

本文引用: 姚清颖, 张小娟, 曾妮, 付港, 李斌, 王炜. 猴头菌培养液乙酸乙酯提取物的化学成分研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(2): 245-250.

猴头菌培养液乙酸乙酯提取物的化学成分研究

姚清颖^{1,2}, 张小娟^{1,2}, 曾妮^{1,2}, 付港^{1,2}, 李斌^{1,2*}, 王炜^{1,2}

1. 湖南中医药大学药学院, 湖南长沙 410208; 2. 湖南中医药大学中医药民族医药国际联合实验室, 湖南长沙 410208

[摘要] **目的** 研究猴头菌培养液乙酸乙酯提取物的化学成分。**方法** 通过凝胶柱色谱、硅胶柱色谱、半制备高效液相色谱等技术进行分离和纯化; 根据其理化性质数据和波谱对得到的化合物进行结构鉴定。**结果** 从猴头菌培养液乙酸乙酯提取物中分离并鉴定得到 22 个化合物, 分别为 3-甲氧基-4-羟基苯甲醛(1), 吲哚甲酸甲酯(2), 2-呋喃甲酸(3), 苯甲酸(4), 2(3H)-苯并恶唑酮(5), 香草酸(6), 没食子酸(7), polisin C(8), bis(2-ethylhexyl)benzene-1,2-dicarboxylate(9), p-tyrosyl acetate(4-hydroxyphenethyl acetate)(10), 1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)ethanon(11), 对羟基苯乙酮(12), 1-苯基-1,2-丙二醇(13), 6-羟基异苯并呋喃-1(3H)-酮(14), 对羟基苯乙醛(15), 1H-吲哚-3-吡咯甲醛(16), 环(脯氨酸-缬氨酸)(17), 环(脯氨酸-亮氨酸)(18), 环(苯丙氨酸-缬氨酸)(19), 环(异亮氨酸-苯丙氨酸)(20), 苜蓿素(21), dihydro-4-hydroxy-2(3H)-furanone(22)。**结论** 除化合物 16 和 21 外, 其他化合物均为首次从猴头菌培养液中分离得到。

[关键词] 猴头菌培养液; 化学成分; 小分子化合物; 环肽类化合物; 生物碱

[中图分类号] R284.2

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.02.010

Chemical constituents of ethyl acetate extracts of the culture solution of *Hericium erinaceus*

YAO Qingying^{1,2}, ZHANG Xiaojuan^{1,2}, ZENG Ni^{1,2}, FU Gang^{1,2}, LI Bin^{1,2*}, WANG Wei^{1,2}

1. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Traditional Chinese Medicine and Ethnomedicine Innovation & Development International Laboratory, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

[Abstract] **Objective** To study the chemical constituents of ethyl acetate extracts of the culture solution of *Hericium erinaceus*. **Methods** Compounds were isolated and purified using Sephadex LH-20 column chromatography, silica gel column chromatography, semi-preparative HPLC and so on, and their structures were identified based on their physicochemical properties and spectral data. **Results** A total of 22 compounds were isolated and obtained from the ethyl acetate extracts of the culture solution of *Hericium erinaceus*, including 3-methoxy-4-hydroxybenzaldehyde (1), methyl indole-3-carboxylate (2), 2-furancarboxylic acid (3), benzoic acid (4), 2(3H)-benzoxazolone (5), vanillic acid (6), gallic acid (7), polisin C (8), bis(2-ethylhexyl)benzene-1,2-dicarboxylate (9), p-tyrosyl acetate(4-hydroxyphenethyl acetate) (10), 1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)ethanon (11), hydroxyacetophenone (12), 1-phenyl-1,2-propanediol (13), 6-hydroxy isobenzofuran-1(3H)-one (14), 4-hydroxyphenylacetaldehyde (15), 1H-indole-3-carboxaldehyde (16), cyclo(Pro-Val) (17), cyclo(Pro-Leu) (18), cyclo(Phe-Val) (19), cyclo(Ile-Phe) (20), 3',5'-dimethoxy-4',5,7-trihydroxyflavone (21), and dihydro-4-hydroxy-2(3H)-furanone (22). **Conclusion** With the exception of compounds 16 and 21, all other compounds were isolated from the culture solution of *Hericium erinaceus* for the first time.

[Keywords] culture solution of *Hericium erinaceus*; chemical constituents; small-molecular compounds; cyclopeptides; alkaloids

[收稿日期] 2023-10-11

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82074122); 湖南中医药大学研究生创新项目(2022CX71)。

[通信作者] * 李斌, 女, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: libin@hnu.edu.cn。

猴头菌(*Hericium erinaceus*)是一种药用真菌,研究表明,其在治疗慢性胃炎、消化不良、胃溃疡、十二指肠溃疡等消化系统疾病方面有良好的疗效^[1],除此之外,猴头菌还具有抗衰老、抗炎、抗肿瘤、降血脂的作用^[2]。猴头菌中主要的化学成分为多糖、甾体、萜类、脂肪酸、酚类以及蛋白质等^[3]。目前,国内外对猴头菌的研究在多糖方面取得了许多成果,但对其小分子化合物的研究较少。为了进一步探索猴头菌的药用价值,本文通过生物发酵技术对猴头菌进行培养,并对其代谢产物进行研究,利用各种色谱分离技术和波谱技术对猴头菌培养液乙酸乙酯提取物进行分离、纯化和结构鉴定,共分离并鉴定 22 个化合物,其中有 20 个为首次从猴头菌中分离得到,分别为 3-甲氧基-4-羟基苯甲醛(**1**),吡啶甲酸甲酯(**2**),2-咪唑甲酸(**3**),苯甲酸(**4**),2(3*H*)-苯并恶唑酮(**5**),香草酸(**6**),没食子酸(**7**),polisin C(**8**),bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate(**9**),*p*-tyrosyl acetate (4-hydroxyphenethyl acetate)(**10**),1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)ethanon(**11**),对羟基苯乙酮(**12**),1-苯基-1,2-丙二醇(**13**),6-羟基异苯并咪唑-1(3*H*)-酮(**14**),对羟基苯乙醛(**15**),1*H*-吡啶-3-吡咯甲醛(**16**),环(脯氨酸-缬氨酸)(**17**),环(脯氨酸-亮氨酸)(**18**),环(苯丙氨酸-缬氨酸)(**19**),环(异亮氨酸-苯丙氨酸)(**20**),苜蓿素(**21**),dihydro-4-hydroxy-2(3*H*)-furanone(**22**)。

1 材料

1.1 主要仪器与试剂

Bruker ascend 600 MHz 核磁共振光谱仪(德国 Bruker 公司);Agilent DD2 500 MHz 核磁共振光谱仪(美国 Agilent 公司);Agilent 1260 半制备型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);ZF7 型紫外分析仪(巩义市予华仪器有限公司);KQ5200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);BSZ-100 型部分收集器(上海青浦沪西仪器厂);METTER AE240 型电子天平(梅特勒托利多科技有限公司);半制备色谱柱 Agilent ZORBAX XDB C₁₈(10 mm×100 mm, 5 μm)(美国 Agilent 公司);半制备色谱柱 YMC-PACK ODS-A C₁₈(10 mm×250 mm, 5 μm)(日本 YMC 公司);葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20(通用电气医疗系统有

限公司);柱色谱硅胶(80-100 目、100-200 目、200-300 目)和薄层色谱板 GF254 20 cm×20 cm(青岛海洋化工有限公司);反相硅胶 C₁₈(日本 Daisio 公司);乙酸乙酯、甲醇、氯仿、二甲基亚砜(分析纯,青岛海洋化工有限公司);5%香草醛-浓硫酸(自制)。

1.2 实验材料

猴头菌培养液水提物由湖南省新汇制药有限公司提供。其标本(编号:HTGPHY-1020)存于湖南中医药大学含浦校区实验楼 C 栋 629 室。

2 提取分离

猴头菌培养液浓缩得到 25 kg 水提物,水提物加水制成混悬液,用等量的乙酸乙酯萃取,重复 3 次。合并乙酸乙酯萃取液,旋转蒸发器减压浓缩后,得乙酸乙酯浸膏 63.5 g。

将乙酸乙酯浸膏用硅胶柱色谱分离,二氯甲烷:甲醇(100:1、80:1、60:1、40:1、20:1、10:1、5:1、3:1、1:1、1:5)梯度洗脱,流分浓缩后用 TLC 检查,合并具有相同 R_f 值及相同斑点颜色的流分,得到 10 个组分 Fr.A~Fr.J。

Fr.E(116.0 mg)用 Sephadex LH-20 柱色谱进行分离,石油醚:氯仿:甲醇(4:5:1)洗脱得到化合物 **1**(8.3 mg)和化合物 **2**(12.0 mg)。

Fr.F(12.8 g)用硅胶柱色谱分离,石油醚:丙酮(60:1、40:1、20:1、10:1、5:1、3:1、1:1)梯度洗脱,流分经 TLC 检视并合并相同的流分,得到 7 个组分 Fr.F.I~Fr.F.VII。Fr.F.I(801.0 mg)重结晶得到化合物 **3**(510.0 mg);母液经葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱分离,氯仿:甲醇(1:1)洗脱,得到化合物 **4**(7.1 mg),剩余流分用半制备 HPLC(40%甲醇,3 mL·min⁻¹)分离,洗脱得到化合物 **5**(5.3 mg, t_R=13.5 min)。

Fr.F.II(613.0 mg)用反相 C₁₈ 柱色谱柱分离,甲醇:水(0:100-100:0)梯度洗脱得到化合物 **6**(4.9 mg),子流分 Fr.F.II.b 用半制备 HPLC(25%甲醇,3 mL·min⁻¹)分离,得到化合物 **7**(7.8 mg, t_R=2.6 min)和化合物 **8**(6.7 mg, t_R=2.8 min)。

Fr.F.III(880.0 mg)经葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱分离,氯仿:甲醇(1:1)洗脱得到化合物 **9**(4.2 mg),子流分继续用半制备型 HPLC 纯化(30%甲醇,3 mL·min⁻¹),洗脱得到化合物 **10**(4.6 mg)。

Fr.F.IV (900.0 mg)经葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱分离,氯仿:甲醇(1:1)洗脱,得到化合物 **11** (3.5 mg),子流分 Fr.F.IV.1 继续用半制备HPLC(30% 甲醇, $3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$)洗脱得到化合物 **12** (4.1 mg, $t_{\text{R}}=15.6 \text{ min}$),子流分 Fr.F.IV.2 半制备 HPLC(35% 甲醇, $3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$)等度洗脱得到化合物 **13** (5.6 mg, $t_{\text{R}}=10.4 \text{ min}$);子流分 Fr.F.IV.3 继续用半制备 HPLC(35% 甲醇, $3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$)纯化,洗脱得到化合物 **14** (4.0 mg, $t_{\text{R}}=18.2 \text{ min}$)。

Fr.F.V (220.0 mg)用反相 C_{18} 柱色谱分离,甲醇:水(0:100-100:0)梯度洗脱,TLC 检识具有褐色主斑点的成分继续用半制备 HPLC 纯化(25% 甲醇, $3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$),洗脱得到化合物 **15** (0.8 mg)和化合物 **16** (1.3 mg)。

Fr.F.VI (4.1 g)经反相 C_{18} 柱色谱甲醇:水(0:100-100:0)梯度洗脱得到化合物 **17** (5.5 mg),化合物 **18** (6.7 mg)和化合物 **19** (3.8 mg),子流分反复经过葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱,用氯仿:甲醇(1:1)洗脱得到化合物 **20** (4.9 mg)。

Fr.F.VII (62.0 mg)经葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱进行分离,氯仿:甲醇(1:1)洗脱得到化合物 **21** (3.2 mg)和化合物 **22** (5.1 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状液体(氯仿); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ_{H} : 7.41~7.43 (m, 2H, H-2,6), 7.04 (d, $J=8.5 \text{ Hz}$, 1H, H-5), 9.82(s, 1H, H-7), 3.96 (s, 3H, 3-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) δ_{C} : 129.9 (C-1), 114.4(C-2), 147.1(C-3), 151.7(C-4), 108.8 (C-5), 127.5(C-6), 190.9(C-7), 56.1(3-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[3],故鉴定为 3-甲氧基-4-羟基苯甲醛。

化合物 **2**: 白色无定型粉末(氯仿); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ_{H} : 8.18~8.20 (m, 1H, H-2), 7.92 (d, $J=2.7 \text{ Hz}$, 1H, H-5), 7.27~7.29(m, 2H, H-6,7), 7.41~7.43 (m, 1H, H-8), 3.93 (s, 3H, 10-OCH₃), 8.66 (brs, 1H, -NH-); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) δ_{C} : 130.9(C-2), 111.5(C-3), 125.8(C-4), 123.2(C-5), 121.5(C-6), 122.0(C-7), 108.9(C-8), 136.0(C-9), 165.6(C-10), 51.1(10-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[4],故鉴定为吲哚甲酸甲酯。

化合物 **3**: 白色粉末(甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ_{H} : 7.20 (dd, $J=3.5, 0.8 \text{ Hz}$, 1H, H-3), 6.58(dd, $J=3.5, 1.7 \text{ Hz}$, 1H, H-4), 7.71(dd, $J=1.7, 0.8 \text{ Hz}$, 1H, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ_{C} : 145.0(C-2), 117.6(C-3), 111.5(C-4), 146.6(C-5), 160.4(C-6)。以上数据与文献报道基本一致^[5],故鉴定为 2-呋喃甲酸。

化合物 **4**: 白色无定型粉末(甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) δ_{H} : 8.04 (d, $J=7.4 \text{ Hz}$, 2H, H-2,6), 7.46 (t, $J=7.4 \text{ Hz}$, 2H, H-3,5), 7.58 (t, $J=7.4 \text{ Hz}$, 1H, H-4); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 150 MHz) δ_{C} : 129.3(C-1), 130.5(C-2,6), 128.1(C-3,5), 132.7(C-4), 168.5(C-7)。以上数据与文献报道基本一致^[6],故鉴定为苯甲酸。

化合物 **5**: 白色无定型粉末(甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) δ_{H} : 7.17 (td, $J=7.7, 1.2 \text{ Hz}$, 1H, H-5), 7.09~7.11(m, 1H, H-6), 7.12 (td, $J=7.7, 1.2 \text{ Hz}$, 1H, H-7), 7.22 (d, $J=8.0 \text{ Hz}$, 1H, H-8), 9.78 (s, 1H, -NH-); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 150 MHz) δ_{C} : 155.8(C-2), 130.3(C-4), 122.0 (C-5), 109.2 (C-6), 109.5 (C-7), 123.7(C-8), 144.0(C-9)。以上数据与文献报道基本一致^[7],故鉴定为 2(3H)-苯并恶唑酮。

化合物 **6**: 白色无定型粉末(甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ_{H} : 7.52~7.55(m, 2H, H-2, 6), 6.82(d, $J=8.7 \text{ Hz}$, 1H, H-5), 3.88 (s, 3H, 3-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ_{C} : 122.0 (C-1), 112.4 (C-2), 147.2(C-3), 151.1 (C-4), 114.4(C-5), 123.8(C-6), 169.1(C-7), 55.0(3-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[8],故鉴定为香草酸。

化合物 **7**: 白色无定型粉末(甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ_{H} : 6.37 (s, 2H, H-2, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ_{C} : 121.3(C-1), 108.9(C-2, C-6), 144.9(C-3, C-5), 137.8(C-4), 169.1(C-7)。以上数据与文献报道基本一致^[9],故鉴定为没食子酸。

化合物 **8**: 无色粉末(甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ_{H} : 1.44~1.49 (m, overlap, 1H, H-1), 1.38~1.46 (m, overlap, 2H, H-2), 1.72 (dp, $J=12.4, 3.1 \text{ Hz}$, 1H, H-3a), 1.08~1.12 (m, overlap, 1H, H-3b), 1.93~1.97 (m, overlap, 1H, H-4), 1.93~1.96(m, overlap, 1H, H-5a), 1.31~1.36 (m, overlap, 1H, H-

5b), 3.84(q, $J=2.7$ Hz, 1H, H-6), 2.18(ddd, $J=13.3, 10.0, 8.4$ Hz, 1H, H-8a), 1.92~1.96(m, 1H, H-8b), 2.68 (ddd, $J=18.4, 10.1, 8.4$ Hz, 1H, H-9a), 2.54 (ddd, $J=18.4, 10.1, 5.0$ Hz, 1H, H-9b), 0.94(d, $J=6.5$ Hz, 3H, H-13), 1.31 (s, 3H, H-14); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ_{C} : 36.2(C-1), 27.5(C-2), 26.4(C-3), 40.0(C-4), 33.9(C-5), 69.7(C-6), 89.6(C-7), 30.8 (C-8), 28.5 (C-9), 178.3 (C-10), 17.3 (C-13), 21.4(C-14)。以上数据与文献报道基本一致^[10],故鉴定为 polisin C。

化合物 9: 白色无定型粉末; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ_{H} : 4.15~4.22 (m, 4H, H-1, H-1'), 1.62~1.69 (m, 2H, H-2, H-2'), 0.90~0.92(m, overlap, 6H, H-6,6'), 0.87~0.89 (m, overlap, 6H, H-8,8'), 7.68 (dd, $J=6.0, 3.0$ Hz, 2H, H-3", H-6"), 7.55 (dd, $J=6.0, 3.0$ Hz, 2H, H-4", H-5"), 1.29~1.41 (m, 16H, 8 \times CH₂); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ_{C} : 68.1 (C-1, C-1'), 38.7(C-2, C-2'), 30.3(C-3, C-3'), 28.8(C-4, C-4'), 22.8(C-5, C-5'), 10.6(C-6, C-6'), 23.6(C-7, C-7'), 13.6(C-8, C-8'), 132.2(C-1", C-2"), 128.6(C-3", C-6"), 131.0(C-4", C-5"), 168.1(C7", C-8")。以上数据与文献报道基本一致^[11],故鉴定为 bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate。

化合物 10: 亮黄色无定型粉末(甲醇:氯仿=1:1); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ_{H} : 7.56 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, H-2,6), 7.02 (d, $J=8.5$ Hz, 2H, H-3,5), 2.82(t, $J=7.1$ Hz, 2H, H-1'), 4.19(t, $J=7.1$ Hz, 2H, H-2'), 2.01 (s, 3H, 4'-CH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ_{C} : 128.5(C-1), 129.7(C-2,6), 115.1(C-3,5), 155.4 (C-4), 34.0(C-1'), 65.4(C-2'), 171.8(C-4'), 20.3(4'-CH₃)。以上数据与文献报道的基本一致^[12],故鉴定为 p-tyrosyl acetate(4-hydroxyphenethyl acetate)。

化合物 11: 无色油状物(甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ_{H} : 7.30(s, 2H, H-2,6), 2.55(s, 3H, 7-CH₃), 3.90(s, 6H, 3,5-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ_{C} : 127.7(C-1), 106.0(C-2,6), 147.6(C-3,5), 141.4 (C-4), 197.9 (C-7), 24.9 (7-CH₃), 55.4 (3,5-OCH₃)。以上数据与文献报道的基本一致^[13],故鉴定为 4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl-ethanone。

化合物 12: 白色无定型粉末(甲醇); $^1\text{H-NMR}$

(CD_3OD , 500 MHz) δ_{H} : 7.83 (d, $J=8.8$ Hz, 2H, H-2,6), 6.82(d, $J=8.8$ Hz, 2H, H-3,5), 2.51(s, 3H, 7-CH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ_{C} : 128.8 (C-1), 130.9(C-2,6), 115.1(C-3,5), 162.3(C-4), 198.3(C-7), 25.6(7-CH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[14],故鉴定为对羟基苯乙酮。

化合物 13: 白色无定型粉末(甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) δ_{H} : 7.38(d, $J=7.2$ Hz, 2H, H-2, H-6), 7.34(t, $J=7.2$ Hz, 2H, H-3,5), 7.26(t, $J=7.2$ Hz, 1H, H-4), 4.53 (d, $J=5.2$ Hz, 1H, H-1'), 3.90 (p, $J=6.2$ Hz, 1H, H-2'), 1.13 (d, $J=6.4$ Hz, 3H, H-3'); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 150 MHz) δ_{C} : 141.9(C-1), 126.7 (C-2, C-6), 127.7 (C-3, C-5), 127.0 (C-4), 77.7(C-1'), 71.0(C-2'), 16.8(C-3')。以上数据与文献报道基本一致^[15],故鉴定为 1-苯基-1,2-丙二醇。

化合物 14: 白色无定型粉末(甲醇:氯仿=1:1); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ_{H} : 5.25(s, 2H, H-3), 7.20(d, $J=2.3$ Hz, 1H, H-4), 7.16(dd, $J=8.3, 2.3$ Hz, 1H, H-5), 7.34 (d, $J=8.3$ Hz, 1H, H-7); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ_{C} : 172.5(C-1), 70.0(C-3), 123.0 (C-4), 122.9(C-5), 158.3(C-6), 110.1(C-7), 126.4(C-8), 137.8(C-9)。以上数据与文献报道的基本一致^[16],故鉴定为 6-羟基异苯并呋喃-1(3H)-酮。

化合物 15: 黄色油状液体(甲醇:氯仿=1:1); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ_{H} : 7.80(d, $J=8.8$ Hz, 2H, H-2,6), 6.84(d, $J=8.8$ Hz, 2H, H-3,5), 2.51(s, 2H, H-7); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ_{C} : 125.6(C-1), 130.0(C-2, C-6), 115.4(C-3,5), 162.8(C-4), 64.6(C-7), 197.0(C-8)。以上数据与文献报道的基本一致^[17],故鉴定为对羟基苯乙醛。

化合物 16: 白色无定型粉末(甲醇:氯仿=1:1); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 MHz) δ_{H} : 7.93(s, 1H, H-2), 8.16 (dd, $J=2.0, 6.5$ Hz, 1H, H-4), 7.21~7.27(m, 2H, H-5, H-6), 7.44(dd, $J=2.0, 6.5$ Hz, 1H, H-7), 9.87 (s, 1H, H-8), 11.61 (s, 1H, -NH-); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 125 MHz) δ_{C} : 138.0 (C-2), 118.7 (C-3), 124.3(C-3a), 123.8(C-4), 122.5(C-5), 121.2(C-6), 112.0(C-7), 137.4(C-7a), 186.0(C-8)。以上数据与文献报道的基本一致^[18],故鉴定为 1H-吡啶-3-吡咯甲醛。

化合物 **17**: 白色粉末状固体(甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) δ_{H} : 4.04~4.05 (m, 1H, H-2), 2.29~2.35(m, 1H, H-3), 1.92~1.97(m, 2H, H-3,4), 2.01~2.04 (m, 1H, H-4), 3.49~3.52 (m, 1H, H-5), 3.54~3.59 (m, 1H, H-5), 4.19~4.22 (m, 1H, H-2'), 2.49(heptd, $J=7.2$, 2.6 Hz, 1H, H-3'), 0.94(d, $J=7.2$ Hz, 3H, 3'- CH_3), 1.10 (d, $J=7.2$ Hz, 3H, 3'- CH_3), 7.92(s, 1H, H-Val); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 150 MHz) δ_{C} : 172.6(C-1), 61.5(C-2), 29.9(C-3), 23.3(C-4), 46.2(C-5), 167.6(C-1'), 60.0(C-2'), 29.5(C-3'), 16.7(3'- CH_3), 18.8(3'- CH_3)。以上数据与文献报道的基本一致^[19],故鉴定为环(脯氨酸-缬氨酸)。

化合物 **18**: 白色固体(DMSO); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ_{H} : 4.17~4.19 (m, 1H, H-2), 1.90(m, 1H, H-3a), 2.09~2.13(m, 1H, H-3b), 1.77~1.93(m, 2H, H-4), 3.17(d, $J=4.9$ Hz, 1H, H-5a), 3.30~3.38 (m, 1H, H-5), 4.00 (t, $J=6.3$ Hz, 1H, H-2'), 1.73~1.76(m, 2H, H-3'), 1.35(m, 1H, H-4'), 0.85(d, $J=6.5$ Hz, 3H, 4'- CH_3), 0.87 (d, $J=6.5$ Hz, 3H, 4'- CH_3), 8.00(s, 1H, H-Leu); $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ_{C} : 167.0(C-1), 58.9(C-2), 38.2(C-3), 23.3(C-4), 45.3(C-5), 170.8(C-1'), 53.1(C-2'), 27.9(C-3'), 24.5(C-4'), 22.9(4'- CH_3), 22.3(4'- CH_3)。以上数据与文献报道的基本一致^[20],故鉴定为环(脯氨酸-亮氨酸)。

化合物 **19**: 白色针状固体(DMSO); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ_{H} : 4.17(t, $J=4.2$ Hz, 1H, H-2), 2.90(dd, $J=13.6$, 4.9 Hz, 1H, H-3), 3.16(dd, $J=13.6$, 3.9 Hz, 1H, H-3), 7.25~7.27(m, 2H, H-5,9), 7.20~7.21(m, 2H, H-6,8), 7.22~7.23(m, 1H, H-7), 4.38 (t, $J=5.4$ Hz, 1H, H-2'), 2.05 (m, 1H, H-3'), 0.76(d, $J=7.2$ Hz, 3H, 3'- CH_3), 0.84(d, $J=7.2$ Hz, 3H, 3'- CH_3), 7.95(s, 1H, H-Val), 8.13(s, 1H, H-Phe); $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ_{C} : 167.9(C-1), 59.4(C-2), 38.5(C-3), 136.6(C-4), 128.5(C-5,9), 130.7(C-6,8), 127.1(C-7), 167.6(C-1'), 55.2(C-2'), 32.0(C-3'), 17.1(3'- CH_3), 18.6(3'- CH_3)。以上数据与文献报道的基本一致^[21],故鉴定为环(苯丙氨酸-缬氨酸)。

化合物 **20**: 白色片状固体(甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) δ_{H} : 4.27~4.29 (m, 1H, H-2),

1.81~1.85 (m, 2H, H-3), 1.35~1.41(m, 1H, H-4a), 1.17~1.22 (m, 1H, H-4b), 0.86 (d, $J=7.5$ Hz, 3H, H-5), 0.89(d, $J=7.1$ Hz, 3H, H-6), 4.61(s, 2H, H-2'), 3.02 (dd, $J=13.8$, 4.6 Hz, 1H, H-3'), 3.27(dd, $J=13.8$, 4.1 Hz, 1H, H-3'), 7.27~7.30 (m, 3H, H-5', H-6', H-8'), 7.23~7.25 (m, 2H, H-7', H-9'), 8.23(s, 1H, H-Phe), 7.92(s, 1H, H-Ile); $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 150 MHz) δ_{C} : 168.6(C-1), 58.4(C-2), 39.1(C-3), 24.0(C-4), 10.8(C-5), 13.8(C-6), 168.7(C-1'), 55.7(C-2'), 38.5(C-3'), 135.1(C-4'), 130.4(C-5', C-9'), 128.1(C-6', C-8'), 126.9(C-7')。以上数据与文献报道的基本一致^[22],故鉴定为环(异亮氨酸-苯丙氨酸)。

化合物 **21**: 黄色粉末状固体(DMSO); $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ_{H} : 7.00(s, 1H, H-3), 6.21(d, $J=2.0$ Hz, 1H, H-6), 6.57 (d, $J=2.0$ Hz, 1H, H-8), 7.34 (s, 2H, H-2', H-6'), 3.89(s, 6H, 3',5'- OCH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ_{C} : 164.1 (C-2), 104.8(C-3), 182.3(C-4), 104.2(C-4a), 161.9(C-5), 99.3(C-6), 164.6(C-7), 94.7(-C-8), 157.8(C-8a), 120.9(C-1'), 104.1(C-2', C-6'), 148.7(C-3', C-5'), 140.3(C-4'), 56.8(3',5'- OCH_3)。以上数据与文献报道的基本一致^[23],故鉴定为苜蓿素。

化合物 **22**: 无色液体; $^1\text{H-NMR}$ (Pyridine- d_5 , 500 MHz) δ_{H} : 2.70~2.92(m, 2H, H-3), 4.44(m, 1H, H-4), 4.75 (m, 2H, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (Pyridine- d_5 , 125 MHz) δ_{C} : 176.7 (C-2), 38.3 (C-3), 76.6 (C-4), 67.1(C-5)。以上数据与文献报道的基本一致^[24],故鉴定为 dihydro-4-hydroxy-2(3H)-furanone。

4 结论

本实验利用生物发酵技术对猴头菌进行培养,对其次代谢产物进行化学成分研究,采用硅胶柱色谱、葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱、 C_{18} 反向柱色谱和半制备高效液相色谱等方法对猴头菌培养液乙酸乙酯提取物的化学成分进行分离及结构鉴定,最终从中分离出了 22 个化合物。通过光谱分析以及参照文献数据鉴定了其结构,除了化合物 **16** 和 **21** 外,其他均为首次从猴头菌中分离得到,其中 **21** 为黄酮类,**1,4,6,7,9~15** 为苯环衍生物,**2,16** 为吲哚类

生物碱,17~20为环肽类化合物。根据文献报道,环肽类多具有免疫调节、抗菌和抗肿瘤等作用^[22],生物碱具有抗炎镇痛等作用^[25],黄酮类化合物则具有抗氧化、抗炎等活性^[26]。本研究为猴头菌中小分子成分的开发应用提供了物质基础。

参考文献

- [1] 喻凯. 猴头菌培养物化学成分及药理活性研究[D]. 长沙: 中南大学, 2014.
- [2] 王振丽, 李书华, 闫泽华. 猴头菌丝多糖提取工艺的研究[J]. 农产品加工, 2022(8): 41-42, 46.
- [3] ITO J, CHANG F R, WANG H K, et al. Anti-AIDS agents. 48.1 Anti-HIV activity of moronic acid derivatives and the new melliferone-related triterpenoid isolated from Brazilian propolis[J]. *Journal of Natural Products*, 2001, 64(10): 1278-1281.
- [4] 李兴博, 齐耀东, 刘海涛, 等. 新疆藁本化学成分的研究[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(10): 1543-1547.
- [5] 闫兆威, 刘金平, 卢丹, 等. 刺五加果肉化学成分的研究(II)[J]. *天然产物研究与开发*, 2013, 25(3): 338-341.
- [6] 林建斌, 赵立春, 郭建忠, 等. 金荞麦地上部分化学成分的研究[J]. *中草药*, 2016, 47(11): 1841-1844.
- [7] 彭兴, 龙盛京. 老鼠簕的化学成分研究[J]. *中草药*, 2006, 37(7): 971-973.
- [8] 倪付勇, 温建辉, 李明, 等. 金银花化学成分研究[J]. *中草药*, 2017, 48(18): 3689-3692.
- [9] 庞闹, 王亚凤, 何瑞杰, 等. 甜橘化学成分研究(I)[J]. *中药材*, 2018, 41(9): 2116-2119.
- [10] WANG S, LI Z H, DONG Z J, et al. Norbisabolane and eremophilane sesquiterpenoids from cultures of the basidiomycete *Polyporus ellisii*[J]. *Fitoterapia*, 2013, 91: 194-198.
- [11] KATADE S R, PAWAR P V, TUNGKAR V B, et al. Larvicidal activity of bis (2-ethylhexyl) benzene-1, 2-dicarboxylate from *Sterculia guttata* seeds against two mosquito species [J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2006, 3(1): 49-53.
- [12] 韦玮, 邓家刚, 郝二伟, 等. 黄红钻乙酸乙酯萃取部位化学成分分离鉴定[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(21): 51-55.
- [13] SCHMALZ H G, CVENGROŠ J, NEUFEIND S, et al. Microwave-assisted cleavage of aryl methyl ethers with lithium thioethoxide (LiSEt)[J]. *Synlett*, 2008, 2008(13): 1993-1998.
- [14] DING H Y, LIN H C, TENG C M, et al. Phytochemical and pharmacological studies on Chinese *Paeonia* species [J]. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 2000, 47(2): 381-388.
- [15] NICOLAOU K C, SNYDER S A, LONGBOTTOM D A, et al. New uses for the Burgess reagent in chemical synthesis: Methods for the facile and stereoselective formation of sulfamidates, glycosylamines, and sulfamides[J]. *Chemistry*, 2004, 10(22): 5581-5606.
- [16] TEIXEIRA R R, PEREIRA J L, DA SILVA S F, et al. Synthesis, characterization and phytotoxic activity of hydroxylated isobenzofuran-1(3H)-ones[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2014, 1061: 61-68.
- [17] 盛丽. 异叶败酱化学成分及其抗肿瘤活性和玉米须对II型糖尿病小鼠降糖作用的研究[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2019.
- [18] 刘佳, 苏锦松, 仁真旺甲, 等. 藏药黄葵子的化学成分研究[J]. *中药材*, 2022, 45(7): 1623-1626.
- [19] 邱玲, 何鑫, 冯丹, 等. 冬虫夏草中一株内生菌次级代谢产物的化学成分[J]. *应用与环境生物学报*, 2018, 24(6): 1290-1294.
- [20] 冯丹, 秦玲玲, 郑东滨, 等. 冬虫夏草内生菌皮壳青霉菌化学成分的研究[J]. *中成药*, 2019, 41(8): 1863-1867.
- [21] 冯芮, 郭力, 蒲忠慧, 等. 川芎化学成分及其抑制子宫平滑肌收缩作用[J]. *中成药*, 2020, 42(7): 1781-1785.
- [22] 刘海滨, 高昊, 王乃利, 等. 红树林真菌草酸青霉(092007)的环二肽类成分[J]. *沈阳药科大学学报*, 2007, 24(8): 474-478.
- [23] KUWABARA H, MOURI K, OTSUKA H, et al. Tricin from a Malagasy connaraceous plant with potent antihistaminic activity [J]. *Journal of Natural Products*, 2003, 66(9): 1273-1275.
- [24] FANG J M, WANG K C, CHENG Y S. The chemical constituents from the aerial part of *Rosa laevigata*[J]. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 1991, 38(3): 297-299.
- [25] 雷倩. 基于低共熔溶剂的超声辅助绿色高效萃取防己中生物碱类活性成分研究[D]. 赣州: 赣南师范大学, 2023.
- [26] 郭炎峰, 郭海海, 范玉雪, 等. 苜蓿素对高脂饲料诱发的大鼠血管内皮损伤的治疗作用[J]. *动物营养学报*, 2022, 34(10): 6768-6780.

(本文编辑 苏维)