

蜜环菌发酵液及其菌丝体的化学成分研究

罗影子^{1,2,3,4}, 黄明进^{1,2,3,4*}, 沈寿茂⁴,
苏明智⁵, 于丹丹⁵, 郭跃伟^{4,5*}, 覃玉强⁶, 张光文⁷

¹贵州大学农学院; ²贵州大学石斛研究院; ³贵州省药用植物繁育与种植重点(工程)实验室, 贵阳 550025;
⁴中国科学院上海药物研究所新药研究国家重点实验室, 上海 201203; ⁵中科环渤海(烟台)药物高等研究院, 烟台 264117;
⁶贵州创禾源农业科技有限公司, 贵阳 550025; ⁷贵州乌蒙菌业有限公司, 毕节 551700

摘要:蜜环菌(*Armillaria mellea*)是药用植物天麻(*Gastrodia elata*)营养生长阶段的共生真菌。为研究蜜环菌的化学成分和生物活性,本实验综合运用MCI树脂、正相硅胶、Sephadex LH-20凝胶及半制备RP-HPLC等色谱分离技术对蜜环菌发酵液及其菌丝体的95%乙醇提取物进行系统分离,得到26个化合物。根据化合物的理化性质和波谱数据,分别鉴定为十四烷酸(1)、 α -亚麻酸(2)、油酸(3)、亚油酸(4)、亚油酸乙酯(5)、8(*R*), 11(*S*)-二羟基-9*Z*, 12*Z*-十八烷二烯酸(6)、2-油酰甘油(7)、1-亚油酸甘油酯(8)、二羟丙基-油酸(9)、亚油酸甲酯(10)、甘油1,3-二亚油酸酯(11)、(5*Z*, 9*Z*)-17-甲基-非十七烯酸-5,9-二酯(12)、(2*S*)- α -(9'*Z*, 12'*Z*, 15'*Z*)-十八碳三烯酸(13)、麦角甾醇(14)、(22*E*, 24*S*)-5 α , 8 α -环二氧-6,22-麦角甾二烯-3 β 醇(15)、对羟基苜蓿基乙基醚(16)、尿嘧啶(17)、环D-脯氨酸-D-异亮氨酸(18)、环D-脯氨酸-D-亮氨酸(19)、环D-脯氨酸-D-苯丙氨酸(20)、脯氨酸(21)、环D-脯氨酸-L-缬氨酸(22)、环D-脯氨酸-D-缬氨酸(23)、4-(2-羟乙基)-5-甲基噻唑(24)、环丙氨酸-缬氨酸(25)、环丙氨酸-脯氨酸(26)。其中,化合物5~13、16和18~26是首次从蜜环菌中分离获得。体外生物活性研究表明化合物14和15对LPS诱导的RAW 264.7细胞炎症反应具有抑制作用。

关键词:蜜环菌;菌丝体;化学成分;抗炎活性

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2023)7-1183-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.7.009

Chemical constituents from *Armillaria mellea* fermentation broth and its mycelia

LUO Ying-zi^{1,2,3,4}, HUANG Ming-jin^{1,2,3,4*}, SHEN Shou-mao⁴,
SU Ming-zhi⁵, YU Dan-dan⁵, GUO Yue-wei^{4,5*}, QIN Yu-qiang⁶, ZHANG Guang-wen⁷

¹School of Agriculture, Guizhou University; ²Dendrobium Research Institute, Guizhou University;

³Key Laboratory of Medicinal Plant Breeding and Planting of Guizhou Province, Guiyang 550025, China;

⁴State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China;

⁵Bohai Rim Advanced Research Institute for Drug Discovery, Yantai 264117, China;

⁶Guizhou Chuangheyuan Agricultural Co., Ltd., Guiyang 550025, China;

⁷Guizhou Wumengteng Fungi Industry Co., Ltd., Bijie 551700, China

Abstract: *Armillaria mellea* is a symbiotic fungus essential for the nutritional growth stage of the medicinal plant *Gastrodia elata*. To investigate the chemical constituents and bioactivities of *A. mellea*, the 95% ethanol extract of *A. mellea* was repeatedly chromatographed over silica gel, MCI gel, Sephadex LH-20 and reversed-phase (RP)-HPLC, affording twenty-six pure compounds (1-26). Their structures were identified as tetradecanoic acid (1), α -linolenic acid (2), oleic acid (3), linoleic acid (4), ethyl linoleate (5), 8(*R*), 11(*S*)-dihydroxy-9*Z*, 12*Z*-octadecadienoic acid (6), 2-linoleoylglycerol (7), 1-monolinolein (8), 9-octadecenoic acid-2', 3'-dihydroxy propyl ester (9), methyl linoleate (10), glycerin 1,3-dilinoate (11), (5*Z*, 9*Z*)-17-methylnonadeca-5,9-dienoate (12), (2*S*)- α -(9'*Z*, 12'*Z*, 15'*Z*)-octadecatrienoic acid (13), ergosta-5,7,22-triene-3 β -ol

收稿日期:2022-12-28 接受日期:2023-05-17

基金项目:贵州省中药材产业发展项目(黔财农[2019]175号,[2020]101号,[2021]145号);贵州创禾源中药产业创新发展项目(创禾源科技合同[2021]001号)

*通信作者 E-mail:hmjtc@163.com, ywguo@simm.ac.cn

(**14**), (22*E*, 24*S*)-5 α , 8 α -epidioxy-24-methyl-cholesta-6, 9(11), 22-trien-3 β -ol (**15**), *p*-hydroxybenzylethyl ether (**16**), uracil (**17**), cyclo(*D*)-Pro-(*D*)-Ile (**18**), cyclo(*D*)-Pro-(*D*)-Leu (**19**), cyclo(*D*)-Pro-(*D*)-Phe (**20**), proline (**21**), cyclo(*D*)-Pro-(*L*)-Val (**22**), cyclo(*D*)-Pro-(*D*)-Val (**23**), 4-(2-hydroxyethyl)-5-methyloxazole (**24**), cyclo-(Ala-Val) (**25**), cyclo-(Ala-Pro) (**26**), respectively, by comparison of their NMR data and optical rotation values with those reported in the literature. Among them, compounds **5-13**, **16**, and **18-26** were obtained for the first time from *A. mellea*. In *in vitro* bioassay, compounds **14** and **15** showed moderate effects against LPS-induced inflammatory responses in RAW 264.7 cells.

Key words: *Armillaria mellea*; mycelia; chemical constituents; anti-inflammatory

蜜环菌(*Armillaria mellea*)是一类兼性寄生性真菌,可以依附在腐树、树干上,吸取营养生长,也能与中药材天麻(*Gastrodia elata*)共生并提供生长发育所需的营养^[1,2]。“两菌一种”是天麻种植必备材料,“两菌”指促进天麻种子萌发的萌发菌(紫萁小菇)以及为天麻块茎生长提供营养的蜜环菌属真菌,关于蜜环菌化学成分的研究主要集中在20世纪80、90年代,至今已从蜜环菌的子实体、菌丝体、发酵液、菌索等部位分离出100多种化合物,主要包含原伊鲁烷型倍半萜芳香酸酯类、生物碱类成分、糖类、甾醇类、有机酸类、三萜类、二萜酸类、黄酮类、酯类、多酚类等^[3],其中原伊鲁烷型倍半萜芳香酸酯和其他生物活性成分主要存在乙酸乙酯极性部位中^[4]。研究表明,蜜环菌有保护心脑血管、保肝、降血糖、增强免疫、镇静催眠、抗肿瘤、抗菌、抗炎、抗氧化等作用^[5],是一味具有开发利用潜力的中草药。当前,蜜环菌质量评价的标志物不清,尚未发布有关蜜环菌的质量标准或生产技术规程,影响了天麻的规范化种植,导致天麻产量、质量不稳定。因此,本研究对蜜环菌发酵液及其菌丝体95%乙醇提取物乙酸乙酯萃取部位进行了系统的化学成分分离鉴定,为蜜环菌的质量控制和开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器、材料和试剂

Perkin-Elmer 241 MC 旋光测定仪(美国PerkinElmer公司); Bruker AVANCE III 400 MHz、500 MHz 核磁共振仪(德国Bruker Biospin AG公司),以四甲基硅烷(TMS)信号作为内标; Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国Agilent公司); Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 半制备色谱柱(5 μ m, 9.4 mm \times 250 mm); 薄板硅胶板 GF₂₅₄ 和柱色谱用硅胶(200 ~ 300、300 ~ 400 目, 中国青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 凝胶(美国GE Healthcare公司); 脂多糖(LPS, 中国Sigma公司); 色谱纯试剂(中国DiKMA公司); 其他有机溶剂均为分析纯(中国国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 样品来源

样品由贵州乌蒙腾菌业有限公司提供,经贵州大学食用菌研究院文庭池教授鉴定为 *Armillaria mellea*。将培养17 d的18 L蜜环菌培养液离心,得到发酵液和菌丝体,分别用于化学成分的提取分离鉴定。

1.3 提取与分离

蜜环菌发酵产物样品处理:将18 L蜜环菌培养液进行离心,进行固液分离,液体直接减压回收至2.5 L,用乙酸乙酯萃取17次,减压回收至干,得到浸膏Fr. 1(13.97 g)。固体2.1 kg用95%乙醇以固液1:10超声提取6次后合并减压回收至干,得到浸膏81.99 g,用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇分别萃取3次,将乙酸乙酯部分减压回收至干,得到乙酸乙酯部位Fr. 2(17.93 g)。

Fr. 1经MCI树脂柱色谱(甲醇:水,30:70 \rightarrow 100:0)梯度洗脱得到4个流分(Fr. 1A ~ Fr. 1D)。Fr. 1B经Sphadex LH-20凝胶柱色谱(二氯甲烷:甲醇,1:1)等度洗脱得到4个流分(Fr. 1B1 ~ Fr. 1B4), Fr. 1B3经正相二醇基硅胶柱色谱(二氯甲烷:甲醇,50:1 \rightarrow 1:1)梯度洗脱得到7个流分(Fr. 1B3A ~ Fr. 1B3G), Fr. 1B3A经RP-HPLC(甲醇:水,25:75, 2.1 mL/min)等度洗脱得到化合物**21**(2.2 mg, t_R = 5.1 min)、**18**(6.0 mg, t_R = 6.9 min)、**19**(11.9 mg, t_R = 7.6 min)、**20**(7.0 mg, t_R = 8.9 min); Fr. 1B3C经RP-HPLC(甲醇:水,20:80, 2.1 mL/min)等度洗脱得到化合物**22**(2.6 mg, t_R = 6.9 min); Fr. 1B3D经RP-HPLC(甲醇:水,20:80, 2.1 mL/min)等度洗脱得到化合物**23**(3.0 mg, t_R = 6.2 min)、**26**(2.3 mg, t_R = 10.5 min)。Fr. 1B4经正相二醇基硅胶柱色谱(二氯甲烷:甲醇,50:1 \rightarrow 1:1)梯度洗脱得到8个流分(Fr. 1B4A ~ Fr. 1B4H), Fr. 1B4D经RP-HPLC(甲醇:水,20:80, 2.1 mL/min)等度洗脱得到化合物**24**(1.8 mg, t_R = 9.8 min)、**25**(1.8 mg, t_R = 15.8 min)。

Fr. 2经MCI树脂柱色谱(甲醇:水,50:50 \rightarrow 100

:0) 梯度洗脱得到 8 个流分 (Fr. 2A ~ Fr. 2H)。Fr. 2A 经 Sphadex LH-20 凝胶柱色谱 (石油醚: 二氯甲烷: 甲醇, 2: 1: 1) 以及 RP-HPLC (甲醇: 水, 10: 90, 2.0 mL/min) 等度洗脱得到化合物 **17** (2.7 mg, $t_R = 2.5$ min)。Fr. 2C 经 Sphadex LH-20 凝胶柱色谱 (石油醚: 二氯甲烷: 甲醇, 2: 1: 1) 等度洗脱和正相二醇基硅胶柱色谱 (石油醚: 乙醚, 1: 1) 梯度洗脱得到化合物 **16** (128.1 mg) 和 Fr. 2C2, Fr. 2C2 再经 RP-HPLC 色谱 (乙腈: 水, 60: 40, 3 mL/min) 等度洗脱得到化合物 **6** (5.4 mg, $t_R = 5.2$ min)。Fr. 2F 经正相硅胶柱色谱 (石油醚: 乙酸乙酯, 20: 1→1: 1) 梯度洗脱得到 4 个流分 (Fr. 2F1 ~ Fr. 2F4), Fr. 2F1 经 Sphadex LH-20 凝胶柱色谱 (石油醚: 二氯甲烷: 甲醇, 2: 1: 1) 等度洗脱得到化合物 **12** (15.0 mg) 和其余 2 个馏分 (Fr. 2F1B ~ Fr. 2F1C), Fr. 2F1B 经 RP-HPLC 色谱 (乙腈: 水, 90: 10, 3 mL/min) 等度洗脱得到化合物 **2** (8.1 mg, $t_R = 9.9$ min)、**3** (17.9 mg, $t_R = 13.8$ min)、**4** (73.7 mg, $t_R = 21.5$ min)。Fr. 2F2 经正相硅胶柱色谱 (二氯甲烷: 乙醚, 10: 1→1: 1) 梯度洗脱得到 4 个流分 (Fr. 2F2A ~ Fr. 2F2D), Fr. 2F2C 经 RP-HPLC 色谱 (乙腈: 水, 70: 30, 3 mL/min) 等度洗脱得到化合物 **13** (3.53 mg, $t_R = 22.9$ min)、**9** (49.1 mg, $t_R = 27.9$ min)、**7** (32.0 mg, $t_R = 32.8$ min)、**8** (163.0 mg, $t_R = 37.3$ min)。Fr. 2F4 经正相硅胶柱色谱 (二氯甲烷: 甲醇, 5: 1→1: 1) 梯度洗脱和 RP-HPLC 色谱 (乙腈: 水, 100: 0, 3 mL/min) 等度洗脱得到化合物 **10** (43.4 mg, $t_R = 3.4$ min)。Fr. 2G 经正相硅胶柱色谱 (石油醚: 乙醚, 15: 1→1: 1) 梯度洗脱和 RP-HPLC 色谱 (乙腈: 水, 85: 15, 3 mL/min) 等度洗脱得到化合物 **1** (10.7 mg, $t_R = 13.7$ min)。Fr. 2H 经正相硅胶柱色谱 (石油醚: 乙醚, 60: 1→1: 1) 梯度洗脱得到 5 个流分 (Fr. 2H1 ~ Fr. 2H5), Fr. 2H1 经 Sphadex LH-20 凝胶柱色谱 (石油醚: 二氯甲烷: 甲醇, 2: 1: 1) 和正相硅胶柱色谱 (石油醚: 乙醚, 50: 1→1: 1) 梯度洗脱得到化合物 **5** (73.4 mg) 和 **11** (15.1 mg); Fr. 2H3 经正相硅胶柱色谱 (石油醚: 乙醚, 20: 1→1: 1) 梯度洗脱和 RP-HPLC (乙腈: 水, 90: 10, 3 mL/min) 等度洗脱得到化合物 **14** (15.0 mg, $t_R = 29.4$ min) 和 **15** (15.0 mg, $t_R = 37.6$ min)。

1.4 抗炎活性测试

RAW 264.7 细胞在含 10% FBS 和 1% 双抗的 DMEM 高糖培养基中培养至细胞密度达到 80%。

以 3×10^4 个/孔的密度将 RAW 264.7 细胞接种于 96 孔板上, 接种体积为 100 μ L/孔, 置于含 5% CO₂ 的 37 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中培养。细胞培养 24 h 后, 设立给药组 (分别为 20、10、5 μ mol/L), 空白对照组与模型组。孵育 1 h 后, 在模型组和给药组中均加入脂多糖 (LPS, 0.1 μ g/mL)。继续培养 24 h 后, 每孔取上清 70 μ L 与 70 μ L Griess 试剂混合孵育 15 min, 在 540 nm 的波长下测定 OD 值, 运用一氧化氮 (NO) 的标准曲线计算各组中 NO 摩尔质量分数, 并按以下公式进一步计算 NO 抑制率。

$$\text{NO 抑制率} = (1 - w_1) / w_2 \times 100\%$$

式中, w_1 代表各测试组的 NO 摩尔质量分数, w_2 代表模型组的 NO 摩尔质量分数。

2 实验结果

2.1 结构鉴定

化合物 1 无色油状; 分子式为 C₁₄H₂₈O₂; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 2.34 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2), 1.63 (2H, m, H-3), 1.25 (24H, s, H-4 ~ H-15), 0.88 (3H, t, $J = 6.7$ Hz, H-16); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 179.0 (C-1), 34.0 (C-2), 32.1 (C-3), 29.4 ~ 29.9 (C-4 ~ C-11), 24.9 (C-12), 22.8 (C-13), 14.3 (C-14)。以上数据与文献^[6]报道一致, 故鉴定化合物 **1** 为十四烷酸。

化合物 2 无色油状; 分子式为 C₁₈H₃₀O₂; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.38 (6H, m, H-9 ~ H-10, H-12 ~ H-13, H-15 ~ H-16), 2.80 (4H, m, H-11), 2.35 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2), 2.06 (4H, m, H-8, H-14), 1.63 (2H, m, H-3), 1.32 (10H, s, H-4 ~ H-7, H-17), 0.88 (3H, t, $J = 6.5$ Hz, H-18); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 179.8 (C-1), 34.1 (C-2), 31.7 (C-3), 29.7 (C-4), 25.7 (C-5), 25.8 (C-6), 27.3 (C-7), 29.2 (C-8, C-14), 130.1 (C-9), 128.4 (C-10), 29.3 (C-11), 127.9 (C-12), 130.3 (C-13), 128.4 (C-15), 127.3 (C-16), 20.7 (C-17), 14.4 (C-18)。以上数据与文献^[7]报道一致, 故鉴定化合物 **2** 为 α -亚麻酸。

化合物 3 无色油状; 分子式为 C₁₈H₃₄O₂; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.34 (2H, m, H-9 ~ H-10), 2.77 (2H, m, H-11), 2.34 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2), 2.02 (4H, m, H-8, H-14), 1.63 (2H, m, H-3), 1.32 (20H, m, H-4 ~ H-7, H-12 ~ H-17), 0.88 (3H, t, $J = 6.7$ Hz, H-18); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 180.3 (C-1), 34.2 (C-2), 32.1 (C-3), 29.9 (C-4), 29.3 (C-5), 24.8 (C-6), 27.4 (C-7), 29.2 (C-8, C-

14), 130.2 (C-9), 129.9 (C-10), 29.5 (C-11), 29.7 (C-12), 29.8 (C-13), 27.3 (C-15), 24.8 (C-16), 22.8 (C-17), 14.3 (C-18)。以上数据与文献^[8]报道一致,故鉴定化合物**3**为油酸。

化合物4 无色油状;分子式为 $C_{18}H_{32}O_2$; 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.34 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), 2.77 (2H, m, H-11), 2.34 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2), 2.04 (4H, m, H-8, H-14), 1.63 (2H, m, H-3), 1.32 (14H, s, H-4 ~ H-7, H-15 ~ H-17), 0.88 (3H, t, $J = 6.7$ Hz, H-18); ^{13}C NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 180.6 (C-1), 34.3 (C-2), 31.6 (C-3), 29.7 (C-4), 29.3 (C-5), 25.7 (C-6), 27.3 (C-7), 29.2 (C-8, C-14), 130.1 (C-9), 128.2 (C-10), 29.5 (C-11), 128.0 (C-12), 130.3 (C-13), 27.3 (C-15), 24.8 (C-16), 22.7 (C-17), 14.2 (C-18)。以上数据与文献^[9]报道一致,故鉴定化合物**4**为亚油酸。

化合物5 无色油状;分子式为 $C_{20}H_{36}O_2$; 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.34 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), 4.11 (2H, q, $J = 7.1$ Hz, H-19), 2.76 (2H, m, H-11), 2.27 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2), 2.04 (4H, m, H-8, H-14), 1.63 (2H, m, H-3), 1.27 (14H, m, H-4 ~ H-7, H-15 ~ H-17), 1.22 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, H-20), 0.88 (3H, t, $J = 6.7$ Hz, H-18); ^{13}C NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 174.0 (C-1), 34.5 (C-2), 31.6 (C-3), 29.7 (C-4), 29.2 (C-5), 25.7 (C-6), 27.3 (C-7), 29.2 (C-8, C-14), 130.1 (C-9), 128.1 (C-10), 29.5 (C-11), 128.0 (C-12), 130.3 (C-13), 27.3 (C-15), 25.1 (C-16), 22.7 (C-17), 14.4 (C-18), 60.2 (C-19), 14.12 (C-20)。以上数据与文献^[10]报道一致,故鉴定化合物**5**为亚油酸乙酯。

化合物6 黄色油状;分子式为 $C_{18}H_{32}O_4$; $[\alpha]_D + 17.7$ (c 0.20, CH_3OH); 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.49 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), 5.28 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, H-11), 4.49 (1H, q, $J = 7.2$, 7.2 Hz, H-8), 2.34 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-2), 2.08 (2H, m, H-14), 1.63 (2H, m, H-3), 1.27 (14H, m, H-4 ~ H-7, H-15 ~ H-17), 0.88 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, H-18); ^{13}C NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 178.7 (C-1), 34.0 (C-2), 31.7 (C-3), 29.0 (C-4), 29.2 (C-5), 25.2 (C-6), 37.0 (C-7), 67.7 (C-8), 133.1 (C-9), 134.5 (C-10), 63.8 (C-11), 132.99 (C-12), 130.47 (C-13), 27.96 (C-14), 29.37 (C-15), 25.18 (C-16), 22.68 (C-17), 14.17 (C-18)。以上数据与文献^[11]报

道一致,故鉴定化合物**6**为8(*R*), 11(*S*)-二羟基-9*Z*, 12*Z*-十八烷二烯酸。

化合物7 黄色油状;分子式为 $C_{21}H_{38}O_4$; 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.35 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), 4.90 (1H, q, $J = 4.8$ Hz, H-2'), 3.79 (4H, s, H-1', H-3'), 2.76 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, H-11), 2.35 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2), 2.04 (4H, q, $J = 6.7$ Hz, H-8, H-14), 1.62 (2H, m, H-3), 1.30 (14H, m, H-4 ~ H-7, H-15 ~ H-17), 0.87 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, H-18); ^{13}C NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 174.3 (C-1), 34.4 (C-2), 31.6 (C-3), 29.2 (C-4), 29.3 (C-5), 25.7 (C-6), 27.3 (C-7), 29.2 (C-8, C-14), 130.1 (C-9), 128.2 (C-10), 29.4 (C-11), 130.3 (C-12), 128.0 (C-13), 27.3 (C-15), 25.0 (C-16), 22.7 (C-17), 14.2 (C-18), 62.3 (C-1'), 75.0 (C-2'), 62.3 (C-3')。以上数据与文献^[12]报道一致,故鉴定化合物**7**为2-油酰甘油。

化合物8 无色油状;分子式为 $C_{21}H_{38}O_4$; $[\alpha]_D + 1.3$ (c 0.2, CH_3OH); 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.31 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), 4.08 (2H, d, $J = 5.6$ Hz, H-1'), 3.85 (1H, m, H-2'), 3.62 (1H, m, H-3'a), 3.52 (1H, m, H-3'b), 2.72 (2H, t, $J = 6.3$ Hz, H-11), 2.29 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2), 2.01 (4H, q, $J = 6.7$ Hz, H-8, H-14), 1.57 (2H, m, H-3), 1.26 (14H, m, H-4 ~ H-7, H-15 ~ H-17), 0.84 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, H-18); ^{13}C NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 174.3 (C-1), 34.1 (C-2), 31.5 (C-3), 29.1 (C-4), 29.3 (C-5), 25.6 (C-6), 27.2 (C-7), 29.2 (C-8, C-14), 129.9 (C-9), 128.1 (C-10), 29.3 (C-11), 130.2 (C-12), 127.9 (C-13), 27.2 (C-15), 24.9 (C-16), 22.6 (C-17), 14.1 (C-18), 65.0 (C-1'), 70.2 (C-2'), 63.4 (C-3')。以上数据与文献^[13]报道一致,故鉴定化合物**8**为1-亚油酸甘油酯。

化合物9 无色油状;分子式为 $C_{21}H_{40}O_4$; $[\alpha]_D - 3.8$ (c 0.1, CH_3OH); 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.32 (2H, m, H-9, H-10), 4.13 (2H, m, H-1'), 3.90 (1H, m, H-2'), 3.66 (1H, m, H-3'b), 3.57 (m, 1H, H-3'a), 2.32 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2), 2.00 (4H, m, H-8, H-14), 1.62 (2H, m, H-3), 1.25 (20H, m, H-4 ~ H-7, H-11 ~ H-13, H-15 ~ H-17), 0.86 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, H-18); ^{13}C NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 174.5 (C-1), 34.2 (C-2), 32.0 (C-3), 29.3 (C-4), 29.3 (C-5), 25.0 (C-6), 27.3 (C-7), 29.2 (C-8, C-

14), 130.1 (C-9), 129.8 (C-10), 29.9 (C-11), 29.6 (C-12), 29.8 (C-13), 29.4 (C-15), 27.3 (C-16), 22.8 (C-17), 14.2 (C-18), 65.2 (C-1'), 70.3 (C-2'), 63.5 (C-3')。以上数据与文献^[14]报道一致,故鉴定化合物 **9** 为二羟丙基-油酸。

化合物 10 无色油状;分子式为 $C_{19}H_{34}O_2$; 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.35 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), 3.66 (3H, s, H-1'), 2.76 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-11), 2.32 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2), 2.00 (4H, m, H-8, H-14), 1.62 (2H, m, H-3), 1.25 (14H, m, H-4 ~ H-7, H-15 ~ H-17), 0.86 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, H-18); ^{13}C NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 174.2 (C-1), 34.2 (C-2), 31.7 (C-3), 29.3 (C-4), 29.4 (C-5), 25.8 (C-6), 27.4 (C-7), 29.3 (C-8, C-14), 130.1 (C-9), 128.2 (C-10), 29.4 (C-11), 130.4 (C-12), 128.0 (C-13), 27.4 (C-15), 25.0 (C-16), 22.7 (C-17), 14.2 (C-18), 51.5 (C-1')。以上数据与文献^[15]报道一致,故鉴定化合物 **10** 为亚油酸甲酯。

化合物 11 黄色油状;分子式为 $C_{21}H_{36}O_5$; $[\alpha]_D - 20.0$ (c 0.2, CH_3OH); 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.34 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), 4.30 (1H, m, H-2'), 4.15 (2H, m, H-3'), 2.77 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-11), 2.31 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2), 2.04 (4H, m, H-8, H-14), 1.61 (2H, m, H-3), 1.25 (14H, m, H-4 ~ 7, H-15 ~ H-17), 0.86 (3H, t, $J = 6.7$ Hz, H-18); ^{13}C NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 173.4 (C-1), 34.2 (C-2), 31.7 (C-3), 29.3 (C-4), 29.8 (C-5), 25.8 (C-6), 27.4 (C-7), 29.3 (C-8, C-14), 130.2 (C-9), 128.2 (C-10), 29.5 (C-11), 130.4 (C-12), 128.0 (C-13), 29.8 (C-15), 25.0 (C-16), 22.7 (C-17), 14.2 (C-18), 173.0 (C-1'), 69.0 (C-2'), 62.3 (C-3')。以上数据与文献^[16]报道一致,故鉴定化合物 **11** 为甘油 1,3-二亚油酸酯。

化合物 12 无色油状;分子式为 $C_{21}H_{38}O_2$; $[\alpha]_D - 3.8$ (c 0.15, CH_3OH); 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.34 (4H, m, H-5, H-6, H-9, H-10), 3.66 (3H, s, H-1'), 2.77 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, H-11), 2.31 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2), 2.04 (4H, q, $J = 7.2$ Hz, H-8, H-14), 1.61 (2H, m, H-3), 1.25 (16H, m, H-4, H-7, H-12 ~ H-13, H-15 ~ H-18), 0.86 (6H, m, H-19 ~ H-20); ^{13}C NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 174.4 (C-1), 34.3 (C-2), 31.7 (C-3), 29.3 (C-4), 128.1 (C-5), 128.1 (C-6), 29.3 (C-7), 29.2 (C-8, C-14),

130.2 (C-9), 130.4 (C-10), 29.8 (C-11), 29.5 (C-12), 29.2 (C-13), 29.7 (C-15), 25.8 (C-16), 25.1 (C-17), 22.8 (C-18), 14.2 (C-19), 22.7 (C-20), 51.6 (C-1')。以上数据与文献^[17]报道一致,故鉴定化合物 **12** 为(5*Z*,9*Z*)-17-甲基-非十七烯酸-5,9-二酯。

化合物 13 无色油状;分子式为 $C_{21}H_{36}O_4$; 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.34 (6H, m, H-9, H-10, H-12, H-13, H-15, H-16), 4.18 (2H, qd, $J = 11.7$, 5.7 Hz, H-1'), 3.90 (1H, m, H-2'), 3.66 (1H, m, H-3'b), 3.49 (m, 1H, H-3'a), 2.76 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, H-11), 2.31 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2), 2.04 (4H, q, $J = 7.2$ Hz, H-8, H-14), 1.61 (2H, m, H-3), 1.25 (10H, m, H-4 ~ H-7, H-17), 0.88 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-18); ^{13}C NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 174.5 (C-1), 34.3 (C-2), 25.0 (C-3), 29.3 (C-4), 29.3 (C-5), 29.3 (C-6), 29.7 (C-7), 27.3 (C-8, C-14), 132.1 (C-9), 130.4 (C-10), 25.8 (C-11), 128.4 (C-12), 128.4 (C-13), 127.9 (C-15), 127.3 (C-16), 20.7 (C-17), 14.4 (C-18), 65.3 (C-1'), 70.4 (C-2'), 63.5 (C-3')。以上数据与文献^[18]报道一致,故鉴定化合物 **13** 为(2*S*)- α -(9'*Z*,12'*Z*,15'*Z*)-十八碳三烯酸。

化合物 14 白色结晶;分子式为 $C_{28}H_{43}O_3$; $[\alpha]_D - 25.0$ (c 0.15, CH_3OH); 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.50 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 6.24 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7), 5.18 (2H, m, H-23), 3.97 (3H, tt, $J = 11.1$, 5.02 Hz, H-3), 0.98 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-28), 0.90 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-21), 0.88 (3H, s, H-19), 0.82 (9H, m, H-18, H-26, H-27); ^{13}C NMR(125 MHz, $CDCl_3$) δ : 34.8 (C-1), 30.3 (C-2), 66.6 (C-3), 37.1 (C-4), 82.3 (C-5), 135.6 (C-6), 130.9 (C-7), 79.6 (C-8), 51.2 (C-9), 37.1 (C-10), 23.5 (C-11), 39.5 (C-12), 44.7 (C-13), 51.8 (C-14), 20.8 (C-15), 28.8 (C-16), 56.3 (C-17), 13.0 (C-18), 18.3 (C-19), 39.9 (C-20), 21.0 (C-21), 35.3 (C-22), 132.4 (C-23), 42.9 (C-24), 33.2 (C-25), 19.8 (C-26), 20.1 (C-27), 17.7 (C-28)。以上数据与文献^[19]报道一致,故鉴定化合物 **14** 为麦角甾醇。

化合物 15 白色结晶;分子式为 $C_{28}H_{42}O_3$; $[\alpha]_D - 12.5$ (c 0.23 $CHCl_3$); 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.60 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7), 6.29 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-6), 5.42 (1H, m, H-11), 5.20 (2H,

m, H-22), 4.01 (1H, tt, $J = 11.0, 5.1$ Hz, H-3), 1.09 (3H, s, H-19), 1.00 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-28), 0.91 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-27), 0.82 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, H-26), 0.73 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 32.7 (C-1), 30.8 (C-2), 66.5 (C-3), 36.2 (C-4), 82.8 (C-5), 135.6 (C-6), 130.9 (C-7), 78.5 (C-8), 142.7 (C-9), 38.1 (C-10), 119.8 (C-11), 41.3 (C-12), 43.8 (C-13), 48.3 (C-14), 21.0 (C-15), 28.8 (C-16), 56.0 (C-17), 13.1 (C-18), 25.7 (C-19), 40.1 (C-20), 20.9 (C-21), 135.2 (C-22), 132.5 (C-23), 42.9 (C-24), 33.2 (C-25), 19.8 (C-26), 20.1 (C-27), 17.7 (C-28)。以上数据与文献^[20]报道一致,故鉴定化合物 **15** 为(22*E*, 24*S*)-5 α , 8 α -环二氧-6, 22-麦角甾二烯-3 β 醇。

化合物 16 无色油状;分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.18 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3, H-5), 6.75 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2, H-6), 4.45 (2H, s, H-7), 3.57 (2H, q, $J = 7.0$ Hz, H-1'), 1.25 (3H, t, $J = 8.5$ Hz, H-2'); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 129.3 (C-1), 115.4 (C-2, C-6), 129.8 (C-3, 5), 155.9 (C-4), 72.5 (C-7), 65.5 (C-1'), 15.0 (C-6')。以上数据与文献^[21]报道一致,故鉴定化合物 **16** 为对羟基苜蓿基乙基醚。

化合物 17 白色粉末;分子式为 $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.40 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-6), 5.62 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-5); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 153.5 (C-2), 167.3 (C-4), 101.7 (C-5), 143.5 (C-6)。以上数据与文献^[22]报道一致,故鉴定化合物 **17** 为尿嘧啶。

化合物 18 白色粉末;分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$; $[\alpha]_{\text{D}} - 18.6$ (c 0.10, CH_3OH); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.07 (1H, t, $J = 9.1$ Hz, H-6), 3.96 (1H, s, H-9), 3.62 (2H, m, H-3), 2.36 (2H, m, H-5a, H-10), 2.04 (2H, m, H-4), 1.91 (1H, m, H-5b), 1.43 (1H, m, H-11a), 1.06 (1H, m, H-11b), 1.05 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-12), 0.93 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-13); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 169.8 (C-1), 45.2 (C-3), 22.4 (C-4), 28.5 (C-5), 58.8 (C-6), 164.9 (C-7), 60.5 (C-9), 35.3 (C-10), 24.1 (C-11), 12.1 (C-12), 16.0 (C-13)。以上数据与文献^[23]报道一致,故鉴定化合物 **18** 为环 *D*-脯氨酸-*D*-异亮氨酸。

化合物 19 白色粉末;分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$; $[\alpha]_{\text{D}} - 47.6$ (c 0.10, CH_3OH); ^1H NMR (400 MHz,

CDCl_3) δ : 5.92 (1H, s, N-H), 4.13 (1H, t, $J = 8.4$ Hz, H-6), 4.01 (1H, dd, $J = 9.5, 3.7$ Hz, H-9), 3.58 (2H, m, H-3), 2.35 (1H, m, H-11b), 2.05 (3H, m, H-4a, H-5a, H-10), 1.92 (1H, m, H-4b), 1.75 (2H, m, H-5b), 1.54 (2H, m, H-11a), 1.00 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, H-12), 0.95 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, H-13); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 170.3 (C-1), 45.7 (C-3), 23.4 (C-4), 28.3 (C-5), 59.1 (C-6), 166.3 (C-7), 53.6 (C-9), 38.8 (C-10), 24.9 (C-11), 21.4 (C-12), 22.9 (C-13)。以上数据与文献^[24]报道一致,故鉴定化合物 **19** 为环 *D*-脯氨酸-*D*-亮氨酸。

化合物 20 白色粉末;分子式为 $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$; $[\alpha]_{\text{D}} - 34.3$ (c 0.10, CH_3OH); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.34 (5H, m, H-1' ~ H-5'), 5.58 (1H, s, H-N), 4.27 (1H, m, H-9), 4.08 (1H, m, H-6), 3.61 (2H, m, H-3), 2.78 (1H, dd, $J = 14.5, 10.8$ Hz, H-10b), 2.35 (1H, m, H-5b), 2.02 (2H, m, H-4a, H-5a), 1.91 (1H, m, H-4b); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 169.5 (C-1), 45.6 (C-3), 22.7 (C-4), 28.5 (C-5), 59.3 (C-6), 165.2 (C-7), 56.3 (C-9), 37.0 (C-10), 136.1 (C-1'), 129.2 (C-2'), 127.7 (C-3'), 129.2 (C-4')。以上数据与文献^[23]报道一致,故鉴定化合物 **20** 为环 *D*-脯氨酸-*D*-苯丙氨酸。

化合物 21 白色粉末;分子式为 $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.17 (1H, t, $J = 8.2$ Hz, H-2), 3.54 (2H, m, H-5), 1.90 ~ 2.31 (4H, m, H-3 ~ H-4); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 166.6 (C-1), 60.7 (C-2), 27.6 (C-3), 23.5 (C-4), 45.4 (C-5)。以上数据与文献^[25]报道一致,故鉴定化合物 **21** 为脯氨酸。

化合物 22 白色粉末;分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.09 (1H, t, $J = 8.9$ Hz, H-6), 3.95 (1H, m, H-9), 3.72 (2H, m, H-3), 3.55 (1H, m, H-4b), 3.03 (1H, m, H-4a), 2.42 (1H, m, H-5a), 2.26 (2H, m, H-5b), 2.04 (2H, m, H-9), 1.90 (2H, m, H-11), 1.05 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, H-10), 0.99 (3H, t, $J = 6.7$ Hz, H-12); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 169.2 (C-1), 45.6 (C-3), 21.9 (C-4), 33.1 (C-5), 58.3 (C-6), 165.2 (C-7), 63.6 (C-9), 29.4 (C-10), 19.0 (C-11), 17.5 (C-12)。以上数据与文献^[26]报道一致,故鉴定化合物 **22** 为环 *D*-脯氨酸-*L*-缬氨酸。

化合物 23 白色粉末;分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$;

$[\alpha]_D - 145.8$ (c 0.30, CH_3OH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.08 (1H, t, $J = 8.9$ Hz, H-6), 3.93 (1H, s, H-9), 3.62 (1H, m, H-3a), 3.54 (1H, m, H-3b), 2.62 (1H, m, H-10), 2.36 (1H, m, 5a), 2.04 (2H, m, H-4a, H-5b), 1.89 (2H, m, H-4b), 1.06 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-11), 0.90 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-12); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 170.2 (C-1), 45.3 (C-3), 22.5 (C-4), 28.5 (C-5), 59.0 (C-6), 165.1 (C-7), 60.5 (C-9), 28.7 (C-10), 19.4 (C-11), 16.2 (C-12)。以上数据与文献^[23]报道一致,故鉴定化合物 **23** 为环 *D*-脯氨酸-*D*-缬氨酸。

化合物 24 白色粉末;分子式为 $\text{C}_6\text{H}_9\text{NO}_2$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.60 (1H, s, H-2), 3.84 (2H, t, $J = 6.3$ Hz, H-8), 3.03 (2H, t, $J = 6.3$ Hz, H-7), 2.42 (3H, s, H-6); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 150.0 (C-2), 127.7 (C-4), 149.9 (C-5), 15.0 (C-6), 29.78 (C-7), 63.2 (C-8)。以上数据与文献^[27]报道一致,故鉴定化合物 **25** 为 4-(2-羟乙基)-5-甲基噁唑。

化合物 25 白色粉末;分子式为 $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.13 (1H, m, H-3a), 3.93 (1H, m, H-3b), 2.45 (1H, m, H-6a), 1.66 (3H, m, H-6b, H-8), 1.50 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-7), 1.06 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, H-9), 0.96 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, H-10); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 167.4 (C-2), 60.4 (C-3), 169.1 (C-5), 50.8 (C-6), 31.4 (C-7), 18.9 (C-8), 16.3 (C-9), 20.9 (C-10)。以上数据与文献报道^[28]一致,故鉴定化合物 **25** 为环丙氨酸-缬氨酸。

化合物 26 白色粉末;分子式为 $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.13 (2H, m, H-3), 3.57 (2H, m, H-9), 2.34 (1H, m, H-7a), 2.13 (1H, m, H-7b), 2.01 (1H, m, H-8a), 1.92 (1H, m, H-8b), 1.47 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-10); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 166.4 (C-2), 45.6 (C-3), 170.3 (C-5), 59.5 (C-6), 28.3 (C-7), 22.9 (C-8), 51.4 (C-9), 16.2 (C-10)。以上数据与文献^[29]报道一致,故鉴定化合物 **26** 为环丙氨酸-脯氨酸。

2.2 抗炎活性测试

采用 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞炎症模型,对化合物 **1** ~ **26** 均进行了抗炎活性评价。结果表明,在 20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下,化合物 **14** 和 **15** 有效抑制 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞中 NO 的产生,抑制率分别

为 36.7% 和 45.8%。进一步实验测得化合物 **14** 和 **15** 的 IC_{50} 值分别为 50.4 和 26.8 $\mu\text{mol/L}$,提示化合物 **14** 和 **15** 对 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞炎症具有抑制作用。同时,还应用 MTT 法测试了化合物对细胞存活率的影响,结果显示 **14** 和 **15** 对 RAW 264.7 细胞活力无显著影响,表明 **14** 和 **15** 对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞炎症的抑制作用不依赖于细胞毒性作用。

3 讨论与结论

本研究从蜜环菌发酵液及其菌丝体中分离到 13 个脂肪酸及其酯类、2 个甾醇、1 个苯酚类、10 个含氮的化合物,其中 **5** ~ **13**、**16**、**18** ~ **26** 等 19 个化合物是首次从蜜环菌中分离得到。这些成分地发现,有助于了解蜜环菌在不同部位中产生的代谢产物,其发酵液中主要成分是脂肪酸及其酯类和生物碱,菌丝体中主要成分是脂肪酸及其酯类、甾体、酚类,发酵液分离到的脂肪酸及其酯类在菌丝体中都能分离得到;本研究分离的化合物与张宏歧等人分离的忍冬木层孔菌液体培养物的化学成分相似^[30],均有甾醇、环二肽、酚类等化合物,这几类成分可能为真菌液体培养液中的常见成分。除此之外,文献报道麦角甾醇和甘露糖是评价蜜环菌质量的主要成分^[31],本研究所分离到的化合物(22*E*,24*S*)-5 α ,8 α -环二氧-6,22-麦角甾二烯-3 β 醇和麦角甾醇对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞炎症表现出不同的抗炎活性,其中,麦角甾醇是真菌细胞膜的重要组成部分,对细胞生理功能具有重要作用^[32],蜜环菌的抗炎活性可能来源于甾醇类成分。同时本文报道的 26 个化合物中除麦角甾醇外还有其他多种类型,可进一步为蜜环菌化学指纹图谱的构建及其生产技术规程或液体菌种的质量标准制定提供参考。通过文献对比,本次分离得到的亚油酸、亚油酸乙酯、对羟基苯基乙基醚、尿嘧啶、脯氨酸等成分,在其共生植物天麻的化学成分研究中也曾分离得到^[33],表明蜜环菌、天麻之间可能建立了一种密切的化学生态学关系。

参考文献

- Xu JT. Pharmaceutical mycology of China (中国药用真菌学) [M]. Beijing: Beijing Medical University and Peking Union Medical College Press, 1997: 12.
- Xu JT, Mu C. The relation between growth of *Gastrodia elata* protocorms and fungi [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 1990,

- 1:26-31.
- 3 Wang R, Zhang SY, Mu Q. Research progress in chemical constituents and biological activities of *Armillaria mellea* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2016, 47: 1992-1999.
- 4 Zhang SS. Studies on the chemical constituents of *Armillaria mellea* [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences (中国中医科学院), 2015.
- 5 Cheng P, Geng Y, Xu HY, et al. Isolation and anti-inflammatory activity of *n*-hexane extract from *Armillaria mellea* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2017, 29: 1523-1528.
- 6 Dai Y, Gai CJ, Guo ZK, et al. Studies on the chemical constituents of stony coral *Stylophora pistilata* from the South China Sea [J]. Chin J Mar Drugs (中国海洋药物), 2020, 39: 77-81.
- 7 Alamsjah MA, Hirao S, Ishibashi F, et al. Isolation and structure determination of algicidal compounds from *Ulva fasciata* [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2005, 69: 2186-2192.
- 8 Hilke B, Verena T, Sonja V, et al. *N*-Acylated alanine methyl esters (NAMEs) from *Roseovia riustolerans*, structural analogs of quorum sensing autoin [J]. Chem Biodivers, 2013, 10: 1559-1573.
- 9 Marwah RG, Fatope MO, Deadman ML, et al. Musanahol: a new aureonitol related metabolite from a *Chaetomium* sp [J]. Tetrahedron, 2007, 63: 8174-8180.
- 10 Aidarhan N, Guoruolu Y, Liu ZS, et al. Chemical constituents of the petroleum ether fraction from seeds of *Saussurea involucreata* [J]. Chem Nat Compd, 2020, 56: 358-360.
- 11 Mayken WW, Guus VZ, Mats H, et al. Conversion of linoleic acid into novel oxylipins by the mushroom *Agaricus bisporus* [J]. Lipids, 2006, 40: 1163-1170.
- 12 Kim DG, Kang MJ, Hong SS, et al. Antiinflammatory effects of functionally active compounds isolated from aged black garlic [J]. Phytother Res, 2017, 31: 53-61.
- 13 Vu HT, Nguyen DT, Nguyen HQ, et al. Antimicrobial and cytotoxic properties of bioactive metabolites produced by *Streptomyces cavourensis* YBQ59 isolated from *Cinnamomum cassia* Preles in Yen Bai Province of Vietnam [J]. Curr Microbiol, 2018, 75: 1247-1255.
- 14 Atta UR, Nighat S, Durre S, et al. Two new fatty esters from *Rhazya stricta* roots (Apocynaceae) [J]. Nat Prod Res, 2008, 22: 1350-1354.
- 15 Zhu Z, Ma L, Zhu HY, et al. Studies on the chemical constituents of *Laportea bulbifera* [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2011, 34: 223-225.
- 16 Wu FL, Ross BP, McGeary RP, et al. New methodology for the conversion of epoxides to alkenes [J]. Eur J Org Chem, 2010, 22: 1989-1998.
- 17 Takagi M, Takikawa H, Mori K, et al. Synthesis of methyl (5*Z*, 9*Z*, 17*R*)-17-methylnonadeca-5, 9-dienoate, the (*R*)-enantiomer of the structure proposed for a metabolite of the Philippine sponge *Plakinastrella* sp [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2001, 65: 2065-2069.
- 18 Ogihara T, Amano N, Mitsui Y, et al. Determination of the absolute configuration of a monoglyceride antibolting compound and isolation of related compounds from radish leaves (*Raphanus sativus*) [J]. J Nat Prod, 2017, 80: 872-878.
- 19 Rösecke J, König WA. Constituents of the fungi *Daedalea quercina* and *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor* [J]. Phytochemistry, 2000, 54: 757-762.
- 20 Ioannou E, Abdel-Razik AF, Zervou M, et al. 5alpha, 8alpha-Epidioxysterols from the gorgonian *Eunicella cavolini* and the ascidian *Trididemnum inarmatum*: isolation and evaluation of their antiproliferative activity [J]. Steroids, 2009, 74: 73-80.
- 21 Liu MF, Han Y, Xin DM, et al. Chemical constituents from the rhizoma of *Arundina graminifolia* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2004, 50: 56-58.
- 22 Jia L, Li HF, Jin LL. Chemical constituents in *n*-butanol extract of *Abelmoschus esculentus* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2010, 41: 1771-1773.
- 23 Faouzi F, Victoriano V, José LS, et al. *DD*-diketopiperazines: antibiotics active against *Vibrio anguillarum* isolated from marine bacteria associated with cultures of *Pecten maximus* [J]. J Nat Prod, 2003, 66: 1299-1301.
- 24 Zhao PJ, Wang HX, Li GH, et al. Secondary metabolites from endophytic *Streptomyces* sp. Lz531 [J]. Chem Biodivers, 2007, 4: 899-904.
- 25 Ma JJ, Tang JS, Gao H, et al. Secondary metabolites from marine actinomycete *Streptomyces* sp. (No. 172221) [J]. Chin J Mar Drugs (中国海洋药物), 2010, 29: 6-9.
- 26 Zeng XR, Jiao WH, Tang JS, et al. Secondary metabolites from marine actinomycete *Streptomyces* sp. (NO. 30701) [J]. Chin J Med Chem (中国药物化学杂志), 2010, 20: 298-303.
- 27 Tao MH, Chen YC, Wei XY, et al. Chemical constituents of the endophytic fungus *Phomopsis* sp. A240 isolated from *Taxus chinensis* var. *mairei* [J]. Helv Chim Acta, 2014, 97: 426-430.
- 28 Ding ZT, Zhou J, Tan YH. Cyclic dipeptides from the root of *Psammosileue tuiucoides* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2000, 46: 5-7.