

VI鉴定为 3'-羟基葛根素。

化合物VII: 白色粉末, mp 188 °C~ 190 °C (甲醇), 分子式: C₂₆H₂₈O₁₃ 光谱数据与文献报道^[6]的葛根素芹菜糖苷一致。

化合物VIII: 白色粉末, mp 216 °C~ 217 °C (氯仿-甲醇), 分子式: C₂₃H₂₄O₁₀ FeCl₃ 反应为阴性 UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 255 (0.66), 302 (sh, 0.18), IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3362, 1626, 1617, 1597, 1513 ESI-MS m/z (%): 461 ([M+1]⁺) EI-MS m/z (%): 298 (100), 138 (27.3), 166 (7.8) ¹H NMR (300 Hz, DMSO-d₆) δ 3.79 (3H, s, CH₃-), 3.94 (3H, s, CH₃-), 5.11 (1H, d, J= 7.2 Hz, Glc-H), 7.01 (21H, d, J= 8.6 Hz, H-3', 5'), 7.53 (2H, d, J= 8.5 Hz, H-2', 6'), 7.81 (2H, d, J= 9.1 Hz, H-5), 7.37 (1H, d, J= 9.2 Hz, H-6), 8.45 (1H, s, H-2) H-H NOESY (400 Hz, DMSO-d₆)显示 4'-OCH₃与 H-3', 5'; H-3', 5'与 H-2', 6'; H-2与 H-2', 6'; H-6与 H-5存在 NOE关系 故该化合物鉴定为 8-甲基雷杜辛-7-O-葡萄糖苷。

化合物XIII: 白色蜡状物, mp 70 °C~ 72 °C (氯仿), 具升华性, 分子式: C₂₈H₃₆O₂ IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3600~ 2400, 2918, 2849, 1708, 1473, 1299, 724 EI-MS m/z (%): 425 ([M+1]⁺, 1.11) ¹H NMR (300 Hz, CDCl₃) δ 0.88 (3H, s, CH₃-), 1.25 (40H, s, -CH₂-× 24), 1.63 (2H, m, -CH₂-), 2.35 (2H, t, -CH₂-) 故鉴定为二十八酸。

化合物XIV: 白色针晶, mp> 300 °C (甲醇), 分子式: C₄H₆N₄O₃ IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3439, 3345, 3191, 3062, 1781, 1711, 1659, 1603, 1531, 1430, 1326 与对照品尿囊素薄层层析 Rf值一致。故鉴定为尿囊素。

化合物XV: 白色粉末, mp 90 °C (氯仿), 仅碘显色 分子式: C₇₈H₁₅₂O₆ IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 2916, 2849, 1739, 1470, 720 与对照品二十五烷酸甘油酯薄层色谱 Rf值一致 故鉴定为二十五烷酸甘油酯。

化合物IX~ XII, XVI的数据略。

参考文献:

- [1] 楼之岑, 秦波. 常用中药材品种和质量研究 (北方片) [M]. 第一册. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1995.
- [2] 桑日曙, 闵知大. 峨嵋葛根的化学成分研究 [J]. 中国药科大学学报, 2000, 31(6): 408-410.
- [3] Manki K, Ichiro Yokoe, Yoshiaki Shimataki. Studies on the constituents of *Sophora* Species. XIV. Constituents of the root of *Sophora franchetiana* Dunn [J]. Chem Pharm Bull, 1981, 29(2): 532-538.
- [4] 中国科学院上海药物研究所植物化学研究室. 黄酮体化合物鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社, 1981.
- [5] 方启程. 葛根黄酮的研究 [J]. 中华医学杂志, 1974, 54(5): 271-274.
- [6] Junei K, Junichi F, Junko B, et al. Studies on the constituents of *Pueraria lobata*. III. Isoflavonoids and related compounds in the roots and the voluble stems [J]. Chem Pharm Bull, 1987, 35(12): 4846-4850.
- [7] Yukio O, Toru O, Kunio T, et al. Isolation and high performance liquid chromatography (HPLC) of isoflavonoids from the *Pueraria* root [J]. Planta Med, 1988, 54(3): 250-254.

黄硬皮马勃的化学成分

王晨英, 高锦明, 杨雪, 董泽军, 刘吉开*

(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 黄硬皮马勃 *Scleroderma citrinum* 具有消炎作用, 对其化学成分进行系统研究并阐明其活性成分。方法 采用硅胶柱层析进行分离, 通过理化常数测定和波谱 (IR, MS, ¹H 和 ¹³C NMR) 技术进行结构鉴定。结果 分析鉴定了 8 个化合物, 它们分别为: (22E, 24R)-ergosta-5, 7, 22-triene-β-ol (I), 5α-lanosta-8(9), 23-diene-β, 25-diol-22-acetate ester (II), 5α, 8α-epidioxy-(22E, 24R)-ergosta-6, 22-diene-β-ol (III), (2S, 3S, 4R, 2'R)-2-(2'-hydroxytetracosanoylamino) octadecane-1, 3, 4-triol (IV), adenosine (V), N, N-dimethylphenylalanine (VI), N-methylphenylalanine (VII), D-allitol (VIII)。结论 化合物VI和VII均系首次从高等真菌中分离得到。

关键词: 黄硬皮马勃; 非蛋白氨基酸; 高等真菌

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)09-0778-03

* 收稿日期: 2001-09-03

基金项目: 云南省自然科学基金项目 (2000B0066M)

作者简介: 王晨英 (1972-), 男, 河南人, 在读博士研究生, 主要从事天然有机化学研究

* 通讯作者

Chemical constituents of Basidiomycetes from *Scleroderma citrinum*

WANG Chen-ying, Gao Jin-ming, YANG Xue, DONG Ze-jun, LIU Ji-kai

(State key Laboratory of Phytochemistry and of Successive Application of Western Plant Resource,

Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract Object To isolate the chemical constituents from fruiting bodies of Basidiomycetes from *Scleroderma citrinum* Pers. **Methods** The constituents were isolated by silica gel column chromatography, and the structures were elucidated by spectrum analysis (IR, MS, $^1\text{H NMR}$, $^{13}\text{C NMR}$). **Results** Eight compounds were identified as (22*E*, 24*R*)-ergosta-5, 7, 22-triene- β -ol (I), 5 α -lanosta-8 (IX), 23-diene- β , 25-diol-22-acetate ester (II), 5 α , 8 α -epidioxy-(22*E*, 24*R*)-ergosta-6, 22-diene- β -ol (III), (2*S*, 3*S*, 4*R*, 2'*R*)-2-(2'-hydroxytetracosanoylamino) octadecane-1, 3, 4-triol (IV), adenosine (V), *N,N*-dimethylphenylalanine (VI), *N*-methylphenylalanine (VII), *D*-allitol (VIII), respectively. **Conclusion** Compounds VI and VII are obtained from higher fungi for the first time.

Key words *Scleroderma citrinum* Pers.; non-protein amino acids; higher fungi

黄硬皮马勃 *Scleroderma citrinum* Per. 属于硬皮马勃科硬皮马勃属真菌,该菌与栲属等树种形成菌根,具有促进树木快速生长的作用^[1],该菌具有微毒,孢粉有消炎作用^[2]。该属真菌广布于世界各地,共有 60 余种,在我国较常见有 11 种,该属真菌多有止血、消肿、清热和解毒等功效。迄今该属真菌化学成分的研究较少,文献报道从该属金黄硬皮马勃 *S. aurantium* 和多根硬皮马勃 *S. polyrhizum* 中分离得到了 (23*S*)-lanosta-8, 24-diene- β , 23-diol^[3], (22*E*)-ergosta-4, 6, 8(14), 22-tetraen-3-one-5 α , 8 α -epidioxy-(22*E*, 24*R*)-ergosta-6, 22-diene- β -ol 以及亚油酸和棕榈酸^[4]。为了进一步深入研究该属真菌药理作用的物质基础,我们对黄硬皮马勃的化学成分进行了研究,从中分离得到了 8 个化合物,它们分别是: (22*E*, 24*R*)-ergosta-5, 7, 22-triene- β -ol (I), 5 α -lanosta-8 (9), 23-diene- β , 25-diol-22-acetate ester (II), 5 α , 8 α -epidioxy-(22*E*, 24*R*)-ergosta-6, 22-diene- β -ol (III), (2*S*, 3*S*, 4*R*, 2'*R*)-2-(2'-hydroxytetracosanoylamino) octadecane-1, 3, 4-triol (IV), adenosine (V), *N,N*-dimethylphenylalanine (VI), *N*-methylphenylalanine (VII), *D*-allitol (VIII)。这些化合物均是首次从黄硬皮马勃中分离得到,其中化合物 II 曾从 *Pisolithus tinctorius* 中分离到^[5],但没有报道碳谱数据,本文补充了该化合物的碳谱数据;化合物 VI 和 VII 是由苯丙氨酸衍生出来的两个非蛋白氨基酸。化合物 III 具有抗炎^[6]、抑制磷酸酯酶^[7] (IC₅₀: 0.9 $\mu\text{mol/L}$) 和抗结核 (MIC: 1 $\mu\text{g/mL}$)^[8] 等作用。

化合物 VI: 无色针状结晶 (丙酮-水), 碘化铋钾-碘反应呈阳性。FAB-MS 给出分子量相关离子 286

(M^+ Gly), 194($M^+ - 1$), 表明相对分子质量为 193。高分辨 EI-MS 显示 193.1104 (M^+) (计算值为 193.1113) 得出分子式为 C₁₁H₁₅NO₂, 不饱和度为 5。 $^1\text{H NMR}$ (D₂O) 中有 5 组峰, 积分比 5: 1: 1: 1: 6, 表明有 14 个质子, 分别是 δ 7.65 (5H, m), 4.13 (1H, dd, $J = 6.0, 8.5$ Hz), 3.59 (1H, dd, $J = 5.5, 14.0$ Hz), 3.44 (1H, dd, $J = 5.5, 14.0$ Hz), 3.21 (6H, s), 此外尚有一个活泼的质子。EI-MS 裂解碎片 (m/z 91, 77 和 65) 表明含有苯环和苄基。 $^{13}\text{C NMR}$ (DEPT) 谱表明有两个季碳 (羧基碳 δ 169.0 和芳香烯碳 δ 132.4), 5 个芳香烯氢碳 (δ 2 $\times$ 126.1, 2 $\times$ 125.8, 124.3) 以及一个与氮和羧基相连的叔碳 (δ 69.0), 一个与苯环相连的仲碳 (δ 38.6) 以及与氮相连的两个甲基 (δ 30.8)。因此推断化合物的结构为 *N,N*-dimethylphenylalanine。

化合物 VII: 无色针状结晶 (丙酮-水), 碘化铋钾-碘反应呈阳性。EI-MS 显示相对分子质量相关离子 179, ^1H 和 $^{13}\text{C NMR}$ 与化合物 VI 很相似, 相对分子质量相差 14 (相当于一个 CH₂), 说明该化合物的分子式为 C₁₀H₁₃NO₂, 不饱和度为 5。 $^1\text{H NMR}$ (D₂O) 中有 4 组峰, 积分比 5: 1: 2: 3, 表明有 11 个质子, 分别是 δ 7.66 (5H, m), 4.13 (1H, t, $J = 6.5$ Hz), 3.51 (2H, d, $J = 6.5$ Hz), 2.97 (3H, s), 此外尚有 2 个活泼的质子 (一个为羧基上的活泼氢, 一个为与氮相连的活泼氢)。EI-MS 裂解碎片 (m/z 91, 77 和 65) 表明含有苯环和苄基。 $^{13}\text{C NMR}$ (DEPT) 谱表明有两个季碳 (羧基碳 δ 169.7 和芳香烯碳 δ 131.7), 5 个芳香烯氢碳 (δ 2 $\times$ 126.3, 2 $\times$ 125.9, 124.6) 以及一个与氮和羧基相连的叔碳 (δ 61.6), 一个与苯环相连的仲碳 (δ 32.5) 以及与氮相连的一个甲基 (δ 29.0)。因此

推断该化合物的结构为 *N*-methylphenylalanine 化合物VI和VII的化学结构式见图 1

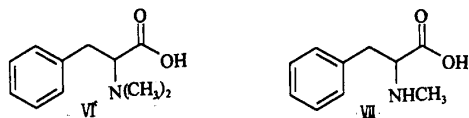


图 1 化合物VI和VII的化学结构式

1 仪器和材料

XRC-1型显微熔点仪,未校正。核磁共振用 Bruker-400和 Bruker-500核磁共振仪测定,红外光谱采用 Bio-Rad FTS型红外光谱仪测定,质谱用 VG-Auto Spec-3000型质谱仪。柱层析硅胶以及硅胶 GF254均为青岛海洋化工厂产品。实验材料购自云南腾冲市,由中国科学院昆明植物研究所刘培贵教授和王向华女士鉴定。

2 提取和分离

黄硬皮马勃 1.2 kg 粉碎,用氯仿-甲醇(1:1) 3 L冷浸 3次,每次 24 h,合并提取液并减压浓缩得提取物 89 g。将所得到的提取物进行硅胶柱层析(200~300目),用氯仿-甲醇(1:0~8:2)梯度洗脱,每 500 mL 收集 1份,根据 TLC 合并相同的流分共 8组,组分 2重结晶得化合物I 2 g;组分 3重结晶得化合物II 0.5 g,母液上硅胶柱用石油醚-乙酸乙酯(7:3)洗脱得化合物II 和III 10 mg;组分 4重结晶得化合物IV 15 mg;组分 5重结晶得化合物V 20 mg;组分 6重结晶得化合物VI 2.35 g,母液与组分 7合并用上硅胶柱用氯仿-甲醇(9:1)洗脱得化合物VI和VII 12 mg;组分 8放置得到结晶,然后在水和丙酮中重结晶得化合物VIII 12 g。

3 结构鉴定

化合物I: $C_{28}H_{44}O$, 无色针状结晶, EIMS, 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与 (22*E*, 24*R*)-ergosta-5, 7, 22-triene- β -ol 一致。

化合物II: $C_{32}H_{52}O_4$, 白色无定型粉末, 1H NMR 和 MS 数据与 5 α -lanosta-8(9), 23-diene- β , 25-diol-22-acetate ester 一致^[5]。

化合物III: $C_{28}H_{44}O_3$, 无色针状结晶, IR, EIMS, 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与 5 α , 8 α -epidioxo-(22*E*, 24*R*)-ergosta-6, 22-diene- β -ol 一致。

化合物IV: $C_{42}H_{85}NO_5$, 白色无定型粉末, mp 140 °C~142 °C, 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与 (2*S*, 3*S*, 4*R*, 2'*R*)-2-(2'-hydroxytetracosanoylamino) octadecane-1, 3, 4-triol 一致^[9]。

化合物V: $C_{10}H_{13}N_5O_4$, 白色无定型粉末, mp

233 °C~235 °C, $[\alpha]_D^{25} - 57.8^\circ$ (c, 0.6 M, H₂O), 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与 adenosine 一致^[10]。

化合物VI: $C_{11}H_{15}NO_2$, 无色针状结晶, 1H NMR (D₂O) δ 7.65 (5H, m), 4.13 (1H, dd, *J* = 6.0, 8.5 Hz), 3.59 (1H, dd, *J* = 5.5, 14.0 Hz), 3.44 (1H, dd, *J* = 8.5, 14.0 Hz), 3.2 (6H, s); ^{13}C NMR (D₂O) δ 169.0, 132.4, 126.1, 125.8, 124.3, 69.0, 38.6, 30.8; FAB⁺-MS *m/z* 286 (*M*⁺ Gly), 194 (*M*⁺ 1); HREI-MS *m/z* 193.110 371 (*M*⁺), calc 193.110 279; EI-MS *m/z* 193 [*M*⁺], 148 [*M* - COOH]⁺, 133 [*M* - COOH - Me]⁺, 102 ([*M* - PhCH₂]⁺, 100%), 91 [*M* - Me₂NCHCOOH]⁺, 77 [Ph]⁺, 65 [*C*₅H]⁺。

化合物VII: $C_{10}H_{13}NO_2$, 无色针状结晶, 1H NMR (D₂O) δ 7.66 (5H, m), 4.13 (1H, t, *J* = 6.5 Hz), 3.51 (2H, d, *J* = 6.5 Hz), 2.97 (3H, s); ^{13}C NMR (D₂O) δ 169.7, 131.7, 126.3, 125.9, 124.6, 61.6, 32.5, 29.0; EI-MS *m/z* 179 [*M*⁺], 134 [*M* - COOH]⁺, 133 [*M* - COOH - Me]⁺, 120 [*M* - COOH - CH₂]⁺, 91 [*M* - MeNHCHCOOH]⁺, 88 ([*M* - PhCH₂]⁺, 100%), 77 [*M* - CH₂NHMeCOOH]⁺, 65 [*C*₅H]⁺。

化合物VIII: $C_6H_4O_6$, 无色针状结晶, mp 154.5 °C~155.5 °C, MS, 1H NMR 和 ^{13}C NMR 与文献一致^[11]。

参考文献:

- [1] 黄年来. 中国大型真菌图鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [2] 卯晓岚. 中国经济真菌 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [3] Entwistle N, Pratt A D. 2 β -hydroxylanosteroid, a new triterpene fungal metabolite of Basidiomycete *Scleroderma aurantium* [J]. Tetrahedron, 1968, 24: 3949-3953.
- [4] Gonzalez A G, Berrera J B, Marante F J T. The steroids and fatty acids of the basidiomycetes *Scleroderma polyrhizum* [J]. Phytochemistry, 1983, 22: 1049-1050.
- [5] Lorbo A, De Abreu P M, Pranhakar S, et al. Triterpenoids of the Fungus *Pisolithus tinctorius* [J]. Phytochemistry, 1988, 27(11): 3569-3574.
- [6] Yasukawa K, Aoki T, Takido M, et al. Inhibitory effects of ergosterol isolated from the edible mushroom *Hypsizygus marmoreus* on TPA-induced inflammatory ear oedema and tumor promotion in mice [J]. Phytother Res, 1994, 8: 10-13.
- [7] Kim D S, Jeong H J, Bhat K P L, et al. Aromatase and sulfatase inhibitors from *Lepiota americana* [J]. Planta Med, 2000, 66(1): 78-79.
- [8] Cartrell C L, Rajab M S, Franzblau S G, et al. Antimycobacterial ergosterol-5, 8-endoperoxide from *Ajuga remota* [J]. Planta Med, 1999, 65(8): 732-734.
- [9] Gao J M, Dong Z J, Liu J K. A New ceramide from the basidiomycete *Russula cyanoxantha* [J]. Lipids, 2001, 36(2): 175-180.
- [10] 王长增, 贾忠建. Purine nucleosides from *Pedicularis longiflora* [J]. 兰州大学学报 (自然科学版), 1996, 32(1): 87-91.
- [11] 高锦明, 董泽军, 刘吉开. 蓝黄红菇的化学成分 [J]. 云南植物研究, 2000, 22(11): 85-89.