

黑柄炭角菌的化学成分

杨小龙^{1*}, 刘吉开², 罗都强³, 张 苏¹¹河北大学药学院, 保定 071002; 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, 昆明 650204; ³河北大学生命科学院药物化学与分子诊断部共建教育部重点实验室, 保定 071002

摘 要:从黑柄炭角菌(*Xylaria nigripe*)子实体中分离得到 10 个化合物, 通过波谱分析等方法分别鉴定为(22*E*, 24*R*)-麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 β -醇(1)、5 α , 8 α -过氧-(22*E*, 24*R*)-麦角甾-6, 22-二烯-3 β -醇(2)、脑苷酯 B(3)、脑苷酯 D(4)、stearic acid(5)、甘油的亚油酸三酯(trilinolein, 6)、 α -kojibiose(7)、D-阿洛糖醇(8)、L-氨基丙酸(9)和尿囊素(10)。所有化合物均为首次从该子实体中分离得到。

关键词:黑柄炭角菌; 麦角甾醇; 脑苷酯; 亚油酸三酯

中图分类号: Q946.91; R284.2

文献标识码: A

Chemical Constituents of *Xylaria nigripe*YANG Xiao-long^{1*}, LIU Ji-kai², LUO Du-qiang³, ZHANG Su¹

¹College of Pharmaceutical Science, Hebei University, Baoding 071002, China; ²State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; ³College of Life Science, Key Laboratory of Medicinal Chemistry and Molecular Diagnosis of Ministry of Education, Hebei University, Baoding 071002, China

Abstract: Ten known compounds have been isolated from the fruiting bodies of *Xylaria nigripe*. Their structures were established as (22*E*, 24*R*)-ergosta-5, 7, 22-trien-3 β -ol (1), 5 α , 8 α -epidioxy-(22*E*, 24*R*)-ergosta-6, 22-dien-3 β -ol (2), 1-*O*- β -D-glucopyranosyl-(2*S*, 3*R*, 4*E*, 8*E*, 2'*R*)-2-N-(2'-hydroxy-palmitoyl)-9-methyl-4, 8-sphingadienine (3), 1-*O*- β -D-glucopyranosyl-(2*S*, 3*R*, 4*E*, 8*E*, 2'*R*)-2-N-(2'-hydroxyocta decanoyl)-9-methyl-4, 8-sphingadienine (4), stearic acid (5), trilinolein (6), α -kojibiose (7), D-allitol (8), L-alanine (9), and allantoin (10) by comprehensive spectroscopic methods. All compounds are reported from this fungus for the first time.

Key words: *Xylaria nigripe*; sterols; cerebroside; trilinolein

黑柄炭角菌(*Xylaria nigripes*)属于子囊菌亚门 Ascomycotina, 炭角菌目 Xylariales, 炭角菌科 Xylariaceae, 炭角菌属 *Xylaria* 的一种真菌, 生长在白蚁的废巢中, 形成的菌核是一种名贵的中药, 称无灵参, 具有补气、镇静安神、造血以及提高机体免疫、治疗前列腺炎功能等功效^[1]。但有关黑柄炭角菌及其发酵液的化学成分研究并不多。陈宛如等^[2]对其基本的氨基酸、腺苷、多糖、维生素等组成成分进行了初步分析; 吴根福^[3]从黑柄炭角菌深层发酵制品中获得了具有 DPPH 自由基捕捉活性成分, 推断其为 5, 8-二羟基-3-甲基-3, 4-二氢异香豆素; 龚庆芳等^[4]从黑柄炭角菌发酵菌丝体中分离得到 9 个化合物, 其中两个为新的天然产物。为了进一步研究和

开发利用黑柄炭角菌, 深入了解主要药效活性成分, 我们对购于云南昆明的黑柄炭角菌子实体进行了系统的化学成分研究, 从子实体中首次分离鉴定了 10 个已知化合物: (22*E*, 24*R*)-麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 β -醇(1)、5 α , 8 α -过氧-(22*E*, 24*R*)-麦角甾-6, 22-二烯-3 β -醇(2)、脑苷酯 B(3)、脑苷酯 D(4)、stearic acid(5)、甘油的亚油酸三酯(trilinolein, 6)、 α -kojibiose(7)、D-阿洛糖醇(8)、L-氨基丙酸(9)和尿囊素(10)。所有化合物均为首次从该种子实体中分离得到。

1 仪器和材料

Bruker AV-400 或 DRX-500 核磁共振仪(TMS 为内标), VG AutoSpec-3000 质谱仪(英国 Manchester 公司), Bruker Tensor 27 FT-IR 红外光谱仪, Horiba SEPA-300 旋光仪(日本 Horiba 公司), XRC-1 熔点仪(四川大学), 200~300 目柱层析硅胶和 G₂₅₄ 硅

收稿日期: 2009-12-16 接受日期: 2010-04-08

基金项目: 河北大学人才引进启动经费支持(179)

* 通讯作者 Tel: 86-015233129908; E-mail: yxl19830915@163.com

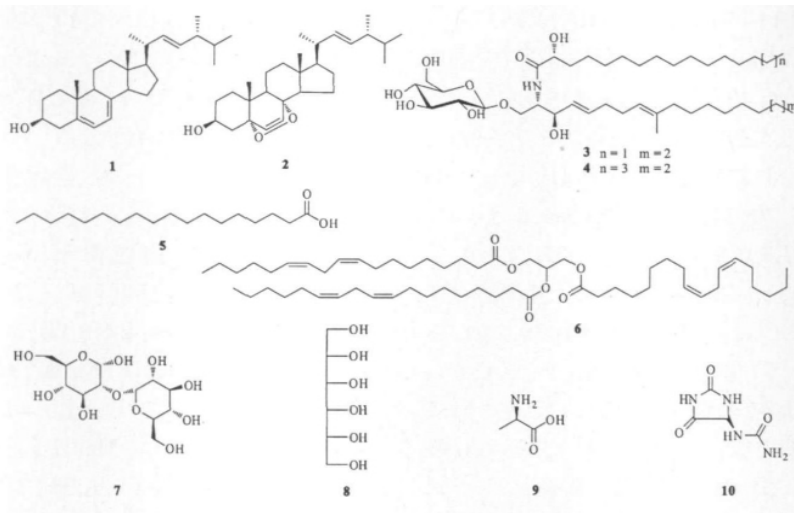


图1 化合物1~10的结构

Fig. 1 The structures of compounds 1-10

胶薄层层析板(青岛海洋化工厂), Sephadex LH-20 (瑞典 Amersham Biosciences 公司)。

黑柄炭角菌子实体 2008 年 10 月购买于云南昆明市场, 经中国科学院昆明植物研究所杨祝良研究员鉴定为黑柄炭角菌 (*Xylaria nigripes*)。样品标本号为 HMAS 52891, 标本存放在中国科学院昆明植物研究所标本馆。

2 提取和分离

黑柄炭角菌子实体(干重 400 g)用 95% 乙醇 (3 × 4 L) 提取, 减压浓缩, 得粗提物 35 g。粗提物经硅胶柱层析氯仿-甲醇 (10:1, 5:1, 2:1, 1:1 和甲醇) 梯度洗脱得五个部分 (A ~ E)。A 部分 (CHCl₃/MeOH 10:1, 6.0 g) 析出白色针晶, 经丙酮多次洗涤, 得化合物 1 (500 mg) 和 2 (20 mg), 母液部分经反复硅胶柱层析和 Sephadex LH-20 (CHCl₃/MeOH 1:1) 得化合物 5 (石油醚/氯仿 25:1, 10 mg)、化合物 6 (石油醚/丙酮 100:1, 90 mg) 和化合物 10 (石油醚/丙酮 1:1, 20 mg)。C 部分 (CHCl₃/MeOH 2:1, 4.0 g) 经反复硅胶柱层析和 Sephadex LH-20 (CHCl₃/MeOH 1:1) 得化合物 7 (Sephadex LH-20, 2000 mg)、8 (CHCl₃/MeOH 2:1, 10 mg) 和 9 (CHCl₃/MeOH 1:1, 150 mg)。D 部分 (CHCl₃/MeOH 1:1, 100 mg) 经硅胶柱层析 (CHCl₃/MeOH 10:1) 和 Sephadex LH-20 (CHCl₃/MeOH 1:1) 得神经酰胺混合物 4 mg, TLC 检测为一个点, 负 FAB 显示分子量 727 和 755, 这说明该点是两个神经酰胺混合物, 即

化合物 3 和 4。

3 结构鉴定

化合物 1 白色针晶(丙酮), C₂₈H₄₄O, mp. 154 ~ 156 °C; EI-MS (70 eV) *m/z* (rel. int.): 396 (*[M]*⁺, 10), 363 (12), 337 (6), 253 (5), 137 (100), 69 (42); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.56 (1H, m, H-6), 5.38 (1H, m, H-7), 5.16 (1H, dd, *J* = 15.3, 7.6 Hz, H-22), 5.22 (1H, dd, *J* = 15.3, 7.1 Hz, H-23), 3.62 (1H, m, H-3), 1.02 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-4), 0.91 (3H, s, H-19), 0.90 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-21), 0.78 (6H, d, *J* = 6.4 Hz, H-26, 27), 0.67 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 38.4 (t, C-1), 32.0 (t, C-2), 70.5 (d, C-3), 40.8 (t, C-4), 139.8 (s, C-5), 119.6 (d, C-6), 116.3 (d, C-7), 141.3 (s, C-8), 46.3 (d, C-9), 37.1 (s, C-10), 21.1 (t, C-11), 39.1 (t, C-12), 42.8 (s, C-13), 54.6 (d, C-14), 23.0 (t, C-15), 28.3 (t, C-16), 55.8 (d, C-17), 12.1 (q, C-18), 16.3 (q, C-19), 40.4 (d, C-20), 21.1 (q, C-21), 135.6 (d, C-22), 132.0 (d, C-23), 40.8 (d, C-24), 33.1 (q, C-25), 20.0 (d, C-26), 19.6 (q, C-27), 17.6 (q, C-28)。以上数据与文献^[9]对照一致, 鉴定化合物 1 为 (22*E*, 24*R*)-麦角甾-5, 7, 22-三烯-3β-醇。

化合物 2 无色针晶, C₂₈H₄₄O₃, mp. 177 ~ 178 °C, [*α*]_D²⁰ + 20° (c 0.10, CHCl₃); EI-MS *m/z* (%): 428 [*[M]*⁺ (13), 410 [*[M]* - H₂O]⁺ (5), 396 [*[M]* - O₂]⁺ (100), 363 (35), 303 (8), 251 (20), 152 (30),

107(24), 95(35), 81(43), 69(65); IR (KBr) $\nu_{\max}$: 3525, 3309, 2955, 1650, 1380, 1074 cm^{-1} ; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 6.49(1H, d, $J = 8.5$ Hz), 6.23(1H, d, $J = 8.5$ Hz), 5.20(1H, dd, $J = 7.6, 7.5$ Hz), 5.12(1H, dd, $J = 7.6, 7.5$ Hz), 3.94(1H, m), 2.08 ~ 1.49(20H, m), 1.20(3H, s), 0.98(3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.88(3H, d, $J = 6.8$ Hz), 0.86(3H, s), 0.82(3H, d, $J = 3.6$ Hz), 0.79(3H, d, $J = 3.4$ Hz); ^{13}C NMR(100 MHz, CDCl_3): 34.1(t, C-1), 30.2(t, C-2), 66.5(d, C-3), 37.0(t, C-4), 82.1(s, C-5), 135.5(d, C-6), 130.8(d, C-7), 79.4(s, C-8), 51.2(d, C-9), 37.0(s, C-10), 23.4(t, C-11), 39.4(t, C-12), 44.6(s, C-13), 51.7(d, C-14), 20.6(t, C-15), 28.6(t, C-16), 56.3(d, C-17), 12.9(q, C-18), 18.2(q, C-19), 39.7(d, C-20), 20.9(q, C-21), 135.2(d, C-22), 132.4(d, C-23), 42.8(d, C-24), 33.1(q, C-25), 19.1(d, C-26), 19.6(q, C-27), 17.6(q, C-28)。以上数据与文献^[8]对照一致, 鉴定化合物2为5 α , 8 α -过氧-(22E, 24R)-麦角甾-6, 22-二烯-3 β -醇。

化合物3 白色粉末, $\text{C}_{41}\text{H}_{77}\text{NO}_9$, FAB-MS (neg.) m/z (%): 726([M-H]⁻, 100), HR-FAB-MS (neg.): 726.5561(计算值 726.5535); ^1H NMR(400 MHz, CD_3OD): 4.69(1H, dd, $J = 10.7, 5.4$ Hz, H-1a), 4.20(1H, m, H-1b), 4.75(1H, m, H-2), 4.72(1H, m, H-3), 5.94(1H, dd, $J = 15.3, 6.8$ Hz, H-4), 5.97(1H, dt, $J = 15.3$ Hz, H-5), 2.14(2H, m, H-6), 2.14(2H, m, H-7), 5.25(1H, m, H-8), 2.00(2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-10), 1.36(2H, m, H-11), 1.25(8H, brs, H-12 ~ H-15), 0.86(3H, t, $J = 6.9$ Hz, H-18), 1.61(3H, s, H-19), 4.57(1H, m, H-2'), 1.74, 2.14(2H, m, H-3'), 1.25(22H, br. s, H-4' ~ H-13'/15'), 0.86(5H, t, $J = 6.9$ Hz, H-16'/18'-CH₃), 4.90(1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 4.03(1H, m, H-2''), 4.20(1H, m, H-3''), 4.19(1H, m, H-4''), 3.89(1H, m, H-5''), 4.48(1H, dd, $J = 11.8, 5.6$ Hz, H-6a''), 4.33(1H, dd, $J = 11.8, 5.0$ Hz, H-6b''), 8.36(1H, d, $J = 8.7$ Hz, -NH-); ^{13}C NMR(100 MHz, CD_3OD): 70.1(t, C-1), 54.7(d, C-2), 72.6(d, C-3), 131.9(d, C-4), 132.3(d, C-5), 33.0(t, C-6), 32.1(t, C-7), 124.2(d, C-8), 135.5(s, C-9), 40.0(t, C-10), 28.4(t, C-11), 29.6 ~ 30.0(t, C-12 ~ C-15), 32.1(t, C-16), 22.9(t, C-17), 14.2(q, C-18), 16.1(q, C-19), 175.6(s, C-1'), 72.4(d, C-2'), 35.7(t, C-3'),

30.0 ~ 29.6(t, C-4' ~ C-13'/15'), 28.2(t, C-14'/16'), 22.9(t, C-15'/17'), 14.2(q, C-16'/18'-CH₃), 105.5(d, C-1''), 75.1(d, C-2''), 78.4(d, C-3''), 71.6(d, C-4''), 78.4(d, C-5''), 62.8(t, C-6'')。以上数据与文献值^[7,8]一致, 鉴定化合物3为脑苷酯B (cerebroside B)。

化合物4 白色粉末, $\text{C}_{43}\text{H}_{81}\text{NO}_9$, FAB-MS (neg.) m/z (%): 754([M-H]⁻, 100); ^1H NMR(400 MHz, CD_3OD): 4.69(1H, dd, $J = 10.7, 5.4$ Hz, H-1a), 4.20(1H, m, H-1b), 4.73(1H, m, H-2), 4.68(1H, m, H-3), 5.93(1H, dd, $J = 15.4, 5.8$ Hz, H-4), 5.97(1H, dt, $J = 15.4$ Hz, H-5), 2.15(4H, m, H-6, 7), 5.23(1H, m, H-8), 1.98(2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-10), 1.35(2H, m, H-11), 1.25(8H, brs, H-12 ~ H-15), 0.84(3H, t, $J = 6.4$ Hz, H-18), 1.59(3H, s, H-19), 4.55(1H, dd, $J = 7.4, 3.7$ Hz, H-2'), 1.75, 2.15(2H, m, H-3'), 1.25(22H, br. s, H-4' ~ H-13'/15'), 0.84(5H, t, $J = 6.4$ Hz, H-16'/18'-CH₃), 4.87(1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''), 4.00(1H, m, H-2''), 4.20(1H, m, H-3''), 4.18(1H, m, H-4''), 3.87(1H, m, H-5''), 4.47(1H, dd, $J = 11.9, 2.0$ Hz, H-6a''), 4.32(1H, dd, $J = 11.9, 5.3$ Hz, H-6b''), 8.33(1H, d, $J = 8.7$ Hz, -NH-); ^{13}C NMR(100 MHz, CD_3OD): 69.8(t, C-1), 54.5(d, C-2), 72.4(d, C-3), 131.6(d, C-4), 132.2(d, C-5), 32.9(t, C-6), 31.9(t, C-7), 124.0(d, C-8), 135.6(s, C-9), 39.8(t, C-10), 28.2(t, C-11), 29.8 ~ 29.4(t, C-12 ~ C-15), 31.9(t, C-16), 22.7(t, C-17), 14.1(q, C-18), 15.9(q, C-19), 175.5(s, C-1'), 72.2(d, C-2'), 35.5(t, C-3'), 29.8 ~ 29.4(t, C-4' ~ C-13'/15'), 28.0(t, C-14'/16'), 22.7(t, C-15'/17'), 14.1(q, C-16'/18'-CH₃), 105.3(d, C-1''), 74.9(d, C-2''), 78.2(d, C-3''), 71.5(d, C-4''), 78.2(d, C-5''), 62.6(t, C-6'')。以上数据与文献值^[7,8]对照一致, 鉴定化合物4为脑苷酯D (cerebroside D)。

化合物5 白色晶体, $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$; EI-MS m/z (%): 284(100, [M]⁺), 241(45), 185(90), 171(40), 143(25), 129(95)。与标准品对照将化合物5鉴定为 stearic acid。

化合物6 无色油状物, $\text{C}_{57}\text{H}_{98}\text{O}_6$; FAB-MS (pos.) m/z (%): 879([M+H]⁺), ^1H NMR(500 MHz, CDCl_3): 5.28 ~ 5.40(12H, m), 5.26(1H, m), 4.28(2H, dd, $J = 11.9, 6.0$ Hz), 2.75(6H, t, $J = 6.6$ Hz), 2.29

(2H, t, $J = 7.5$ Hz), 2.28 (4H, t, $J = 7.5$ Hz), 2.00 ~ 2.07 (12H, m), 1.60 (6H, m), 1.22 ~ 1.38 (overlap), 0.87 (9H, t, $J = 6.7$ Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): 173.1 (s), 172.7 (s), 130.1 (d), 129.9 (d), 128.0 (d), 127.8 (s), 68.8 (d), 62.0 (t), 34.1 (t), 33.9 (t), 31.4 (t), 29.0 ~ 29.6 (t), 27.1 (t), 25.5 (t), 24.8 (t), 24.7 (t), 22.5 (t), 14.0 (q)。以上数据与文献值^[9]对照一致, 鉴定化合物6为 trilinolein。

化合物7 白色粉末, $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$; FAB-MS (neg.): 341 $[\text{M} - \text{H}]^-$; ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): 93.7 (d, C-1), 77.8 (d, C-2), 73.5 (d, C-3), 71.0 (d, C-4), 72.8 (d, C-5), 62.5 (t, C-6), 97.9 (d, C-1'), 72.7 (d, C-2'), 74.6 (d, C-3'), 71.4 (d, C-4'), 73.5 (d, C-5'), 62.6 (t, C-6')。以上数据与文献^[10]对照一致, 鉴定化合物7为 α -kojibiose。

化合物8 无色针晶, $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$, mp. 154.4 ~ 156 °C; EI-MS m/z (%): 183 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (45), 146 (12), 133 (70), 115 (22), 103 (80), 93 (55), 74 (80), 73 (100); ^1H NMR (400 MHz, D_2O): 3.72 (2H, dd, $J = 2.6, 11.6$ Hz), 3.63 (4H, m), 3.52 (2H, dd, $J = 6.0, 11.6$ Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): 72.1 (d, 2 × C), 70.5 (d, 2 × C), 64.5 (t, 2 × C)。以上数据与文献^[11]对照一致, 鉴定化合物8为 D-阿洛糖醇 (D-al-litol)。

化合物9 白色晶体, $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$, mp. 295 ~ 296 °C; ^1H NMR (400 MHz, D_2O): 4.49 (1H, q, H-2), 1.86 (3H, d, H-3); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O): 176.8 (s, C-1), 51.6 (d, C-2), 17.3 (q, C-3)。与标准品对照将化合物9鉴定为 L-氨基丙酸 (L-alanine)。

化合物10 白色微晶, $\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_3$, mp. 226 ~ 227 °C; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 10.54 (1H, s), 8.06 (1H, s), 6.88 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 5.79 (2H, s), 5.23 (1H, d, $J = 8.1$ Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): 156.7 (s, C-2), 62.3 (d, C-4), 173.4 (s, C-5), 157.4 (s, C-6)。以上数据与文献^[12]对照一致, 鉴定化合物10为尿囊素 (allantoin)。

致谢: 本文中所有波谱数据由中国科学院昆明

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仪器组测定。本文得到河北大学人才引进启动经费支持(项目编号: 179)。

参考文献

- Xu JT (徐锦堂). 中国药用真菌学. 北京: 北京医科大学, 中国医科大学联合出版社, 1997. 664.
- Chen WR (陈宛如), Fang HF (方鸿峰), Ma ZZ (马志章). 真菌中药无灵参化学成分的初步研究. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1990, 25: 647-649.
- Wu GF (吴根福). 黑柄炭角菌产生的 DPPH 自由基捕捉成分. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), 2001, 41: 363-366.
- Gong QF (龚庆芳), Zhang YM (张玉梅), Tan NH (谭宁华), et al. 黑柄炭角菌发酵菌丝体的化学成分研究. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2008, 33: 1269-1271.
- Mishra PD, Wahidulla S, Souza LD, et al. Lipid constituents of marine *Sponge suberitus*. *Ind J Chem*, 1996, 35B: 806-809.
- Ma WG, Li CX, Wang DZ, et al. Ergosterol peroxides from *Cryptoporus volvatus*. *Acta Bot Yunnan*, 1994, 16: 196-200.
- Kawai G, Ikeda Y. Structure of biologically active and inactive cerebrosides prepared from *Schizophyllum commune*. *J Lipid Res*, 1985, 26: 338-343.
- Gao JM, Hu L, Dong ZJ, et al. New glycosphingolipid containing an unusual sphingoid base from the basidiomycete *Polyporus ellisii*. *Lipids*, 2001, 36: 571-574.
- Wang F (王飞). Study on chemical constituents from ten species of higher fungi. Kunming: Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, PhD. 2007. 94.
- Usui T, Yamaoka N, Matsuda K, et al. ^{13}C Nuclear magnetic resonance spectra of glucobioses, glucotrioses, and glucans. *J Chem Soc Perkins I*, 1973, 19: 2425-2432.
- Gao JM (高锦明), Dong ZJ (董泽军), Liu JK (刘吉开). Constituents of the basidiomycetes *Russula cyanoxantha*. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 2000, 22: 85-89.
- Wang HL (王洪伦), Li YL (李玉林), Wang XY (王小艳), et al. Chemical constituents of *Nitaira tangutorum* seed from Qaidam basin. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2007, 19: 614-616.