

## 亚稀褶黑菇的化学成分

龚庆芳<sup>1</sup>, 张玉梅<sup>2</sup>, 谭宁华<sup>2</sup>, 陈作红<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>湖南师范大学生命科学学院, 长沙 410081;

<sup>2</sup>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

**摘要:** 从剧毒蘑菇—亚稀褶黑菇(*Russula subnigricans* Hongo)子实体中分离出5个已知化合物,经波谱分析鉴定为4个麦角甾醇(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-diene-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -tetraol (1)、(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -trihydroxy-6-one (2)、(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (3)、(22*E*,24*R*)-5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxyergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol (4)和神经酰胺(2*S*,3*S*,4*R*,2'*R*)-2-(2'-hydroxytetracosanoylamino) octadecane-1,3,4-triol (5)。

**关键词:** 亚稀褶黑菇;化学成分;麦角甾醇;神经酰胺

中图分类号: Q946.91;R284.1

文献标识码: A

## Chemical Constituents of Basidiomycetes *Russula subnigricans*

GONG Qing-fang<sup>1</sup>, ZHANG Yu-mei<sup>2</sup>, TAN Ning-hua<sup>2</sup>, CHEN Zuo-hong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>The Life Science College, Hunan Normal University, Changsha 410081, 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:** Five known compounds were isolated from the lethal mushroom, *Russula subnigricans* Hongo. They were identified as (22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-diene-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -tetraol (1), (22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -trihydroxy-6-one (2), (22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (3), (22*E*,24*R*)-5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxyergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol (4), and (2*S*,3*S*,4*R*,2'*R*)-2-(2'-hydroxytetracosanoylamino) octadecane-1,3,4-triol (5).

**Key words:** *Russula subnigricans*; chemical constituents; ergosterols; ceramides

亚稀褶黑菇(*Russula subnigricans* Hongo)属担子菌亚门红菇科红菇属,为东南亚特有种。亚稀褶黑菇已成为我国剧毒蘑菇的一个主要种类之一<sup>[1]</sup>。由于红菇属中可以食用的蘑菇与有毒蘑菇在形态上极为相似,很难区分,常常造成混淆,因此在我国一些山区经常发生因误食该类蘑菇而导致中毒事件,近年来在我国南方地区尤其是湖南省频频发生因误食毒蘑菇而导致中毒死亡事件。1994-2004年我们调查的65起蘑菇中毒事件中,有13起是由亚稀褶黑菇所引起,中毒人数65人,死亡40人,死亡率61.54%<sup>[2]</sup>。由亚稀褶黑菇引起的中毒事件在日本也曾发生,日本的Shigeo Nozoe等人对亚稀褶黑菇进行过研究,从中分离得到了红菇素A-F和russuphelol。这些物质都具有细胞毒活性,它们是一类含

氯的联苯醚类物质<sup>[3-5]</sup>。从亚稀褶黑菇的中毒后的症状来分析,可能是由多种不同的化学成分引起的中毒,因此我们对其化学成分进行了深入研究。经反复硅胶、反相C-18、凝胶层析及重结晶等方法,通过核磁共振、质谱等分析手段共从亚稀褶黑菇中分离鉴定了5个化合物:4个麦角甾醇和1个神经酰胺。其中(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-diene-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -tetraol (1)和(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -trihydroxy-6-one (2)在肝细胞毒实验中具有细胞毒活性,其LD<sub>50</sub>分别为63和8  $\mu$ g/mL<sup>[6]</sup>。

## 1 仪器和材料

DRX-500和Bruker AM-400型核磁共振谱仪, TMS为内标。VG AutoSpec-3000质谱仪。薄层层析硅胶板和柱层析硅胶均为青岛海洋化工厂产品。Sephadex LH-20为Pharmacia公司产品, Rp-18为日本YMC公司产品。

收稿日期:2006-01-24 接受日期:2006-03-20

基金项目:国家自然科学基金项目(30471208);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基金项目

\*通讯作者 E-mail: chenzh@hunnu.edu.cn

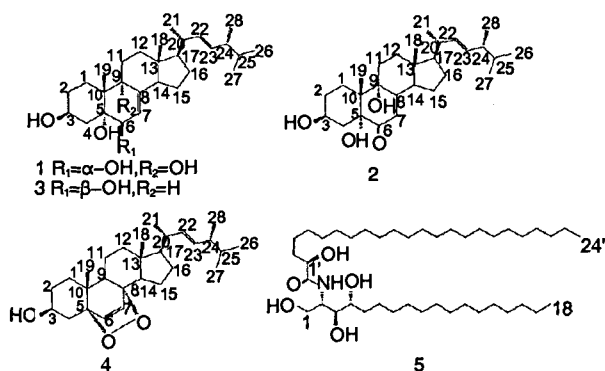


图1 亚稀褶黑菇中分离得到的化合物1-5

Fig. 1 Compounds 1-5 isolated from *Russula subnigricans*

## 2 提取和分离

亚稀褶黑菇新鲜子实体(采于湖南省湘阴县六唐乡)经冷冻干燥并粉碎,得粗粉450 g。将其依次用 $\text{CHCl}_3$ 、 $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ (1:1)、 $\text{MeOH}$ 在室温条件下各冷浸提取3次。将所有提取液合并减压浓缩,得总提取物32.4 g,加水悬浮,以乙酸乙酯萃取。乙酸乙酯萃取物21.8 g经硅胶柱以石油醚、石油醚-氯仿、氯仿、氯仿-甲醇梯度洗脱。每200 mL为一馏份,共收集200份。TLC薄层检测后合并相同部分,得A-F共6个分段部分。B部分经硅胶柱以氯仿-甲醇(98:2)洗脱,经重结晶得到化合物4(20.8 mg);C部分经硅胶柱以石油醚-丙酮(4:1)洗脱,再用 $\text{MeOH}-\text{H}_2\text{O}$ 系统(92:8)经Rp-18反相柱层析分离得到化合物1(9.2 mg)和化合物3(5.6 mg);E部分经硅胶柱以氯仿-甲醇(8:2)洗脱得到化合物5(7.4 mg);其余部分经凝胶LH-20得化合物2(3.5 mg)。

## 3 结构鉴定

化合物1  $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_4$ ,无色针晶(甲醇),EI-MS  $m/z$ : 428  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 410  $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}]^+$ , 382  $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$ 。 $^{13}\text{C}$  NMR(DEPT)谱给出了28个碳的信号,分别为6个甲基、7个亚甲基、10个次甲基和5个季碳。其中四个碳信号在 $\delta_{\text{C}}$  78.6, 75.8, 71.2, 67.9,表明它们与氧连接。在 $\delta_{\text{C}}$  143.3, 137.0, 133.3, 122.0的四个碳信号表明有两个双键。 $^1\text{H}$  NMR( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz)  $\delta$ : 5.21 (2H, m, H-22, 23), 5.05 (1H, brs, H-7), 3.88 (2H, m, H-3, 6), 1.05 (3H, s, H-19), 1.03 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, H-21), 0.93 (3H, d,  $J = 6.9$  Hz, H-28), 0.86 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-27), 0.84 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-26), 0.61 (3H, s, H-18)。以上信息表明该化合物为一个麦角甾醇。其波谱数据(碳谱数据见表1)与文献报道的一致<sup>[7,8]</sup>。

化合物2  $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_4$ ,无色针晶(甲醇),EI-MS  $m/z$ : 426  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 。 $^{13}\text{C}$  NMR谱在 $\delta_{\text{C}}$  197.9给出了一个酮羰基的信号,在 $\delta_{\text{C}}$  164.5, 135.1, 132.5, 119.8给出了两组双键碳信号,在 $\delta_{\text{C}}$  79.7, 74.8, 67.2给出了三个连氧的碳信号。以上信息表明该化合物也为一个麦角甾醇。其波谱数据(碳谱数据见表1)与文献报道的一致<sup>[6,8]</sup>。

化合物3  $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_3$ ,无色针晶(甲醇),EI-MS  $m/z$ : 412  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 394  $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}]^+$ , 379  $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}-\text{Me}]^+$ 。其波谱数据(碳谱数据见表1)与文献报道的一致<sup>[9]</sup>。

化合物4  $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$ ,无色结晶(甲醇),EI-MS  $m/z$ : 428  $[\text{M}]^+$ , 410  $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ , 396  $[\text{M}-\text{O}_2]^+$ 。其波谱数据(碳谱数据见表1)与文献报道的一致<sup>[7,10]</sup>。

化合物5  $\text{C}_{42}\text{H}_{85}\text{NO}_5$ ,白色无定形粉末,FAB-MS  $m/z$ : 683  $[\text{M}]^+$ 。 $^{13}\text{C}$  NMR( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 100 MHz)  $\delta$ : 175.3 (C-1'), 76.9 (C-3), 73.1 (C-4), 72.5 (C-2'), 62.2 (C-1), 53.1 (C-2), 35.7 (C-3'), 34.2 (C-5), 32.1-22.9 (C-5' ~ 23', 7 ~ 17), 26.6 (C-4'), 25.8 (C-6), 14.2 (C-18, 24')。 $^1\text{H}$  NMR( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 400 MHz)  $\delta$ : 8.50 (1H, d,  $J = 8.9$  Hz, NH), 5.06 (1H, m, H-2), 4.60 (1H, m, H-2'), 4.50 (1H, m, H-1a), 4.40 (1H, m, H-1b), 4.31 (1H, m, H-4), 4.26 (1H, m, H-3), 0.89 (6H, m, H-18, 24')。其波谱数据与文献报道一致<sup>[11]</sup>。

表1 化合物1~4的 $^{13}\text{C}$  NMR数据( $^{13}\text{C}$ : 100 MHz)Table 1  $^{13}\text{C}$  NMR data of compounds 1-4 ( $^{13}\text{C}$ : 100 MHz)

C	1a	2b	3c	4b
1	29.3	25.5	32.6	30.0
2	31.3	30.1	33.8	34.6
3	67.9	67.2	67.6	66.4
4	40.7	37.1	42.0	39.3
5	75.8	79.7	76.2	82.2
6	71.2	197.9	74.3	135.2
7	122.0	119.8	120.5	130.7
8	143.3	164.5	141.6	79.4
9	78.6	74.8	43.8	51.0
10	42.2	42.4	38.1	36.9
11	28.3	28.8	22.4	20.6

12	36.5	34.9	39.9	36.8
13	45.0	45.0	43.8	44.5
14	51.6	51.8	55.3	51.6
15	23.8	22.4	23.5	23.3
16	27.9	27.8	28.5	28.6
17	57.3	56.1	56.2	56.1
18	12.1	12.3	12.5	12.8
19	21.6	21.1	18.8	18.1
20	41.8	40.2	40.8	39.7
21	20.8	20.4	21.4	20.8
22	137.0	135.1	136.2	135.1
23	133.3	132.5	132.1	132.2
24	44.4	42.8	43.1	42.7
25	34.4	33.1	33.4	33.0
26	20.1	19.6	19.9	19.6
27	20.5	19.9	20.2	19.9
28	18.2	17.6	17.8	17.5

注: a. 在氘代甲醇中测定; b. 在氘代氯仿中测定; c. 在氘代吡啶中测定

Note: a. in CD<sub>3</sub>OD; b. in CDCl<sub>3</sub>; c. in C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N

**致谢:**本文中 MS 和 NMR 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。

#### 参考文献

- Mao XL (卯晓岚). The Macrofungi in China (中国大型真菌). Zhengzhou: Henan Science and Technology Press, 2000. 363.
- Zhang ZG (张志光), Liu JQ (刘建强), Chen ZH (陈作红), et al. The investigation of 36 accident by poisonous mushroom in Hunan. *Modern Preventive Medicine* (现代预防医学), 2002, 29: 301-304.
- Takahashi A, Agatsuma T, Matsuda M, et al. Russuphelin A, a new cytotoxic substance from the mushroom *Russula subnigricans* Hongo. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40: 3185-3188.
- Takahashi A, Agatsuma T, Ohta T, et al. Russuphelins B, C, D, E, and F, new cytotoxic substances from the mushroom *Russula subnigricans* Hongo. *Chem Pharm Bull*, 1993, 41: 1726-1729.
- Ohta T, Takahashi A, Matsuda M, et al. Russuphelol, a novel optically active chlorohydroquinone tetramer from the mushroom *Russula subnigricans*. *Tetrahedron Lett*, 1995, 36: 5223-5226.
- Kawagishi H, Katsumi R, Sazawa T, et al. Cytotoxic steroids from the mushroom *Agaricus blazei*. *Phytochemistry*, 1988, 27: 2777-2779.
- Yue JM, Chen SN, Lin ZW, et al. Sterols from the fungus *Lactarium volemus*. *Phytochemistry*, 2001, 56: 801-806.
- Yaoita Y, Amemiya K, Ohnuma H, et al. Sterol constituents from five edible mushrooms. *Chem Pharm Bull*, 1998, 46: 944-950.
- Gao JM, Hu L, Liu JK. A novel sterol from Chinese truffles *Tuber indicum*. *Steroids*, 2001, 66: 771-775.
- Gao JM (高锦明), Dong ZJ (董泽军), Liu JK (刘吉开). The constituents of the basidiomycetes *Russula cyanoxantha*. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), 2000, 22: 85-89.
- Gao JM, Dong ZJ, Liu JK. A new ceramide from the basidiomycete *Russula cyanarantha*. *Lipids*, 2001, 22: 85-89.