Chinese)
- Wu CJ, Li CW, Cui CB, 2014. Seven new and two known lipopeptides as well as five known polyketides: the activated production of silent metabolites in a marine-derived fungus by chemical mutagenesis strategy using diethyl sulphate. Marine Drugs, 12(4): 1815-1838
- Wu G, Li YC, Zhu XT, Zhao K, Han LH, Cui YY, Li F, Xu JP, Yang ZL, 2016. One hundred noteworthy boletes from China. Fungal Diversity, 81(1): 25-188

- Wu Y, Wang W, Wang Y, Shen LQ, 2021. Molecular identification and nutrients composition analyses of two wild Boletaceae. *Modern Food Science and Technology*, 37(9): 102-108 (in Chinese)
- Yang LM, Zhou GP, Yuan PY, Zhang XY, Cui FX, Li ZJ, 2020. Nuclear phases of edible ectomycorrhizal fungus *Lanmaoa asiatica* at different developmental stages under pure culture conditions. *Mycosystema*, 39(2): 335-342 (in Chinese)
- Zhang LY, 2020. Study on the bitter substances of *Capparis masaiikai* Lévl. seeds and separation and identification of umami peptides from *Lanmaoa asiatica*. Master Thesis, Kunming University of Science and Technology, Kunming. 1-95 (in Chinese)
- Zhang ZH, Dai Z, Hu XR, Lin RC, 2013. Isolation and structure elucidation of chemical constituents from *Pinellia ternata*. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 36(10): 1620-1622 (in Chinese)
- [附中文参考文献]
- 崔香, 李长伟, 吴长景, 华威, 崔承彬, 朱天骄, 顾谦群, 2013a. 深海来源淡紫拟青霉 ZBY-1 的代谢产物及其抗肿瘤活性. *国际药理学杂志*, 40(2): 177-186
- 崔香, 李长伟, 吴长景, 华威, 崔承彬, 朱天骄, 顾谦群, 2013b. 淡紫拟青霉 ZBY-1 的次级代谢产物及其抗肿瘤活性. *国际药理学杂志*, 40(6): 765-771, 794
- 洪奎, 谢雪, 王雪晶, 刘俊超, 黄文哲, 王振中, 萧伟, 2014. 红花中含氮类化学成分研究. *中草药*, 45(21): 3071-3073
- 胡金陵, 胡虹, 杨丽, 2014. 王不留行的化学成分研究. *药学研究*, 33(2): 71-72, 86
- 金英善, 玄永浩, 王明铨, 2009. 桑根活性成分反式二苯乙烯抗糖尿病作用研究. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 30(1): 18-21
- 旷歧轩, 谭璐, 罗禹, 冯丹, 周煜, 郭大乐, 任波, 邓赟, 2021. 川芎内生真菌 *Fusarium proliferatum* 的化学成分. *应用与环境生物学报*, 27(5): 1318-1325
- 梁佳明, 王肖肖, 张蓝云, 胡旭佳, 2021. 兰茂牛肝菌菌柄和菌盖中鲜味成分的分析及菌盖中鲜味肽的鉴定. *食品科学*, 42(22): 232-239
- 刘华伟, 马晓彤, 王旭明, 李秀爱, 邹小琳, 孙建光, 高俊莲, 2013. 苜蓿根瘤菌 17560 细胞膜脂组成分析及 DGTS 合成基因克隆与表达. *微生物学通报*, 40(6): 1008-1017
- 刘向红, 2012. 三株刺松藻内生真菌次生代谢产物及其活性生物研究. 山东农业大学硕士论文, 泰安. 1-67
- 马琳, 张耀洲, 党军, 2016. 黄绿蜜环菌水提取物的化学成分. *中国药科大学学报*, 47(3): 291-293
- 蒙春旺, 周勤梅, 王月, 张鑫, 何育霖, 熊亮, 彭成, 2018. 红鬼笔的麦角甾类成分研究. *中药材*, 41(12): 2827-2831
- 史社坡, 2003. 卷柏化学成分研究. 河南中医学院硕士论文, 郑州. 1-94
- 苏璐, 苏冀彦, 李丹, 谢意珍, 焦春伟, 赖泳, 李文治, 2018. 兰茂牛肝菌含药血清对小鼠脾淋巴细胞的影响. *食用菌学报*, 25(2): 113-120
- 孙达锋, 胡小松, 张沙沙, 2021. 电子鼻结合气相-离子迁移谱联用技术分析兰茂牛肝菌气调贮藏期间挥发性风味物质的变化. *食品工业科技*, 42(21): 111-117
- 万安露, 2019. 五种牛肝菌中麦角甾因对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用. 昆明理工大学硕士论文, 昆明. 1-72
- 翁倩, 徐继林, 周成旭, 严小军, 2015. 生物体内甜菜碱脂的研究进展. *生物学杂志*, 32(2): 87-91, 109
- 伍燕, 汪伟, 王燕, 申利群, 2021. 2 种牛肝菌分子鉴定及营养成分分析. *现代食品科技*, 37(9): 102-108
- 杨利梅, 周国平, 袁鹏宇, 张曦予, 崔凤仙, 李宗菊, 2020. 食用外共生菌根真菌兰茂牛肝菌 *Lanmaoa asiatica* 纯培养条件下不同发育时期的核相. *菌物学报*, 39(2): 335-342
- 张蓝云, 2020. 马槟榔种仁苦味物质的研究与兰茂牛肝菌中鲜味肽的分离鉴定. 昆明理工大学硕士论文, 昆明. 1-95
- 张之昊, 戴忠, 胡晓茹, 林瑞超, 2013. 半夏化学成分的分离与鉴定. *中药材*, 36(10): 1620-1622