

亚绒盖乳菇化学成分的研究

I. (22Z, 24S)-啤酒甾醇的分离和鉴定

中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所(北京 100050) 张 静* 冯孝章

摘 要 从乳菇属真菌亚绒盖乳菇 *Lactarius subvellereus* 子实体的甲醇提取物中分得 1 个新化合物和 7 个已知化合物, 经理化常数和光谱分析鉴定为 (22Z, 24S)-啤酒甾醇 [(22Z, 24S)-cerevissterol, I], 硬脂酸 (stearic acid, II), 硬脂酸甲酯 (methyl stearate, III), 亚油酸 (linoleic acid, IV), 庚二酸 (azelaic acid, V), 牛蒡子素 (arctigenin, VI), ergosta-7, 22-dien-3-ol (VII), ergosta-7-en-3-ol (VIII)。其中 I 为新化合物, V 和 VI 为首次从该属真菌中得到。

关键词 乳菇属 亚绒盖乳菇 (22Z, 24S)-啤酒甾醇 牛蒡子素

亚绒盖乳菇 *Lactarius subvellereus* 系担子菌纲红菇科乳菇属真菌, 其化学和生物活性的研究国内外尚未见有文献报道, 也没有民间药用记载。采自广西的该种真菌经药理初步筛选, 表现一定的抗癌活性。为寻找新化合物和有效成分, 以及开发乳菇属真菌的药用资源, 我们对亚绒盖乳菇所含的化学成分进行了系统的研究。从该种真菌子实体的甲醇提取物中我们分离出 1 个新化合物和 7 个已知化合物, 其结构经理化常数测定和光谱分析等手段, 分别确定为 [(22Z, 24S)-啤酒甾醇 [(22Z, 24S)-cerevissterol I], 硬脂酸 (stearic acid, II), 硬脂酸甲酯 (methyl stearate, III), 亚油酸 (linoleic acid, IV), 庚二酸 (azelaic acid, V), 牛蒡子素 (arctigenin, VI), ergosta-7, 22-dien-3-ol (VII), ergosta-7-en-3-ol (VIII)。化合物 I 为新化合物, V, VI 为首次从该属真菌中分得。

化合物 I, 分子式 $C_{28}H_{46}O_3$, 白色片状结晶 (Me_2CO), 与茴香醛-硫酸-乙醇溶液显兰色, $mp 240^{\circ}C \sim 242^{\circ}C$ 。其红外光谱 3441 cm^{-1} 的宽强峰提示该物含有羟基, 1636 cm^{-1} 的尖峰则提示碳-碳双键的存在。EIMS m/z 412 ($M^+ - H_2O$), 394 ($M^+ - 2H_2O$), 379

($M^+ - 2H_2O - Me$), 269 ($M^+ - C_9H_{17} - 2H_2O$), 251 ($M^+ - C_9H_{17} - 3H_2O$) 提示化合物为有麦角甾醇骨架的三羟基甾醇类化合物^[1]。

该化合物 ¹H-NMR 数据与 (22E, 24R)-啤酒甾醇^[1]对照较一致见表 1。不同之处在于 $C_{22}\text{-H}, C_{23}\text{-H}$ 之间的偶合常数 ($J = 7.2\text{ Hz}$) 较小, 因此推断 $\Delta^{22(23)}$ 为 Z 型, 而与 (22E, 24R)-啤酒甾醇 ($J = 14.8\text{ Hz}$) 不同。同时, 该化合物 IR 谱中缺少 965 cm^{-1} 附近的吸收峰 (反式双键 ν_{CH}) 也可进一步证实 $\Delta^{22(23)}$ 为顺式取代^[1]。从 ¹H-NMR 谱 18-Me 偏低场, 21-Me 偏高场也可旁证 $\Delta^{22(23)}$ 的 Z 式构型^[2]。此外, 由化合物 I 中 21-Me 化学位移位于较高场的信息可进一步推断 28-Me 为 β 取代 (24S)^[1, 3]。 $\Delta^{22(23)}$ 的 Z 式构型使得处于异丙位的 26, 27-Me 不平衡, 从而在谱图上明显裂分为四重峰^[2]。

化合物 I 的结构式如图 1 所示。

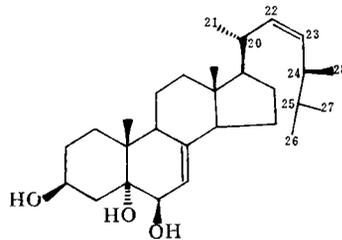


图 1 化合物 I 的化学结构式

* Address: Zhang Jing, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Chinese Xiehe Medical University, Beijing, 本院校 96 届硕士生。

表 1 化合物 I 与 (22E,24R) 啤酒甾醇的数据比较 (在 CDCl_3 中)

C 位	(22E,24R) 啤酒甾醇	化合物 I
C ₇ -H	5.35(1 H, bd, J=4.9)	5.37(1 H, bs)
C ₂₃ -H	5.20(1 H, dd, J=14.8, 6.9)	5.22(1 H, dd, J=7.2, 7.0)
C ₂₂ -H	5.15(1 H, dd, J=14.8, 7.9)	5.22(1 H, dd, J=7.2, 7.5)
C ₃ -H	4.08(1 H, m)	4.08(1 H, m)
C ₆ -H	3.63(1 H, bs)	3.62(1 H, bs)
C ₄ -Hax	2.14(1 H, dd, J=12.8, 12.8)	
C ₇ -Heq	1.78(1 H, dd, J=12.8, 4.9)	
C ₁₉ -Me	1.08(3 H, s)	1.08(3 H, s)
C ₂₁ -Me	1.04(3 H, d, J=6.9)	1.02(3 H, d, J=8.0)
C ₂₈ -Me	0.91(3 H, d, J=6.9)	0.91(3 H, d, J=6.8)
C ₂₆ -Me	0.84(3 H, d, J=6.9)	0.84(3 H, d, J=7.5)
C ₂₇ -Me	0.82(3 H, d, J=6.9)	0.82(3 H, d, J=6.9)
C ₁₈ -Me	0.59(3 H, s)	0.60(3 H, s)
mp(°C)	246~248(MeOH)	240~242(Me ₂ CO)
IR cm^{-1}	3460	3441, 2957, 1636
MS m/z	412, 397, 394, 379, 287, 269, 251, 227, 225, 209	412, 394, 379, 269, 251, 215, 197, 175, 159, 141, 111, 97, 85, 71, 57, 43

1 仪器和试剂

熔点用 Boetius 显微熔点测定仪测定, 温度计未校正; 比旋度用 Perkin-Elmer 241 旋光光谱仪测定; 紫外光谱用岛津 UV-240 型紫外光谱仪测定; 圆二色谱用 J-500C Spectropolarimeter 测定; 红外光谱用 Perkin-Elmer 683 型红外光谱仪测定; 质谱用 ZAB-2F 型和 JMS-DX300 型质谱仪测定; 核磁共振谱用 Bruker AM-500 核磁共振仪测定, TMS 为内标。薄层层析及柱层析用硅胶均为青岛海洋化工厂产品, 大孔树脂系天津南开大学化工厂生产。

2 提取和分离

亚绒盖乳菇子实体粗粉 5 kg 用石油醚加热回流提取 6 次, 残余药渣继用甲醇回流提取 10 次, 回收甲醇得棕黑色浸膏 581.0 g。该浸膏以乙酸乙酯(AR)溶浸, 至溶液液颜色不再变深。乙酸乙酯可溶部分减压浓缩, 得棕黑色浸膏 285.5 g。该浸膏再以乙醚溶浸, 浸出液中加入 0.5% NaOH 水溶液萃取, 醚层

(pH7~8) 用蒸馏水洗至中性, 浓缩至干, 得到棕黑色浸膏 48.1 g, 为中性部分; 水层中滴加浓盐酸至 pH=1。加入醚萃取, 醚液水洗至中性, 浓缩至干, 得棕黑色浸膏 53.9 g, 为酸性部分。酸性部分经干柱粗分后 (P. E.-Et₂O-MeOH), 将洗脱部分合并成 9 份: 从第 1 份中得到白色片状结晶 I (MeOH), 结晶母液经常压柱层析 (P. E.-EtOAc 梯度洗脱) 分离后分别得到 III 和 IV; 第 4 份经大孔树脂柱层析, 以 MeOH-H₂O 梯度洗脱, 从 60% 甲醇洗脱部分中得到白色片状结晶 V (Me₂CO); 第 6 部分同上法大孔树脂柱层析分离, 其中 80% 甲醇洗脱部分经制备薄层层析 (CHCl₃-MeOH 98:2) 分离后得到结晶 VI (MeOH-Et₂O); 第 8 部分仍同上法大孔树脂柱层析分离, 其中甲醇洗脱部分经常压柱层析 (CH₂Cl₂-MeOH=95:5) 分离后得到白色片状结晶 I (Me₂CO)。中性部分经 VLC (CHCl₃-MeOH) 粗分成 7 部分; 第 2 部分经低压柱层析 (P. E.-EtOAc 梯度洗脱) 分离后分别得到白色针状结晶 VII 和 VIII (MeOH)。

3 鉴定

化合物 I: 白色片状结晶 (Me₂CO), mp 240°C~242°C, C₂₈H₄₆O₃ (M⁺, 430)。EI-MS m/z: 412 (M⁺ - H₂O), 394 (M⁺ - 2H₂O), 379 (M⁺ - 2H₂O - Me), 269 (M⁺ - C₉H₁₇ - 2H₂O), 251 (M⁺ - C₉H₁₇ - 3H₂O), 197, 175, 159, 141, 111, 97, 85, 71, 57, 43。IR (KBr) cm^{-1} : 3 441 (OH), 2 957, 1636。¹HNMR (500 MHz, CDCl₃) δ ppm: 5.37(1 H, brs, C₇-H), 5.22(1 H, dd, J₂₃₋₂₂=7.2, J₂₃₋₂₄=7.0, C₂₃-H), 5.22(1 H, dd, J₂₃₋₂₂=7.2, J₂₂₋₂₀=7.5, C₂₂-H), 4.08(1 H, m, C₃-H), 3.62(1 H, brs, C₆-H), 1.08(3 H, s, C₁₉-Me), 1.02(3 H, d, J₂₁₋₂₀=8.0, C₂₁-Me), 0.91(3 H, d, J₂₈₋₂₄=6.8, C₂₈-Me), 0.84(3 H, d, J=7.5, C₂₆-Me/C₂₇-Me), 0.82(3 H, d, J=6.9, C₂₆-Me/C₂₇-Me), 0.60(3 H, s, C₁₈-Me)。

化合物 II: 白色片状结晶, mp 52°C~54°C, C₁₈H₃₆O₂ (M⁺, 284)。IR, MS 数据与硬

脂酸一致^[4,5]。

化合物Ⅲ:白色无定形粉末,mp35℃~37℃,C₁₉H₃₈O₂(M⁺,298)。IR,MS数据均与硬脂酸甲酯一致^[6]。

化合物Ⅳ:淡黄色油状物,C₁₈H₃₂O₂(M⁺,280),IR,MS数据与亚油酸一致^[7,8]。

化合物Ⅴ:白色片状结晶,mp98°~100℃,C₉H₁₆O₄(M⁺,188)。IR,MS,¹H,¹³CNMR数据均与庚二酸一致^[9]。

化合物Ⅵ:无色方晶(MeOH-Et₂O),mp98℃~99℃,[α]_D²⁰=-31.52°(c,0.625,EtOH),C₂₁H₂₄O₆(M⁺,372)。UV,IR,¹H,¹³CNMR数据均与牛蒡子素一致^[10]。

化合物Ⅶ:白色针晶(石油醚-乙酸乙酯),mp162℃~165℃,C₂₈H₄₆O(M⁺,398)。IR,MS,¹HNMR数据均与ergosta-7,22-dien-3-ol一致^[11]。

化合物Ⅷ:白色针状结晶(石油醚-乙酸乙酯),mp162℃~165℃,C₂₈H₄₈O(M⁺,400)。IR,MS,¹HNMR数据均与ergosta-7-en-3-ol一致^[2,12]。

致谢:广西植物研究所徐位坤,孟丽珊两位老师采集并鉴定样品;本所仪器分析室、北京大学化学所、军科院仪器测试中心、北京市微量化学研究所代测各种光谱。

参考文献

- 1 Vincenzo P, et al. J Nat Prod, 1987, 50(5): 915
- 2 Ian R, et al. Phytochem, 1976, 15: 195
- 3 Malcolm J T, et al. Phytochem, 1972, 11: 1781
- 4 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用. 北京: 科学出版社, 1987. 69
- 5 Sadtler Research Laboratories Inc. Sadtler Standard Infrared Grating Spectra. 1980. No 21003
- 6 Charles J P. The aldrich library of infrared spectra, 1970
- 7 Heller S R, et al. EPA/NIH Mass Spectral Data Base (3): 2050
- 8 Sadtler Research Laboratories Inc. Sadtler Standard Infrared Grating Spectra. 1980. No. 15092
- 9 Sadtler Standard NMR Spectral No. 6060; Sadtler Standard Carbon-13 NMR Spectral No. 4620
- 10 Sansei N, et al. Chem Pharm Bull, 1973, 21: 639
- 11 Kobayashi M, et al. Tetrahedron, 1973, 29: 1193
- 12 Orcutt D M, et al. Steroids, 1970, 16: 429

(1996-08-13 收稿)

Studies on the Chemical Constituents of the Fruit Bodies of *Yaronggairugu (Lactarius subvellereus)*

I. Isolation and Identification of (22Z, 24S)-Cerevisterol

Zhang Jing, Fen Xiaozhang

From the methanolic extract of *Lactarius subvellereus*, one new and seven known compounds were isolated and identified as (22Z, 24S)-cerevisterol (I), stearic acid (II), methyl stearate (III), linoleic acid (IV), azelaic acid (V), arctigenin (VI), ergosta-7, 22-dien-3-ol (VII), and ergosta-7-en-3-ol (VIII) by spectroscopic methods (CD, UV, IR, MS, ¹H, ¹³CNMR). The new compound I and compound V and VI were obtained for the first time from the fungus *Lactarius*.

安徽省高校科技函授部总部中医函授面向全国招生

省教委办学许可证 0192005 号

为给广大中医爱好者开辟自学成才、自谋职业之路,以解决晋升、开业和应聘的需要,本专业继续面向全国常年招生。本部建校十年,已有丰富的教学经验和完善的师资队伍。开设十二门中西医课程。各科均由专家教授全面辅导教学。选用《全国高等中医院校函授教材》,与高等教育中医自学考试紧密配合,确保大中专水平。凡初中以上文化程度者均可报名,汇款 5 元至“236000 安徽阜阳高函办公室”即寄简章。电话:0558-2318260

• 更正 • 6 期 343 页“气相色谱法测定桂林西瓜霜中冰片及薄荷脑的含量”第二作者应为高江林