维普资讯 http://www.cqvip.com

第33卷第11期
2008年6月

中国中药杂志
China Journal of Chinese Materia Medica

Vol. 33, Issue 11
June, 2008

黑柄炭角菌发酵菌丝体的化学成分研究

龚庆芳[1]，张玉梅[2]，谭宁华[2*]，陈作红[1*]

(1. 湖南师范大学 生命科学学院，湖南 长沙 410081；
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] **目的**:研究黑柄炭角菌发酵菌丝体的化学成分。**方法**:采用硅胶、凝胶和大孔树脂等柱色谱进行分离纯化,通过NMR,MS等技术进行结构鉴定。**结果**:分离并鉴定了9个化合物,分别为:5-羟基-7-甲氧基-2-甲基-4-二氢色原酮(**1**),5,7-二羟基-2-甲基-4-二氢色原酮(**2**),5-羟基-2-甲基-4-二氢色原酮(**3**),1-(2,6-二羟基苯)-3-羟基-丁酮(**4**),5α,8α-过氧化麦角甾-6,22-二烯-3β-醇(**5**),麦角甾-7,22-二烯-3β-5α,6β-三醇(**6**),大戟醇(**7**),β-谷甾醇(**8**),2-(4-羟基苯)-乙醇(**9**)。**结论**:以上化合物均为首次从该菌中分离得到,化合物**1**,**2**为首次从天然产物中分离得到。

[关键词] 黑柄炭角菌;菌丝体;化学成分

[中图分类号] R 284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5302(2008)11-1269-04

黑柄炭角菌 *Xylaria nigripes*(KI.) Sacc. 属子囊菌亚门 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,称为乌灵参,具有补气、镇静安神、造血以及提高机体免疫功能等功效[1]。但有关黑柄炭角菌以及其发酵菌丝体的化学成分研究不多。陈宛如等对其基本的氨基酸、腺苷、多糖、维生素等组成成分进行了初步分析[2];吴根福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[3]。为了进一步研究和开发利用黑柄炭角菌,作者对黑柄炭角菌发酵菌丝体的化学成分进行了研究,从其醋酸乙酯部分分离得到了9个化合物,均为首次从该菌分离得到,其中化合物**1**,**2**为首次从天然产物中分离得到,结构式见图1。

1 材料

VG Auto Spec - 3000 型质谱仪,Bruker AM - 400 和 DRX - 500 核磁共振波谱仪(TMS 为内标);工业级乙醇经重蒸后使用;柱色谱硅胶(200 ~ 300 目)和硅胶 H 及薄层色谱硅胶 GF254 均为青岛海洋化工厂生产;Sephadex LH - 20 为 Pharmacia 公司产品。黑柄炭角菌菌丝体的发酵培养条件参照朱志雄等[4]的方法,共得发酵液 60 L,过滤分成发酵液和菌丝体两部分。

2 提取与分离

发酵液浓缩为1 L上大孔树脂D101柱,水洗脱除去氨基酸、糖等水溶性物质,甲醇洗脱液浓缩得浸膏(5 g)。干燥粉碎后的黑柄炭角菌菌丝体(110 g),用氯仿-甲醇(1∶1)和甲醇分别提取3次,合并提取液,真空浓缩得浸膏(20 g),与发酵液甲醇浸膏合并,加水混悬,用醋酸乙酯萃取。醋酸乙酯萃取部分(15 g)采用干柱硅胶色谱分离(硅胶1 200 g,200 ~ 300目),石油醚-丙酮(6∶1)洗脱,得A-E组分。B组分经硅胶柱色谱,石油醚-丙酮(15∶1)洗脱,得化合物**1**,**3**;C组分经硅胶柱色谱,石油醚-丙酮(5∶1)洗脱,再经凝胶柱色谱分离得到化合物**2**,**4**,**5**;D组分经硅胶柱色谱,石油醚-醋酸乙酯(4∶1)洗脱,得到化合物**6**,**7**;E组分经凝胶柱色谱,氯仿-甲醇(2∶1)洗脱,得到化合物**8**,**9**。

3 结构鉴定

化合物**1** 无色粉末。positive FAB-MS *m/z* 209 $[M+1]^+$;^{1}H-NMR($CDCl_3$,400 MHz)δ:4.54(1H,m,H-2),1.49(3H,d,J=6.2 Hz,CH_3-2),2.65(2H,m,H-3),3.81(3H,s,7-OCH_3),6.03(1H,s,H-6),5.98(1H,s,H-8);^{13}C- NMR($CDCl_3$,100 MHz)δ:74.0(d,C-2),20.8(q,CH_3-2),43.3(t,C-3),196.3(s,C-4),103.0(s,C-4a),164.1(s,C-5),55.6(q,7-OCH_3),94.8(d,C-6),167.8(s,C-7),93.9(d,C-8),

[收稿日期] 2007-07-16

[通讯作者] *谭宁华,Tel:(0871)5223800,Fax:(0871)5223800,E-mail:nhtan@mail.kib.ac.cn;*陈作红,Tel:(0731)8872557,Fax:(0731)8883310,E-mail:chenzh@hunnu.edu.cn

维普资讯 http://www.cqvip.com

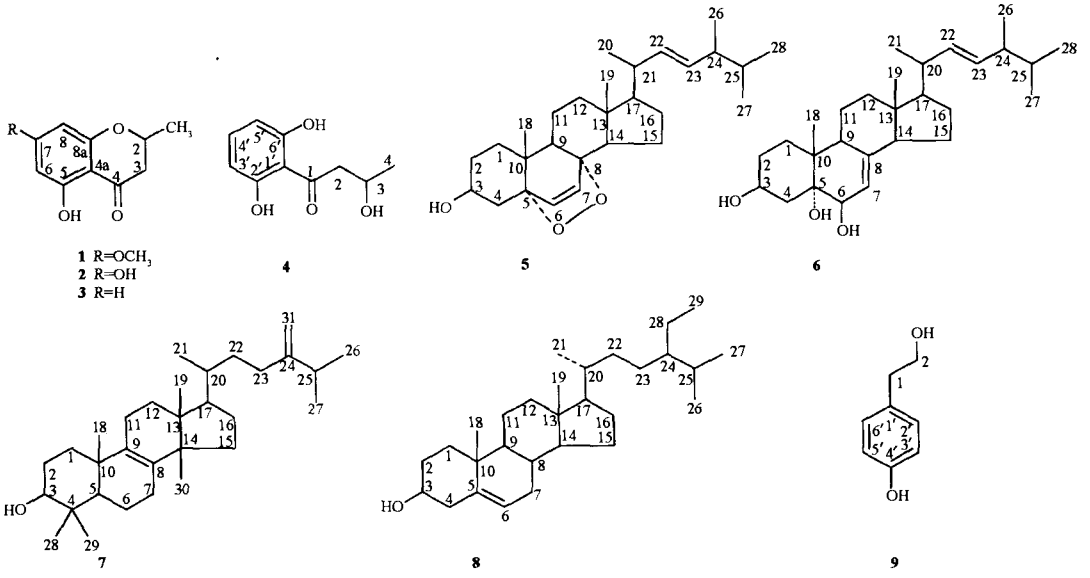

图1 化合物1~9的结构式

163.0(s,C-8a)。以上数据和文献[5]报道一致,故鉴定为5-羟基-7-甲氧基-2-甲基-4-二氢色原酮(5-hydroxy-7-methoxy-2-methyl-4-chromanone)。

化合物2 淡黄色针晶(石油醚-丙酮)。ESI-MS *m/z* 194[M]$^+$;^{1}H-NMR($CDCl_3$,500 MHz)δ:4.47(1H,m,H-2),1.42(3H,d,*J*=6.3 Hz,CH_3-2),2.59(2H,m,H-3),5.82(1H,s,H-6,8);^{13}C-NMR($CDCl_3$,125 MHz)δ:75.3(d,C-2),22.0(q,CH_3-2),44.0(t,C-3),197.9(s,C-4),103.2(s,C-4a),165.4(s,C-5),96.8(d,C-6),168.2(s,C-7),96.0(d,C-8),164.9(s,C-8a)。以上波谱数据与文献[5]报道一致,故鉴定为5,7-二羟基-2-甲基-4-二氢色原酮(5,7-dihydroxy-2-methyl-4-chromanone)。

化合物3 淡黄色针晶(石油醚-丙酮)。positive FAB-MS *m/z* 179[M+1]$^+$;^{1}H-NMR($CDCl_3$,400 MHz)δ:4.54(1H,m,H-2),1.49(3H,d,*J*=6.3 Hz,CH_3-2),2.68(2H,m,H-3),6.39(1H,d,*J*=8.2 Hz,H-6),6.46(1H,d,*J*=8.2 Hz,H-8),7.32(1H,t,*J*=8.3 Hz,H-7);^{13}C-NMR($CDCl_3$,100 MHz)δ:73.7(d,C-2),20.7(q,CH_3-2),43.7(t,C-3),198.4(s,C-4),107.9(s,C-4a),161.9(s,C-5),109.0(d,C-6),138.0(d,C-7),107.2(d,C-8),161.6(s,C-8a)。以上波谱数据和文献[6]一致,故鉴定该化合物为5-羟基-2-甲基-4-二氢色原酮(5-hydroxy-2-methyl-4-chromanone)。

化合物4 无色针晶(石油醚-丙酮)。ESI-MS *m/z* 196[M]$^+$;^{1}H-NMR(CD_3OD,400 MHz)δ:1.24(3H,d,*J*=6.3 Hz,H-4),3.28(2H,m,H-2),4.36(1H,m,H-3),6.34(1H,d,*J*=8.3 Hz,H-3′,5′),7.20(1H,t,*J*=8.3 Hz,H-4′);^{13}C-NMR(CD_3OD,100 MHz)δ:163.5(s,C-2′,6′),111.2(s,C-1′),108.4(d,C-3′,5′),137.2(d,C-4′),207.4(s,C-1),54.8(t,C-2),65.3(d,C-3),23.6(q,C-4)。以上波谱数据经与文献[7]对照,鉴定该化合物为1-(2,6-二羟基苯)-3-羟基-丁酮[1-(2,6-dihydroxyphenyl)-3-hydroxybutanone]。

化合物5 无色针晶(石油醚-丙酮)。EI-MS *m/z* 428[M]$^+$,410[M-H_2O]$^+$,396[M-O_2]$^+$;^{1}H-NMR($CDCl_3$,400 MHz)δ:0.81(3H,d,*J*=5.0 Hz,H-27),0.82(3H,d,*J*=5.0 Hz,H-26),0.88(3H,s,H-18),0.90(3H,d,*J*=5.3 Hz,H-28),0.99(3H,d,*J*=6.6 Hz,H-21),1.09(3H,s,H-19),3.98(1H,m,H-3),5.15(1H,dd,*J*=15.1,7.5 Hz,H-22),5.23(1H,dd,*J*=15.2,8.2 Hz,H-23),6.25(1H,d,*J*=8.5 Hz,H-6),6.52(1H,d,*J*=8.5 Hz,H-7);^{13}C-NMR($CDCl_3$,100 MHz)δ:34.6(t,C-1),30.0(t,C-2),66.3(d,C-3),36.8(t,C-4),82.1(s,C-5),135.4(d,C-6),130.7(d,C-7),79.4(s,C-8),51.6(d,C-9),36.8(s,C-10),23.3(t,C-11),39.3(t,C-12),44.5(s,C-13),51.0(d,C-14),20.6(t,C-15),28.6(t,C-16),56.1(d,C-17),12.8(q,C-18),18.1(q,C-19),39.7(d,C-20),20.8(q,C-21),135.1(d,

维普资讯 http://www.cqvip.com

C-22),132.2(d,C-23),42.7(d,C-24),33.0(d,C-25),19.9(q,C-26),19.6(q,C-27),17.5(q,C-28)。上述数据与文献[8]报道一致,故鉴定该化合物为5α,8α-过氧化麦角甾-6,22-二烯-3β-醇(5α,8α-epidioxyergosta-6,22-dien-3β-ol)。

化合物6 无色针晶(石油醚-丙酮)。EI-MS m/z 412[M-H_2O]$^+$,394[M-2H_2O]$^+$,379[M-2H_2O-Me]$^+$;^{1}H-NMR(C_5D_5N,500 MHz)δ:0.66(3H,s,H-18),0.85(3H,d,J=3.9 Hz,H-27),0.86(3H,d,J=3.8 Hz,H-26),0.95(3H,d,J=6.8 Hz,H-28),1.06(3H,d,J=6.6 Hz,H-21),1.53(3H,s,H-19),4.33(1H,d,J=4.3,H-6),4.85(1H,m,H-3),5.21(1H,dd,J=18.0,8.3 Hz,H-22),5.21(1H,dd,J=18.0,8.3 Hz,H-23),5.75(1H,t,J=2.5 Hz,H-7);^{13}C-NMR(C_5D_5N,125 MHz)δ:32.6(t,C-1),33.8(t,C-2),67.6(d,C-3),42.0(t,C-4),76.1(s,C-5),74.3(d,C-6),120.5(d,C-7),141.6(s,C-8),43.8(d,C-9),38.1(s,C-10),22.4(t,C-11),39.9(t,C-12),43.8(s,C-13),55.3(d,C-14),23.5(t,C-15),28.5(t,C-16),56.2(d,C-17),12.5(q,C-18),18.8(q,C-19),40.8(d,C-20),20.1(q,C-21),136.2(d,C-22),132.1(d,C-23),43.1(d,C-24),33.3(d,C-25),21.4(q,C-26),19.8(q,C-27),17.8(q,C-28)。上述数据与文献[9]报道一致,故鉴定该化合物为麦角甾-7,22-二烯-3β-5α,6α-三醇[(22E,24R)-ergosta-7,22-dien-3β,5α,6β-triol]。

化合物7 白色针晶(氯仿-甲醇)。EI-MS m/z 440[M]$^+$;^{1}H-NMR($CDCl_3$,400 MHz)δ:4.71(1H,s,Ha-31),4.66(1H,s,Hb-31),3.49(1H,s,OH-3),3.23(1H,dd,J=11.5,4.3 Hz,H-3),0.98(3H,s,H-19),0.92(3H,d,J=6.3 Hz,H-21),0.88(3H,s,H-30),0.81(3H,s,H-29),0.69(3H,s,H-18);^{13}C-NMR($CDCl_3$,100 MHz)δ:35.6(t,C-1),27.8(t,C-2),79.6(d,C-3),38.9(s,C-4),50.4(d,C-5),18.3(t,C-6),28.2(t,C-7),134.4(s,C-8,C-9),37.0(s,C-10),21.0(t,C-11),30.8(t,C-12),44.5(s,C-13),49.8(s,C-14),31.0(t,C-15),26.5(t,C-16),50.4(d,C-17),15.7(q,C-18),19.1(q,C-19),36.5(d,C-20),18.7(q,C-21),35.0(t,C-22),31.3(t,C-23),156.9(s,C-24),33.8(d,C-25),22.0(q,C-26),21.9(q,C-27),28.0(q,C-28),15.4(q,C-29),24.3(q,C-30),105.9(t,C-31)。上述波谱数据与文献[10]报道一致,故鉴定为大戟醇(euphorbol)。

化合物8 无色针晶(甲醇)。经TLC与已知标准品对照,确定该化合物为β-谷甾醇(β-sitosterol)。

化合物9 白色针晶(甲醇)。^{1}H和^{13}C-NMR波谱数据和文献[11]一致,故该化合物鉴定为2-(4-羟基苯)-乙醇[2-(4-hydroxyphenyl)-ethanol]。

[参考文献]

[1] 徐锦堂.中国药用真菌学[M].北京:北京医科大学 中国协和医科大学联合出版社,1997:664.

[2] 陈宛如,方鸿峰,马志章.真菌中药乌灵参化学成分的初步研究[J].中国药学杂志,1990,25(11):647.

[3] 吴根福.黑柄炭角菌产生的DPPH自由基捕捉成分[J].微生物学报,2001,41(3):363.

[4] 朱志雄,张泽文,张 平,等.黑柄炭角菌的菌种分离及其培养特性[J].中国食用菌,2005,24(5):15.

[5] Viswanathan N, Patankar S J. Synthesis of cromanone analogues of kigelin[J]. Indian J Chem, 1987,26(B):564.

[6] Gray L E, Gardner H W, Weisleder D, et al. Production and toxicity of 2, 3-dihydro-5-hydryoxy-2-methyl-4H-1-benzopyran-4-one by *Phialophora gregata* [J]. Phytochemistry, 1999, 50: 1337.

[7] Dai J Q, Krohn K, Florke U, et al. Metabolites from the endophytic fungus *Nodulisporium sp.* from *Juniperus cedre*[J]. Eur J Org Chem, 2006,15:3498.

[8] Ma W G, Li X C, Wang D Z. Ergosterol peroxides from *Cryptoporus volvatus*[J]. Acta Bot Yunn, 1994,16(2):196.

[9] Gao J M, Hu L, Liu J K. A novel sterol from Chinese truffles *Tuber indicum*[J]. Steroids, 2001,66(10):771.

[10] Akihisa T, Kithsiriet W E M, Tokuda H, et al. Eupha-7, 9(11), 24-trien-3β-ol("Antiquol C") and other triterpenes from *Euphorbia antiquorum* latex and their inhibitory effects on epstein-barr virus activation[J]. J Nat Prod, 2002,65(2):158.

[11] Lou H X, Yuan H Q, Yamazaki Y, et al. Alkaloids and flavonoids from peannut skins[J]. Planta Med, 2001,67:345.

维普资讯 http://www.cqvip.com

Chemical constitutents in fermental mycelium of *Xylaria nigripes*

GONG Qing-fang[1], ZHANG Yu-mei[2], TAN Ning-hua[2], CHEN Zuo-hong[1]
(1. *College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha* 410081, *China*;
2. *State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming* 650204, *China*)

[**Abstract**] Nine known compounds, 5-hydroxy-7-methoxy-2-methyl-4-chromanone (**1**), 5, 7-dihydroxy-2-methyl-4-chromanone (**2**), 5-hydroxyl-2-methyl-4-chromanone (**3**), 1-(2, 6-dihydroxyphenyl)-3-hydroxybutanone(**4**), 5α, 8α-epidioxyergosta-6, 22-dien-3β-ol (**5**), (22E,24R)-ergost-7, 22-dien-3β, 5α, 6α-triol (**6**), euphorbol (**7**), β-sitosterol (**8**) and 2-(4-hydroxyphenyl)-ethanol (**9**) were isolated and identified in *Xylaria nigripes* for the first time, and their structures were mainly determined by MS and NMR methods. Compounds **1** and **2** were isolated as the natural product for the first time.

[**Key words**] *Xylaria nigripes*; mycelium; chemical constitutents

[责任编辑 王亚君]

怀山药化学成分研究

白 冰, 李明静, 王 勇, 刘绣华*
(河南大学 化学化工学院 河南省天然药物与免疫工程重点实验室, 河南 开封 475001)

[**摘要**] **目的:**研究怀山药 *Dioscorea opposite* 的化学成分。**方法:**采用硅胶柱色谱分离纯化,薄层色谱及波谱进行化合物结构鉴定。**结果:**从乙醇提取物中分离并鉴定了12个化合物,分别为棕榈酸(**1**),β-谷甾醇(**2**),油酸(**3**),β-谷甾醇醋酸酯(**4**),5-羟甲基-糠醛(**5**),壬二酸(**6**),β-胡萝卜苷(**7**),环(苯丙氨酸-酪氨酸)(**8**),环(酪氨酸-酪氨酸)(**9**),柠檬酸单甲酯(**10**),柠檬酸双甲酯(**11**),柠檬酸三甲酯(**12**)。**结论:**化合物**3**~**12**为首次从山药中分离得到,其中化合物**8**,**9**为首次从薯蓣科植物中分离得到的环二肽类型化合物,化合物**9**为新天然产物。

[**关键词**] 山药;化学成分;环二肽
[**中图分类号**] R 284.1 [**文献标识码**] A [**文章编号**] 1001-5302(2008)11-1272-03

山药为薯蓣科薯蓣属植物薯蓣 *Dioscorea opposita* Thunb 的块茎,河南焦作地区的武陟、温县为道地产区,习称怀山药。其性平、味甘,能健脾止泻、补肺益肾。国内外学者对山药化学成分的研究主要集中在山药多糖上[1,2],其药理作用也较为明确,但对山药次生代谢产物的报道较少[3-5]。本研究对怀山药85%乙醇提取物化学成分进行分离,从中得到12个化合物,分别鉴定为棕榈酸(**1**),β-谷甾醇(**2**),油酸(**3**),β-谷甾醇醋酸酯(**4**),5-羟甲基-糠醛(**5**),壬二酸(**6**),β-胡萝卜苷(**7**),环(苯丙氨酸-酪氨酸)(**8**),环(酪氨酸-酪氨酸)(**9**),柠檬酸单甲酯(**10**),柠檬酸双甲酯(**11**),柠檬酸三甲酯(**12**)。化合物**3**~**12**为首次从山药中分离得到,其中化合物**8**,**9**为首次从薯蓣科植物中分离得到的环二肽类型化合物,化合物**9**为新的天然产物。

1 材料

XTS显微熔点测定仪(温度计未校正);ESQUIRE-LC(Bruker)质谱仪;用 Finnigan TraceDSQ

[**收稿日期**] 2007-08-26
[**基金项目**] 国家科技支撑计划(2006BAI06A20-08);河南省高校杰出科研人才基金(2004KYCX 018);河南省杰出青年科学基金(0612001100)
[**通讯作者**] *刘绣华, Tel:(0378)3881586, E-mail: liuxiuhua@henu.edu.cn