

茶褐牛肝菌化学成分研究

杨智¹, 孙国太¹, 邸迎彤², 王跃虎², 胡旭佳^{1*}

(1. 昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650500; 2. 中国科学院昆明植物研究所, 植物化学与西部植物资源国家重点实验室, 昆明 650204)

摘要: 为了解茶褐牛肝菌(*Neoboletus brunneissimus*)的化学成分, 共分离鉴定了 18 个化合物, 经理化性质和波谱分析, 分别鉴定为 5 α ,8 α -环二氧-(22*E*,24*R*)-麦角甾-6,22-二烯-3 β -醇 (1)、5 α ,8 α -环二氧-(22*E*,24*R*)-麦角甾-6,9(11),22-三烯-3 β -醇 (2)、(22*E*,24*R*)-麦角甾-7,22-二烯-3 β -醇 (3)、(24*S*)-麦角甾-7-烯-3 β -醇 (4)、(22*E*,24*R*)-麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇 (5)、(24*S*)-乙基胆甾烯-7-烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇 (6)、(22*E*,24*R*)-麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β ,9 α -四烯 (7)、(22*E*,24*R*)-麦角甾-5,7,2-三烯-3 β -醇(8)、3 β -*O*-吡喃葡萄糖基-5 α ,8 α -环二氧-(22*E*,24*R*)-麦角-6,22-二烯 (9)、富马酸单甲酯 (10)、富马酸 (11)、琥珀酸 (12)、反-2-癸烯二酸 (13)、烟酸 (14)、烟酰胺 (15)、莽草酸 (16)、亚油酸- α -甘油酯 (17)和 1-*O*-吡喃葡萄糖基-(2*S*,3*R*,4*E*,8*E*,2'*R*)-2-*N*-(2'-羟基棕榈酰)-9-甲基-4,8-鞘氨醇 (18)。以上化合物均为首次从茶褐牛肝菌中分离得到, 其中化合物 6、9、13 和 17 为首次从牛肝菌科高等真菌中分离得到。

关键词: 茶褐牛肝菌; 化学成分; 结构鉴定; 麦角甾体类

doi: 10.11926/jtsb.3839

Chemical Constituents from the *Neoboletus brunneissimus*

YANG Zhi¹, SUN Guo-tai¹, DI Ying-tong², WANG Yue-hu², HU Xu-jia^{1*}

(1. Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China; 2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: In order to understand the chemical constituents of *Neoboletus brunneissimus*, eighteen compounds were isolated. On the basis of spectral data, they were identified as 5 α ,8 α -epidioxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-6,22-dien-3 β -ol (1), 5 α ,8 α -epidioxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-6,9(11),22-trien-3 β -ol (2), (22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-3 β -ol (3), (24*S*)-ergosta-7-en-3 β -ol (4), (22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-3 β ,5 α ,6 β -triol (5), (24*S*)-ethylcholest-7-ene-3 β ,5 α ,6 β -triol (6), (22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-diene-3 β ,5 α ,6 β ,9 α -tetrol (7), (22*E*,4*R*)-ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol (8), 3 β -*O*-glucopyranosyl-5 α ,8 α -epidioxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-6,22-dien (9), monomethyl fumarate (10), fumaric acid (11), succinic acid (12), *trans*-2-decenedioic acid (13), nicotinic acid (14), nicotinamide (15), shikimic acid (16), linoleic acid- α -glyceride (17) and 1-*O*- β -D-glucopyranosyl-(2*S*,3*R*,4*E*,8*E*,2'*R*)-2-*N*-(2'-hydroxypalmitoyl)-9-methyl-4,8-sphingadienine (18). All compounds were isolated from *N. brunneissimus* for the first time, compounds 6, 9, 13 and 17 were isolated from the Boletaceae fungi for the first time.

Key words: *Neoboletus brunneissimus*; Chemical constituent; Structure identification; Ergot steroid

茶褐牛肝菌(*Neoboletus brunneissimus* Chiu)又名羊肝菌、黑羊肝、黑牛肝等,是牛肝菌科(Boletaceae)牛肝菌属高等真菌^[1-2], 目前主要分布

于云南、贵州及四川等中国西南地区, 具有抗肿瘤、降血糖、保肝利胆、提高人体免疫力、调节内分泌等功能, 有很高的食用价值和药用功效^[3-4]。茶褐

收稿日期: 2017-10-18

接受日期: 2017-12-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(31460430, 31660437, 31260399)资助

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31460430, 31660437, 31260399).

作者简介: 杨智(1992~), 女, 硕士研究生, 从事天然产物化学研究。E-mail: zhiri1992@163.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: huxjia@gmail.com

牛肝菌资源丰富, 尚未有相关化学成分的报道, 依靠云南资源优势, 对该真菌进行了系统的化学成分研究, 为高等真菌资源的充分利用提供理论依据, 同时也为完善牛肝菌科真菌的系统分类学提供化学成分方面的借鉴作用。利用现代分离纯化手段, 从其浸提液中提取分离得到 18 个化合物, 其中化合物 **6**、**9**、**13** 和 **17** 为首次从牛肝菌科高等真菌中分离得到。

1 材料和方法

1.1 材料

茶褐牛肝菌子实体于 2016 年 6 月购于昆明野生菌市场, 真菌标本由中国科学院昆明植物研究所杨祝良教授鉴定为茶褐牛肝菌 (*Neoboletus brunneissimus* Chiu), 样品标本(编号 KM20160601) 现保存于昆明理工大学生命科学与技术学院药物分析课题组。

C₁₈ 反相硅胶(日本 YMC 公司); D101 大孔吸附树脂(天津兴南允能公司); 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (GE Healthcare 公司); 色谱纯乙腈、甲醇 (CINC 公司); 柱色谱和薄层色谱用硅胶(青岛海洋化工); 显色剂: 5%~10% 硫酸乙醇溶液, 喷洒后给予适当加热。

1.2 仪器

Bruker AM-400、AV III-500 和 Ascend TM-600 超导核磁共振波谱仪; Agilent 1100、1200 系列高效液相色谱仪; Waters X select CSH C₁₈ 色谱柱(19 mm × 150 mm, 5 μm); Waters X select HSS T3 色谱柱(10 mm × 150 mm, 5 μm); API-QSTAR-TOF 超高压液相色谱三重四级杆串联质谱仪。

1.3 提取和分离

新鲜茶褐牛肝菌子实体 10 kg, 切碎, 用 95% 甲醇室温冷浸提取 3 次, 每次 72 h。合并提取液减压回收溶剂, 得总浸膏 300 g, 将总浸膏用蒸馏水溶解, 然后依次用石油醚、乙酸乙酯及正丁醇各萃取 3 次, 得石油醚部分(35 g)、乙酸乙酯部分(20 g) 和正丁醇部分(108 g)。

乙酸乙酯部分为黄色油状物, 通过 TLC 展板显色对比发现, 该部分极性跨度较大。称取 60~80 目硅胶 50 g 拌样, 用 200~300 目硅胶 200 g 装柱, 干

法上样, 以石油醚-丙酮(100:0~0:100, V/V)梯度洗脱, 通过 TLC 展板显色对比, 合并为 Fr.A~Fr.D 共 4 个部分。Fr.B 部分析出大量无色针状结晶, 用 Sephadex LH-20 凝胶柱(三氯甲烷-甲醇 1:1)进行细分划段, 再经 300~400 目硅胶柱色谱分离纯化(三氯甲烷等度洗脱), 合并主点部分后用 HPLC 纯化(Waters X select 色谱柱), 得到化合物 **1** (10.4 mg, 92% MeOH:H₂O, *t_R*=22 min)、**2** (6.9 mg, 92% MeOH:H₂O, *t_R*=25 min)。Fr.C 部分同样析出大量无色针状结晶, 通过 TLC 展板显色对比, 发现针晶部分与化合物 **1**、**2** 极性相似, 故采用相似方法细分后用 HPLC 纯化(Waters X select 色谱柱), 得化合物 **3** (4.2 mg, 95% MeOH:H₂O, *t_R*=20 min)、**4** (3.4 mg, 95% MeOH:H₂O, *t_R*=23 min)。Fr.D 部分用 Sephadex LH-20 凝胶柱、正相硅胶柱、反相 ODS 中压柱等反复细分, 最后用 HPLC 纯化(Waters X select 色谱柱), 得到化合物 **5** (10.3 mg, 90% MeOH:H₂O, *t_R*=17 min)、**6** (5.9 mg, 90% MeOH:H₂O, *t_R*=19 min) 和 **8** (10.3 mg, 92% MeOH:H₂O, *t_R*=19 min)。

正丁醇部分用蒸馏水溶解后, 用 D101 大孔吸附树脂柱对其进行粗分划段, 以 10%、30%、60%、90% 甲醇水洗脱, 划分为 Fr.A~Fr.D 共 4 个部分。用 ODS 中压柱对 Fr.D 部分进行细分划段, 以 50%、70%、90% 甲醇水洗脱, 划分为 Fr.C₁~Fr.C₃ 共 3 个部分。运用 Sephadex LH-20 凝胶柱、正相硅胶柱、反相 C₁₈ 常压柱等对 Fr.C₁~Fr.C₃ 部分进行反复细化除杂后, 最后用 HPLC 纯化。用 Acchrom X Amide 色谱柱从 Fr.C₁ 部分得到化合物 **10** (2.0 mg, 90% CH₃CN:H₂O, 0.2% 甲酸, *t_R*=11 min)、**11** (10.2 mg, 92% CH₃CN:H₂O, 0.2% 甲酸, *t_R*=15 min)、**12** (102.5 mg, 88% CH₃CN:H₂O, 0.2% 甲酸, *t_R*=10 min)、**16** (3.0 mg, 85% CH₃CN:H₂O, *t_R*=11 min); 用 Acchrom X Amide 色谱柱从 Fr.C₂ 部分得到化合物 **14** (10.0 mg, 90% CH₃CN:H₂O, 0.2% 甲酸, *t_R*=12 min)、**15** (5.6 mg, 95% CH₃CN:H₂O, *t_R*=25 min)。用 Waters X select C₁₈ 色谱柱从 Fr.C₃ 部分得到化合物 **7** (59.5 mg, 83% MeOH:H₂O, *t_R*=13 min)、**9** (3.6 mg, 65% MeOH:H₂O, *t_R*=12 min)、**13** (4.0 mg, 55% MeOH:H₂O, *t_R*=16 min)。最后用正相硅胶柱从 Fr.C₃ 部分得到化合物 **17** (30.7 mg) 和 **18** (3.2 g)。

1.4 结构鉴定

化合物 **1** 无色针状结晶(氯仿); ESI-MS *m/z*:

429 [M + H]⁺; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ_H 6.46 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-7), 6.20 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6), 5.14 (1H, dd, *J* = 15.4, 7.2 Hz, H-23), 5.12 (1H, dd, *J* = 15.4, 7.2 Hz, H-22), 3.90 (1H, m, H-3), 2.08~1.49 (20H, m), 1.20 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-21), 0.94 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-28), 0.88 (3H, s, H-19), 0.86 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-26), 0.84 (3H, s, H-18), 0.80 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-27); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ_C 34.6 (C-1), 29.8 (C-2), 66.3 (C-3), 36.8 (C-4), 82.2 (C-5), 135.4 (C-6), 130.6 (C-7), 79.4 (C-8), 51.0 (C-9), 36.7 (C-10), 23.3 (C-11), 39.2 (C-12), 44.5 (C-13), 51.6 (C-14), 20.5 (C-15), 28.6 (C-16), 56.1 (C-17), 12.7 (C-18),

18.1 (C-19), 39.7 (C-20), 20.7 (C-21), 135.1 (C-22), 132.2 (C-23), 42.7 (C-24), 32.9 (C-25), 19.5 (C-26), 19.8 (C-27), 17.5 (C-28)。以上数据与文献[5]报道一致, 故鉴定为 5α,8α-环二氧-(22*E*,24*R*)-麦角甾-6,22-二烯-3β-醇 (5α,8α-epidoxo-(22*E*,24*R*)-ergosta-6,22-dien-3β-ol)。

化合物 2 无色针状结晶(氯仿); ESI-MS *m/z*: 427 [M + H]⁺; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ_H 6.59 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-7), 6.28 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-6), 5.42 (1H, d, *J* = 4.2 Hz, H-11), 5.25 (1H, dd, *J* = 15.2, 7.6 Hz, H-23), 5.16 (1H, dd, *J* = 15.2, 7.6 Hz, H-22), 4.00 (1H, m, H-3), 2.08~1.49 (20H, m), 1.03 (3H, s,

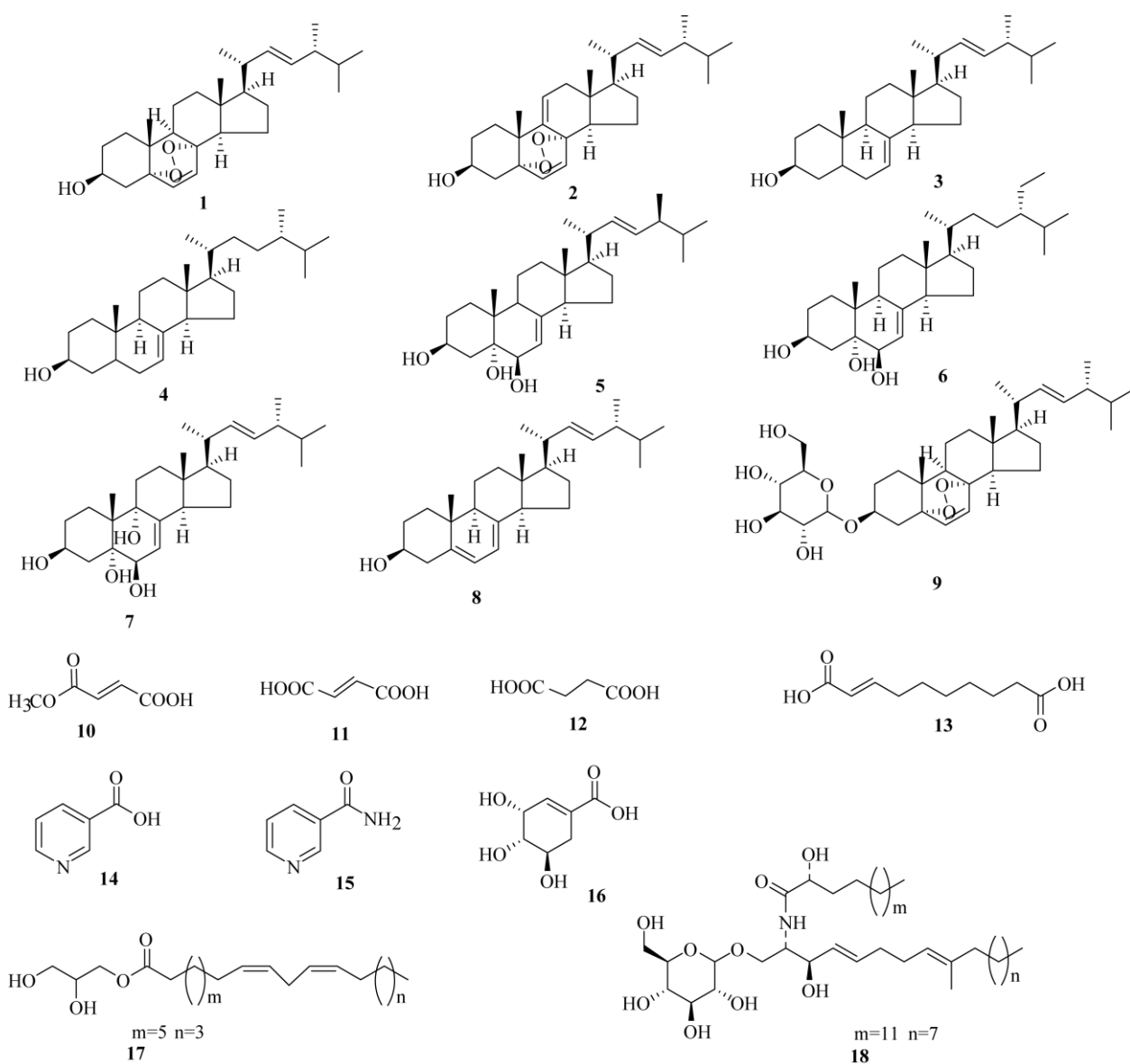


图1 化合物 1~18 的结构

Fig. 1 Structure of compounds 1-18

H-19), 1.00 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-21), 0.99 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-28), 0.91 (3H, d, $J = 5.4$ Hz, H-26), 0.84 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-27), 0.81 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): δ_{C} 32.5 (C-1), 30.6 (C-2), 66.3 (C-3), 36.0 (C-4), 82.7 (C-5), 135.4 (C-6), 130.7 (C-7), 78.3 (C-8), 142.5 (C-9), 37.9 (C-10), 119.7 (C-11), 41.1 (C-12), 43.6 (C-13), 48.1 (C-14), 21.3 (C-15), 28.6 (C-16), 55.8 (C-17), 12.9 (C-18), 25.5 (C-19), 39.9 (C-20), 20.7 (C-21), 135.1 (C-22), 132.4 (C-23), 42.7 (C-24), 33.0 (C-25), 19.9 (C-26), 19.6 (C-27), 17.5 (C-28)。以上数据与文献[6]报道一致, 故鉴定为 5 α ,8 α -环二氧-(22*E*,24*R*)-麦角甾-6,9(11),22-三烯-3 β -醇[5 α ,8 α -epidioxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-6,9(11),22-trien-3 β -ol]。

化合物 3 无色针状结晶(氯仿); ESI-MS m/z : 399 $[\text{M} + \text{H}]^+$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 6.16 (1H, m, H-7), 5.16 (2H, m, H-22, 23), 3.58 (1H, m, H-3), 1.00 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 0.92 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-28), 0.84 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-27), 0.79 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-26), 0.78 (3H, s, H-19), 0.54 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 37.1 (C-1), 31.5 (C-2), 71.7 (C-3), 38.0 (C-4), 40.3 (C-5), 29.6 (C-6), 117.5 (C-7), 139.6 (C-8), 49.4 (C-9), 34.2 (C-10), 21.6 (C-11), 39.5 (C-12), 43.3 (C-13), 55.1 (C-14), 22.9 (C-15), 28.1 (C-16), 56.0 (C-17), 12.1 (C-18), 13.1 (C-19), 40.5 (C-20), 21.1 (C-21), 135.7 (C-22), 131.2 (C-23), 42.8 (C-24), 33.1 (C-25), 20.0 (C-26), 19.7 (C-27), 17.6 (C-28)。以上数据与文献[7]报道一致, 故鉴定为(22*E*,24*R*)-麦角甾-7,22-二烯-3 β -醇[(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-3 β -ol]。

化合物 4 无色针状结晶(氯仿); ESI-MS m/z : 401 $[\text{M} + \text{H}]^+$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 6.16 (1H, m, H-7), 3.61 (1H, m, H-3), 0.93 (d, $J = 6.2$ Hz, H-21), 0.86 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 0.84 (3H, s, H-19), 0.79 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-27), 0.78 (6H, d, $J = 6.6$ Hz, H-26, 28), 0.53 (s, H-18); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 37.2 (C-1), 31.5 (C-2), 71.1 (C-3), 38.0 (C-4), 39.6 (C-5), 29.7 (C-6), 117.4 (C-7), 139.6 (C-8), 49.5 (C-9), 34.2 (C-10), 21.6 (C-11), 39.1 (C-12), 43.4 (C-13), 55.0 (C-14), 23.0 (C-15), 28.1 (C-16), 56.0 (C-17), 11.9 (C-18), 13.0 (C-19), 36.6 (C-20), 19.0 (C-21), 33.7 (C-22), 30.7 (C-23), 40.0 (C-24), 31.5 (C-25), 17.6 (C-26), 20.5 (C-27), 15.4 (C-28)。以上数

据与文献[7]报道一致, 故鉴定为(24*S*)-麦角甾-7-烯-3 β -醇[(24*S*)-ergosta-7-en-3 β -ol]。

化合物 5 无色针状结晶(氯仿); ESI-MS m/z : 431 $[\text{M} + \text{H}]^+$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 5.25 (1H, dd, $J = 15.2, 7.6$ Hz, H-23), 5.24 (1H, dd, $J = 15.2, 7.6$ Hz, H-22), 5.17 (1H, dd, $J = 4.7, 2.5$ Hz, H-7), 4.22 (1H, brs, H-3), 4.02 (1H, m, H-6), 1.52 (3H, s, H-19), 1.02 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-21), 0.98 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-28), 0.96 (6H, d, $J = 6.8$ Hz, H-26, 27), 0.54 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 33.3 (C-1), 31.0 (C-2), 67.8 (C-3), 40.0 (C-4), 76.4 (C-5), 73.6 (C-6), 118.1 (C-7), 143.6 (C-8), 43.6 (C-9), 37.5 (C-10), 23.5 (C-11), 39.6 (C-12), 44.1 (C-13), 55.3 (C-14), 22.5 (C-15), 28.5 (C-16), 56.6 (C-17), 12.6 (C-18), 18.6 (C-19), 41.0 (C-20), 21.4 (C-21), 136.2 (C-22), 132.6 (C-23), 43.5 (C-24), 33.6 (C-25), 20.2 (C-26), 19.9 (C-27), 17.9 (C-28)。以上数据与文献[8]报道一致, 故鉴定为(22*E*,24*R*)-麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇[(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-3 β ,5 α ,6 β -triol]。

化合物 6 无色针状结晶(氯仿); ESI-MS m/z : 489 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ_{H} 5.44 (1H, brs, H-7), 4.15 (1H, m, H-3), 3.65 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H-6), 1.06 (3H, s, H-19), 0.95 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-21), 0.86 (3H, t, $J = 7.6$ Hz, H-29), 0.85 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-26), 0.83 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-27), 0.56 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): δ_{C} 33.7 (C-1), 31.6 (C-2), 67.5 (C-3), 39.2 (C-4), 76.0 (C-5), 74.1 (C-6), 120.4 (C-7), 141.5 (C-8), 43.6 (C-9), 36.9 (C-10), 23.4 (C-11), 37.9 (C-12), 43.7 (C-13), 55.0 (C-14), 22.3 (C-15), 29.9 (C-16), 56.2 (C-17), 12.2 (C-18), 17.6 (C-19), 39.9 (C-20), 20.6 (C-21), 32.5 (C-22), 31.0 (C-23), 41.9 (C-24), 33.8 (C-25), 19.1 (C-26), 18.7 (C-27), 28.0 (C-28), 15.5 (C-29)。以上数据与文献[9]报道一致, 故鉴定为(24*S*)-乙基胆甾烯-7-烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇[(24*S*)-ethylcholest-7-ene-3 β ,5 α ,6 β -triol]。

化合物 7 白色粉末(甲醇); ESI-MS m/z : 447 $[\text{M} + \text{H}]^+$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 5.16 (1H, dd, $J = 15.4, 7.4$ Hz, H-22), 5.14 (1H, dd, $J = 15.4, 7.4$ Hz, H-23), 5.14 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-7), 3.80 (1H, m, H-3), 3.46 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-6), 2.29 (1H, m, H-14), 1.05 (3H, $J = 6.6$ Hz, H-21), 0.90 (3H, s, H-19),

0.82 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-28), 0.81 (3H, d, $J = 7.6$ Hz, H-26), 0.80 (3H, d, $J = 7.6$ Hz, H-27), 0.61 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 27.2 (C-1), 30.6 (C-2), 67.3 (C-3), 40.5 (C-4), 75.1 (C-5), 72.9 (C-6), 119.8 (C-7), 143.3 (C-8), 77.8 (C-9), 40.8 (C-10), 28.5 (C-11), 35.5 (C-12), 44.0 (C-13), 51.0 (C-14), 23.2 (C-15), 28.3 (C-16), 56.2 (C-17), 12.0 (C-18), 21.7 (C-19), 40.0 (C-20), 21.2 (C-21), 135.8 (C-22), 132.4 (C-23), 43.2 (C-24), 33.4 (C-25), 20.1 (C-26), 19.8 (C-27), 17.8 (C-28)。以上数据与文献[10]报道一致, 故鉴定为(22*E*,24*R*)-麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β ,9 α -四烯[(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-diene-3 β ,5 α ,6 β ,9 α -tetrol]。

化合物 8 无色针状结晶(甲醇); ESI-MS m/z : 397 $[\text{M} + \text{H}]^+$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 5.50 (1H, d, $J = 5$ Hz, H-6), 5.33 (1H, s, H-7), 5.32 (1H, dd, $J = 15.2, 7.4$ Hz, H-23), 5.15 (1H, dd, $J = 15.2, 7.4$ Hz, H-22), 3.52 (1H, m, H-3), 1.00 (2H, d, $J = 12.5$ Hz, H-4), 0.98 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 0.87 (3H, s, H-19), 0.8 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-28), 0.76 (6H, d, $J = 6.6$ Hz, H-26, 27), 0.58 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 38.7 (C-1), 31.8 (C-2), 70.2 (C-3), 40.6 (C-4), 140.3 (C-5), 119.8 (C-6), 116.6 (C-7), 141.6 (C-8), 46.6 (C-9), 37.3 (C-10), 21.4 (C-11), 39.4 (C-12), 43.2 (C-13), 54.8 (C-14), 23.3 (C-15), 28.6 (C-16), 56.0 (C-17), 12.3 (C-18), 16.4 (C-19), 40.8 (C-20), 21.3 (C-21), 135.9 (C-22), 132.3 (C-23), 43.1 (C-24), 33.4 (C-25), 20.1 (C-26), 19.8 (C-27), 17.8 (C-28)。以上数据与文献[11]报道一致, 故鉴定为(22*E*,24*R*)-麦角甾-5,7,2-三烯-3 β -醇[(22*E*,24*R*)-ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol]。

化合物 9 白色无定型粉末(甲醇); ESI-MS m/z : 613 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 6.28 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 6.00 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 5.22 (1H, dd, $J = 15.2, 7.4$ Hz, H-22), 5.18 (1H, dd, $J = 15.2, 7.4$ Hz, H-23), 4.18 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6'), 1.16 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-21), 0.98 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-28), 0.96 (3H, s, H-19), 0.88 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-27), 0.84 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-26), 0.78 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 28.2 (C-1), 33.2 (C-2), 73.1 (C-3), 38.8 (C-4), 81.8 (C-5), 134.8 (C-6), 130.3 (C-7), 79.3 (C-8), 51.7 (C-9), 36.6 (C-10), 20.3 (C-11), 34.4 (C-12), 44.4 (C-13), 51.2

(C-14), 22.9 (C-15), 27.7 (C-16), 55.8 (C-17), 12.5 (C-18), 17.5 (C-19), 39.3 (C-20), 19.3 (C-21), 135.0 (C-22), 131.9 (C-23), 42.4 (C-24), 32.6 (C-25), 19.0 (C-26), 20.1 (C-27), 17.0 (C-28), 101.1 (C-1'), 73.8 (C-2'), 75.6 (C-3'), 69.7 (C-4'), 76.1 (C-5'), 61.2 (C-6')。以上数据与文献[12]报道一致, 故鉴定为3 β -*O*-吡喃葡萄糖基-5 α ,8 α -环二氧-(22*E*,24*R*)-麦角-6,22-二烯(3 β -*O*-Glucopyranosyl-5 α ,8 α -epidioxi ergosta-(22*E*,24*R*)-ergosta-6,22-diene)。

化合物 10 白色粉末(甲醇); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 6.77 (2H, d, $J = 15.5$ Hz, H-2, 3), 3.80 (3H, s, OCH_3); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_{C} 168.0 (C-1), 134.2 (C-2), 135.7 (C-3), 167.1 (C-4), 52.9 (C-5)。与文献[13]报道一致, 故鉴定为富马酸单甲酯(monomethyl fumarate)。

化合物 11 白色粉末(甲醇); ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ_{H} 13.07 (2H, brs, H-1,4), 6.60 (2H, s, H-2, 3); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ_{C} 166.1 (C-1, 4), 134.0 (C-2, 3)。以上数据与文献[14]报道一致, 故鉴定为富马酸(fumaric acid)。

化合物 12 白色粉末(甲醇); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 13.1(2H, s, COOH), 3.00 (4H, s, CH_2); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 175.4 (C-1, 4), 30.1 (C-2, 3)。以上数据与文献[15]报道一致, 故鉴定为琥珀酸(succinic acid)。

化合物 13 无色油状(甲醇); ESI-MS m/z : 199 $[\text{M} - \text{H}]^-$; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 6.94 (1H, m, H-3), 5.77 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, H-2), 2.28 (2H, m, H-4), 2.22 (2H, m, H-9), 1.60 (2H, m, H-8), 1.48 (2H, m, H-7), 1.26 (4H, m, H-5, 6); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_{C} 170.1 (C-1), 122.5 (C-2), 151.2 (C-3), 33.1 (C-4), 29.9 (C-5, 6), 29.1 (C-7), 26.0 (C-8), 34.9 (C-9), 177.7 (C-10)。以上数据与文献[16]报道一致, 故鉴定为反-2-癸烯二酸(*trans*-2-decenedioic acid)。

化合物 14 白色粉末(甲醇); ESI-MS m/z : 124 $[\text{M} + \text{H}]^+$; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 9.11 (1H, s, H-2), 8.71 (1H, d, $J = 12.6$ Hz H-6), 8.40 (1H, m, H-4), 7.55 (1H, m, H-5); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_{C} 151.2 (C-2), 128.8 (C-3), 139.2 (C-4), 125.2 (C-5), 153.6 (C-6), 167.9 (C-7)。以上数据与文献[17]报道一致, 故鉴定为烟酸(nicotinic acid)。

化合物 15 白色粉末(甲醇); ESI-MS m/z :

123 [M + H]⁺; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ_H 9.02 (1H, s, H-2), 8.66 (1H, dd, *J* = 4.9, 1.6 Hz, H-6), 8.26 (1H, m, H-4), 7.52 (1H, dd, *J* = 4.8, 4.8 Hz, H-5); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD): δ_C 149.5 (C-2), 131.4 (C-3), 137.3 (C-4), 125.1 (C-5), 152.8 (C-6), 169.8 (C-7)。以上数据与文献[18]报道一致, 故鉴定为烟酰胺(nicotinamide)。

化合物 16 白色粉末(甲醇); ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_H 6.78 (1H, s, H-2), 4.33 (1H, s, H-3), 4.00 (1H, dd, *J* = 12.2, 5.4 Hz, H-4), 3.67 (1H, dd, *J* = 7.2, 4.3 Hz, H-5), 2.71 (1H, dd, *J* = 17.9, 4.3 Hz, H-6a), 2.22 (1H, dd, *J* = 17.9, 4.3 Hz, H-6b); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD): δ_C 131.5 (C-1), 138.5 (C-2), 72.7 (C-3), 68.6 (C-4), 67.5 (C-5), 31.8 (C-6), 170.6 (COOH)。以上数据与文献[19]报道一致, 故鉴定为莽草酸(shikimic acid)。

化合物 17 无色油状物(氯仿); EI-MS *m/z*: 355 [M + H]⁺; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ_H 5.20 (4H, m, H-9, 10, 12, 13), 3.99 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-1'a), 3.95 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-1'b), 3.74 (1H, dd, *J* = 5.6, 3.8 Hz, H-2'), 3.51 (1H, dd, *J* = 11.5, 3.8 Hz, H-3'b), 3.42 (1H, dd, *J* = 11.6, 6.0 Hz, H-3'a), 2.55 (2H, t, *J* = 5.6 Hz, H-11), 2.15 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, H-2), 1.90~1.12 (20H, m, H-3~8, H-14~17), 0.68 (3H, t, *J* = 6.8 Hz, H-18); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ_C 173.4 (C-1), 34.0 (C-2), 31.2 (C-3), 29.6~29.0 (C-4~C-8), 129.7 (C-9), 129.2 (C-10), 28.8 (C-11), 127.5 (C-12), 127.0 (C-13), 26.7~22.0 (C-14~C-17), 13.8 (C-18), 64.5 (C-1'), 69.7 (C-2'), 62.9 (C-3')。以上数据与文献[20]报道一致, 故鉴定为亚油酸- α -甘油酯(linoleic acid- α -glyceride)。

化合物 18 白色粉末(甲醇); ESI-MS *m/z*: 726 [M - H]⁻; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ_H 7.15 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, NH), 5.72 (1H, m, H-5), 5.50 (1H, m, H-4), 5.48 (1H, m, H-8), 5.14 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-1''), 4.24 (1H, m, H-3), 4.13 (1H, m, H-2), 4.10 (1H, m, H-2'), 3.98 (1H, dd, *J* = 10.7, 5.4 Hz, H-1b), 3.97 (1H, brs, H-6a''), 3.87 (1H, dd, *J* = 11.8, 5.6 Hz, H-6b''), 3.68 (1H, m, H-1a), 3.66 (1H, m, H-4''), 3.64 (1H, m, H-3''), 3.33 (1H, m, H-2''), 3.17 (1H, m, H-5''), 2.14 (4H, m, H-6,7), 1.95 (2H, m, H-10), 1.41 (3H, s, H-19), 1.40 (2H, m, H-3'), 1.39 (2H, m, H-11), 1.28 (30H, brs, H-4'~H-13', H-15', H-12-15), 0.90

(3H, t, *J* = 6.9 Hz, H-18), 0.77 (3H, t, *J* = 6.8 Hz, H-16'); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD): δ_C 69.8 (C-1), 54.6 (C-2), 73.1 (C-3), 134.7 (C-4), 131.1 (C-5), 33.8 (C-6), 29.2 (C-7), 124.8 (C-8), 136.7 (C-9), 40.8 (C-10), 30.9~30.7 (C-11~C-15), 33.1 (C-16), 28.7 (C-17), 14.5 (C-18), 23.8 (C-19), 177.3 (C-1'), 72.9 (C-2'), 35.9 (C-3'), 30.7~30.9 (C-4'~C-13'), 30.6 (C-14'), 26.2 (C-15'), 16.2 (C-16'), 104.7 (C-1''), 75.0 (C-2''), 77.8 (C-3''), 71.5 (C-4''), 78.0 (C-5''), 62.6 (C-6'')。以上数据与文献[21-22]报道一致, 故鉴定为 1-*O*-吡喃葡萄糖基-(2*S*,3*R*,4*E*,8*E*,2'*R*)-2-*N*-(2'-羟基棕榈酰)-9-甲基-4,8-鞘氨醇(1-*O*- β -D-glucopyranosyl-(2*S*,3*R*,4*E*,8*E*,2'*R*)-2-*N*-(2'-hydroxypalmitoyl)-9-methyl-4,8-sphingadienine)。

2 结果和讨论

本研究通过现代的分离手段和技术, 从茶褐牛肝菌子实体中分离鉴定了 18 个化合物, 分别为 5 α , 8 α -环二氧-(2*E*,24*R*)-麦角甾-6,22-二烯-3 β -醇 (1)、5 α ,8 α -环二氧-(2*E*,24*R*)-麦角甾-6,9(11),22-三烯-3 β -醇 (2)、(2*E*,24*R*)-麦角甾-7,22-二烯-3 β -醇 (3)、(24*S*)-麦角甾-7-烯-3 β -醇 (4)、(2*E*,24*R*)-麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇 (5)、(24*S*)-乙基胆甾烯-7-烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇 (6)、(2*E*,24*R*)-麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β ,9 α -四烯 (7)、(2*E*,24*R*)-麦角甾-5,7,2-三烯-3 β -醇 (8)、3 β -*O*-吡喃葡萄糖基-5 α ,8 α -环二氧-(2*E*,24*R*)-麦角甾-6,22-二烯 (9)、富马酸单甲酯 (10)、富马酸 (11)、琥珀酸 (12)、反-2-癸烯二酸 (13)、烟酸 (14)、烟酰胺 (15)、莽草酸 (16)、亚油酸- α -甘油酯 (17)和脑苷脂 (18), 所有化合物均为首次从茶褐牛肝菌中发现。据报道麦角甾醇的过氧化物和富马酸单甲酯有抑菌活性^[23-26], 麦角甾醇有抗肿瘤, 抗氧化活性^[25-26], 莽草酸对肝癌细胞 HepG2 增殖具有抑制作用^[27], 烟酰胺药理活性丰富, 具有抗氧化、抗炎、代谢调控作用, 相关信号调控通路等药理作用^[28]。这些化合物的活性与野生牛肝菌具有抗肿瘤、保肝利胆、提高人体免疫力、调节内分泌等功能一致^[3], 为茶褐牛肝菌的开发利用提供科学依据, 同时也丰富了茶褐牛肝菌的化合物库。

参考文献

[1] WU G, ZHAO K, LI Y C, et al. Four new genera of the fungal family

- Boletaceae* [J]. Fungal Div, 2016, 81(1): 1–24. doi: 10.1007/s13225-015-0322-0.
- [2] DAI Y C, ZHOU L W, YANG Z L, et al. A revised checklist of edible fungi in China [J]. Mycosystema, 2010, 29(1): 1–21. doi: 10.13346/j.mycosystema.2010.01.022.
戴玉成, 周丽伟, 杨祝良, 等. 中国食用菌名录 [J]. 菌物学报, 2010, 29(1): 1–21. doi: 10.13346/j.mycosystema.2010.01.022.
- [3] LIU J, GAO M, WU K F, et al. Study on health function of natural *Boletus* [J]. Chin J Public Health Eng, 2011, 10(3): 224–226.
刘佳, 高敏, 吴克枫, 等. 野生牛肝菌保健功能研究 [J]. 中国卫生工程学, 2011, 10(3): 224–226.
- [4] WASSER S P. Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2011, 89(5): 1323–1332. doi: 10.1007/s00253-010-3067-4.
- [5] MA B J, SHEN J W, YU H Y, et al. Chemical composition of the fruiting bodies of *Helvella elastic* [J]. Acta Bot Boreali-Occid Sin, 2009, 29(10): 2115–2117.
麻兵继, 申进文, 余海尤, 等. 马鞍菌子实体化学成分研究 [J]. 西北植物学报, 2009, 29(10): 2115–2117.
- [6] KIM K H, CHOI S U, PARK K M, et al. Cytotoxic constituents of *Amanita subjunquillea* [J]. Arch Pharmacol Res, 2008, 31(5): 579–586. doi: 10.1007/s12272-001-1196-3.
- [7] GAO J M, SHEN J, YANG X, et al. The constituents of *Russula ochroleuca* basidiomycetes [J]. Acta Bot Yunnan, 2001, 23(3): 385–393. doi: 10.3969/j.issn.2095-0845.2001.03.019.
高锦明, 沈杰, 杨雪, 等. 黄白红菇的化学成分 [J]. 云南植物研究, 2001, 23(3): 385–393. doi: 10.3969/j.issn.2095-0845.2001.03.019.
- [8] LI H J, LUO Y G, HE Z H, et al. Phytochemical study on *Zehneria maysorensis* [J]. Nat Prod Res Dev, 2006, 18(3): 411–414. doi: 10.16333/j.1001-6880.2006.03.014.
- [9] PICCIALLI V, SICA D. Four new trihydroxylated sterols from the sponge *Spongionella gracilis* [J]. J Nat Prod, 1987, 50(5): 915–920. doi: 10.1021/np50053a024.
- [10] E H C, ZHOU W, LIU B S, et al. Secondary metabolites from the fungus *Engyodontium album* associated with the South China Sea starfish *Anthena pentagonula* [J]. Chin J Mar Drug, 2013, 32(6): 8–12. doi: 10.13400/j.cnki.cjmd.2013.06.005.
鄂恒超, 周巍, 刘宝妹, 等. 中国南海真五角海星共附生白色侧齿霉菌的次生代谢产物研究 [J]. 中国海洋药物, 2013, 32(6): 8–12. doi: 10.13400/j.cnki.cjmd.2013.06.005.
- [11] GONG J, TANG H, LIU B S, et al. Steroids from fungus *Engyodontium album* associated with the South China Sea cucumber *Holothuria nobilis* Selenka [J]. Acad J Second Mil Med Univ, 2013, 34(3): 310–314. doi: 10.3724/SP.J.1008.2013.00310.
宫俊, 汤华, 刘宝妹, 等. 中国南海黑乳海参共附生白色侧齿霉菌中的甾体类成分 [J]. 第二军医大学学报, 2013, 34(3): 310–314. doi: 10.3724/SP.J.1008.2013.00310.
- [12] LI X J, GAO J M, CHEN H, et al. Toxins from a symbiotic fungus, *Leptographium qinlingensis*, associated with *Dendroctonus armandi*, and their *in vitro* toxicities to *Pinus armandi* seedlings [J]. Eur J Plant Pathol, 2012, 134(2): 239–247. doi: 10.1007/s10658-012-9981-9.
- [13] ZHANG Y, RUAN H L, ZHANG Y H, et al. Studies on chemical constituents of *Cirseum henryi* in western Hubei [J]. Herald Med, 2007, 26(12): 1425–1426.
张悦, 阮汉利, 张勇慧, 等. 鄂西大薊化学成分的研究 [J]. 医药导报, 2007, 26(12): 1425–1426.
- [14] ZHANG H L, ZHANG Q W, ZHANG X Q, et al. Chemical constituents from the roots of *Morinda officinalis* [J]. Chin J Nat Med, 2010, 8(3): 192–195. doi: 10.3724/SP.J.1009.2010.00192.
- [15] MA B J, LIU J K. Chemical study on *Russula densifolia* [J]. Nat Prod Res Dev, 2004, 17(1): 29–32. doi: 10.16333/j.1001-6880.2005.01.008.
麻兵继, 刘吉开. 密褶红菇化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(1): 29–32. doi: 10.16333/j.1001-6880.2005.01.008.
- [16] KWOK O C H, PLATTNER R, WEISLEDER D, et al. A nematocidal toxin from *Pleurotus ostreatus* NRRL 3526 [J]. J Chem Ecol, 1992, 18(2): 127–136. doi: 10.1007/BF00993748.
- [17] TANG L C, WANG N, YAO H P, et al. Chemical components of the *Hevea brasiliensis* skim [J]. Chem Ind For Prod, 2013, 33(1): 125–129. doi: 10.3969/j.issn.0253-2417.2013.01.024.
汤丽昌, 王宁, 姚海萍, 等. 天然橡胶胶清化学成分的研究 [J]. 林产化学与工业, 2013, 33(1): 125–129. doi: 10.3969/j.issn.0253-2417.2013.01.024.
- [18] SHI B J, CHOU G X, WANG Z T. Chemical constituents from *Senecio nemorensis* [J]. J Chin Pharm Univ, 2010, 41(1): 26–28.
石宝骏, 俞桂新, 王峥涛. 林荫千里光的化学成分 [J]. 中国药科大学学报, 2010, 41(1): 26–28.
- [19] ZHANG J M, SHI X F, MA Q H, et al. Chemical constituents from pine needles of *Cedrus deodara* [J]. Chem Nat Compd, 2011, 47(2): 272–274.
- [20] MURATA T, MORI N, NISHIDA R. Larval feeding stimulants for a rutaceae-feeding swallowtail butterfly, *Papilio xuthus* L. in *Citrus unshiu* leaves [J]. J Chem Ecol, 2011, 37(10): 1099–1109. doi: 10.1007/s10886-011-0022-5.
- [21] YANG W Q. Total synthesis of pulverolide and study on chemical constituents of seven macrofungi [D]. Kunming: Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, 2010: 1–191.

- 杨婉秋. 七种高等真菌化学成分研究和 Pulverolide 全合成研究 [D]. 昆明: 中国科学院昆明植物研究所, 2010: 1–191.
- [22] HU L, DING Z H, LIU J K. The chemical constituents of Basidiomycetes *Boletopsis grisea* [J]. Acta Bot Yunnan, 2002, 24(5): 667–670. doi: 10.3969/j.issn.2095-0845.2002.05.015.
- 胡琳, 丁智慧, 刘吉开. 灰黑拟牛肝菌的化学成分 [J]. 云南植物研究, 2002, 24(5): 667–670. doi: 10.3969/j.issn.2095-0845.2002.05.015.
- [23] MA B J, WEN C N, WU T T, et al. Study on the anti-bacterial activity of ergosterol peroxide [J]. Food Res Dev, 2012, 33(7): 42–44.
- 麻兵继, 文春南, 吴婷婷, 等. 麦角甾醇过氧化物的抑菌活性研究 [J]. 食品研究与开发, 2012, 33(7): 42–44.
- [24] LU W P, LIU C C. Synthesis and mould inhibiting activities of new aseptic monomethyl fumarate [J]. Food Res Dev, 2006, 27(10): 51–53.
- 卢卫平, 刘长春. 高效防霉剂富马酸单甲酯的合成与抑菌活性研究 [J]. 食品研究与开发, 2006, 27(10): 51–53.
- [25] GAO H, SHI D F, YANG D, et al. Antitumor activity of Ergosterol from *Agaricus blazei* Murrill and its mechanism [J]. Edible Fungi China, 2011, 30(6): 35–39. doi: 10.13629/j.cnki.53-1054.2011.06.016.
- 高虹, 史德芳, 杨德, 等. 巴西菇麦角甾醇抗肿瘤活性及作用机理初探 [J]. 中国食用菌, 2011, 30(6): 35–39. doi: 10.13629/j.cnki.53-1054.2011.06.016.
- [26] QIN W G G, KONG Y S, JIANG W, et al. Isolation and identification of main substance ergosterol from the endophytic fungus MG-9 and its antioxidant activity analysis [J]. J Chin Three Gorges Univ (Nat Sci), 2017, 39(2): 108–112. doi: 10.13393/j.cnki.issn.1672-948X.2017.02.023.
- 秦王阁阁, 孔玉珊, 蒋维, 等. 内生真菌 MG-9 的主物质麦角甾醇的分离鉴定及抗氧化活性分析 [J]. 三峡大学学报(自然科学版), 2017, 39(2): 108–112. doi: 10.13393/j.cnki.issn.1672-948X.2017.02.023.
- [27] GE Z T, WU L, ZHANG W M. The research of effects of shikimic acid on BLM helicase activities and hepatoma cells [J]. Chin Forei Med Treat, 2016, 35(16): 9–11. doi: 10.16662/j.cnki.1674-0742.2015.16.009.
- 葛章文, 吴利, 张望明. 莽草酸抑制 BLM 解旋酶活性及肝癌细胞的研究 [J]. 中外医疗, 2016, 35(16): 9–11. doi: 10.16662/j.cnki.1674-0742.2015.16.009.
- [28] YANG C, ZHEN Y Q, DAI M. Advances in pharmacological effects of nicotinamide [J]. J Clin Pulmon Med, 2011, 16(12): 1914–1916. doi: 10.3969/j.issn.1009-6663.2011.12.044.
- 杨驰, 郑咏秋, 戴敏. 烟酰胺药理作用研究进展 [J]. 临床肺科杂志, 2011, 16(12): 1914–1916. doi: 10.3969/j.issn.1009-6663.2011.12.044.