



咎立峰

菌类作物专业农学博士，邯郸学院生命科学与工程学院副教授、副院长，主要从事食药菌的化学成分及其生物活性研究，研究工作集中于桑黄及相近种子实体中活性成分的分离、分析、鉴定及其抗肿瘤机制方面的研究。

鲍姆桑黄子实体提取物的体外细胞毒活性及其化学成分分析

咎立峰^{1,2*}, 郭海燕¹, 包海鹰², 图力古尔², 范宇光³

1 邯郸学院生命科学与工程学院, 河北 邯郸 056005

2 吉林农业大学药用菌物资源及其开发利用重点研究室, 吉林 长春 130118

3 海南医学院药学院, 海南 海口 571199

摘要: 本研究比较分析了鲍姆桑黄子实体乙酸乙酯萃取物和乙醇分离物的体外细胞毒活性及其化学成分差异, 探索其抗肿瘤特征成分。采用 CCK-8 法测定了鲍姆桑黄子实体乙酸乙酯萃取物和乙醇分离物对 5 种人癌细胞增殖的抑制活性, 结果发现, 乙酸乙酯萃取物对 5 种人癌细胞增殖均表现出良好的细胞毒活性, 而乙醇分离物对 NCI-H1299 细胞表现出一定的活性。通过超高效液相色谱-串联四级杆飞行时间高分辨率质谱(UPLC-Q-TOF-MS)对萃取物的主要成分进行定性分析, 共鉴定出 38 种成分, 包括 26 种多酚和 12 种脂肪酸, 其中多酚主要为吡喃酮 hispidin 及其衍生物, 乙酸乙酯萃取物中丰度较高的多酚成分包括 hispidin、hispolon、davallialactone、osmundacetone、phellgridins C 和 D 以及 pinillidine。

关键词: 鲍姆桑黄; 细胞毒活性; 超高效液相色谱-串联四级杆-飞行时间质谱分析; 多酚化合物

[引用本文]

咎立峰, 郭海燕, 包海鹰, 图力古尔, 范宇光, 2023. 鲍姆桑黄子实体提取物的体外细胞毒活性及其化学成分分析. 菌物学报, 42(4): 961-972

Zan LF, Guo HY, Bao HY, Bau Tolgor, Fan YG, 2023. Characterization of cytotoxicity and chemical constituents of extracts of *Sanghuangporus baumii* basidiomata. Mycosystema, 42(4): 961-972

资助项目: 河北省自然科学基金(C2019109043)

This work was supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province (C2019109043).

*Corresponding author. E-mail: tengfei007zlf@126.com

Received: 2022-02-14; Accepted: 2022-02-24

Characterization of cytotoxicity and chemical constituents of extracts of *Sanghuangporus baumii* basidiomata

ZAN Lifeng^{1,2*}, GUO Haiyan¹, BAO Haiying², BAU Tolgor², FAN Yuguang³

1 School of Life Science and Engineering, Handan University, Handan 056005, Hebei, China

2 Key Laboratory of Medicinal Fungal Resources and Development and Utilization, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, Jilin, China

3 Pharmacy College, Hainan Medical University, Haikou 571199, Hainan, China

Abstract: The inhibitory effects of EtOAc fraction and ethanolic extracts of *Sanghuangporus baumii* basidiomata on the proliferation of tumour cells were detected by CCK-8 method. The results showed that the EtOAc fraction exhibits good inhibitory activities against NCI-H1299, SGC-7901, HepG2, MDA-MB-231 and HeLa cells after 48 h treatment, while the ethanolic extract shows good inhibitory activity against NCI-H1299 cell. The major chemical constituents of the extracts were analyzed by using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS) in the negative ion mode. In total, 26 phenolic compounds and 12 fatty acids were identified, and the main phenolic compounds were hispidin and its derivatives. The phenolic components with higher content in EtOAc fraction were mainly composed of hispidin, hispolon, davallialactone, osmundacetone, phelligidins C and D, and pinillidine.

Keywords: *Sanghuangporus baumii*; cytotoxic; ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry analysis; polyphenol compounds

鲍姆桑黄 *Sanghuangporus baumii* 隶属于担子菌门 Basidiomycota、锈革孔菌目 Hymenochaetales、锈革孔菌科 Hymenochaetaceae、桑黄菌属 *Sanghuangporus*，主要分布于我国的东北及华北地区，春秋季节生长在以暴马丁香为主的阔叶树干上，常以其子实体入药(戴玉成和崔宝凯 2014；吴声华和戴玉成 2020)。

传统医药书籍中记载鲍姆桑黄子实体水煎液具有利五脏、宣肠气、排毒气之功效，主要用来治疗血淋、带下和经闭(李玉和包海鹰 2020)。现代研究发现其子实体提取物对小鼠肉瘤 S180、B16F10 黑色素瘤细胞具有良好的抑制作用，且能抑制基质金属蛋白酶 MMP-2 和 MMP-9 的表达(Dai *et al.* 2010；Wu *et al.* 2019)。子实体甲醇提取物能够显著抑制人脐静脉内皮

细胞的扩散迁移、管腔形成和血管内皮生长因子受体的磷酸化，对体内血管形成具有明显的抑制作用(Zhang *et al.* 2017)。

从鲍姆桑黄子实体中已分离鉴定出麦角甾醇、麦角甾醇过氧化物、麦角甾-7(8),22(23)-二烯-3-酮、麦角甾烷-4,6,8,22-四烯-3-酮等甾体类成分以及 hispidin、baumin、phelligidins C-F、inoscavin A 和 E、hypholomine B 以及 davallianlactone 等吡喃酮多酚类色素成分(Lee *et al.* 2010)，其中吡喃酮成分表现出良好的抗肿瘤活性(贺屏雅等 2020)，但吡喃酮多酚类色素由于其含有多个酚羟基，在提取、分离和结晶过程中易发生结构变化，不易准确鉴定其结构。液相色谱串联飞行时间高分辨质谱常用于复杂样品体系内化合物的归属，能够在没有标

品的情况下对提取物中微量或不稳定成分进行结构鉴定分析。本研究在前期对鲍姆桑黄子实体活性成分研究的基础上,采用 CCK-8 法对其乙酸乙酯和乙醇分离物的体外细胞毒活性进行测定,并通过 UPLC-Q-TOF-MS 技术快速分析鉴定提取物中的主要活性成分,为其子实体的药效物质基础研究和开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 材料和试剂

鲍姆桑黄野生子实体于 2021 年 8 月采集于冀南太行山区,寄生于暴马丁香树上,由海南医学院药学院范宇光博士鉴定,3-8 °C 低温放置备用。

人乳腺癌细胞(MDA-MB-231)、人胃癌细胞(SGC-7901)购自北纳生物;人非小细胞肺癌细胞(NCI-H1299)和人肝癌细胞(HepG2)购自青旗生物;人宫颈癌细胞(HeLa)购自中国科学院昆明细胞库。DMEM 培养基、RPMI-1640、胎牛血清、双抗、胰蛋白酶、PBS 和 CCK-8 试剂盒等购自武汉博士德生物工程有限公司;乙腈和甲酸为色谱级,购自美国 Sigma 公司;其余试剂均为分析纯,实验用水为 Milli-Q 系统超纯水。

1.1.2 仪器和设备

BC-J160 CO₂培养箱(上海博讯医疗生物仪器股份有限公司);Multiskan 全自动酶标仪(赛默飞世尔科技有限公司);DM13000B 倒置荧光显微镜(徕卡公司);Waters Xevo G2 Qtof (Waters 公司);Alpha-2LDpluse 真空浓缩冻干仪(德国 Christ 公司);Milli-Qintegra1 3 超纯水系统(美国 Millipore 公司);5418R 高速冷冻离心机(德国艾本德股份公司)。

1.2 方法

1.2.1 样品制备

准确称取粉碎后的鲍姆桑黄子实体原料

100 g,先采用石油醚在 45 °C 下以料液比 1:8 脱脂 4 次,每次 1.5 h;脱脂后原料挥发干溶剂,采用 80%甲醇在 55-60 °C 按料液比 1:7 浸提 3 次,每次 2 h,合并提取液过滤除杂,过滤液在 45-50 °C 减压浓缩至水混悬液,水混悬液用乙酸乙酯按照体积比 1:1 萃取 5 次,合并乙酸乙酯萃取液并浓缩冷冻干燥,得到乙酸乙酯萃取物(BM1),剩余水混悬液采用 DM-130 大孔吸附树脂分离纯化,75%乙醇解吸得到解吸液,解吸液减压浓缩后冷冻干燥得到乙醇分离物(BM2)。细胞毒活性样品制备为精密称取 128 mg 的乙酸酯和乙醇分离物,加入 1 mL DMSO 溶解,超声助溶,分别配制成储存浓度为 128 mg/mL 的药物母液,测定前配制成浓度为 0、40、80、160、320、640 µg/mL 的受试样品。UPLC-Q-TOF-MS 分析前取适量乙酸乙酯和乙醇分离物用 DMSO 溶解并过 0.22 µm 滤膜,即得测试样品溶液。

1.2.2 细胞毒活性检测

取对数生长期而未达到融合状态时的细胞进行接种,使接种后细胞浓度为 5×10^3 个/孔,在离心管中混匀后接种于 96 孔板内,每孔 100 µL,接种孔数以药物每个浓度 3-5 个复孔接种,设置空白对照组(培养基)、药物处理组(培养基+细胞+药物)、DMSO 孔(5% DMSO 培养基+细胞),每组 3-5 个复孔,周围一圈加 200 µL PBS。接种培养后,次日细胞贴壁后加入提取物。CCK-8 试剂与无酚红 DMEM 培养基为 10:1 的比例配制反应液,细胞经药物处理 48 h 后取出置于超净工作台中,弃去 96 孔板中的液体,每孔加入 100 µL 的 CCK-8 反应液。将 96 孔板置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 2 h,用酶标仪在 450 nm 处检测吸光度。按照下列公式计算细胞活力。

$$\text{细胞活力}(\%) = [(OD_{\text{待测孔}} - OD_{\text{空白孔}}) / (OD_{\text{DMSO 孔}} - OD_{\text{空白孔}})] \times 100\%.$$

1.2.3 UPLC-Q-TOF-MS 成分分析

UPLC 条件:色谱柱为 Waters BEH C₁₈

(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相 A 相为水, B 相为乙腈, 线性梯度洗脱过程: 95% A (0–2 min), 95%–0% A (2–50 min), 0% A (50–55 min), 0%–95% A (55–55.1 min), 95% A (55.1–60 min); 流速为 0.3 mL/min; 进样量为 10 μL; 柱温 40 °C。

MS 条件: ESI⁺离子源, 质量扫描范围质荷比(m/z)50–1 500 Da, 扫描方式为负离子模式, 毛细管电压为 2.8 kV, 样品锥孔电压 80 V, 萃取锥孔电压 4 V, 源温 120 °C, 脱溶剂温度 300 °C, 锥孔气 50 L/h, 脱溶剂气流速 600 L/h。

1.3 数据处理

所有细胞计量数据均表示为 $\bar{x} \pm SD$, 应用 Graphpad Prism 8 软件进行非线性回归分析, 并计算细胞毒活性的 IC_{50} 值; 质谱数据采用 Mass Lynx V4.1 软件对基峰图中化合物的分子离子和碎片离子等信息进行分析。

2 结果与分析

2.1 提取物对癌细胞增殖的抑制

将鲍姆桑黄子实体乙酸乙酯和乙醇分离物用 DMSO 溶解, 配制不同浓度样品, 分别测试其作用 48 h 后对 5 种人癌细胞增殖的抑制作用(图 1)。乙酸乙酯萃取物(BM1)对人非小细胞肺癌细胞(NCI-H1299)、胃癌细胞(SGC-7901)、肝癌细胞(HepG 2)、乳腺癌细胞(MDA-MB-231)和宫颈癌细胞(HeLa)均表现出不同程度的细胞毒活性, 且呈现出一定的药物浓度依赖性, 随着药物浓度的增加而细胞活力逐渐下降, IC_{50} 值分别为 302.47、177.83、238.30、127.24 和 138.23 μg/mL; 乙醇分离物(BM2)对人非小细胞肺癌细胞(NCI-H1299)表现出一定的抑制活性, IC_{50} 值为 239.50 μg/mL, 而对人胃癌(SGC-7901)和乳腺癌细胞(MDA-MB-231)的抑制活性相对较弱, IC_{50} 值分别为 733.56 μg/mL 和 853.23 μg/mL, 对人肝癌(HepG 2)和宫颈癌(HeLa)细胞增殖抑制率低于 50%, 无法计算其 IC_{50} 。

2.2 UPLC-Q-TOF-MS 成分分析

2.2.1 活性成分分析

采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术在上述色谱和质谱条件下对鲍姆桑黄子实体提取物的活性成分进行定性分析。依据一级质谱分子离子峰及二级离子碎片数据, 结合 Chemical spider、PubChem 和 Lipidomics Gateway 数据库检索, 并参考相关文献, 从鲍姆桑黄子实体提取物中共鉴定出 38 种成分, 包括多酚 26 种(有机酸 2 种、吡喃酮 24 种)和脂肪酸 12 种(表 1)。结合细胞毒活性结果推测其主要活性成分为吡喃酮, 此类物质结构主要由苯乙烯基吡喃酮 hispidin 为骨架聚合或缩合而成, 乙酸乙酯萃取物中鉴定出多酚 25 种, 而乙醇分离物中鉴定出多酚 15 种, 两部分提取物共有多酚成分 14 种。在负离子模式下的总离子流图见图 2, 吡喃酮物质二级质谱主要产生 m/z 243 ($C_{13}H_7O_5^-$)或 245 ($C_{13}H_9O_5^-$)和 m/z 159 ($C_{10}H_7O_2^-$)的特征碎片离子。

2.2.2 化合物鉴定

成分 1: 出峰时间 0.92 min、1.72 min, 分子离子峰为 m/z 975.178 5 [$M-H$]⁻, 分子式 $C_{52}H_{32}O_{20}$, 其二级质谱分子离子分别失去 1 分子、2 分子、3 分子 hispidin 产生碎片 m/z 731.117 0 [$M-H-C_{13}H_8O_5$]⁻、 m/z 487.085 4 [$M-H-C_{26}H_{16}O_{10}$]⁻、 m/z 243.034 9 [$M-H-C_{26}H_{24}O_{15}$]⁻, 裂解规律与成分 9 基本一致, 结合出峰时间推测该成分为 phelligridimer A 异构体(isophelligridimer A)。

成分 2: 出峰时间 2.33 min, 分子离子峰 m/z 279.011 8 [$M-H$]⁻, 分子式 $C_{12}H_8O_8$, 其二级质谱产生 m/z 235.035 9 [$M-H-CO_2$]⁻、 m/z 191.041 0 [$M-H-2CO_2$]⁻、 m/z 147.043 7 [$M-H-3CO_2$]⁻, 查阅 PubMed 数据库推测该成分为香豆酸双分子(coumaric acid)。

成分 3: 出峰时间 3.89 min, 分子离子峰 m/z 247.025 2 [$M-H$]⁻, 分子式 $C_{12}H_8O_6$, 其二级质谱产生 m/z 219.018 3 [$M-H-CO$]⁻、 m/z 202.994 2 [$M-H-CO_2$]⁻、 m/z 189.083 6 [$M-H-C_2H_2O_2$]⁻, 查阅

PubMed 数据库推测该成分为 7-乙酰氧基香豆素-3-甲酸(7-acetoxycoumarin-3-carboxylic acid)。

成分 4: 出峰时间 5.19 min, 分子离子峰为 m/z 327.967 0 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_{17}H_{15}NO_6$, 其 MS/MS 谱中分子离子分别失去 1 分子内酯和吡

咯烷酮基产生碎片 m/z 283.038 1 $[M-H-CO_2]^-$ 、 m/z 243.022 2 $[M-H-C_4H_7NO]^-$, 进一步裂解产生 hispidin 典型碎片 m/z 159.040 5、135.013 2、108.021 2, 参考 Han *et al.* (2013) 的报道, 推测该成分为 phaeolschidin E。

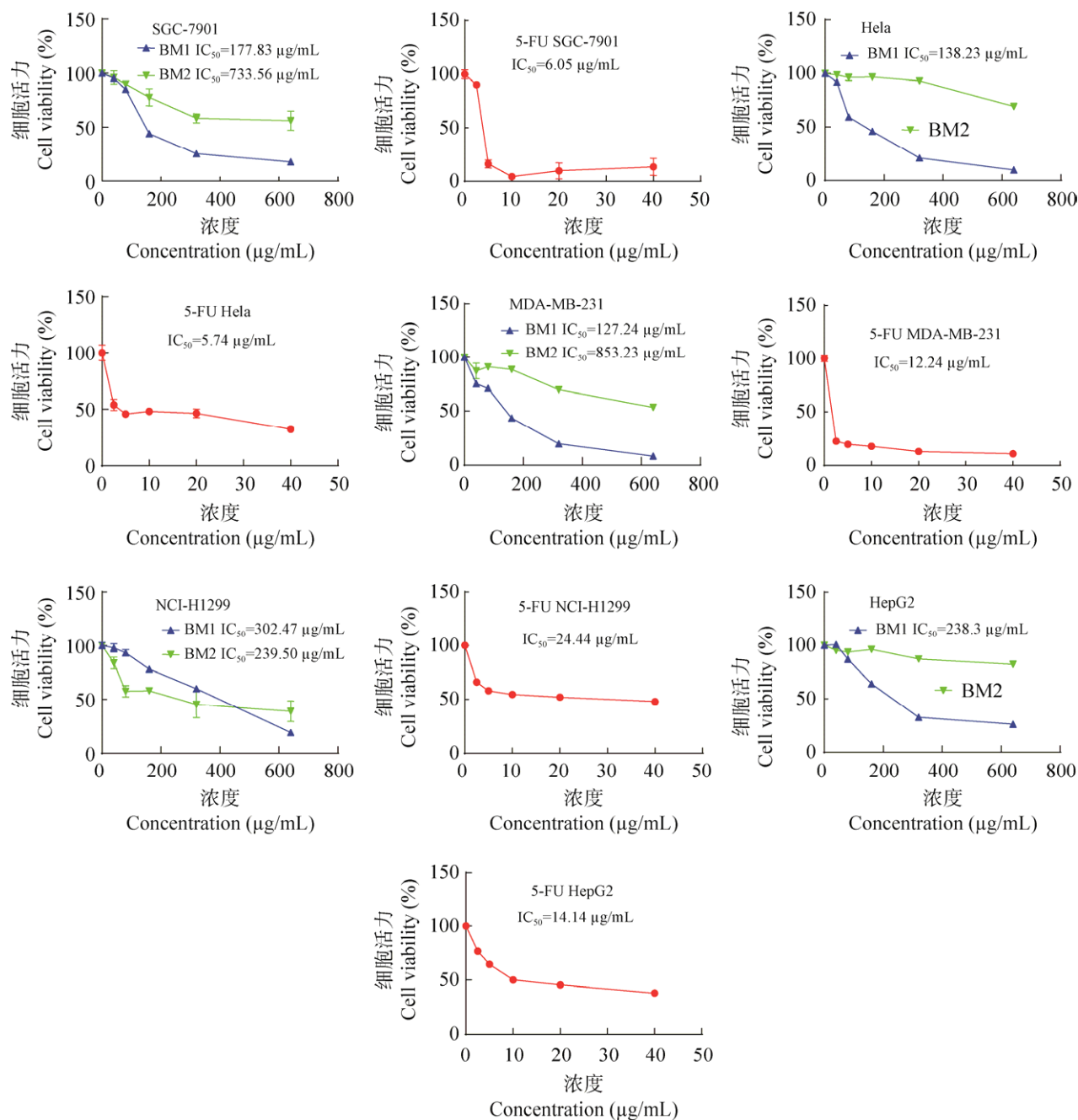


图 1 鲍姆桑黄乙酸乙酯萃取物(BM1)和乙醇分离物(BM2)对 5 种人癌细胞毒活性(n=3)

Fig. 1 Cytotoxic activities of ethyl acetate fraction (BM1) and ethanolic extracts (BM2) from *Sanghuangporus baumii* basidiomata against five kinds of cancer cells (n=3).

表 1 UPLC-QTOF-MS 鉴定鲍姆桑黄提取物中的化合物

 Table 1 Identification of compounds from *Sanghuangporus baumii* extracts by UPLC-QTOF-MS

序号 No.	保留时间 tR (min)	分子离子 Molecular ion (<i>m/z</i>)	分子式 Molecular formula	特征碎片 Fragmentation (<i>m/z</i>)	化合物 Compounds	存在部位 Parts
1	0.92, 1.72	975.178 5	C ₅₂ H ₃₂ O ₂₀	243.034 9	Isophelligrider A	BM1, BM2
2	2.33	279.011 8	C ₁₂ H ₈ O ₈	191.041 0	Coumaric acid	BM1, BM2
3	3.89	247.025 2	C ₁₂ H ₈ O ₆	189.083 6	7-acetoxycoumarin-3-carboxylic acid	BM1, BM2
4	5.19	327.967 0	C ₁₇ H ₁₅ NO ₆	243.022 2	Phaeolschidin E	BM1
5	5.91	288.996 1	C ₁₃ H ₆ O ₈	245.010 0	Phelligriderin J	BM1, BM2
6	6.25	245.045 2	C ₁₃ H ₁₀ O ₅	159.046 7	Hispidin	BM1
7	6.38	219.133 3	C ₁₂ H ₁₂ O ₄	133.061 2	Hispolon	BM1, BM2
8	6.77	377.065 7	C ₂₁ H ₁₄ O ₇	133.025 8	Inoscavin E	BM2
9	7.70	975.146 5	C ₅₂ H ₃₂ O ₂₀	243.028 6	Phelligriderin A	BM1
10	8.81	463.108 5	C ₂₅ H ₂₀ O ₉	243.028 6	Davallialactone	BM1, BM2
11	9.88	177.057 8	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	133.028 2	Osmundacetone	BM1, BM2
12	11.23	379.047 9	C ₂₀ H ₁₂ O ₈	243.025 4	Isophelligriderin D	BM1, BM2
13	12.06	363.051 8	C ₂₀ H ₁₂ O ₇	227.128 5	Isophelligriderin C	BM1
14	12.70	623.082 2	C ₃₃ H ₂₀ O ₁₃	243.025 4	Phelligriderin I	BM1
15	13.96	611.123 9	C ₃₃ H ₂₄ O ₁₂	245.045 2	SCHEMBL8859595	BM1
16	14.23	545.112 5	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₀	245.042 0	Phaeolschidin A	BM1
17	14.69	489.074 1	C ₂₆ H ₁₈ O ₁₀	243.028 6	Hypholomine B	BM1, BM2
18	14.96	503.094 8	C ₂₇ H ₂₀ O ₁₀	245.048 4	SCHEMBL8676491	BM1
19	15.69	517.113 5	C ₂₈ H ₂₂ O ₁₀	245.042 0	Pinillidine	BM1
20	16.40	473.042 0	C ₂₆ H ₁₈ O ₉	243.025 4	Hypholomine A	BM1
21	16.67	461.082 3	C ₂₅ H ₁₈ O ₉	245.038 8	Inoscavin A	BM1, BM2
22	17.18	379.042 8	C ₂₀ H ₁₂ O ₈	245.045 2	Phelligriderin D	BM1, BM2
23	19.32	363.047 9	C ₂₀ H ₁₂ O ₇	159.043 1	Phelligriderin C	BM1, BM2
24	19.96	419.035 7	C ₂₃ H ₁₆ O ₈	243.028 6	Inoscavin C	BM1, BM2
25	20.94	621.076 8	C ₃₃ H ₁₈ O ₁₃	243.028 6	Phelligriderin H	BM1
26	21.93	751.531 6	C ₃₉ H ₂₈ O ₁₆	243.034 9	Phellinstatin	BM1, BM2
27	27.20	297.149 4	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	183.011 7	Nonadecanoic acid	BM1, BM2
28	29.16	311.167 1	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	183.008 9	Arachic acid	BM1, BM2
29	31.23	325.179 4	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	183.008 9	Heneicosanoic acid	BM1, BM2
30	33.49	339.198 8	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	183.008 9	Docosanoic acid	BM1, BM2
31	40.05	279.230 5	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	183.011 7	Linoleic acid	BM1
32	42.76	255.230 6	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	183.008 9	Palmitic acid	BM1
33	43.77	281.244 3	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	183.011 7	Oleic acid	BM1
34	44.53	355.316 6	C ₂₂ H ₄₄ O ₃	183.008 9	Hydroxy-docosanoic acid	BM1
35	46.96	369.335 2	C ₂₃ H ₄₆ O ₃	183.008 9	Hydroxy-tricosanoic acid	BM1
36	49.11	383.352 7	C ₂₄ H ₄₈ O ₃	183.006 1	Hydroxy-tetracosanoic acid	BM1
37	51.38	397.370 1	C ₂₅ H ₅₀ O ₃	183.008 9	Hydroxy-pentacosanoic acid	BM1
38	53.82	411.381 9	C ₂₆ H ₅₂ O ₃	183.008 9	Hydroxy-hexacosanoic acid	BM1

BM1: 乙酸乙酯萃取物; BM2: 乙醇分离物

BM1: Ethyl acetate extracts; BM2: Ethanolic extracts.

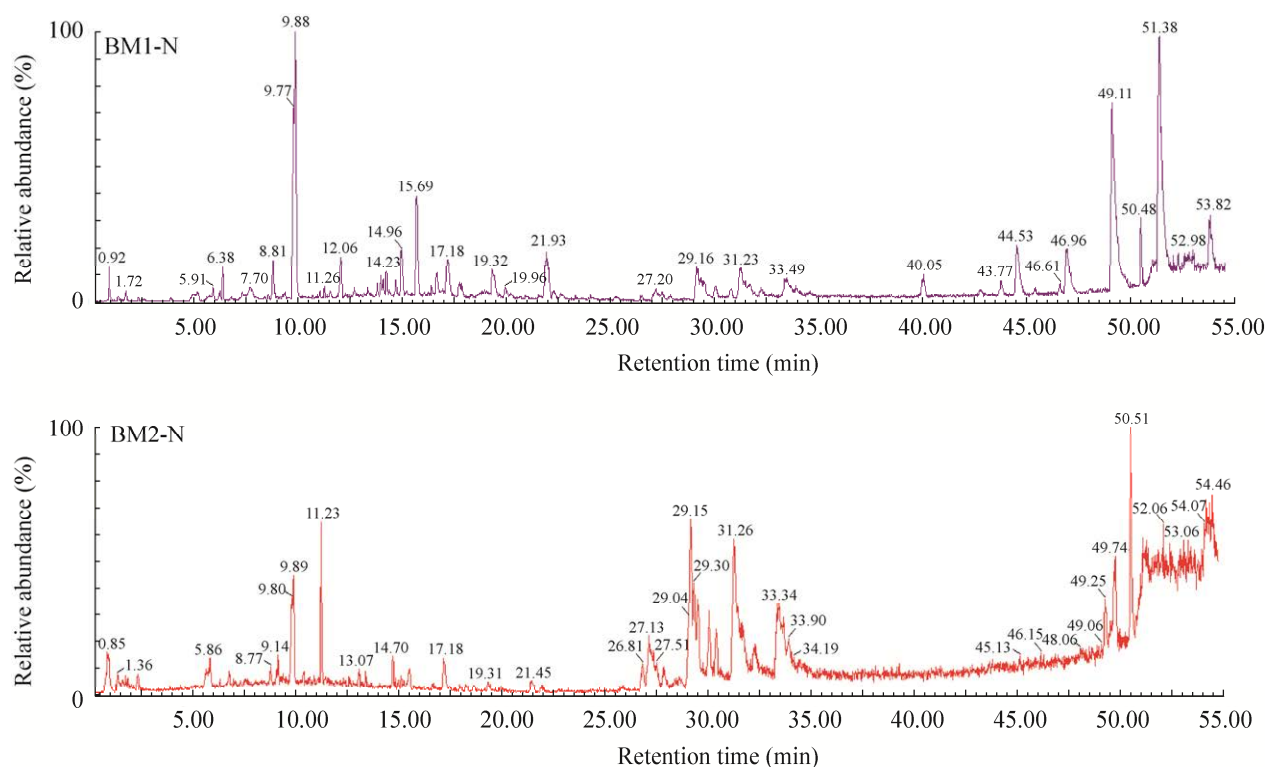


图 2 鲍姆桑黄乙酸乙酯萃取物(BM1)和乙醇分离物(BM2)负离子模式下的离子基峰图

Fig. 2 The base peak ion (BPI) of the ethyl acetate (BM1) and ethanolic extracts (BM2) from *Sanghuangporus baumii* fruiting bodies at the negative mode.

成分 5: 出峰时间 5.91 min, 分子离子峰为 m/z 288.996 1 $[M-H]^-$, 二倍离子峰 m/z 578.997 3 $[M-H]^-$, 分子式 $C_{13}H_6O_8$, 其分子离子失去 1 分子内酯和 1 分子羰基产生碎片 m/z 245.010 0 $[M-H-CO_2]^-$ 、 m/z 217.009 5 $[M-H-CO_2-CO]^-$, 母核继续裂解产生碎片离子 m/z 201.019 8、189.021 7、161.025 6、133.028 2, 参考 Wang *et al.* (2007) 的报道, 鉴定为 phelligrudin J。

成分 6: 出峰时间 6.25 min, 分子离子峰为 m/z 245.045 2 $[M-H]^-$, 其 2 倍离子峰为 m/z 491.094 1, 分子式 $C_{13}H_{10}O_5$, 其 MS/MS 由分子离子峰开环失去 1 分子羰基和 1 分子内酯产生碎片离子 m/z 217.057 3 $[M-H-CO]^-$ 和 m/z 201.047 3 $[M-H-CO_2]^-$, 进一步裂解产生吡喃酮典型碎片 m/z 159.046 7 $[M-H-C_3H_2O_3]^-$ 、 m/z 135.047 1 $[M-H-C_5H_2O_3]^-$, 化合物裂解规律见图 3, 参考 Khushbaktova *et al.* (1996) 的报道, 鉴定为 hispidin。

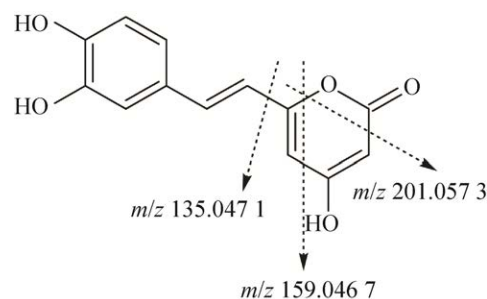


图 3 化合物 hispidin 质谱裂解规律

Fig. 3 The MS fragmentation pathway of hispidin.

成分 7: 出峰时间 6.38 min, 分子离子峰为 m/z 219.133 3 $[M-H]^-$, 分子式 $C_{12}H_{12}O_4$, 其 MS/MS 由分子离子峰失去 1 分子醛基、羟基得到碎片 m/z 177.123 2 $[M-H-C_2H_2O]^-$ 、 m/z 161.045 7 $[M-H-C_2H_2O_2]^-$, 进一步裂解产生碎片 m/z 133.061 2、109.029 3, 参考 Liao *et al.* (2021) 的报道, 推测该成分为 hispolon。

成分 8: 出峰时间 6.77 min, 分子离子峰为 m/z

377.065 7 [M-H]⁻, 分子式 C₂₁H₁₄O₇, 其 MS/MS 中产生碎片 m/z 361.097 5 [M-H-OH]⁻、 m/z 257.044 5 [M-H-C₇H₄O₂]⁻、 m/z 243.031 8 [M-H-C₈H₅O₂]⁻, 进一步裂解产生特征碎片 m/z 133.025 8 (C₈H₅O₂), 参考 Zhang *et al.* (2017) 的报道, 推测该成分为 inoscavin E。

成分 9: 出峰时间 7.70 min, 分子离子峰为 m/z 975.146 5 [M-H]⁻, 分子式 C₅₂H₃₂O₂₀, 其 MS/MS 质谱中分子离子失去 1 分子内酯(CO₂)产生碎片 m/z 931.157 2, 母离子分别失去 1 分子 hispidin 和 2 分子 hispidin 产生碎片 m/z 731.117 0、487.058 3, 进一步失去 1 分子 hispidin 产生特征碎片 m/z 243.028 6, 即推测该成分由 4 分子 hispidin 聚合而成, 参照 Wang *et al.* (2005) 的报道, 并结合出峰时间鉴定为 phelligridimer A。

成分 10: 出峰时间 8.81min, 分子离子峰为 m/z 463.108 5 [M-H]⁻, 分子式 C₂₅H₂₀O₉, 二倍分子量为 m/z 927.197 2 [2M-H]⁻, 其 MS/MS 谱中裂解产生碎片 m/z 405.065 9 [M-H-C₃H₆O]⁻、 m/z 379.086 6 [M-H-C₃H₄O-CO]⁻、 m/z 335.089 3 [M-H-C₃H₄O-CO-CO₂]⁻、 m/z 259.055 8 [M-H-C₁₁H₈O₄]⁻、 m/z 243.028 6 [M-H-C₁₂H₁₂O₄]⁻, hispidin 母核进一步裂解产生吡喃酮典型碎片 m/z 217.048 7、159.043 1、135.043 8、108.019 1, 参考 Hwang *et al.* (2015) 的报道, 推测该物质为 davallialactone。

成分 11: 出峰时间 9.88 min, 分子离子峰为 m/z 177.057 8 [M-H]⁻, 分子式 C₁₀H₁₀O₃, 其 MS/MS 质谱中分子离子失去 1 分子羟基产生碎片 m/z 161.023 0 [M-H-OH]⁻, 失去 1 分子乙醛基产生强特征碎片 m/z 133.028 2 [M-H-C₂H₃O]⁻, 参照 Zan *et al.* (2011) 的报道, 鉴定成分为 osmundacetone, 在提取物中丰度最高。

成分 12: 出峰时间 11.23 min, 分子离子峰为 m/z 379.047 9 [M-H]⁻, 分子式 C₂₀H₁₂O₈, MS/MS 质谱中产生碎片 m/z 363.047 9 [M-H-OH]⁻、269.048 6 [M-H-C₆H₆O₂]⁻、243.025 4 [M-H-C₇H₇O₃]⁻,

母核裂解产生特征碎片 m/z 217.051 7、159.045 7、135.041 4, 结合出峰时间参照 Mo *et al.* (2004) 的报道, 推测该成分为 phelligridin D 异构体 (isophelligridin D)。

成分 13: 出峰时间 12.06 min, 分子离子峰为 m/z 363.051 8 [M-H]⁻, 分子式 C₂₀H₁₂O₇, 其 MS/MS 谱中失去羟基产生碎片 m/z 347.047 1, 进一步裂解产生失去 1 分子苯甲醛(C₇H₄O⁻)产生碎片 m/z 227.125 8, 继续裂解产生特征碎片 m/z 117.032 3 (C₈H₅O⁻), 根据 Mo *et al.* (2004) 的报道, 并结合出峰时间, 推测为 phelligridin C 异构体 (isophelligridin C)。

成分 14: 出峰时间 12.70 min, 分子离子峰为 m/z 623.082 2 [M-H]⁻, 二倍分子离子峰 m/z 1247.130 7 [2M-H]⁻, 分子式为 C₃₃H₂₀O₁₃。其二级质谱失去 1 分子 CO₂ 产生碎片 m/z 579.090 8, 进一步裂解产生碎片峰 m/z 443.035 8 [M-H-C₉H₈O₄]⁻、 m/z 419.035 7 [M-H-C₁₀H₄O₅]⁻, 继续裂解产生特征碎片峰 m/z 243.025 4 [M-H-C₂₀H₁₂O₈]⁻, 母核裂解产生 m/z 217.015 5、159.040 5、135.046 2 碎片, 参照 Wang *et al.* (2007) 的报道, 推测为 phelligridin I。

成分 15: 出峰时间 13.96 min, 分子离子峰为 m/z 611.123 9 [M-H]⁻, 分子式为 C₃₃H₂₄O₁₂。MS/MS 谱中分子离子峰裂解产生碎片 m/z 365.062 1、245.045 2, m/z 365.062 1 进一步失去 1 分子邻羟基苯(C₆H₅O⁻)得到碎片 m/z 257.044 5, 母核进一步裂解产生 hispidin 的典型碎片 m/z 201.057 5、159.043 1、135.041 4, 推测化合物是以 hispidin 为母核的聚合物, 查阅 PubChem 数据库, 推测化合物为 3-[(3,4-dihydroxyphenyl)-[6-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethenyl]-4-hydroxy-2-oxopyran-3-yl]methyl]-6-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethenyl]-4-hydroxypyran-2-one(SCHEMBL8859595)。

成分 16: 出峰时间 14.23 min, 分子离子峰为 m/z 545.112 5 [M-H]⁻, 分子式为 C₃₀H₂₆O₁₀。MS/MS 谱中分子离子裂解产生碎片 m/z

299.053 3、245.042 0, 碎片 m/z 299.053 3 进一步失去 2 分子 CH_2 和 CH , 分别得到碎片离子 m/z 285.051 8、271.055 7、245.045 2, 母核裂解产生碎片 m/z 227.072 0、201.054 6、159.043 1、135.041 4, 化合物裂解规律见图 4, 参照 Han *et al.* (2013) 的报道, 推测化合物为 phaeolschidin A。

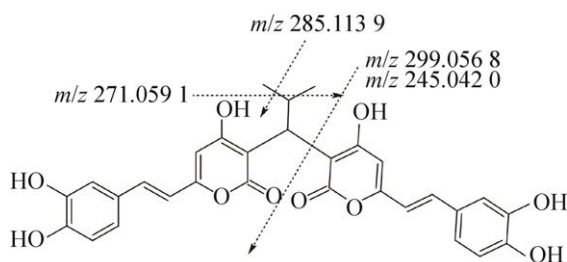


图 4 化合物 phaeolschidin A 质谱裂解规律

Fig. 4 The MS fragmentation pathway of phaeolschidin A.

成分 17: 出峰时间 14.69 min, 分子离子峰为 m/z 489.074 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$ 。其二级质谱中产生碎片 m/z 445.040 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$ 、 m/z 403.030 3 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_2\text{O}_3]^-$ 、 m/z 335.051 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_2]^-$, 进一步裂解产生特征碎片 m/z 243.028 6、241.058 4, 推测该成分为 2 分子 hispidin 聚合形成, 参照 Hwang *et al.* (2015) 的报道, 鉴定为 hypholomine B。

成分 18: 出峰时间 14.96 min, 分子离子峰为 m/z 503.094 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 二倍分子离子峰为 m/z 1007.176 0 $[2\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式 $\text{C}_{27}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ 。其 MS/MS 质谱中分子离子裂解产生碎片 m/z 257.044 5、245.048 4, 碎片 m/z 257.044 5、245.048 4 进一步失去 1 分子 CO_2 分别得到 213.058 5、201.045 9、185.057 1, 推测该成分为 2 分子 hispidin 由 1 分子 CH_2 连接形成, 参照杨树东等 (2019) 的报道, 推测为 3,3'-亚甲基双{6-[2-(3,4-二羟基苯基)乙烯基]-4-羟基-2H-吡喃-2-酮} (SCHEMBL8676491)。

成分 19: 出峰时间 15.69 min, 分子离子峰为

m/z 517.113 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 二倍分子量为 m/z 1 035.228 9 $[2\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$ 。MS/MS 质谱中分子离子裂解产生碎片 m/z 271.062 4、245.042 0, 碎片 m/z 271.062 4、245.042 0 进一步失去 1 分子 CO_2 产生碎片 m/z 227.068 9、201.054 6, 推测化合物为 2 分子 hispidin 由 1 分子 C_2H_4 连接形成, 参照 Kemami & Christian (2007) 的报道, 推测为 pinillidine。

成分 20: 出峰时间 16.40 min, 分子离子峰 m/z 473.042 0 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{O}_9$ 。其二级质谱中产生碎片 m/z 445.053 4 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}]^-$ 、 m/z 429.062 2 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$ 、 m/z 403.028 5 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_2\text{O}_2]^-$ 、 m/z 335.063 0 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_8\text{H}_9\text{O}]^-$, 进一步裂解产生特征碎片 m/z 243.025 4, 推测该成分为 1 分子 hispidin 与 1 分子 bisnoryangonin 聚合形成, 参照 Yang *et al.* (2020) 的报道, 鉴定为 hypholomine A。

成分 21: 出峰时间 16.67 min, 分子离子峰 m/z 461.082 3 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{25}\text{H}_{18}\text{O}_9$ 。其二级质谱中产生碎片 m/z 417.090 6 $[\text{M}-\text{H}-\text{CO}_2]^-$ 、 m/z 403.050 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}]^-$ 、 m/z 377.057 8 $[\text{M}-\text{H}-\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2]^-$, 进一步裂解产生特征碎片 m/z 245.038 8, 参照 Hwang *et al.* (2015) 的报道, 推测该成分为 inoscavin A。

成分 22: 出峰时间 17.18 min, 分子离子峰为 m/z 379.042 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 二倍分子离子峰为 m/z 759.094 0 $[2\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{O}_8$ 。MS/MS 质谱中分子离子失去 1 分子 CO_2 产生碎片 m/z 335.044 3, 失去 1 分子二羟基苯甲醛得到特征碎片 m/z 245.045 2, 特征碎片进一步产生 m/z 159.045 7、135.043 8, 参照 Mo *et al.* (2004) 的报道, 推测化合物为 phelligridin D。

成分 23: 出峰时间 19.32 min, 分子离子峰为 m/z 363.047 9 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{O}_7$ 。MS/MS 谱中分子离子峰失去 1 分子苯甲醛产生碎片 m/z 227.125 8, 母核离子进一步裂解得到碎片 m/z 159.043 1、135.041 4, 参考 Mo *et al.*

(2004)的报道,推测化合物为 phelligradin C。

成分 **24**: 出峰时间 19.96 min, 分子离子峰为 m/z 419.035 7 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_{23}H_{16}O_8$ 。其二级质谱中分子离子分别失去 1 分子醛基和 1 分子邻羟基苯产生碎片 m/z 377.069 7 $[M-H-C_2H_5O]^-$ 、 m/z 307.066 6 $[M-H-C_6H_8O_2]^-$, 进一步裂解产生特征碎片 m/z 243.028 6 $[M-H-C_6H_8O_2]^-$, 参照 Yang *et al.* (2020)的报道,推测该成分为 inoscavin C。

成分 **25**: 出峰时间 20.94 min, 分子离子峰为 m/z 621.076 8 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_{33}H_{18}O_{13}$ 。其二级质谱产生碎片 m/z 577.103 5 $[M-H-CO_2]^-$ 、441.070 1 $[M-H-CO_2-C_7H_4O_3]^-$ 、377.061 8 $[M-H-C_{13}H_7O_5]^-$ 、243.028 6 $[M-H-C_{13}H_7O_5-C_7H_3O_3]^-$, 参照 Wu *et al.* (2011)的报道,推测该成分为 phelligradin H。

成分 **26**: 出峰时间 21.93 min, 分子离子峰为 m/z 751.531 6 $[M-H-H_2O]^-$, 分子式为 $C_{39}H_{28}O_{16}$ 。其二级质谱产生碎片 m/z 689.353 2 $[M-H-H_2O-CO_2]^-$ 、485.031 2 $[M-H-H_2O-C_{13}H_{12}O_5]^-$ 、243.034 9 $[M-H-H_2O-C_{26}H_{18}O_{10}]^-$, 母核进一步裂解产生碎片 m/z 215.142 0、159.043 1、135.043 8、参照 Cho *et al.* (2011)的报道,推测该成分为 phellinstatin 带 1 分子结晶水。

成分 **27-30**: 出峰时间为 27.20、29.16、31.23、33.49 min, 分子离子峰分别为 m/z 297.149 4、311.167 1、325.179 4、339.198 8, 分子量相差 14, 推测这些成分为脂肪酸, 二级质谱均产生失去 1 分子羧基产生强特征碎片, 查阅 Lipidomics Gateway 数据库, 推测成分分别为十九烷酸(nonadecanoic acid)、二十烷酸(arachic acid)、二十一烷酸(heneicosanoic acid)、二十二烷酸(docosanoic acid)。

成分 **31-33**: 出峰时间为 40.05、42.76、43.77 min, 分子离子峰分别为 m/z 279.230 5、255.230 6、281.244 3, 参考 Huang *et al.* (2020)的报道,推测成分分别为亚油酸(linoleic acid)、棕

榈酸(palmitic acid)、油酸(oleic acid)。

成分 **34-38**: 出峰时间为 44.53、46.96、49.11、51.38、53.82 min, 分子离子峰分别为 m/z 355.316 6、369.335 2、383.352 7、397.370 1、411.381 9, 分子量相差 14, 且二级质谱出现失去 1 分子水产生碎片, 查阅 Lipidomics Gateway 数据库, 推测为羟基脂肪酸, 即羟基-二十二烷酸(hydroxy-docosanoic acid)、羟基-二十三烷酸(hydroxy-tricosanoic acid)、羟基-二十四烷酸(hydroxy-tetracosanoic acid)、羟基-二十五烷酸(hydroxy-pentacosanoic acid)、羟基-二十六烷酸(hydroxy-hexacosanoic acid)。

3 讨论

“桑黄”在药用菌物领域目前是研究和应用的热点,尤其在东亚地区。鲍姆桑黄是重要的桑黄物种之一,在日本、韩国广泛应用于保健品和药物制剂,而近年来的研究发现,除多糖类外,桑黄的其他提取物也表现出良好的抗肿瘤活性。本研究采用 CCK-8 法对野生鲍姆桑黄子实体乙酸乙酯萃取物和乙醇分离物的体外抗肿瘤活性进行评价,结果发现乙酸乙酯萃取部分对 5 种人癌细胞增殖均表现出良好的抑制作用,其中对 MDA-MB-231、HeLa 细胞增殖的抑制作用相对较强,其 IC_{50} 值分别为 127.24 $\mu g/mL$ 、138.23 $\mu g/mL$, 且呈现出一定的浓度依赖性,而乙醇分离物则表现出一定的对 NCI-H1299 细胞增殖活性的抑制作用, IC_{50} 值为 239.50 $\mu g/mL$ 。在此基础上,采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术对乙酸乙酯萃取物和乙醇分离物进行定性分析,结果发现乙酸乙酯萃取物中含有大量的吡喃酮类多酚化合物,推测其是发挥抑制肿瘤细胞增殖的活性成分,其中丰度或峰面积较高的成分包括 osmundacetone、hispidin、hispolon、pinillidine、davallialactone、phelligradins C 和 D、3,3'-亚甲基双[6-[2-(3,4-二羟基苯基)乙烯基]-4-羟基-2H-吡喃-2-酮]。研究发

现化合物 hispidin、hispolon 和 osmundacetone 表现出良好的抗肿瘤和抗氧化活性, phelligrindins C 和 D 表现出良好的抗氧化作用(Suabjakyong *et al.* 2015), 化合物 davallialactone 表现出强烈的抗氧化、抗肿瘤和降血脂等多种生物活性, 同时发现该化合物是纤孔菌 *Inonotus* spp. 和桑黄菌 *Sanghuangporus* spp. 的主要活性成分(Noh *et al.* 2011)。而化合物 3,3'-亚甲基双[6-[2-(3,4-二羟苯基)乙基]-4-羟基-2H-吡喃-2-酮]对人肝癌细胞 HepG 2 增殖表现出良好的抑制作用, IC₅₀ 值为 2.3 µg/mL, 且可诱导细胞凋亡, 呈现出一定的浓度依赖关系(杨树东等 2019), 推测这些成分可能为鲍姆桑黄子实体乙酸乙酯萃取物中抗肿瘤的主要活性成分。乙醇分离物丰度或峰面积较高的吡喃酮化合物包括 phelligrudin J、osmundacetone、hypholomine B、phelligrudin D 及其异构体, 这些化合物表现出良好的抗氧化作用。

鲍姆桑黄在市场中占有较大的比例, 本研究建立其野生子实体提取物抑制肿瘤细胞增殖活性成分的 UPLC-Q-TOF-MS 鉴定方法, 方法快速简便, 可为其子实体的质量控制及药效物质基础研究提供参考。

[REFERENCES]

- Cho JY, Kwon YJ, Sohn MJ, Seok SJ, Kim WG, 2011. Phellinstatin, a new inhibitor of enoyl-ACP reductase produced by the medicinal fungus *Phellinus linteus*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(6): 1716-1718
- Dai YC, Cui BK, 2014. Progress on the species of medicinal fungus *Inonotus sanghuang*. *Journal of Beijing Forestry University*, 36(5): 1-6 (in Chinese)
- Dai YC, Zhou LW, Cui BK, Chen YQ, Decock C, 2010. Current advances in *Phellinus sensu lato*: medicinal species, functions, metabolites and mechanisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87: 1587-1593
- Han JJ, Bao L, He LW, Zhang XQ, Yang XL, Li SJ, Yao YJ, Liu HW, 2013. Phaeolschidins A-E, five hispidin derivatives with antioxidant activity from the fruiting body of *Phaeolus schweinitzii* collected in the Tibetan Plateau. *Journal of Natural Products*, 76(8): 1448-1453
- He PY, Yang Y, Di L, Li JL, Li N, 2020. A comparative study on *in vitro* antitumor activities of the medicinal fungus *Sanghuangporus baumii* cultivated in different substrates. *Mycosystema*, 39(7): 1400-1409 (in Chinese)
- Huang J, Wang K, Zuo S, Chen L, Ding ZY, Mohamed ES, Zhang BB, 2020. Unsaturated fatty acid promotes the production of triterpenoids in submerged fermentation of *Sanghuangporus baumii*. *Food Bioscience*, 37: 1-8
- Hwang BS, Lee IK, Choi HJ, Yun BS, 2015. Anti-influenza activities of polyphenols from the medicinal mushroom *Phellinus baumii*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25: 3256-3260
- Kemami WHV, Christian H, 2007. Squarrosidine and pinillidine: 3,3'-fused bis(styrylpyrones) from *Pholiota squarrosa* and *Phellinus pini*. *European Journal of Organic Chemistry*, 20: 3292-3295
- Khushbaktova ZA, Yusupova SM, Badal'yants KL, Syrov VN, Batirov EK, 1996. Isolation of hispidin from a walnut-tree fungus and its antioxidant activity. *Chemistry of Natural Compounds*, 32: 27-29
- Lee IK, Han MS, Lee MS, Kim YS, Yun BS, 2010. Styrylpyrones from the medicinal fungus *Phellinus baumii* and their antioxidant properties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20: 5459-5461
- Li Y, Bao HY, 2020. Mycomedicines in China. Zhongyuan Farmer Publishing House, Zhengzhou. 375-379 (in Chinese)
- Liao KF, Chiu TL, Chang SF, Wang MJ, Chiu SC, 2021. Hispolon induces apoptosis, suppresses migration and invasion of glioblastoma cells and inhibits GBM xenograft tumor growth *in vivo*. *Molecules*, 26: 4497-4507
- Mo SY, Wang SJ, Zhou GX, 2004. Phelligrindins C-F: cytotoxic pyrano[4,3-c][2]benzopyran-1,6-dione and furo[3,2-c]pyran-4-one derivatives from the fungus *Phellinus igniarius*. *Journal of Natural Products*, 67(5): 823-828
- Noh JR, Lee IK, Ly SY, Yang KJ, Gang GT, Kim YH, Hwang JH, Yun BS, Lee CH, 2011. A *Phellinus baumii* extract reduces obesity in high-fat diet-fed mice and absorption of triglyceride in lipid-loaded mice. *Journal of Medicinal Food*, 14(3): 209-218
- Suabjakyong P, Saiki R, van Griensven L, Higashi K, Nishimura K, Igarashi K, 2015. Polyphenol extract from *Phellinus igniarius* protects against acrolein toxicity *in vitro* and provides protection in a mouse stroke model.

- PLoS One, 10(3): e0122733
- Wang Y, Shang XY, Wang SJ, Mo SY, Li S, Yang YC, Ye F, Shi JG, He L, 2007. Structures, biogenesis, and biological activities of pyrano[4,3-c] isochromen-4-one derivatives from the fungus *Phellinus igniarius*. Journal of Natural Products, 70(2): 296-299
- Wang Y, Wang SJ, Mo SY, Li S, Yang YC, Shi JG, 2005. Phelligradimer A, a highly oxygenated and unsaturated 26-membered macrocyclic metabolite with antioxidant activity from the fungus *Phellinus igniarius*. Organic Letter, 7(21): 4733-4736
- Wu CS, Lin ZM, Wang LN, Guo DX, Wang SQ, Liu YQ, Yuan HQ, Lou HX, 2011. Phenolic compounds with NF- κ B inhibitory effects from the fungus *Phellinus baumii*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 21: 3261-3267
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. Fungal Diversity, 98: 1-76
- Wu SH, Dai YC, 2020. Species clarification of the medicinal fungus Sanghuang. Mycosystema, 39(5): 781-794 (in Chinese)
- Yang K, Zhang S, Ying YM, 2020. Cultivated fruit body of *Phellinus baumii*: a potentially sustainable antidiabetic resource. ACS Omega, 5(15): 8596-8604
- Yang SD, Bao HY, Wang H, 2019. Chemical components and anti-tumour compounds from *Inonotus hispidus*. Mycosystema, 38(1): 127-133 (in Chinese)
- Zan LF, Qin JC, Zhang YM, Li X, Bao HY, 2011. Antioxidant hispidin derivatives from medicinal mushroom *Inonotus hispidus*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 59(6): 770-772
- Zhang HN, Shao Q, Wang WH, Zhang JS, Zhang Z, Liu YF, Yang Y, 2017. Characterization of compounds with tumor-cell proliferation inhibition activity from mushroom (*Phellinus baumii*) mycelia produced by solid-state fermentation. Molecules, 22(5): 698-708
- [附中文参考文献]**
- 戴玉成, 崔宝凯, 2014. 药用真菌桑黄种类研究. 北京林业大学学报, 36(5): 1-6
- 贺屏雅, 杨玥, 邸磊, 李俊龙, 李宁, 2020. 不同基质栽培的药用鲍姆桑黄孔菌体外抗肿瘤活性的比较研究. 菌物学报, 39(7): 1400-1409
- 李玉, 包海鹰, 2020. 中国菌物药. 郑州: 中原农民出版社. 375-378
- 吴声华, 戴玉成, 2020. 药用真菌桑黄的种类解析. 菌物学报, 39(5): 781-794
- 杨树东, 包海鹰, 王辉, 2019. 粗毛纤孔菌的化学成分及抗肿瘤活性成分. 菌物学报, 38(1): 127-133