

文章编号: 1001-6880(2009)03-0428-02

# 绿盖粉孢牛肝菌发酵液化学成分研究

汤建国<sup>1,2</sup>,任福才<sup>2</sup>,刘吉开<sup>2</sup><sup>1</sup>红塔烟草(集团)有限责任公司技术中心,玉溪 653100;<sup>2</sup>中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部资源持续利用国家重点实验室,昆明 650204

**摘要:**从绿盖粉孢牛肝菌(*Tylopilus virens*)发酵液中分离得到7个化合物,波谱学分析鉴定为:*D*-葡萄糖(1)、小奥德蘑素(oudemansin 2)、神经酰胺(russulamidine, 3)、ascolipid D(4)、ascolipid C(5)、谷甾醇(6)和*D*-葡萄糖甲酯(7),其中化合物2为首次从该属中分到。

**关键词:**绿盖粉孢牛肝菌;发酵液;小奥德蘑素

中图分类号: R284.1; Q914.83

文献标识码:A

## Chemical Constituents of Broth of *Tylopilus virens*

TANG Jian-guo<sup>1,2</sup>, REN Fu-cai<sup>2</sup>, LIU Ji-kai<sup>2</sup><sup>1</sup>R & D Center of Hongta Tobacco Group Co., Ltd, Yuxi 653100, China;<sup>2</sup>State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China,

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

**Abstract:** Seven compounds, *D*-glu (1), oudemansin (2), russulamidine (3), ascolipid D (4), ascolipid C (5), *sitositol* (6) and *D*-glu methyl ester (7), were isolated from the broth of *Tylopilus virens*. Their structures were elucidated by spectral methods, and the compound 2 was firstly isolated from the genus *Tylopilus*.

**Key words:** *Tylopilus virens*; broth; oudemansin

从绿盖粉孢牛肝菌(*Tylopilus virens*)子实体中发现一个新的麦角甾烷型甾体糖苷-tylopiloside<sup>[1]</sup>和四个由 pulvinic acid衍生的丁烯内酯类色素-tylopilin A~D<sup>[2]</sup>。为了进一步寻找其有效成分,利用常规分离手段从其发酵液中分离鉴定了7个化合物,分别是:*D*-葡萄糖(1)、小奥德蘑素(oudemansin, 2)、神经酰胺(russulamidine, 3)、ascolipid D(4)、ascolipid C(5)、谷甾醇(6)和*D*-葡萄糖甲酯(7),上述化合物中*D*-葡萄糖是主要成分,主要来自菌丝体。小奥德蘑素为首次从该属中发现,早在1979年Anke等德国学者就已从高等真菌小奥德蘑属小奥德蘑(*Oudemansiella mucida*)中分离得到<sup>[3]</sup>,1995年Enders利用Wittig rearrangement关键反应全合成了oudemansin<sup>[4]</sup>。小奥德蘑素能显著抑制大多数需氧腐生植物病原菌,其作用方式为选择性地抑制线粒体的呼吸作用,作用分子靶点为结合线粒体bc1复合物的氢醌氧化中心(Qp)<sup>[5]</sup>。

## 1 仪器与材料

XRC-1型显微熔点仪(四川大学科学仪器厂),温度计未校正;Bruker AM-400核磁共振仪,TMS为内标;VG Auto Spec-3000质谱仪测定;薄层层析硅胶和柱层析硅胶(青岛海洋化工厂);Sephadex LH-20(Merk)。显色方法为254、365 nm荧光、10%硫酸乙醇溶液和硫酸香草醛处理后加热显色、硫酸铜丙酮显色及碘蒸气显色。

绿盖粉孢牛肝菌[*Tylopilus virens* (Chi) Tai]2005年8月采购于云南省南华县,由昆明植物研究所臧穆教授鉴定,标本存于昆明植物研究所隐花植物标本馆。菌种从绿盖粉孢牛肝菌新鲜子实体中分离,放置于培养基中,保存0℃冰箱中,由昆明植物研究所纪大干教授培养发酵。

## 2 发酵培养

绿盖粉孢牛肝菌菌种采用平皿转摇瓶液体培养方法。培养基:葡萄糖40 g,去皮土豆400 g,MgSO<sub>4</sub>3.0 g,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>6 g,VB<sub>1</sub>20 mg,酵母膏4 g,加水混合搅拌至2000 mL。用柠檬酸调pH 6.0~6.5,温度:

收稿日期:2007-12-04

接受日期:2008-05-05

基金项目:国家自然科学基金(30470027)

\*通讯作者 Tel: 86-877-2965142; E-mail: tjl11@163.com

25 ;转速: 170 r/min;暗中培养发酵 30 d,共得发酵液约 20 L。

### 3 提取与分离

发酵液分为培养液和菌丝体两个部分。培养液以乙酸乙酯萃取三遍,合并浓缩得 1.2 g 浸膏。菌丝体用氯仿-甲醇(1:1)提取两次,合并浓缩得 6.0 g 浸膏。经 TLC 检测后,合并两部分浸膏,上硅胶柱分离,以石油醚-丙酮系统梯度洗脱,每 1000 mL 为一个流份。石油醚-丙酮(95:5)洗脱部分经反复柱层析、Sephadex LH-20(甲醇-氯仿 1:1 洗脱)得到化合物 2(25 mg)。石油醚-丙酮(90:10)洗脱部分经柱层析、重结晶得到化合物 3,4 和 5(8 mg)。石油醚-丙酮(80:20)洗脱部分经反复柱层析、Sephadex LH-20(甲醇-氯仿 1:1 洗脱)得到化合物 6(15 mg) 和 7(6 mg)。甲醇洗脱部分放置后析出化合物 1(500 mg)。

### 4 结构鉴定

**化合物 1** D 葡萄糖,无色针晶,  $C_6H_{12}O_6$ , mp. 154~156, FAB<sup>+</sup>-MS  $m/z$ (%): 181(100, [M-H]<sup>+</sup>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 96.7, 76.8, 76.6, 75.1, 70.6, 61.8。以上波谱数据与文献<sup>[6]</sup>相符。

**化合物 2** 无色针晶(石油醚),  $C_{17}H_{22}O_4$ , mp. 42~44, FAB<sup>+</sup>-MS  $m/z$ (%): 470(14, [M]<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : 7.20(5H, m, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.20(1H, s, H-12), 6.46(1H, d,  $J$ =19.8 Hz, H-7), 5.92(1H, dd,  $J$ =8.0 Hz, 16.0 Hz, H-8), 3.96(1H, dd,  $J$ =8.8 Hz, H-9), 3.78(3H, s, H-16), 3.64(3H, s, H-15), 3.31(3H, s, H-17), 2.99(1H, m, H-10), 1.26(3H, d,  $J$ =6.8 Hz, H-14); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) : 168.1(C-13), 159.4(C-12), 136.9(C-6), 132.4(C-7), 129.5(C-2, 4), 128.4(C-3), 127.3(C-8), 126.3(C-1, 5), 112.1(C-11), 84.9(C-9), 61.2(C-15), 56.4(C-17), 50.8(C-16), 35.5(C-10), 15.6(C-14)。以上波谱数据与文献<sup>[3]</sup>相符。

**化合物 3,4,5** 神经酰胺混合物,白色无定型粉末,  $C_{40}H_{81}NO_5$  (ascolipid C),  $C_{41}H_{83}NO_5$  (ascolipid D),  $C_{42}H_{85}NO_5$  (russulamide); Negative FAB-MS  $m/z$ (%): 683 [ $C_{42}H_{85}NO_5$ ]<sup>+</sup>(100), [ $C_{41}H_{83}NO_5$ ]<sup>+</sup>(44), [ $C_{40}H_{81}NO_5$ ]<sup>+</sup>(60); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Pyridine-d<sub>5</sub>) : 8.57(1H, d,  $J$ =8.8 Hz), 5.12~5.10

(1H, m), 4.62(1H, dd,  $J$ =4.0, 7.6 Hz), 4.52(1H, dd,  $J$ =4.5, 10.6 Hz), 4.43(1H, dd,  $J$ =5.2, 10.6 Hz), 4.35(1H, dd,  $J$ =4.0, 6.5 Hz), 4.28(1H, m), 2.25(1H, m), 1.95(2H, m), 1.93(2H, m), 1.92(2H, m), 1.69(2H, m), 1.41~1.24(m), 0.84(3H, t,  $J$ =6.7 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, Pyridine-d<sub>5</sub>) : 175.2, 76.8, 73.0, 72.5, 62.0, 53.0, 35.7, 34.2, 29.6~32.2, 26.7, 25.8, 14.3。以上波谱数据与文献<sup>[7]</sup>相符。

**化合物 6** 白色针晶,  $C_{28}H_{44}O$ , mp. 136~137, EIMS  $m/z$ (%): 414(100, [M]<sup>+</sup>), 与标准品共薄层,  $R_f$  值和斑点颜色均一致。

**化合物 7** 色针晶,  $C_7H_{14}O_6$ , mp. 154~156, FAB<sup>+</sup>-MS  $m/z$ (%): 195(100, [M-H]<sup>+</sup>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 105.3, 78.0, 77.8, 75.0, 71.5, 62.6, 57.3。以上波谱数据与文献<sup>[6]</sup>相符。

### 参考文献

- Wang F(王飞), Zhang L(张凌), Dong ZJ(董泽军), et al. A new steroidal glycoside from the fruiting bodies of *Tylopilus virens* (Boletaceae). *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), 2006, 28: 315~318.
- Wang F(王飞). Study on chemical constituents of ten macrofungi. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences(中国科学院昆明植物研究所), PhD, 2007.
- Anke T, Hecht HJ, Schramm G, et al. Antibiotics from Basidiomycetes Oudemansin, an antifungal antibiotic from *Oudemansiella mucida* (Schrader ex Fr.) Hoehnel(Agaricales). *J Antibiot*, 1979, 32: 1112.
- Enders D, Bartsch M, Backhaus D. Diastereo- and enantioselective synthesis of (-)-Oudemansin A via 2,3-Wittig rearrangement of crotyloxyacetaldehyde-SAEP-hydrazone. *Synlett*, 1995, 869~870.
- Liu JK(刘吉开). Mycochemistry(高等真菌化学), 1<sup>st</sup> Ed. Beijing: China Science & Technology Press, 2004. 18~23.
- Rong GB(荣国斌). Structure Determination of Organic Compounds-Tables of Spectral Data(波谱数据表 有机化合物的结构解析), 1<sup>st</sup> Ed. Shanghai: East China University of Science and Technology Press, 2004. 152~153.
- Qin XD(秦向东). Chemical Constituents of *Daldinia concentrica* and Other Five Higher Fungi. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences(中国科学院昆明植物研究所), PhD, 2006.