

肉座菌科三种药用真菌的化学成分分析比较[△]

中国科学院兰州化学物理研究所 (730000)

李 聪* 汪汉卿

云南大学发酵工作重点实验室

谢金伦** 林南英 代万华

云南大学实验中心

陈远腾

摘 要 报道了肉座菌科 3 种药用真菌竹黄菌 *Shiraia bambusiicola*, 竹红菌 *Hypocrella bambusaw* 及菌寄生菌 *Hypomyces* (Fr.) Tul. sp. 的化学成分分析的比较。

关键词 竹红菌 竹黄菌 菌寄生菌

竹红菌^[1]主要分布在我国云南省西北和西藏东南部。竹黄^[2,3]主要分布在浙江、江苏、贵州等省。民间用于治疗胃病、风湿关节炎、临床治疗外阴白色病变^[4]、软化疤痕疙瘩^[5]。近年来受到广泛的研究与关注^[6],其萜类化合物不但有希望发展成为新型的抗肿瘤、抑制艾滋病病毒(HIV)的光疗药物^[7,8],而且还是潜在的新型光电转换材料^[9]。陈远腾等人先后从这 2 个天然真菌中分离到竹红菌甲素^[10]、竹红菌乙素、甘露醇和脂肪酸。我们从云南西部山区筛选到一株丝状真菌,经人工培养可在实验室批量制备该真菌^[11],菌种经鉴定为:子囊菌纲,肉座菌科,菌寄生菌属的真菌 *Hypomyces* (Fr.) Tul. sp. (以下暂定为菌寄生菌)。对 2 种野生真菌和人工实验室培养的真菌体的主要成分进行分析比较,以利于人工培养真菌的开发利用。从人工培养真菌得到萜类化合物国内外未见报道。

1 材料与方法

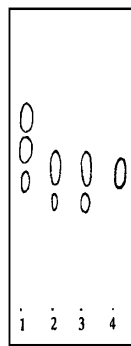
从云南丽江地区收集到竹红菌子座,经鉴定为 *Hypocrella bambusaw* B. et Br. sacc. 从浙江天目山收集到的竹黄子座经鉴定为 *Shiraia bambusiicola* P. Henn. 从云南西部山区筛选到的真菌实验室制备的菌寄生菌体经鉴定为 *Hypomyces* (Fr.) Tul. sp., 上述材料经生物学家杨发蓉先生和陈远腾先生鉴定。

1.1 氨基酸分析: 分别称取 3 种真菌各 10 mg, 放置于试管中,把试管放置于样品水解瓶中,加入 6 mol/L HCl 0.5 mL,加热水解 24 h 后充氮保存。用 Waters pico-TagTM 氨基酸分析仪测定。分析柱 pico-TagTM HAA. Column (15 cm×3.9 mm), 衍生方式: PITC 柱前衍生(异硫氰酸苯酯),柱温 38℃,检

测器 UV, λ 254 nm 采用双泵梯度洗脱。Waters 810 色谱工作站,收集并处理数据,外标法定量(表 1)。

1.2 薄层色谱比较分析: 分别取 3 种真菌各 2 g, 用 CHCl₃ 提取,提取液分别放置于刻度试管中,在水浴锅上加热浓缩到 0.3 mL,用青岛海洋化工厂生产的硅胶 H 板点样展开,点样量 2 mL,展开剂氯仿-甲醇(70:1)得到薄层展开(图 1)。

1.3 甘露醇的分离和定量: 参照文献^[3]把竹红菌、竹黄、人工培养菌寄生菌各取 10 g,用 95% 乙醇为溶剂在索氏提取器上加热回流 4 h。把所得提取液分别浓缩后静置析出结晶,倾去并过滤上清液,得粗品。粗品分别加蒸馏水溶解后,加活性炭加热搅拌脱色,过滤,在水浴锅上浓缩后分别加 95% 乙醇重结晶,得到甘露醇纯品。竹红菌、竹黄中甘露醇的结构鉴定见文献^[12]。



1-菌寄生菌 2-竹红菌

3-竹黄 4-竹红菌甲素标准

图 1 3 种真菌的 TLC 图谱

1.4 脂肪酸的分析比较: 我们从菌寄生菌中用丙酮提取、浓缩,通过硅胶柱层析,分到一个蓝色荧光斑点。用美国惠普 HP 6890 型 GC-MS 仪分析,柱子 HP 5 MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm,程序升温,3 min 时升温到 50℃,5 min 时升温到 150℃,8 min 时升温到 250℃,维持此温度分析 25 min,进样量 0.5 μL,分离鉴定蓝色荧光斑点组分。

* Address: Li Cong, Lanzhou Institute of Chemical and Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou

** 联系人

△云南省发酵工程重点实验室开放基金资助

1.5 醌类化学成分分离鉴定比较: 文献^[2~4]分离并鉴定了竹红菌、竹黄中的竹红菌甲素和竹红菌乙素。我们从菌寄生菌中分离到并鉴定了竹红菌甲素、痢囊腔菌素。取菌寄生菌属(人工培养)真菌 464 g 用丙酮提取,回收丙酮得 16.0 g 暗红色糊状物。用

700 g 青岛海洋化工厂层析硅胶装柱(湿法装柱),用氯仿-乙酸乙酯冲洗柱子,分别得到暗红色结晶和深红色结晶,经鉴定分别为竹红菌甲素和痢囊腔菌素 A^[12]。竹红菌甲素、乙素和痢囊腔菌素 A 的化学结构式见图 2

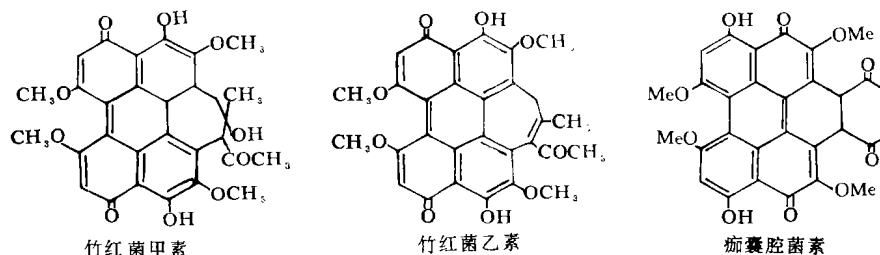


图 2 主要 醌类化合物的化学结构式

2 结果

根据文献,张曼华等人从竹红菌中经旋转薄层仪和气相色谱-质谱联用仪鉴定了十六碳酸、十七碳酸、十八碳烯酸、十八碳烯醛。王景祥等人^[3]从竹黄中分离到硬脂酸(十八烷酸)。菌寄生菌中的主要脂肪酸经鉴定是十六碳酸、十六碳烷、十七碳醇-1、十七碳烷、十八碳二烯酸-9, 11、十八碳二烯酸-9, 12、十八烷烯-1。3种真菌中氨基酸、甘露醇、醌化化合物的含量分别见表 1~3

表 1 3种真菌的氨基酸分析 (mg/100 g)

缩写	名称	菌寄生菌	竹红菌	竹黄
Asp	天门冬氨酸	28.13		4.62
Glu	谷氨酸	119.08	3.88	8.77
Ser	丝氨酸	60.44	7.01	14.71
Gly	甘氨酸	66.91	15.83	21.02
Thr	苏氨酸	45.00	8.18	
Ala	丙氨酸	51.11		
Pro	脯氨酸		16.09	31.17
Tyr	酪氨酸	144.63	226.85	295.28
Val	缬氨酸	116.54		
Ile	异亮氨酸	53.92		
Met	蛋氨酸		13.93	

注:在氨基酸分析中仅取含量相对高的氨基酸,做定量分析,其它氨基酸含量相对少,未作定量。

表 2 3种真菌的甘露醇含量

名称	样品 (g)	甘露醇重 (g)	百分含量 (%)
竹红菌	10	0.4	4
竹黄	10	0.15	1.5
菌寄生菌	10	0.5	5

表 3 3种真菌 醌化合物含量

真菌名称	化合物	含量 (%)
竹红菌	竹红菌甲素 竹红菌乙素	3.9
竹黄	竹红菌甲素 竹红菌乙素	0.4
菌寄生菌	竹红菌甲素 痢囊腔菌素	0.2

D甘露醇的分析鉴定: 人工发酵菌寄生菌经烘

箱烘干 50 g,按前述方法获得 2.5 g, mp 166℃~167℃,元素分析 PC-2400 有机元素分析仪测定 C 39.73%, H 7.65%。IR ¹H, ¹³CNMR 光谱与文献^[12]的 D甘露醇一致

3 讨论

前述图表和数据比较了 3 株真菌的主要化学成分,3 株真菌同是肉座菌科不同属的真菌,主要化学成分基本一致,随属种不同也有化学成分差别。主要成分为差别也验证了这 3 种真菌的分类学意义。其特征化合物主要为脂肪酸、甘露醇和竹红菌甲素。特别是竹红菌甲素在真菌中仅见于这 3 种真菌,前 2 株菌(竹红菌、竹黄)已经有多位学者的研究证明,在真菌中也仅见于国内的报道。利用固体发酵法培养真菌从而得到光敏色素 醌类化合物,可以工厂化生产 醌化合物,为 醌化合物在医药开发方面提供了良好的前景。

参 考 文 献

- 1 万象义,等. 科学通报, 1980, (24): 1148
- 2 陈远腾,等. 云南大学学报, 1981, (2): 104
- 3 王景祥,等. 中草药, 1990, 21(7): 292
- 4 于兰馥,等. 中华妇产科杂志, 1984, 19(1): 29
- 5 梁睿媛,等. 中华皮肤科杂志, 1982, 15(2): 87
- 6 蒋丽金. 科学通报, 1990, 35(21): 1608
- 7 Diwu Z. Photochemistry and Photobiology, 1995, 61(6): 592
- 8 Hudson J D, et al. Photochemistry and Photobiology, 1997, 65(2): 352
- 9 张红雨. 生物化学与生物物理学报, 1998, 30(3): 272
- 10 Chen Weishin, et al. 科学通报, 1981, 1040
- 11 李 聪. 第四届中日国际真菌学术会议论文集, 1998, 167
- 12 李 聪,等. 热带作物学报(增刊): 1998, 19: 44

(1999-04-13收稿)