华丽牛肝菌子实体的化学成分

胡琳¹,刘吉开²,王芳芳¹

(1. 云南民族大学 民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室,云南 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持续利用国家重点实验室,云南 昆明 650204)

摘要: 利用硅胶柱层析、高效液相色谱从丽江产华丽牛肝菌子实体的甲醇提取物中分离得到7个化合物,通过波谱学方法分别鉴定为:麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇(1),麦角甾-4,6,8(14),22-四烯-3-酮(2),麦角甾-5,7,22-三烯醇-3 β -醇(3),麦角甾-7,22-二烯-3 β -醇(4),D-阿洛醇(5),大黄素(6),大黄素甲醚(7)。所有化合物均为首次从华丽牛肝菌中分离得到。

关键词: 华丽牛肝菌;子实体;化学成分

中图分类号: S685.12;R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-8513(2015)02-0094-04

华丽牛肝菌(*Boletus magnificus* W. F. Chiu)属牛肝菌科(Boletaceae)牛肝菌属(*Boletus*)真菌^[1]。该属真菌多数可食用,牛肝菌属真菌的一些种子实体颜色鲜艳,被触摸或伤后伤处变成蓝色,俗称“见手青”。为此,牛肝菌的色素类物质引起了人们浓厚的兴趣,多年的化学成分研究从中分离得到了众多的色素类物质,主要有多异戊烯基取代的酚性化合物^[2-4]、多烯和普尔文酸(pulvinic acids)类物质。牛肝菌伤后变蓝就是由于产生了普尔文酸类化合物 xerocomus 和 variegatic acid 所致^[5]。

华丽牛肝菌在我国主要分布在云南、西藏等地,属树木外生菌根菌^[2],目前尚不能人工栽培。华丽牛肝菌一般可食用,在云南某些地区有中毒现象,出现“小人国幻视症”。该牛肝菌颜色红艳,伤后瞬间变蓝,为了研究其没有氧化的原始化学成分,我们对其新鲜未受损伤的子实体提取物进行研究,从中分离得到7个已知化合物,经波谱解析分别鉴定为:麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇(1),麦角甾-4,6,8(14),22-四烯-3-酮(2),麦角甾-5,7,22-三烯醇-3 β -醇(3),麦角甾-7,22-二烯-3 β -醇(4),D-阿洛醇(5),大黄素(6),大黄素甲醚(7)。所有化合物均为首次从该种真菌中分离得到。

1 仪器与材料

1.1 样品来源

华丽牛肝(*Boletus magnificus* W. F. Chiu)新鲜子实体收集于云南丽江地区老君山,标本由昆明植物研究所分类室王向华女士鉴定,真菌标本收藏于昆明植物研究所隐花植物标本馆(HKAS 39209)。

1.2 仪器与试剂

熔点用四川大学科仪厂生产的XRC-1型显微熔点仪测定,未校正。UV由UV 210 A型分光光度计测定。IR由Bio-Rad FTS-135红外光谱仪测定。NMR由Bruker AM-400和Bruker DRX-500核磁共振仪测定,TMS为内标。MS由VG Auto Spec-3000质谱仪测定。薄层层析硅胶和柱层析硅胶均为青岛海洋化工厂产品。用10% H₂SO₄-乙醇加热显色和用I₂蒸汽显色。安捷伦1100型高效液相色谱仪,色谱柱为安捷伦ZORBAX SC-C18(9.4 mm×250 mm,5 m)反相柱。

1.3 提取与分离

华丽牛肝菌新鲜子实体(2.7 kg)室温下用99%甲醇提取一次,残渣干后续用甲醇(5×2 500 mL)超声加

收稿日期:2014-11-24.

基金项目:云南省技术创新暨产业发展基金(2011XB011).

作者简介:胡琳(1976-),女,博士,副教授,硕士生导师。主要研究方向:民族药用植物的开发利用。

热(50℃)提取,再用CHCl₃:MeOH(体积比1:1,5×2500mL)超声提取3次,将所有提取液减压浓缩合并,加水悬浮,用乙酸乙酯萃取、减压浓缩得膏状物Bm-EA(237g)和水溶液部分Bm-W。Bm-EA用粗硅胶(100目)拌样,硅胶柱(200~300目,10cm×120cm),石油醚-丙酮梯度洗脱分成15个组分。组分1经反复硅胶柱层析得化合物6(15.8mg),7(13.2mg)。组分2[V(石油醚):V(丙酮)=10:1]经氯仿重结晶得化合物3(4.3mg);组分3[V(石油醚):V(丙酮)=9:1]经氯仿重结晶得化合物4;组分6[V(石油醚):V(丙酮)=8:2]经反复硅胶柱层析纯化和甲醇重结晶得2(13.5mg);组分9~14[V(石油醚):V(丙酮)=7:3,丙酮],经制备薄层析[20cm×20cm;V(氯仿):V(甲醇):V(醋酸)=95:5:8.2;R_f=0.45]得化合物1(65.5mg);组分15经HPLC色谱制备得化合物5(56.7mg,15%甲醇洗脱)。

2 结构鉴定

化合物1 白色针晶,m.p. 253~255℃,IR(KBr)($\nu_{\max}$,cm⁻¹):3400(-OH),1650,1020;EI-MS(rel.int.)*m/z*:430([M]⁺,3),412([M-H₂O]⁺,100),394([M-2H₂O]⁺,60),379(67),287(15),269(43),251(50),95,81,69,55;¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ :5.74(1H,s,H-7),5.24(2H,m,H-22,H-23),4.84(1H,m,H-2),4.32(1H,s,H-6),3.01(1H,dd,*J*=12.0,12.0Hz,H-4),1.52(3H,s,H-19),1.07(3H,d,*J*=6.4Hz,H-21),0.91(3H,d,*J*=6.4Hz,H-26,H-27),0.67(3H,s,H-18);¹³C NMR(100MHz,CDCl₃) δ :32.6(C-1),33.8(C-2),67.6(C-3),42.0(C-4),76.1(C-5),74.3(C-6),120.4(C-7),141.6(C-8),43.8(C-9),38.1(C-10),22.4(C-11),40.1(C-12),43.9(C-13),55.2(C-14),23.5(C-15),28.2(C-16),56.5(C-17),12.3(C-18),18.8(C-19),40.4(C-20),19.6(C-21),135.2(C-22),132.5(C-23),42.8(C-24),33.1(C-25),19.9(C-26),21.1(C-27),17.6(C-28)。数据与文献[6]对照基本一致,故鉴定化合物1为麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇。

化合物2 黄色针晶(石油醚/丙酮);m.p. 112.5~114℃;IR(KBr)($\nu_{\max}$,cm⁻¹):1676(C=O),1638,1589(C=C),1270,1225,965cm⁻¹;EI-MS(70eV)*m/z*(rel.int.):392([M]⁺,70),377([M-CH₃]⁺,7),349(10),268(100),253(45),214(48),173(30),109(35),81(52),69(70),55(73);¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ :6.58(1H,d,*J*=9.4Hz,H-7),6.00(1H,*J*=9.4Hz,H-6),5.70(1H,s,H-4),5.24(1H,dd,*J*=15.2,7.2Hz,H-23),5.18(1H,dd,*J*=15.2,7.2Hz,H-22),2.53-1.21(18H,m,steroid nucleus),1.03(3H,d,*J*=6.6Hz,H-21),0.97(3H,s,H-19),0.93(3H,s,H-18),0.90(3H,d,*J*=6.8Hz,H-28),0.82(3H,d,*J*=6.8Hz,H-27),0.81(3H,d,*J*=6.6Hz,H-26);¹³C NMR(100MHz,CDCl₃) δ :199.2(C-3),156.04(C-14),134.9(C-22),133.9(C-7),132.5(C-23),124.4(C-8,6),122.9(C-4),55.7(C-17),44.3(C-9),43.95(C-13),42.8(C-24),39.3(C-20),36.7(C-10),35.6(C-15),34.1(C-1,12),33.1(C-25),25.3(C-11),27.7(C-16),21.2(C-21),19.6(C-26),19.96(C-27),18.95(C-2,18),17.61(C-28),16.62(C-19)。¹³C NMR数据与文献[7]对照一致,鉴定化合物2为麦角甾-4,6,8(14),22-四烯-3-酮。

化合物3 C₂₈H₄₄O;无色针晶(石油醚/氯仿);m.p. 154~156℃;EI-MS(rel.int.)*m/z*:396([M]⁺,100),378([M-H₂O]⁺,7),363(79),337(43),253(38),157(37),143(46),109(29),95(32),81(56),69(84),55(87)。¹H NMR(400MHz,CDCl₃) δ :5.56(1H,m),5.37(1H,m),5.18(2H,m,H-22,23),3.62(1H,m,H-3),1.02(3H,d,*J*=6.8Hz,H-4),0.91(3H,s,H-19),0.90(3H,d,*J*=6.4Hz,H-21),0.78(3H,d,*J*=6.4Hz,H-26,H-27),0.67(3H,s,H-18);¹³C NMR(100MHz,CDCl₃) δ :141.41(C-8),139.9(C-5),135.7(C-22),132.1(C-23),119.7(C-6),116.4(C-8),70.54(C-3),55.8(C-17),54.7(C-14),46.4(C-9),43.0(C-24),42.9(C-13),40.9(C-12),40.5(C-12),39.2(C-1),38.5(C-10),37.1(C-4),33.2(C-25),32.1(C-2),28.4(C-16),23.1(C-15),21.2(C-11,C-12),20.0(C-27),19.7(C-26),17.7(C-28),16.4(C-19),12.3(C-18)。¹³C NMR数据与文献[8]对照一致。故鉴定化合物3为麦角甾-5,7,22-三烯醇-3 β -醇。

化合物4 无色针晶(氯仿/甲醇),m.p. 147~149℃;EI-MS(rel.int.):398([M]⁺,17),380([M-H₂O]⁺,6),363(35),303(8),251(20),152(30),107(24),95(35),81(43),69(65);¹³C NMR(100MHz,

CDCl_3) δ : 139.6(C-8), 135.1(C-22), 131.9(C-23), 117.4(C-7), 71.0(C-3), 55.9(C-17), 55.1(C-14), 49.4(C-9), 43.3(C-13), 42.8(C-24), 40.5(C-20), 40.2(C-5), 39.4(C-12), 38.0(C-4), 34.2(C-10), 33.1(C-25), 31.5(C-6), 30.5(C-1), 29.6(C-2), 28.1(C-16), 22.9(C-15), 21.5(C-11), 21.1(C-21), 19.9(C-28), 19.6(C-27), 17.6(C-26), 13.0(C-19), 12.1(C-18). ^{13}C NMR 数据与文献[9]对照基本一致,故鉴定化合物4为麦角甾-7,22-二烯-3 β -醇。

化合物5 无色针晶; m. p. 154.5 ~ 156 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = 0^\circ$ (c 0.003 60, H_2O) 为内消旋, 已知无光学活性的糖醇只有 D-阿洛醇和 D-半乳糖醇 (galactitol), 其熔点的文献值分别为 150 ~ 151 °C 和 188.5 °C^[10], 而实测值 154.5 ~ 156 °C 与 D-阿洛醇的基本一致; IR (KBr) ($\nu_{\text{max}} \text{cm}^{-1}$): 3 271, 2 959, 2 936, 1 461, 1 377, 1 351, 1 332, 1 304, 1 092, 1 025, 932, 890, 874, 712, 624; ^1H NMR (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 4.36 (q, 4H), 4.54 (m, 7H), 4.86 (d, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 73.45 (d, C-3, C-4), 72.33 (d, C-2, C-5), 65.54 (t, C-1, C-6); EI-MS (70 eV) m/z (rel. int.): 183 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 36.4), 146 (15.2), 133 (70), 115 (25.8), 103 (73), 93 (53), 85 (49.5), 74 (84), 73 (100), 61 (89). 根据上述波谱数据和理化性质, 该化合物的结构被确定为 D-阿洛醇。

化合物6 橙红色针晶(甲醇), m. p. 255 ~ 257 °C; IR (KBr) ($\nu_{\text{max}} \text{cm}^{-1}$): 3 429 (OH), 1 684 (free C=O), 1 632 (chelated C=O), 1 558, 1 541, 1 485; UV λ_{max} EtOH: 221 (4.4), 253 (1.9), 266 (2.1), 290 (2.5); EI-MS m/z : 270 $[\text{M} + \text{H}]^+$; ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 12.07 (1H, s, 8-OH), 12.00 (1H, s, 1-OH), 11.43 (1H, s, 6-OH), 7.47 (1H, s, H-4), 7.15 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-5), 7.10 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-2), 6.58 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-7), 2.48 (3H, s, CH_3); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 189.7 (C-9), 181.4 (C-10), 165.6 (C-8), 164.9 (C-1), 161.4 (C-6), 148.3 (C-3), 135.1 (C-14), 132.8 (C-11), 124.2 (C-7), 120.5 (C-5), 113.4 (C-12), 109.0 (C-13), 108.8 (C-4), 108.0 (C-2), 21.5 (6- CH_3). 数据与文献[11]对照基本一致, 鉴定化合物6为大黄素。

化合物7 黄色针晶(丙酮), m. p. 235 ~ 236 °C, EI-MS m/z : 270 $[\text{M} + \text{H}]^+$; ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.92 (1H, s, 1-OH), 11.85 (1H, s, 8-OH), 7.76 (1H, dd, $J = 2.0/8.0$ Hz, H-5), 7.64 (1H, $J = 8.0/8.0$ Hz, H-6), 7.63 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-4), 7.34 (1H, dd, $J = 2.0/8.0$ Hz, H-7), 7.23 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-2), 4.60 (2H, s, CH_2OH); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 191.6 (C-9), 181.3 (C-10), 161.5 (C-1), 161.3 (C-8), 153.7 (C-3), 137.3 (C-6), 133.2 (10 α), 133.0 (4 α), 124.4 (C-7), 120.6 (C-5), 119.3 (C-2), 117.1 (C-4), 115.8 (9 α), 114.3 (8 α), 62.0 (CH_2OH). 数据与文献[12]对照基本一致, 鉴定化合物7为大黄素甲醚。

3 结语

对采自云南丽江的华丽牛肝菌新鲜子实体进行了化学成分研究, 从中分离得到7个化合物, 其中4个麦角甾类衍生物(化合物1~4), 1个糖醇类化合物(化合物5)和2个蒽醌类色素(化合物6、7)。所有化合物均为首次从华丽牛肝菌新鲜子实体中分离得到, 为了解该菌的化学成分提供参考。

牛肝菌等颜色鲜艳真菌新鲜子实体中的色素类物质类型丰富, 引人兴趣。已有研究表明一些血红色真菌如朱红丝膜菌 (*Dermocybe sanguinea*) 含有大量的酸性蒽醌类色素物质, 而大黄素正是这些色素物质的生源前体^[13]。本文研究结果显示, 华丽牛肝菌未受伤子实体中主要的色素类物质是蒽醌类成分, 这为了解牛肝菌的原生色素提供了参考。

参考文献:

- [1] 卯晓岚. 中国经济真菌[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 330.
- [2] WADA T, HAYASHI Y, SHIBATA H. Asiaticusin A and B, novel prenylated phenolics from *Boletinus asiaticus* and *B. paluster* (Boletaceae) Fungi[J]. Bioscience, biotechnology and biochemistry, 1996, 60(1): 120-121.
- [3] STEFFAN B, STEGLICH W. Pigments from the cap Cuticle of the bay *Boletus* pigments[J]. Angew Chem, 1984, 23(6): 45-447.
- [4] KAHNER L, DASENBROCK J, SPITTELLER M. Polyene pigments from fruiting bodies of *Boletus laetissimus* and *B. rufo-aureus* (Basidiomycetes)[J]. Phytochemistry, 1998, 49(6): 1693-1697.
- [5] REAUMONT P C, EDWARDS R. Constituents of the higher fungi. Part XI. Boviquinone-3, (2,5-dihydroxy-3-farnesyl-1,4-

- benzoquinone), Diboviquinone - 3,4 - methyl - enediboviquinone - 3,3 and xerocomic acid from *Gomphidius rutilans* Fr. And diboviquinone - 4,4 from *Boletus bovinus* (Linn. ex Fr.) Kuntze [J]. J Chem Soc, 1971, C(14): 2582 - 2585.
- [6] VALISOLALAO J, LUU B, OURISSON G. Steroides cytotoxiques de *Polyporus versicolor* [J]. Tetrahedron, 1983, 39(7): 2779 - 2785.
- [7] MISHRA P D, WAHIDULLA S, SOUZA L D, et al. Lipid constituents of marine sponge *Suberites Carnosus* [J]. Indian Journal of Chemistry, 1996, 35B: 806 - 809.
- [9] ISHIDA K, KANAT S Y. Ergosta - 7,22 - dien - 3 β - ol glycoside from *Tylophilus neofellens* [J]. Phytochemistry, 1989, 28(3): 945.
- [10] 高锦明, 董泽军, 刘吉开. 蓝黄红姑的化学成分 [J]. 云南植物研究, 2000, 22(1): 85 - 87.
- [11] 刘兵, 杨静, 王曙. 藏边大黄的化学成分研究 [J]. 华西药理学杂志, 2007, 72(1): 33 - 35.
- [12] 王爱芹, 李军林, 吴祖泽. 华北大黄中非萜类成分的研究 [J]. 中草药, 2003, 34(8): 685 - 687.
- [13] GILL M. Review: The Biosynthesis of Pigments in Basidiomycetes [J]. Australian Journal of Chemistry, 2002, 54(12): 721 - 734.

Chemical constituents in the fruiting bodies of *Boletus magnificus* W. F. Chiu

HU Lin¹, LIU Ji-kai², WANG Fang-fang¹

(1. Key Laboratory of Chemistry in Ethnic Medicinal Resources, State Ethnic Affairs Commission and Ministry of Education, Yunnan Minzu University, Kunming, Yunnan 650500, China; 2. State Key Laboratory of Phytochemistry and plant resources in West China Kunming Institute of Botany, China Academy of Science, Kunming 650204, China)

Abstract: Seven compounds were isolated and purified from the fruiting bodies of *Boletus magnificus* collected from Lijiang Prefecture of Yunnan province, with the help of the silica gel column chromatography (CC) and HPLC methods. The structures of these compounds were elucidated by the spectral analysis as follows: ergosta - 7,22 - dien - 3 β ,5 α ,6 β - triol (1), ergosta - 4,6,8, (14), 22 - tetraen - 3 - one (2), ergosta - 5,7,22 - trien - 3 β - ol (3), ergosta - 7,22 - dien - 3 β - ol (4), D - allitol (5), emodin (6) and physcion (7). All the compounds were isolated from the fruiting bodies of *B. magnificus* for the first time.

Key words: *Boletus magnificus* W. F. Chiu; fruiting bodies; chemical constituents

(责任编辑 王琳)

2014年云南民族大学获得国家自然科学基金资助项目

项目批准号	负责人	项目名称	立项金额/万元
81460535	黄相中	两种植物药中抗慢性支气管炎活性成分及其作用机制研究	55
51462036	郭俊明	燃烧合成制备高倍率锰酸锂正极材料及性能研究	54
31460571	王滢	两栖动物适应高海拔生境的分子基础——基于抗氧化多肽组学的新探索	50
81460553	杨淬	Rictor 促进缺血后新生血管成熟作用机制研究	50
21462051	杨海英	三株拟茎点霉菌次生代谢产物及其抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌活性研究	50
31460137	杨青松	基于生态位模型分析横断山区5种高山栎林建群种响应气候变化的异同	49
21462052	王琳	n - 型共轭聚合物分子结构对其能级带隙调节机制的研究	48
21463028	冯莉莉	氧化铜核壳结构纳米材料的制备及作为锂离子电池负极的电性能研究	48
31460247	陈海云	抗菌肽的控制释放及稳定性研究	48
81460542	李宏利	云南特色中药关键成分的控制释放	45
61461056	高飞	分布式频谱监测无线传感器网络构建与拓扑控制技术研究	45
61461055	李琰	工业级严格实时无线传感网在云南智能电网的关键技术研究	43
11464051	廖清	石墨烯负载纳米 Co 基催化剂的可控制备与催化性能	34
31460297	陈晓舟	融合 m/z 误差识别能力和 RT 路标信息的数据库搜索算法研究	46
61462096	唐铁	超分辨率中的矩阵值算子学习问题	43
11461083	江绍萍	生物医学研究中列联表数据在逆抽样条件下的统计推断	36
11461082	熊良林	马尔科夫跳跃中立型系统的分析与设计	36
71463066	毕岚岚	基于混合方法对云南少数民族贫困人口包容性亲贫增长方式的研究	34