

VI 鉴定为 3'-羟基葛根素。

化合物 VII: 白色粉末, mp 188 °C~190 °C(甲醇), 分子式: C₂₆H₂₈O₁₃。光谱数据与文献报道^[6]的葛根素芹菜糖苷一致。

化合物 VIII: 白色粉末, mp 216 °C~217 °C(氯仿-甲醇), 分子式: C₂₃H₂₄O₁₀。FeCl₃ 反应为阴性。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 255 (0.66), 302 (sh, 0.18), IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 362, 1 626, 1 617, 1 597, 1 513。ESI-MS m/z (%): 461 ([M+1]⁺)。EI-MS m/z (%): 298 (100), 138(27.3), 166(7.8)。¹HNMR(300 Hz, DM-SO-d₆) δ: 3.79 (3H, s, CH₃-), 3.94 (3H, s, CH₃-), 5.11(1H, d, J=7.2 Hz, Glc-H₁), 7.01(21H, d, J=8.6 Hz, H-3', 5'), 7.53(2H, d, J=8.5 Hz, H-2', 6'), 7.81(2H, d, J=9.1 Hz, H-5), 7.37(1H, d, J=9.2 Hz, H-6), 8.45(1H, s, H-2)。H-H NOESY(400 Hz, DMSO-d₆) 显示 4'-OCH₃ 与 H-3', 5'; H-3', 5' 与 H-2', 6'; H-2 与 H-2', 6'; H-6 与 H-5 存在 NOE 关系。故该化合物鉴定为 8-甲基雷杜辛-7-O-葡萄糖苷。

化合物 IX: 白色蜡状物, mp 70 °C~72 °C(氯仿), 具升华性, 分子式: C₂₈H₅₆O₂。IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 600~2 400, 2 918, 2 849, 1 708, 1 473, 1 299, 724。EI-MS m/z (%): 425 ([M+1]⁺, 1.11)。¹HNMR(300 Hz, CDCl₃) δ: 0.88(3H, s, CH₃-), 1.25(40H, s, -CH₂-×24), 1.63(2H, m, -CH₂-), 2.35(2H, t, -CH₂-)。故鉴定为二十八酸。

化合物 X: 白色针晶, mp >300 °C(甲醇), 分子式: C₄H₆N₄O₃。IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 439, 3 345, 3 191, 3 062, 1 781, 1 711, 1 659, 1 603, 1 531, 1 430, 1 326。与对照品尿囊素薄层层析 Rf 值一致。故鉴定为尿囊素。

化合物 XV: 白色粉末, mp 90 °C(氯仿), 仅碘显色。分子式: C₇₈H₁₅₂O₆。IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 2 916, 2 849, 1 739, 1 470, 720。与对照品二十五烷酸甘油酯薄层色谱 Rf 值一致。故鉴定为二十五烷酸甘油酯。

化合物 IX~XII, XVI 的数据略。

参考文献:

- [1] 楼之岑, 秦波. 常用中药材品种和质量研究(北方片)[M]. 第一册. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1995.
- [2] 桑已曙, 闵知大. 峨嵋葛根的化学成分研究[J]. 中国药科大学学报, 2000, 31(6): 408-410.
- [3] Manki K, Ichiro Yokoe, Yoshiaki Shirataki. Studies on the constituents of *Sophora* Species. XIV. Constituents of the root of *Sophora franchetiana* Dunn [J]. Chem Pharm Bull, 1981, 29(2): 532-538.
- [4] 中国科学院上海药物研究所植物化学研究室. 黄酮体化合物鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 1981.
- [5] 方启程. 葛根黄酮的研究[J]. 中华医学杂志, 1974, 54(5): 271-274.
- [6] Junei K, Junichi F, Junko B, et al. Studies on the constituents of *Pueraria lobata*. III. Isoflavonoids and related compounds in the roots and the voluble stems [J]. Chem Pharm Bull, 1987, 35(12): 4846-4850.
- [7] Yukio O, Toru O, Kunio T, et al. Isolation and high performance liquid chromatography (HPLC) of isoflavonoids from the *Pueraria* root [J]. Planta Med, 1988, 54(3): 250-254.

黄硬皮马勃的化学成分

王晨英, 高锦明, 杨雪, 董泽军, 刘吉开*

(中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204)

摘要:目的 黄硬皮马勃 *Scleroderma citrinum* 具有消炎作用, 对其化学成分进行系统研究并阐明其活性成分。

方法 采用硅胶柱层析进行分离, 通过理化常数测定和波谱(IR, MS, ¹H 和 ¹³CNMR) 技术进行结构鉴定。**结果** 分析鉴定了 8 个化合物, 它们分别为: (22E, 24R)-ergosta-5, 7, 22-triene-3β-ol (I), 5α-lanosta-8(9), 23-diene-3β, 25-diol-22-acetate ester (II), 5α, 8α-epidioxy-(22E, 24R)-ergosta-6, 22-diene-3β-ol (III), (2S, 3S, 4R, 2'R)-2-(2'-hydroxytetracosanoylamino) octadecane-1, 3, 4-triol (IV), adenosine (V), N, N-dimethylphenylalanine (VI), N-methylphenylalanine (VII), D-allitol (VIII)。**结论** 化合物 VI 和 VII 均系首次从高等真菌中分离得到。

关键词: 黄硬皮马勃; 非蛋白氨基酸; 高等真菌

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2002)09-0778-03

收稿日期: 2001-09-03

基金项目: 云南省自然科学基金项目(2000B0066M)

作者简介: 王晨英(1972-), 男, 河南人, 在读博士研究生, 主要从事天然有机化学研究。

* 通讯作者

Chemical constituents of Basidiomycetes from *Scleroderma citrinum*

WANG Chen-ying, Gao Jin-ming, YANG Xue, DONG Ze-jun, LIU Ji-kai

(State key Laboratory of Phytochemistry and of Successive Application of Western Plant Resource,

Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: Object To isolate the chemical constituents from fruiting bodies of Basidiomycetes from *Scleroderma citrinum* Pers. **Methods** The constituents were isolated by silica gel column chromatography, and the structures were elucidated by spectrum analysis (IR, MS, ^1H NMR, ^{13}C NMR). **Results** Eight compounds were identified as: (22*E*, 24*R*)-ergosta-5, 7, 22-triene-3 β -ol (I), 5 α -lanosta-8 (X), 23-diene-3 β , 25-diol-22-acetate ester (II), 5 α , 8 α -epidioxy-(22*E*, 24*R*)-ergosta-6, 22-diene-3 β -ol (III), (2*S*, 3*S*, 4*R*, 2'*R*)-2-(2'-hydroxytetracosanoylamino) octadecane-1, 3, 4-triol (IV), adenosine (V), *N,N*-dimethylphenylalanine (VI), *N*-methylphenylalanine (VII), *D*-allitol (VIII), respectively. **Conclusion** Compounds VI and VII are obtained from higher fungi for the first time.

Key words: *Scleroderma citrinum* Pers.; non-protein amino acids; higher fungi

黄硬皮马勃 *Scleroderma citrinum* Per. 属于硬皮马勃科硬皮马勃属真菌, 该菌与栲属等树种形成菌根, 具有促进树木快速生长的作用^[1], 该菌具有微毒, 孢粉有消炎作用^[2]。该属真菌广布于世界各地, 共有 60 余种, 在我国较常见有 11 种, 该属真菌多有止血、消肿、清热和解毒等功效。迄今该属真菌化学成分的研究较少, 文献报道从该属金黄硬皮马勃 *S. aurantium* 和多根硬皮马勃 *S. polyrhizum* 中分离得到了 (23*S*)-lanosta-8, 24-diene-3 β , 23-diol^[3], (22*E*)-ergosta-4, 6, 8(14), 22-tetraen-3-one-5 α , 8 α -epidioxy-(22*E*, 24*R*)-ergosta-6, 22-diene-3 β -ol 以及亚油酸和棕榈酸^[4]。为了进一步深入研究该属真菌药理作用的物质基础, 我们对黄硬皮马勃的化学成分进行了研究, 从中分离得到了 8 个化合物, 它们分别是: (22*E*, 24*R*)-ergosta-5, 7, 22-triene-3 β -ol (I), 5 α -lanosta-8 (9), 23-diene-3 β , 25-diol-22-acetate ester (II), 5 α , 8 α -epidioxy-(22*E*, 24*R*)-ergosta-6, 22-diene-3 β -ol (III), (2*S*, 3*S*, 4*R*, 2'*R*)-2-(2'-hydroxytetracosanoylamino) octadecane-1, 3, 4-triol (IV), adenosine (V), *N,N*-dimethylphenylalanine (VI), *N*-methylphenylalanine (VII), *D*-allitol (VIII)。这些化合物均是首次从黄硬皮马勃中分离得到, 其中化合物 II 曾从 *Pisolithus tinctorius* 中分离到^[5], 但没有报道碳谱数据, 本文补充了该化合物的碳谱数据; 化合物 VI 和 VII 是由苯丙氨酸衍生出来的两个非蛋白氨基酸。化合物 III 具有抗炎^[6]、抑制磷酸酯酶^[7] (IC₅₀: 0.9 $\mu\text{mol/L}$) 和抗结核 (MIC: 1 $\mu\text{g/mL}$)^[8] 等作用。

化合物 VI: 无色针状结晶 (丙酮-水), 碘化铋钾-碘反应呈阳性。FAB-MS 给出分子量相关离子 286

(M+Gly), 194(M+1), 表明相对分子质量为 193。高分辨 EI-MS 显示 193.110 4 (M⁺) (计算值为 193.111 3) 得出分子式为 C₁₁H₁₅NO₂, 不饱和度为 5。 ^1H NMR(D₂O) 中有 5 组峰, 积分比 5:1:1:1:6, 表明有 14 个质子, 分别是 δ : 7.65 (5H, m), 4.13 (1H, dd, J = 6.0, 8.5 Hz), 3.59 (1H, dd, J = 5.5, 14.0 Hz), 3.44 (1H, dd, J = 5.5, 14.0 Hz), 3.21 (6H, s), 此外尚有一个活泼的质子。EI-MS 裂解碎片 (m/z: 91, 77 和 65) 表明含有苯环和苄基。 ^{13}C NMR (DEPT) 谱表明有两个季碳 (羰基碳 δ 169.0 和芳香烯碳 δ 132.4), 5 个芳香烯氢碳 (δ : 2 \times 126.1, 2 \times 125.8, 124.3) 以及一个与氮和羰基相连的叔碳 (δ 69.0), 一个与苯环相连的仲碳 (δ 38.6) 以及与氮相连的两个甲基 (δ 30.8)。因此推断化合物的结构为 *N,N*-dimethylphenylalanine。

化合物 VII: 无色针状结晶 (丙酮-水), 碘化铋钾-碘反应呈阳性。EI-MS 显示相对分子质量相关离子 179; ^1H 和 ^{13}C NMR 与化合物 VI 很相似, 相对分子质量相差 14 (相当于一个 CH₂), 说明该化合物的分子式为 C₁₀H₁₃NO₂, 不饱和度为 5。 ^1H NMR(D₂O) 中有 4 组峰, 积分比 5:1:2:3, 表明有 11 个质子, 分别是 δ : 7.66 (5H, m), 4.13 (1H, t, J = 6.5 Hz), 3.51 (2H, d, J = 6.5 Hz), 2.97 (3H, s), 此外尚有 2 个活泼的质子 (一个为羧基上的活泼氢, 一个为与氮相连的活泼氢)。EI-MS 裂解碎片 (m/z: 91, 77 和 65) 表明含有苯环和苄基。 ^{13}C NMR (DEPT) 谱表明有两个季碳 (羰基碳 δ 169.7 和芳香烯碳 δ 131.7), 5 个芳香烯氢碳 (δ : 2 \times 126.3, 2 \times 125.9, 124.6) 以及一个与氮和羰基相连的叔碳 (δ 61.6), 一个与苯环相连的仲碳 (δ 32.5) 以及与氮相连的一个甲基 (δ 29.0)。因此

推断该化合物的结构为 *N*-methylphenylalanine。化合物 VI 和 VII 的化学结构式见图 1。

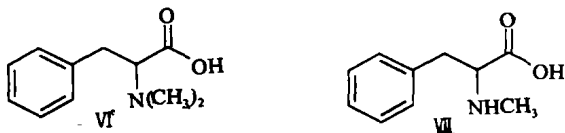


图 1 化合物 VI 和 VII 的化学结构式

1 仪器和材料

XRC-1 型显微熔点仪, 未校正。核磁共振用 Bruker-400 和 Bruker-500 核磁共振仪测定, 红外光谱采用 Bio-Rad FTS 型红外光谱仪测定, 质谱用 VG-Auto Spec-3000 型质谱仪。柱层析硅胶以及硅胶 GF₂₅₄ 均为青岛海洋化工厂产品。实验材料购自云南腾冲市, 由中国科学院昆明植物研究所刘培贵教授和王向华女士鉴定。

2 提取和分离

黄硬皮马勃 1.2 kg 粉碎, 用氯仿-甲醇(1:1) 3 L 冷浸 3 次, 每次 24 h, 合并提取液并减压浓缩得提取物 89 g。将所得到的提取物进行硅胶柱层析(200~300 目), 用氯仿-甲醇(1:0~8:2) 梯度洗脱, 每 500 mL 收集 1 份, 根据 TLC 合并相同的组分共 8 组, 组分 2 重结晶得化合物 I 2 g; 组分 3 重结晶得化合物 II 0.5 g, 母液上硅胶柱用石油醚-乙酸乙酯(7:3) 洗脱得化合物 II 和 III 10 mg; 组分 4 重结晶得化合物 IV 15 mg; 组分 5 重结晶得化合物 V 20 mg; 组分 6 重结晶得化合物 VI 2.35 g, 母液与组分 7 合并用上硅胶柱用氯仿-甲醇(9:1) 洗脱得化合物 VI 和 VII 12 mg; 组分 8 放置得到结晶, 然后在水和丙酮中重结晶得化合物 VIII 12 g。

3 结构鉴定

化合物 I: C₂₈H₄₄O, 无色针状结晶, EIMS, ¹HNMR 和 ¹³CNMR 数据与 (22*E*, 24*R*)-ergosta-5, 7, 22-triene-3β-ol 一致。

化合物 II: C₃₂H₅₂O₄, 白色无定型粉末, ¹HNMR 和 MS 数据与 5α-lanosta-8(9), 23-diene-3β, 25-diol-22-acetate ester 一致^[5]。

化合物 III: C₂₈H₄₄O₃, 无色针状结晶, IR, EIMS, ¹HNMR 和 ¹³CNMR 数据与 5α, 8α-epidioxy-(22*E*, 24*R*)-ergosta-6, 22-diene-3β-ol 一致。

化合物 IV: C₄₂H₈₅NO₅, 白色无定型粉末, mp 140 °C~142 °C, ¹HNMR 和 ¹³CNMR 数据与 (2*S*, 3*S*, 4*R*, 2'*R*)-2-(2'-hydroxytetracosanoylamino) octadecane-1, 3, 4-triol 一致^[9]。

化合物 V: C₁₀H₁₃N₅O₄, 白色无定型粉末, mp

233 °C~235 °C, [α]_D²⁵ - 57.8°(c, 0.6M, H₂O), ¹HNMR 和 ¹³CNMR 数据与 adenosine 一致^[10]。

化合物 VI: C₁₁H₁₅NO₂, 无色针状结晶, ¹HNMR (D₂O) δ: 7.65 (5H, m), 4.13 (1H, dd, J = 6.0, 8.5 Hz), 3.59 (1H, dd, J = 5.5, 14.0 Hz), 3.44 (1H, dd, J = 8.5, 14.0 Hz), 3.2 (6H, s); ¹³CNMR (D₂O) δ: 169.0, 132.4, 126.1, 125.8, 124.3, 69.0, 38.6, 30.8; FAB⁺-MS m/z: 286 (M+Gly), 194 (M+1); HREI-MS m/z: 193.110 371 (M⁺), calc 193.110 279; EI-MS m/z: 193 [M⁺], 148 [M - COOH]⁺, 133 [M - COOH - Me]⁺, 102 ([M - PhCH₂]⁺, 100%), 91 [M - Me₂NCHCOOH]⁺, 77 [Ph]⁺, 65 [C₅H₅]⁺。

化合物 VII: C₁₀H₁₃NO₂, 无色针状结晶, ¹HNMR (D₂O) δ: 7.66 (5H, m), 4.13 (1H, t, J = 6.5 Hz), 3.51 (2H, d, J = 6.5 Hz), 2.97 (3H, s); ¹³CNMR (D₂O) δ: 169.7, 131.7, 126.3, 125.9, 124.6, 61.6, 32.5, 29.0; EI-MS m/z: 179 [M⁺], 134 [M - COOH]⁺, 133 [M - COOH - Me]⁺, 120 [M - COOH - CH₂]⁺, 91 [M - MeNHCHCOOH]⁺, 88 ([M - PhCH₂]⁺, 100%), 77 [M - CH₂NHMeCOOH]⁺, 65 [C₅H₅]⁺。

化合物 VIII: C₆H₁₄O₆, 无色针状结晶, mp 154.5 °C~155.5 °C, MS, ¹HNMR 和 ¹³CNMR 与文献一致^[11]。

参考文献:

- [1] 黄年来. 中国大型真菌图鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [2] 卯晓岚. 中国经济真菌[M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [3] Entwistle N, Pratt A D. 23ξ-hydroxyllanosteroid, a new triterpene fungal metabolite of Basidiomycete *Scleroderma aurantium* [J]. Tetrahedron, 1968, 24: 3949-3953.
- [4] Gonzalez A G, Berrera J B, Marante F J T. The steroids and fatty acids of the basidiomycetes *Scleroderma polyrhizum* [J]. Phytochemistry, 1983, 22: 1049-1050.
- [5] Lorbo A, De Abreu P M, Pranhakar S, et al. Triterpenoids of the Fungus *Pisolithus tinctorius* [J]. Phytochemistry, 1988, 27(11): 3569-3574.
- [6] Yasukawa K, Aoki T, Takido M, et al. Inhibitory effects of ergosterol isolated from the edible mushroom *Hypsizygus marmoratus* on TPA-induced inflammatory ear oedema and tumor promotion in mice [J]. Phytother Res, 1994, 8: 10-13.
- [7] Kim D S, Jeong H J, Bhat K P L, et al. Aromatase and sulfatase inhibitors from *Lepiota americana* [J]. Planta Med, 2000, 66(1): 78-79.
- [8] Cartrell C L, Rajab M S, Franzblau S G, et al. Antimycobacterial ergosterol-5, 8-endoperoxide from *Ajuga remota* [J]. Planta Med, 1999, 65(8): 732-734.
- [9] Gao J M, Dong Z J, Liu J K. A New ceramide from the basidiomycete *Russula cyanoxantha* [J]. Lipids, 2001, 36(2): 175-180.
- [10] 王长增, 贾忠建. Purine nucleosides from *Pedicularis longiflora* [J]. 兰州大学学报(自然科学版), 1996, 32(1): 87-91.
- [11] 高锦明, 董泽军, 刘吉开. 蓝黄红菇的化学成分[J]. 云南植物研究, 2000, 22(11): 85-89.