

tOH);  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 4.67(1H, m, H-4), 3.91(1H, dd,  $J$ =3.0, 12.6 Hz, H-5a), 3.68(1H, dd,  $J$ =4.5, 12.6 Hz, H-5b), 2.48~2.67(2H, m, H-2), 2.12~2.34(2H, m, H-3);  $^{13}\text{C-NMR}$  (acetone-d<sub>6</sub>, 75 MHz)  $\delta$ : 178.2(C-1), 28.5(C-2), 22.9(C-3), 81.0(C-4), 63.7(C-5)。以上数据与文献报道一致<sup>[6]</sup>,因此确定其结构为5R-5-羟甲基-2(3H)-呋喃酮。

**化合物** :无色油状物,  $[\alpha]_{D}^{20} + 27$  (c 0.35, E-tOH);  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7.60(1H, m, H-2), 6.19(1H, dd, m, H-3), 5.20(1H, m, H-4), 4.05(1H, m, H-5a), 3.81(1H, m, H-5b);  $^{13}\text{C-NMR}$  (acetone-d<sub>6</sub>, 75 MHz)  $\delta$ : 173.8(C-1), 122.3(C-2), 154.4(C-3), 84.4(C-4), 61.6(C-5)。以上数据与文献报道一致<sup>[7]</sup>,因此鉴定其结构为5R-5-羟甲基-2(5H)-呋喃酮。

致谢:MS、NMR由北京大学医学部分析测试中心乔梁、李军代测。

## References:

- [1] Song Z H, Zhao Y Y, Duan J L, et al. The advances of the research on the chemical constituents and pharmacological activity of Clematis [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1995, 7(2): 66-71.
- [2] Li S Z, Yang L H, Qi Z B. Study on the chemical constituents of the leaves and stems of *Clematis manshurica* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27(1): 56-57.
- [3] Liu J, Xie T, Wei X L, et al. Chemical studies on *Rabdosia rubescens* [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 2004, 2(5): 276-279.
- [4] Kazuo I, Takeshi K, Ushio S. The screening of Chinese crude drugs for  $\text{Ca}^{2+}$  antagonist activity: Identification of active principles from the aerial part of *Pogostemon cablin* and the fruits of *Prunus mume* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, 37(2): 345-348.
- [5] Zheng X K, Li Q, Feng W S. Studies on the water-soluble chemical constituents of *Rabdosia rubescens* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2004, 16(4): 300-302.
- [6] Margus L, Anne P, Tonis K, et al. Asymmetric baeyer-villiger oxidation of cyclobutanones [J]. *Tetrahedron Lett*, 1996, 37(42): 7583-7586.
- [7] Fabil F, Manfred P S. A novel synthesis of 2-deoxy-L-ribose [J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2000, 11: 1869-1876.

## 点柄乳牛肝菌子实体中抗HIV-1活性成分

董泽军<sup>1</sup>, 王飞<sup>1</sup>, 王睿睿<sup>2</sup>, 杨柳萌<sup>2</sup>, 郑永唐<sup>2</sup>, 刘吉开<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204; 2. 中国科学院昆明动物研究所, 云南 昆明 650223)

**摘要:** 目的 研究点柄乳牛肝菌的化学成分, 并对分离鉴定的化合物进行抗HIV-1的活性研究。方法 将野外采集的点柄乳牛肝菌子实体用溶剂提取, 采用硅胶柱色谱进行分离, 通过波谱技术(NMR, MS, IR等)对结构进行鉴定。结果 分离鉴定了9个化合物, 分别为: 酒渣碱( )、 $5\alpha, 8\alpha$ -过氧麦角甾-6, 22二烯- $3\beta$ -醇( )、麦角甾-5, 7, 22-三烯- $3\beta$ -醇( )、麦角甾-5, 7, 22-三烯- $3\beta$ -O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷( )、尿嘧啶( )、硫代乙酸酐( )、硬脂酸( )、 $3\beta$ -吡啶甲酸( )和D-阿洛糖醇( )。结论 化合物 为首次从高等真菌中分离。经生物活性测试, 该化合物具有抗HIV-1活性, 对C8166细胞的毒性较小,  $\text{CC}_{50}$ 为87.86  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 对HIV-1诱导C8166细胞形成合胞体抑制的 $\text{EC}_{50}$ 为7.27  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 治疗指数(TI值)为12.09。

**关键词:** 点柄乳牛肝菌; 酒渣碱; 抗HIV-1活性

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2007)03-0337-03

## Chemical constituents of fruiting bodies from basidiomycete *Suillus granulatus* and their anti-HIV-1 activity

DONG Ze-jun<sup>1</sup>, WANG Fei<sup>1</sup>, WANG Rui-rui<sup>2</sup>, YANG Liu-meng<sup>2</sup>, ZHENG Yong-tang<sup>2</sup>, LIU Ji-kai<sup>1</sup>

(1. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; 2. Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

**Key words:** *Suillus granulatus*; flazine; anti-HIV-1

收稿日期: 2006-06-11

基金项目: 国家科技攻关计划(992004BA719A14); 云南省科技攻关计划(2004NG12)

作者简介: 董泽军(1974-), 男, 助理研究员, 贵州省瓮安县人, 1998年毕业于贵阳医学院药学系, 主要从事高等真菌化学及生物活性研究。Tel: (0871) 5212285, E-mail: zdong@mail.kib.ac.cn

\* 通讯作者 刘吉开 Tel: (0871) 5216327 Fax: (0871) 5150227 E-mail: jk\_liu@mail.kib.ac.cn

点柄乳牛肝菌 *Suillus granulatus* (Fr.) Kuntze 又称点柄粘盖牛肝菌, 属于牛肝菌目乳牛肝菌科真菌。该菌群生或丛生于夏秋季针阔叶林中, 常与松、杉等树木形成外生菌根, 广泛分布于云南、河北、贵州、吉林、黑龙江、台湾、西藏等省区。点柄乳牛肝菌对小白兔肉瘤 S<sub>180</sub> 和艾氏癌的抑制率分别为 80% 和 70%。还有驱风解毒、消肿之功效<sup>[1]</sup>。该菌子实体的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 提取物对革兰阳性菌和革兰阴性菌有显著的抑制活性, 对肿瘤细胞也有一定的抑制活性<sup>[2,3]</sup>。为了弄清该真菌的生物活性成分, 对其子实体进行了化学成分研究, 从中分离鉴定了 9 个化合物, 分别是: 酒渣碱( )、5 $\alpha$ 、8 $\alpha$ -过氧麦角甾-6, 22-二烯-3 $\beta$ -醇( )、麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 $\beta$ -醇( )、麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 $\beta$ -O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷( )、尿嘧啶( )、硫代乙酸酐( )、硬脂酸( )、3-吡啶甲酸( )和 D-阿洛糖醇( )。其中化合物 为首次从高等真菌中分离得到, 经生物活性测试, 该化合物具有抗 HIV-1 活性, 对 C8166 细胞的毒性较小, CC<sub>50</sub> 为 87.86  $\mu$ g/mL, 抑制 HIV-1 诱导 C8166 细胞形成合胞体的 EC<sub>50</sub> 为 7.27  $\mu$ g/mL, 治疗指数(TI 值)为 12.09。曾有文献报道, 化合物 对鼠的乳腺肿瘤组织有很好的抑制活性<sup>[5]</sup>, 但该化合物的抗 HIV-1 活性未见报道。

## 1 仪器与材料

熔点用四川大学科学仪器厂的 XRC-1 型显微熔点仪测定。核磁共振用 Bruker AV-400 核磁共振仪测定, 红外光谱采用 Tensor 27 红外光谱仪测定, 质谱用 VG Autospec-3000 型质谱仪测定。柱色谱用硅胶以及硅胶 GF<sub>254</sub> 均为青岛海洋化工厂产品。真菌样品采自于云南梦雄, 由中国科学院昆明植物研究所刘培贵研究员和王向华博士鉴定。

## 2 提取和分离

新鲜子实体用 95% 工业乙醇室温浸提 3 次, 提取液合并浓缩后用 CHCl<sub>3</sub> 萃取 3 次, 残渣再用 CHCl<sub>3</sub>-MeOH(1:1) 提取 3 次, 合并 CHCl<sub>3</sub> 和 CHCl<sub>3</sub>-MeOH(1:1) 提取液, 减压浓缩得浸膏 4.8 kg。称取 1.7 kg 经硅胶柱色谱分离, CHCl<sub>3</sub>-MeOH 梯度洗脱,(9:1) 洗脱部分静置后有黄色粉末析出, 经氯仿-甲醇反复重结晶得化合物 1, (8:2) 部分经反复硅胶柱色谱分离得到化合物 2~4, (7:3) 洗脱部分经反复硅胶柱色谱分离得化合物 5~7。

## 3 结构鉴定

化合物 1: 强荧光黄色粉末, 碘化铋钾反应呈阳性, 熔点 230~235 $^{\circ}$ C。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 8.83

(1H, s, H-4), 8.41(1H, d,  $J$ =7.9 Hz, H-5), 7.34(1H, dd,  $J$ =7.9, 7.2 Hz, H-6), 7.64(1H, dd,  $J$ =8.2, 7.2 Hz, H-7), 7.81(1H, d,  $J$ =8.2 Hz, H-8), 11.59(1H, s, NH-9), 7.42(1H, d,  $J$ =3.2 Hz, H-3), 6.62(1H, d,  $J$ =3.2 Hz, H-4), 4.68(2H, s, H-6)。<sup>13</sup>C-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ : 131.9(s, C-1), 132.5(s, C-4a), 137.0(s, C-3), 115.7(d, C-4), 129.8(s, C-4a), 120.9(s, C-5a), 122.0(d, C-5), 120.5(d, C-6), 128.9(s, C-7), 112.8(d, C-8), 141.4(s, C-8a), 166.4(s, C-10), 151.2(s, C-2), 111.1(d, C-3), 109.2(d, C-4), 157.3(s, C-5), 56.0(t, C-6)。正离子 FAB-MS: 309[M+1]<sup>+</sup>。上述波谱数据与文献值<sup>[4,5]</sup>吻合, 故该化合物被鉴定为酒渣碱 (flazine)。

化合物 2: 无色针晶(石油醚-丙酮)。<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 3.94(1H, m, H-3), 6.22(1H, d,  $J$ =8.5 Hz, H-6), 6.48(1H, d,  $J$ =8.5 Hz, H-7), 0.86(3H, s, H-18), 1.06(3H, s, H-19), 0.97(3H, d,  $J$ =6.8 Hz, H-21), 5.11(1H, dd,  $J$ =15.3, 8.0 Hz, H-22), 5.19(1H, dd,  $J$ =15.3, 7.5 Hz, H-23), 0.82(3H, d,  $J$ =6.8 Hz, H-26), 0.83(3H, d,  $J$ =6.8 Hz, H-27), 0.89(3H, d,  $J$ =6.8 Hz, H-28)。<sup>13</sup>C-NMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 34.7(t, C-1), 30.1(t, C-2), 66.5(d, C-3), 37.0(t, C-4), 82.1(s, C-5), 135.4(d, C-6), 130.7(d, C-7), 79.4(s, C-8), 51.1(d, C-9), 37.0(s, C-10), 23.4(t, C-11), 39.3(t, C-12), 44.6(s, C-13), 51.7(d, C-14), 20.6(t, C-15), 28.6(t, C-16), 56.2(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), 13.4(d, C-23), 42.8(d, C-24), 33.1(d, C-25), 19.6(q, C-26), 19.9(q, C-27), 17.5(q, C-28)。EI-MS  $m/z$ : 428[M]<sup>+</sup>(9), 410[M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>(17), 396[M-O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>(55), 363(21), 271(10), 251(30), 152(42), 107(35), 69(100)。上述波谱数据与文献<sup>[6]</sup>数据相吻合, 故该化合物被鉴定为 5 $\alpha$ 、8 $\alpha$ -过氧麦角甾-6, 22-二烯-3 $\beta$ -醇。

化合物 3: 无色针晶(石油醚-丙酮)。<sup>1</sup>H-NMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta$ : 3.94(1H, m, H-3), 5.68(1H, br d,  $J$ =5.3 Hz, H-6), 5.48(1H, br d,  $J$ =5.3 Hz, H-7), 0.67(3H, s, H-18), 1.03(3H, s, H-19), 1.07(3H, d,  $J$ =6.5 Hz, H-21), 5.20(1H, dd,  $J$ =15.3, 8.0 Hz, H-22), 5.27(1H, dd,  $J$ =15.3, 7.5 Hz, H-23), 0.86(3H, d,  $J$ =6.6 Hz, H-26), 0.87(3H, d,  $J$ =6.6 Hz, H-27), 0.96(3H, d,  $J$ =6.8 Hz, H-28)。<sup>13</sup>C-NMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta$ : 39.0(t, C-1), 33.0(t, C-2), 69.9(d, C-

3), 42.0(t, C-4), 140.9(s, C-5), 119.7(d, C-6), 117.2(d, C-7), 141.3(s, C-8), 46.7(d, C-9), 37.5(s, C-10), 21.4(t, C-11), 39.4(t, C-12), 43.1(s, C-13), 54.9(d, C-14), 23.4(t, C-15), 28.8(t, C-16), 55.9(d, C-17), 12.2(q, C-18), 16.6(q, C-19), 40.8(d, C-20), 21.4(q, C-21), 136.2(d, C-22), 132.2(d, C-23), 43.1(d, C-24), 33.4(d, C-25), 19.9(q, C-26), 20.2(q, C-27), 17.9(q, C-28)。EI-MS  $m/z$ : 396[M]<sup>+</sup>(25), 378[M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>(3), 363(19), 337(17), 271(33), 253(20), 157(25), 143(27), 105(34), 69(100)。上述波谱数据与文献<sup>[7]</sup>数据相吻合,故该化合物被鉴定为麦角甾-5,7,22-三烯- $\beta$ -醇。

化合物:无色针晶(石油醚-丙酮)。<sup>1</sup>H-NMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta$ : 3.96(1H, m, H-3), 5.61(1H, br d,  $J$ =5.3 Hz, H-6), 5.42(1H, br d,  $J$ =5.3 Hz, H-7), 0.62(3H, s, H-18), 0.90(3H, s, H-19), 1.05(3H, d,  $J$ =6.5 Hz, H-21), 5.20(1H, dd,  $J$ =15.9, 7.6 Hz, H-22), 5.26(1H, dd,  $J$ =15.9, 7.2 Hz, H-23), 0.85(3H, d,  $J$ =6.6 Hz, H-26), 0.86(3H, d,  $J$ =6.6 Hz, H-27), 0.95(3H, d,  $J$ =6.8 Hz, H-28), 5.03(1H, d,  $J$ =17.7 Hz, H-1), 4.00-4.30(4H, m, H-2, 3, 4, 5), 4.58(1H, dd,  $J$ =12.0, 1.8 Hz, H-6a), 4.40(1H, d,  $J$ =12.0, 4.5 Hz, H-6b)。<sup>13</sup>C-NMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)  $\delta$ : 38.6(t, C-1), 30.6(t, C-2), 76.9(d, C-3), 38.0(t, C-4), 140.2(s, C-5), 120.1(d, C-6), 117.0(d, C-7), 141.0(s, C-8), 46.4(d, C-9), 37.5(s, C-10), 21.3(t, C-11), 39.3(t, C-12), 43.0(s, C-13), 54.8(d, C-14), 23.4(t, C-15), 28.7(t, C-16), 55.9(d, C-17), 12.2(q, C-18), 16.4(q, C-19), 40.8(d, C-20), 21.4(q, C-21), 136.1(d, C-22), 132.2(d, C-23), 43.1(d, C-24), 33.4(d, C-25), 19.9(q, C-26), 20.2(q, C-27), 17.9(q, C-28), 102.6(d, C-1), 75.4(d, C-2), 78.6(d, C-3), 71.7(d, C-4), 78.5(d, C-5), 62.9(t, C-6)。EI-MS  $m/z$ : 396[M-Glc]<sup>+</sup>, 378, 363, 337, 253。上述波谱数据与文献值<sup>[7]</sup>相吻合,故该化合物被鉴定为麦角甾-5,7,22-三

### 烯-3 $\beta$ -O- $\beta$ D-吡喃葡萄糖苷。

化合物:白色粉末(CHCl<sub>3</sub>-MeOH)。<sup>1</sup>H-NMR和<sup>13</sup>C-NMR波谱数据与文献值<sup>[8]</sup>一致,故该化合物被鉴定为尿嘧啶。

### 化合物:无色晶体(CHCl<sub>3</sub>-MeOH)。

<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR和FAB-MS波谱数据与文献值<sup>[8]</sup>相符,故该化合物被鉴定为硫代乙酸酐。

化合物:无色晶体(石油醚-丙酮)。NMR与MS数据与文献<sup>[8]</sup>报道一致,故该化合物被鉴定为硬脂酸。

化合物:无色晶体(CHCl<sub>3</sub>-MeOH)。<sup>1</sup>H-NMR和<sup>13</sup>C-NMR波谱数据与文献值<sup>[9]</sup>一致,故该化合物被鉴定为3-吡啶甲酸。

化合物:无色针晶(CHCl<sub>3</sub>-MeOH),<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR和EI-MS数据与文献值<sup>[8]</sup>完全一致,故该化合物被鉴定为D-阿洛糖醇。

### References:

- [1] Yun M S, Sun P Q. *Sichuan Mushroom* [M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press, 1995.
- [2] Tringali C, Geraci C, Nicolosi G, et al. An antitumor principle from *Suillus granulatus* [J]. *J Nat Prod*, 1989, 52: 844-845.
- [3] Tringali C, Piattelli M, Geraci C, et al. Antimicrobial tetraprenylphenols from *Suillus granulatus* [J]. *J Nat Prod*, 1989, 52: 941-947.
- [4] Nakatsuka S I, Feng B N, Goto T, et al. Structures of flazin and YS, highly fluorescent compounds isolated from Japanese soy Sauce [J]. *Tetrahedron Lett*, 1986, 27: 3399-3402.
- [5] Su B N, Chang L C, Park E J, et al. Bioactive constituents of the seeds of *Brucea javanica* [J]. *Planta Med*, 2002, 68: 730-733.
- [6] Gao J M, Hu L, Liu J K. A novel sterol from Chinese truffles *Tuber indicum* [J]. *Steroids*, 2001, 66: 771-775.
- [7] Takaishi Y, Uda M, Ohashi T, et al. Glycosides of ergosterol derivatives from *Hericium erinaceus* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30: 4117-4120.
- [8] Gao J M, Shen J, Yang X, et al. The chemical constituents of *Russula ochroleuca* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 2001, 23(3): 385-393.
- [9] Domisse R, Freyne E, Esman E, et al. <sup>13</sup>C-NMR shift increments for 3-substituted pyridines [J]. *Heterocycles*, 1981, 16: 1893-1897.

### 《中草药》投稿特别注意事项

1. 实验性论文需要单位介绍信(注明:论文内容真实,作者排名无争议,无一稿两投,无泄密)。
2. 创新性论文优先发表,新化合物免收版面费。
3. 图题、表题、图注、表注需中英文双语表示。
4. 文后参考文献译成英文。
5. 本刊不收审稿费,但刊用稿件要收取版面费。
6. 投稿时请留下联系方式(电话和E-mail)。