

白灵菇的化学成分及其抗宫颈癌细胞活性研究

贾月梅¹, 马国需^{2,3}, 孙照翠², 许旭东², 石磊岭^{3*}, 贾培松^{4*}

¹新疆维吾尔自治区市场监督管理评价中心, 乌鲁木齐 830011;

²中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193;

³新疆维吾尔自治区中药民族药研究所, 乌鲁木齐 830002; ⁴新疆农业科学院植物保护研究所, 乌鲁木齐 830091

摘要:为研究白灵菇 (*Pleurotus tuoliensis*) 的化学成分及其生物活性, 运用 ODS、硅胶柱色谱、半制备高效液相色谱等方法对其进行分离纯化, 结合现代波谱技术与理化性质鉴定化合物结构, 从白灵菇提取物中分离得到 11 个化合物, 分别鉴定为镰刀吡酮 A (1)、5-羟基二氢镰刀红素 C (2)、3-甲基醚镰刀红素 (3)、2-acetyl-3-methyl-7-methoxynaphthazarin (4)、(-)-cyclonerodiol (5)、2-isopropanol-3-methyl-7-methoxy-naphthazarin (6)、1,2-二羟基薄荷内酯 (7)、6,7-dihydroxy-3,6-dimethyl-2-isovaleroyl-4,5,6,7-tetrahydrobenzo furan (8)、二氢-3-外胸膜内酯 (9)、5-羟甲基糠醛 (10)、6,7-dihydroxy-3,6-dimethyl-2-isovaleroyl-4,5,6,7-tetrahydrobenzofuran (11), 所有化合物均为首次从白灵菇中分离。对所得化合物进行抗宫颈癌细胞 Hela 活性筛选, 除化合物 5、9、10 的活性较弱外, 其它化合物均显示出较强的抗宫颈癌细胞活性, 其中化合物 3 的活性最强, IC₅₀ 为 3.78 μmol/L, 具有进一步开发的价值。

关键词: 白灵菇; 化学成分; 结构鉴定; 抗宫颈癌细胞活性

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023)12-2088-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.12.008

Study on the chemical constituents of *Pleurotus tuoliensis* and their anti-cervical cancer activity

JIA Yue-mei¹, MA Guo-xu^{2,3}, SUN Zhao-cui², XU Xu-dong², SHI Lei-ling^{3*}, JIA Pei-song^{4*}

¹Center of Market Supervision and Evaluation of Xinjiang, Urumqi 830011, China;

²Institute of Medicinal Plant Development, Peking Union Medical College and Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China; ³Xinjiang Institute of Chinese Materia Medica and Ethnodrug, Urumqi 830002, China;

⁴Institute of Plant Protection, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, China

Abstract: To study the chemical constituents of *Pleurotus tuoliensis* and their biological activities. ODS, silica gel column chromatography, semi-preparative high performance liquid chromatography and other methods were used to isolate and purify compounds, and modern spectrum technologies together with physical and chemical methods were applied to identify the structures of those isolated compounds. As a result, 11 compounds were isolated from the extract of *P. tuoliensis* for the first time, named fusarpyrones A (1), 5-hydroxydihydrofusarium C (2), 3-methyl ether fusarium (3), 2-acetyl-3-methyl-7-methoxy-naphthazarin (4), (-)-cyclonerodiol (5), 2-isopropanol-3-methyl-7-methoxy-naphthazarin (6), 1,2-dihydroxymethyl menthyl lactone (7), 6,7-dihydroxy-3,6-dimethyl-2-isovaleroyl-4,5,6,7-tetrahydrobenzo furan (8), dihydro-3-epi-pleurolactone (9), 5-hydroxymethyl furfural (10), 6,7-dihydroxy-3,6-dimethyl-2-isovaleroyl-4,5,6,7-tetrahydrobenzofuran (11). Furthermore, all the compounds were screened for anti-cervical cancer activity on Hela cells. The activity results demonstrated that compounds 5, 9 and 10 displayed weak inhibitory activity, other compounds showed stronger effects, and compound 3 exhibited the best activity with the IC₅₀ value of 3.78 μmol/L, which has the value for further research.

Key words: *Pleurotus tuoliensis*; chemical composition; structural identification; anti-cervical cancer activity

收稿日期: 2023-06-20 接受日期: 2023-10-24

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (2021D01A109); 自治区公益性科研院所基本科研业务费专项 (KY2020109)

* 通信作者 E-mail: shileiling@sina.com, jps-fly@163.com

白灵菇, 中文学名白灵侧耳 (*Pleurotus tuoliensis*), 又名天山白灵芝、阿魏菇、阿魏蘑等, 隶属于担子菌门蘑菇纲蘑菇目侧耳科 Pleurotaceae 侧耳属 *Pleurotus*, 为高等真菌。野生寄生或腐生在中药阿魏肥大的根茎部。白灵菇色如白绢, 味道鲜美, 在食用菌族中被称为“食用菌皇后”^[1]。有报道称, 白灵菇的营养成分十分全面, 含多种氨基酸、脂肪、维生素和分子^[2]。目前, 白灵菇大面积种植于新疆地区, 具较大的经济价值。现代药理学研究表明, 白灵菇提取物具有抗肿瘤、增强免疫、抗辐射等多种药理作用^[3-6]。相关的化学研究表明, 白灵菇多糖是白灵菇的主要活性成分, 并且研究较为广泛^[2,7-10]。为了进一步研究白灵菇物质基础, 本文对其小分子化学成分进行分离和鉴定, 并检测成分抗宫颈癌细胞活性, 为进一步开发白灵菇的价值提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

Bruker Avance III 600 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); 赛默飞世 (Thermo Fisher) LTQ-OrbitrapX 液质联用仪 (美国 Thermo Fisher 公司); Lumtch-K-501 半制备液相色谱仪 (北京创新通恒有限公司); ZF-5 型手提紫外分析仪 (上海勤科分析仪器有限公司); 柱色谱硅胶和薄层色谱用硅胶 G、H、GF254 (青岛海洋化工有限公司); HW-40C 凝胶 (Toyopearl 公司); 反相硅胶 Lichroprep Rp-18 (40 ~ 63 μm) (日本 Daiso 有限公司); 常规试剂均为分析纯; 娃哈哈水; 人宫颈癌细胞 Hela (中国科学院上海细胞研究所)。

白灵菇购自乌鲁木齐县板房沟镇阿魏菇种植基地, 经新疆中药民族药研究所王果平研究员鉴定为侧耳科侧耳属白灵侧耳 *Pleurotus tuoliensis* (C. J. Mou) M. R. Zhao & Jin X. Zhang 的子实体。

1.2 实验方法

1.2.1 提取与分离

取新鲜白灵菇子实体清洗干净切片, 阴干粉碎, 过 40 目筛, 包装保存。称取白灵菇粉 1 000 g, 加入 3 L 体积分数 95% 乙醇溶液, 混匀后 50 $^{\circ}\text{C}$ 超声提取 40 min, 75 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 25 min, 过滤收集上清液, 提取 3 次, 合并滤液, 减压浓缩无醇味后, 用水分散。依次用二氯甲烷、乙酸乙酯等体积萃取 3 次, 将二氯甲烷、乙酸乙酯萃取液减压浓缩至干。最终得到二氯甲烷部位 85 g, 乙酸乙酯 58 g。取乙酸乙酯部位 (58 g) 经硅胶 (100 ~ 200 目) 柱色谱, 以石油醚-乙酸乙

酯流动相系统 (1:0、10:1、1:1、1:10、0:1, V/V) 梯度洗脱得 5 个组分 Fr. 1 ~ Fr. 5。Fr. 1 (3.2 g) 经 HW-40C 凝胶柱色谱分离, 得到 6 个组分 Fr. 1-1 ~ Fr. 1-6。Fr. 1-3 (1.1 g) 经半制备液相色谱 (YMC-Pack ODS-A, 250 mm \times 10 mm, 5 μm) 分离, 70% 甲醇分离纯化得化合物 **1** (2.3 mg, t_{R} = 17 min)、**2** (3.0 mg, t_{R} = 30 min)、**3** (1.8 mg, t_{R} = 34 min)。Fr. 2 (4.1 g) 用反相硅胶 Lichroprep Rp-18 (40 ~ 63 μm) 柱色谱分离, 甲醇-水 (20% \rightarrow 100% 甲醇) 梯度洗脱得到 5 个组分 Fr. 2-1 ~ Fr. 2-5。Fr. 2-5 (0.33 g) 经半制备液相色谱 (YMC-Pack ODS-A, 250 mm \times 10 mm, 5 μm) 分离, 70% 甲醇分离纯化得化合物 **6** (3.1 mg, t_{R} = 20 min)。Fr. 2-2 (2.7 g) 再经反相材料柱色谱分离, 甲醇-水 (50% \rightarrow 100% 甲醇) 梯度洗脱得到 5 个组分 Fr. 2-2-1 ~ Fr. 2-2-5。Fr. 2-2-4 (1.4 g) 经半制备液相色谱 (YMC-Pack ODS-A, 250 mm \times 10 mm, 5 μm) 分离, 68% 甲醇分离纯化得化合物 **4** (2.7 mg, t_{R} = 18 min)、**5** (4.2 mg, t_{R} = 27 min)。Fr. 2-2-3 (0.7 g) 经 HW-40C 凝胶柱色谱分离, 得到 5 个组分 Fr. 2-2-3-1 ~ Fr. 2-2-3-5。Fr. 2-2-3-3 (0.3 g) 经半制备液相色谱 (YMC-Pack ODS-A, 250 mm \times 10 mm, 5 μm) 分离, 70% 甲醇分离纯化得化合物 **7** (2.8 mg, t_{R} = 22 min)。Fr. 3 (6.0 g) 进行硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇 (1:0 \rightarrow 0:1) 梯度洗脱得 5 个组分 Fr. 3-1 ~ 3-5。Fr. 3-2 (3.1 g) 再经 HW-40C 凝胶柱色谱分离, 得到 7 个组分 Fr. 3-2-1 ~ Fr. 3-2-7。Fr. 3-2-3 (2.4 g) 经半制备液相色谱 (YMC-Pack ODS-A, 250 mm \times 10 mm, 5 μm) 分离, 60% 甲醇分离纯化得化合物 **8** (1.8 mg, t_{R} = 15 min)、**9** (1.5 mg, t_{R} = 20 min)、**10** (2.4 mg, t_{R} = 28 min)。Fr. 3-4 (1.9 g) 经半制备液相色谱 (YMC-Pack ODS-A, 250 mm \times 10 mm, 5 μm) 分离, 60% 甲醇分离纯化得化合物 **11** (3.2 mg, t_{R} = 22 min)。

1.2.2 体外抗肿瘤活性筛选

采用 MTT 比色法, 对化合物 **1** ~ **11** 进行抗肿瘤活性筛选: 选取人宫颈癌细胞 Hela, DMEM 培养基稀释后, 以每孔 6×10^4 个/mL 的密度接种于 96 孔板, 每孔 100 μL , 培养 24 h 后, 将五种不同浓度的溶于二甲基亚砜 (DMSO) 的每种化合物添加到每个孔中, 以顺铂作为阳性药。共设 5 个浓度 (50、25、12.5、6.25、3.125 (mol/L)), 每个浓度 3 个复孔。在 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 中孵育 48 h 后, 向每个孔中添加 10 mL MTT (4 mg/mL) 染色, 继续孵育 4 h, 吸弃原培养

液,每孔加入 200 μ L DMSO,置摇床上低速振荡 10 min,使结晶物充分溶解,并于酶联免疫检测仪 570 nm 波长处检测光密度值,重复三次。

2 实验结果

2.1 结构鉴定

化合物 1 淡黄色胶质;ESI-MS: m/z 203.08 $[M + Na]^+$,分子式为 $C_{10}H_{12}O_3$ 。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.33 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3), 6.68 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-4), 6.16 (1H, q, $J = 7.2$ Hz, H-3'), 4.49 (2H, s, H-5'), 2.64 (1H, s, 5'-OH), 1.88 (3H, s, H-1'), 1.85 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-4'); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 161.0 (C-2), 100.1 (C-3), 140.0 (C-4), 124.9 (C-5), 162.5 (C-6), 11.7 (C-1'), 129.9 (C-3'), 14.3 (C-4'), 61.2 (C-5')。以上数据与文献^[11]报道基本一致,故确定该化合物为镰刀吡酮 A。

化合物 2 橙色固体;ESI-MS: m/z 333.09 $[M + Na]^+$,分子式为 $C_{15}H_{18}O_7$ 。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 12.00 (1H, s, 9-OH), 6.49 (1H, s, H-8), 6.49 (1H, s, 6-OH), 5.58 (1H, s, 5-OH), 5.35 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H-5), 4.01 (1H, dd, $J = 9.5, 11.8$ Hz, H-1a), 3.96 (3H, s, H-12), 3.82 (1H, dd, $J = 8.7, 11.2$ Hz, H-1b), 3.02 (1H, m, H-4a), 2.96 (1H, dd, $J = 11.4, 4.2$ Hz, H-10a), 1.56 (3H, s, H-11); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 56.4 (C-1), 100.1 (C-3), 38.8 (C-4), 62.7 (C-5), 137.6 (C-6), 154.3 (C-7), 106.2 (C-8), 158.6 (C-9), 203.1 (C-10), 23.8 (C-11), 56.4 (C-12), 40.0 (C-4a), 120.9 (C-5a), 107.1 (C-9a), 44.9 (C-10a)。以上数据与文献^[12]报道基本一致,故确定该化合物为 5-羟基二氢镰刀红素 C。

化合物 3 红色粉末;ESI-MS: m/z 343.07 $[M + Na]^+$,分子式为 $C_{16}H_{16}O_7$ 。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.17 (1H, s, H-7), 4.90 (1H, d, $J = 17.4$ Hz, H-1a), 4.57 (1H, d, $J = 17.4$ Hz, H-1b), 3.94 (3H, s, H-13), 3.32 (3H, s, H-12), 3.02 (1H, d, $J = 20.16$ Hz, H-3a), 2.68 (1H, d, $J = 20.16$ Hz, H-3b), 1.56 (3H, s, H-11); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 58.6 (C-1), 119.1 (C-3), 32.8 (C-4), 157.1 (C-5), 185.1 (C-6), 109.7 (C-7), 160.6 (C-8), 178.2 (C-9), 137.1 (C-10), 22.8 (C-11), 48.9 (C-12), 56.7 (C-13), 132.5 (C-4a), 109.7 (C-5a), 107.5 (C-9a), 136.9 (C-10a)。以上数据与文献报道基本一致,故确定该化合物为 3-甲基醚镰刀红素。

化合物 4 红色粉末;ESI-MS: m/z 313.06 $[M + Na]^+$,分子式为 $C_{15}H_{14}O_6$ 。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 13.26 (1H, s, 8-OH), 12.84 (1H, s, 5-OH), 6.21 (1H, s, H-6), 3.94 (3H, s, 7-OCH₃), 3.91 (2H, s, H-9), 2.30 (3H, s, 3-CH₃), 2.24 (3H, s, H-11); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 160.5 (C-1), 134.0 (C-2), 142.4 (C-3), 160.0 (C-4), 177.9 (C-5), 109.6 (C-6), 161.1 (C-7), 184.5 (C-8), 41.1 (C-9), 203.8 (C-10), 30.0 (C-11), 108.3 (C-4a), 109.6 (C-8a), 56.7 (7-OCH₃), 12.8 (3-CH₃)。以上数据与文献^[14]报道基本一致,故确定该化合物为 2-acetonyl-3-methyl-7-methoxynaphthazarin。

化合物 5 无色油状;ESI-MS: m/z 263.19 $[M + Na]^+$,分子式为 $C_{15}H_{28}O_2$ 。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.13 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-9), 2.06 (2H, m, H-8), 1.86 (2H, m, H-4), 1.70 (3H, s, H-12), 1.63 (3H, s, H-11), 1.58 (1H, m, H-1), 1.58 (1H, m, H-5), 1.49 (2H, t, $J = 8.4$ Hz, H-7), 1.26 (3H, s, H-13), 1.17 (3H, s, H-15), 1.11 (2H, m, H-3), 1.05 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-14); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 44.1 (C-1), 81.1 (C-2), 40.3 (C-3), 24.2 (C-4), 54.2 (C-5), 74.8 (C-6), 40.4 (C-7), 22.7 (C-8), 124.4 (C-9), 131.7 (C-10), 17.5 (C-11), 25.1 (C-12), 25.6 (C-13), 14.4 (C-14), 26.0 (C-15)。以上数据与文献^[15]报道基本一致,故确定该化合物为 (-)-cyclonerodiol。

化合物 6 红色粉末;ESI-MS: m/z 315.08 $[M + Na]^+$,分子式为 $C_{15}H_{16}O_6$ 。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 13.34 (1H, s, 8-OH), 13.07 (1H, s, 5-OH), 6.21 (1H, s, H-6), 4.14 (1H, m, H-10), 3.94 (3H, s, 7-OCH₃), 2.96 (2H, m, H-9), 2.36 (3H, s, 3-CH₃), 1.35 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-11); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 160.5 (C-1), 138.3 (C-2), 142.0 (C-3), 162.3 (C-4), 177.9 (C-5), 109.6 (C-6), 162.3 (C-7), 184.2 (C-8), 35.9 (C-9), 67.8 (C-10), 23.9 (C-11), 109.2 (C-4a), 107.9 (C-8a), 60.7 (7-OCH₃), 12.9 (3-CH₃)。以上数据与文献^[14]报道基本一致,故确定该化合物为 2-isopropanol-3-methyl-7-methoxynaphthazarin。

化合物 7 无色油状;ESI-MS: m/z 221.08 $[M + Na]^+$,分子式为 $C_{10}H_{14}O_4$ 。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.89 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3), 3.23 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2), 2.60 (1H, m, H-5a), 2.58 (1H,

m, H-5b), 2.09 (1H, dt, $J = 13.2, 3.6$ Hz, H-6a), 1.82 (3H, s, H-10), 1.42 (1H, dt, $J = 13.2, 9.6$ Hz, H-6b), 1.33 (3H, s, H-7); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 72.5 (C-1), 79.6 (C-2), 84.0 (C-3), 120.6 (C-4), 21.3 (C-5), 36.3 (C-6), 25.9 (C-7), 160.1 (C-8), 175.1 (C-9), 8.3 (C-10)。以上数据与文献^[16]报道基本一致,故确定该化合物为1,2-二羟基薄荷内酯。

化合物 8 无色油状;ESI-MS: m/z 289.15 [M + Na]⁺, 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 4.40 (1H, s, H-7), 2.71 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-9), 2.55 (1H, m, H-4a), 2.31 (1H, m, H-4b), 2.27 (1H, s, H-13), 2.03 (1H, m, H-5a), 1.98 (1H, m, H-10), 1.74 (1H, m, H-5b), 1.31 (3H, s, H-14), 0.97 (6H, d, $J = 6.6$ Hz, H-11, 12); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 149.1 (C-2), 128.7 (C-3), 17.4 (C-4), 32.4 (C-5), 71.6 (C-6), 69.0 (C-7), 191.6 (C-8), 47.5 (C-9), 24.6 (C-10), 22.6 (C-11, 12), 9.7 (C-13), 24.1 (C-14), 122.7 (C-3a), 151.5 (C-7a)。以上数据与文献报道基本一致,故确定该化合物为6,7-dihydroxy-3,6-dimethyl-2-isovaleroyl-4,5,6,7-tetrahydrobenzofuran。

化合物 9 无色油状;ESI-MS: m/z 223.10 [M + Na]⁺, 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 4.48 (1H, dd, $J = 8.4, 15.6$ Hz, H-7a), 3.39 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 2.41 (1H, m, H-3a), 2.12 (1H, m, H-3), 1.68 (1H, m, H-5a), 1.62 (1H, m, H-4a), 1.53 (1H, m, H-5b), 1.40 (1H, m, H-4b), 1.31 (3H, s, H-8), 1.22 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-9); ^{13}C

NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 179.5 (C-2), 36.3 (C-3), 18.9 (C-4), 31.5 (C-5), 72.0 (C-6), 82.8 (C-7), 26.4 (C-8), 13.5 (C-9), 42.7 (C-3a), 76.2 (C-7a)。以上数据与文献^[17]报道基本一致,故确定该化合物为二氢-3-外胸膜内酯。

化合物 10 无色油状;ESI-MS: m/z 149.10 [M + Na]⁺, 分子式为 $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 9.53 (1H, s, H-1), 7.22 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-3), 6.53 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-4), 4.61 (2H, s, H-6); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 177.7 (C-1), 152.3 (C-2), 126.4 (C-3), 109.7 (C-4), 160.6 (C-5), 57.6 (C-6)。以上数据与文献^[18]报道基本一致,故确定该化合物为5-羟甲基糠醛。

化合物 11 无色固体;ESI-MS: m/z 289.34 [M + Na]⁺, 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.42 (1H, m, 6-OH), 4.41 (1H, m, 7-OH), 4.19 (1H, s, H-7), 2.65 (1H, dd, $J = 7.2, 1.2$ Hz, H-9), 2.44 (1H, m, H-4a), 2.41 (1H, m, H-4b), 2.20 (3H, s, H-13), 2.16 (1H, m, H-10), 1.86 (1H, m, H-5a), 1.58 (1H, m, H-5b), 1.12 (3H, s, H-14), 0.92 (6H, d, $J = 6.6$ Hz, H-11, 12); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 147.8 (C-2), 128.8 (C-3), 16.9 (C-4), 32.8 (C-5), 71.2 (C-6), 68.8 (C-7), 190.3 (C-8), 47.4 (C-9), 24.8 (C-10), 22.7 (C-11), 22.7 (C-12), 9.8 (C-13), 24.4 (C-14), 122.3 (C-3a), 154.4 (C-7a)。以上数据与文献^[19]报道基本一致,故确定该化合物为6,7-dihydroxy-3,6-dimethyl-2-isovaleroyl-4,5,6,7-tetrahydrobenzofuran。

化合物 1~11 的化学结构见图 1。

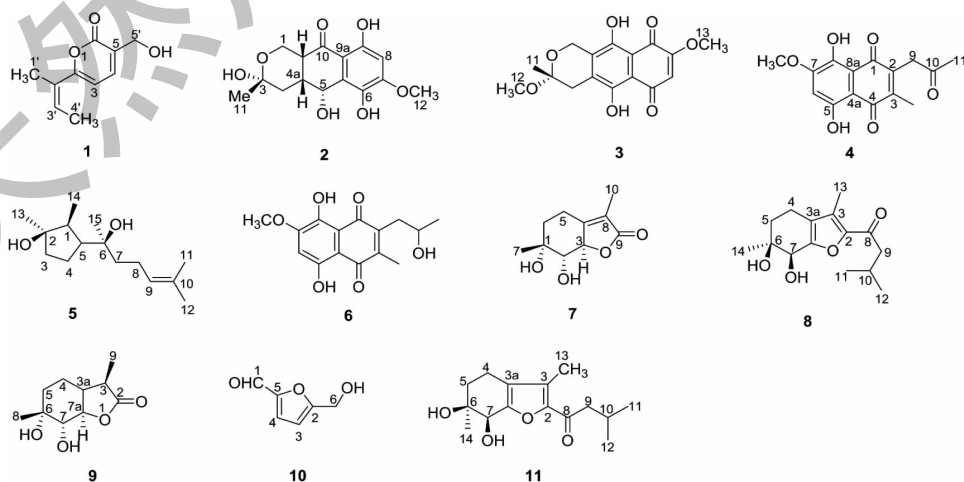


图 1 化合物 1~11 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1-11

2.2 抗肿瘤活性筛选

对白灵菇提取分离所得化合物进行抗肿瘤活性筛选,结果(见表1)显示除化合物**5**、**9**、**10**的活性较弱外,其他化合物均显示出较强的抗肿瘤活性,其中化合物**2**~**4**的活性较为显著,且化合物**3**的抗肿瘤活性最好,IC₅₀为3.78 μmol/L(阳性对照药为顺铂,IC₅₀为0.94 μmol/L)。

2.3 构效关系分析

为了进一步分析分离的化合物的结构-活性关系,结果比较和分析了活性较为显著的化合物**2**~**4**的抗肿瘤活性,通过分析发现化合物**2**和化合物**3**都具有6/6/6环系统结构,而未形成6/6/6环系统结构的化合物**4**抗肿瘤活性相对较弱,由此推测可能形成6/6/6环系统结构的化合物的抗肿瘤活性较

强;此外对于都具有6/6/6环系统结构的化合物**2**和化合物**3**来说,化合物**3**的抗肿瘤活性明显较强,而化合物**3**与化合物**2**结构中较为明显的区别是在C-3位上所连接的基团不同,于C-3位上连接甲氧基的化合物**3**活性高于在C-3位上连接羟基的化合物**2**,由此推测在C-3位上连接的甲氧基可能对化合物的抗肿瘤活性有提高的作用。根据化合物的结构-活性关系分析,化合物结构中是否具有6/6/6环系统结构和在C-3位连接基团的不同可能对化合物的抗肿瘤活性产生影响。本研究通过抗肿瘤活性研究为白灵菇中抗肿瘤活性化合物的结构-活性关系提供了参考。其中化合物**3**对人宫颈癌细胞Hela的抗增殖作用较强,但其具体的抑制宫颈癌细胞增殖的分子机制还需进一步研究。

表1 化合物1~11的体外抗Hela细胞活性
Table 1 *In vitro* activity of compounds 1-11 against Hela cell

化合物 Compound	IC ₅₀ (μmol/L)	化合物 Compound	IC ₅₀ (μmol/L)
1	23.4 ± 1.23	7	19.4 ± 1.67
2	5.67 ± 0.25	8	30.7 ± 2.84
3	3.78 ± 0.74	9	>50
4	9.80 ± 1.51	10	>50
5	>50	11	17.4 ± 2.47
6	11.51 ± 2.52	顺铂 Cisplatin	0.94 ± 0.14

3 结论

本研究对白灵菇的化学成分进行了探索,从中获得了11个化合物,其中包括萜类6个(**1**、**5**、**7**、**8**、**9**、**11**),聚酮类4个(**2**、**3**、**4**、**6**),其他类化合物1个(**10**),得到的化合物均为首次在白灵菇中分离得到。抗肿瘤活性筛选结果表明,化合物**1**~**4**、**6**~**8**、**11**均显示出较强的抗肿瘤活性。进一步分析分离的化合物的结构-活性关系,可见化合物结构中具有6/6/6环系统结构、在C-3位连接基团的不同都可能对抗肿瘤活性产生一定的影响。目前,国内外对白灵菇中存在的小分子化合物报道不多,该研究属于首次开展白灵菇的化学成分研究,该结果进一步丰富了白灵菇中化学成分,也为后续深入阐明白灵菇的活性物质奠定了基础。所发现的具有显著抗肿瘤活性的化合物,可在白灵菇中大量富集后,进行修饰、改造等深入研究,从而进一步拓展白灵菇的应用

范围,促进当地经济的发展。

参考文献

1 Wu HQ, Li ZH, Fan YM, et al. Xinjiang *Pleurotus tuoliensis* and its development prospects[J]. *Edible Fungi*(食用菌), 2004, 26: 7-8.

2 Yan XY, Wang W, Zhao Y. Advancement on polysaccharides from *Pleurotus ferulae* Lenz[J]. *North Horti*(北方园艺), 2007, 183: 243-245.

3 Wang L, Zhang FC, Liu J. Inhibitory effect and mechanism of the ethyl acetate fraction of *Pleurotus ferulatus* triterpenoids on proliferation of esophageal Eca109 cells[J]. *Food Sci*(食品科学), 2019, 40: 189-198.

4 Yuan P, Liu L, Aipire A, et al. Evaluation and mechanism of immune enhancement effects of *Pleurotus ferulae* polysaccharides-gold nanoparticles[J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 227: 1015-1026.

- 5 Liu MH, Liu F, NG T B, et al. Purification and characterization of pleuroferin, a novel protein with *in vitro* anti-non-small cell lung cancer activity from the mushroom *Pleurotus ferulae* Lanzi [J]. Process Biochem, 2022, 122: 16-25.
- 6 Yang Y, Yuan P, Wei X, et al. Cultivated and wild *Pleurotus ferulae* ethanol extracts inhibit hepatocellular carcinoma cell growth via inducing endoplasmic reticulum stress and mitochondria dependent apoptosis [J]. Sci Rep, 2018, 8: 13984.
- 7 Carrasco-González JA, Serna-Saldívar SO, Gutiérrez-Urbe JA. Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies; Potential use as food ingredient [J]. J Food Compos Anal, 2017, 58: 69-81.
- 8 Gao Y, Guo Q, Zhang K, et al. Polysaccharide from *Pleurotus nebrodensis*: physicochemical, structural characterization and *in vitro* fermentation characteristics [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 165: 1960-1969.
- 9 Mingyi Y, Belwal T, Devkota H P, et al. Trends of utilizing mushroom polysaccharides (MPs) as potent nutraceutical components in food and medicine: a comprehensive review [J]. Trends Food Sci Tech, 2019, 92: 94-110.
- 10 Yuan P, Aipire A, Yang Y, et al. Comparison of the structural characteristics and immunostimulatory activities of polysaccharides from wild and cultivated *Pleurotus feruleus* [J]. J Funct Foods, 2020, 72.
- 11 Trisuwan K, Rukachaisirikul V, Borwornwiriyan K, et al. Pyrone derivatives from the soil fungus *Fusarium solani* PSU-RSPG37 [J]. Phytochem Lett, 2013, 6: 495-497.
- 12 Kornsakulkarn J, Dolsophon K, Boonyuen N, et al. Dihydronaphthalenones from endophytic fungus *Fusarium* sp. BCC14842 [J]. Tetrahedron, 2011, 67: 7540-7547.
- 13 Wanbg S, Bao L, Zhao F, et al. Isolation, identification, and bioactivity of monoterpenoids and sesquiterpenoids from the mycelia of edible mushroom *Pleurotus cornucopiae* [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61: 5122-5129.
- 14 Yu BZ, Song CZ, Du ZZ, et al. Naphthaquinones from *Fusarium* sp. 1RGa-1b an endophytic fungus associated with *Trewia nudiflora* (Euphorbiaceae) [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2009, 21: 574-576.
- 15 Nozoe S, Goi M, Morisaki N. Structure of cyclonerodiol [J]. Tetrahedron Letters, 1970, 11: 1293-1296.
- 16 Liu LY, Li ZH, Liu JK. A new menthane-type monoterpene from *Pleurotus eryngii* [J]. Chin J Nat Med, 2013, 11: 71-73.
- 17 Rashid S, Bhat BA, Mehta G. Synthesis of pleurolactone and related mono- and sesquiterpenoids: bioactive constituents of edible mushrooms [J]. Tetrahedron Lett, 2017, 58: 3800-3802.
- 18 Xiao H, Guo YP, Li ZZ, et al. Chemical constituents from aerial parts of *Clematis manshurica* (II) [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2022, 53: 4934-4939.
- 19 Isaka M, Sappan M, Rachatawee P, et al. A tetrahydrobenzofuran derivative from the fermentation broth of *Lentinus squarrosulus* BCC 22366 [J]. Phytochem Lett, 2011, 4: 106-108.