

tOH); ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ: 4.67 (1H, m, H-4), 3.91 (1H, dd, *J* = 3.0, 12.6 Hz, H-5a), 3.68 (1H, dd, *J* = 4.5, 12.6 Hz, H-5b), 2.48~2.67 (2H, m, H-2), 2.12~2.34 (2H, m, H-3); ¹³C-NMR (acetone-d₆, 75 MHz) δ: 178.2 (C-1), 28.5 (C-2), 22.9 (C-3), 81.0 (C-4), 63.7 (C-5)。以上数据与文献报道一致^[6], 因此确定其结构为 5R-5-羟甲基-2(3H)-咪喃酮。

化合物 XI: 无色油状物, [α]_D²⁰ + 27° (c 0.35, EtOH); ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ: 7.60 (1H, m, H-2), 6.19 (1H, dd, m, H-3), 5.20 (1H, m, H-4), 4.05 (1H, m, H-5a), 3.81 (1H, m, H-5b); ¹³C-NMR (acetone-d₆, 75 MHz) δ: 173.8 (C-1), 122.3 (C-2), 154.4 (C-3), 84.4 (C-4), 61.6 (C-5)。以上数据与文献报道一致^[7], 因此鉴定其结构为 5R-5-羟甲基-2(5H)-咪喃酮。

致谢: MS、NMR 由北京大学医学部分析测试中心乔梁、李军代测。

References:

- [1] Song Z H, Zhao Y Y, Duan J L, et al. The advances of the research on the chemical constituents and pharmacological activity of *Clematis* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1995, 7(2): 66-71.
- [2] Li S Z, Yang L H, Qi Z B. Study on the chemical constituents of the leaves and stems of *Clematis manshurica* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1996, 27(1): 56-57.
- [3] Liu J, Xie T, Wei X L, et al. Chemical studies on *Rabdosia rubescens* [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 2004, 2(5): 276-279.
- [4] Kazuo I, Takeshi K, Ushio S. The screening of Chinese crude drugs for Ca²⁺ antagonist activity; Identification of active principles from the aerial part of *Pogostemon cablin* and the fruits of *Prunus mume* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, 37(2): 345-348.
- [5] Zheng X K, Li Q, Feng W S. Studies on the water-soluble chemical constituents of *Rabdosia rubescens* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2004, 16(4): 300-302.
- [6] Margus L, Anne P, Tonis K, et al. Asymmetric baeyer-villiger oxidation of cyclobutanones [J]. *Tetrahedron Lett*, 1996, 37(42): 7583-7586.
- [7] Fabil F, Manfred P S. A novel synthesis of 2-deoxy-L-ribose [J]. *Tetrahedron, Asymmetry*, 2000, 11: 1869-1876.

点柄乳牛肝菌子实体中抗 HIV-1 活性成分

董泽军¹, 王飞¹, 王睿睿², 杨柳萌², 郑永唐², 刘吉开^{1*}

(1. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204; 2. 中国科学院昆明动物研究所, 云南 昆明 650223)

摘要: 目的 研究点柄乳牛肝菌的化学成分, 并对分离鉴定的化合物进行抗 HIV-1 的活性研究。方法 将野外采集的点柄乳牛肝菌子实体用溶剂提取, 采用硅胶柱色谱进行分离, 通过波谱技术(NMR, MS, IR 等)对结构进行鉴定。结果 分离鉴定了 9 个化合物, 分别为: 酒渣碱(I)、5α, 8α-过氧麦角甾-6, 22-二烯-3β-醇(II)、麦角甾-5, 7, 22-三烯-3β-醇(III)、麦角甾-5, 7, 22-三烯-3β-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(IV)、尿嘧啶(V)、硫代乙酸酐(VI)、硬脂酸(VII)、3-吡啶甲酸(VIII)和 D-阿洛糖醇(IX)。结论 化合物 I 为首次从高等真菌中分离。经生物活性测试, 该化合物具有抗 HIV-1 活性, 对 C8166 细胞的毒性较小, CC₅₀ 为 87.86 μg/mL, 对 HIV-1 诱导 C8166 细胞形成合胞体抑制的 EC₅₀ 为 7.27 μg/mL, 治疗指数(TI 值)为 12.09。

关键词: 点柄乳牛肝菌; 酒渣碱; 抗 HIV-1 活性

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2007)03-0337-03

Chemical constituents of fruiting bodies from basidiomycete *Suillus granulatus* and their anti-HIV-1 activity

DONG Ze-jun¹, WANG Fei¹, WANG Rui-rui², YANG Liu-meng², ZHENG Yong-tang², LIU Ji-kai¹

(1. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; 2. Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

Key words: *Suillus granulatus*; flazine; anti-HIV-1

收稿日期: 2006-06-11

基金项目: 国家科技攻关计划(992004BA719A14); 云南省科技攻关计划(2004NG12)

作者简介: 董泽军(1974-), 男, 助理研究员, 贵州省瓮安县人, 1998 年毕业于贵阳医学院药系, 主要从事高等真菌化学及生物活性研究。Tel: (0871)5212285 E-mail: zjdong@mail.kib.ac.cn

* 通讯作者 刘吉开 Tel: (0871)5216327 Fax: (0871)5150227 E-mail: jkliu@mail.kib.ac.cn

点柄乳牛肝菌 *Suillus granulatus* (Fr.) Kuntze 又称点柄粘盖牛肝菌,属于牛肝菌目乳牛肝菌科真菌,该菌群生或丛生于夏秋季阔叶林中,常与松、杉等树木形成外生菌根,广泛分布于云南、河北、贵州、吉林、黑龙江、台湾、西藏等省区。点柄乳牛肝菌对小白兔肉瘤 S₁₈₀ 和艾氏癌的抑制率分别为 80% 和 70%。还有驱风解毒、消肿之功效^[1]。该菌子实体的 CH₂Cl₂ 提取物对革兰阳性菌和革兰阴性菌有显著的抑制活性,对肿瘤细胞也有一定的抑制活性^[2,3]。为了弄清该真菌的生物活性成分,对其子实体进行了化学成分研究,从中分离鉴定了 9 个化合物,分别是:酒渣碱(I)、5 α ,8 α -过氧麦角甾-6,22-二烯-3 β -醇(II)、麦角甾-5,7,22-三烯-3 β -醇(III)、麦角甾-5,7,22-三烯-3 β -O- β -D-吡喃葡萄糖苷(IV)、尿嘧啶(V)、硫代乙酸酐(VI)、硬脂酸(VII)、3-吡啶甲酸(VIII)和 D-阿洛糖醇(IX)。其中化合物 I 为首次从高等真菌中分离得到,经生物活性测试,该化合物具有抗 HIV-1 活性,对 C8166 细胞的毒性较小,CC₅₀ 为 87.86 μ g/mL,抑制 HIV-1 诱导 C8166 细胞形成合胞体的 EC₅₀ 为 7.27 μ g/mL,治疗指数(TI 值)为 12.09。曾有文献报道,化合物 I 对鼠的乳腺肿瘤组织有很好的抑制活性^[5],但该化合物的抗 HIV-1 活性未见报道。

1 仪器与材料

熔点用四川大学科学仪器厂的 XRC-1 型显微熔点仪测定。核磁共振用 Bruker AV-400 核磁共振仪测定,红外光谱采用 Tensor 27 红外光谱仪测定,质谱用 VG Autospec-3000 型质谱仪测定。柱色谱用硅胶以及硅胶 GF₂₅₄ 均为青岛海洋化工厂产品。真菌样品采自于云南楚雄,由中国科学院昆明植物研究所刘培贵研究员和王向华博士鉴定。

2 提取和分离

新鲜子实体用 95% 工业乙醇室温浸提 3 次,提取液合并浓缩后用 CHCl₃ 萃取 3 次,残渣再用 CHCl₃-MeOH(1:1) 提取 3 次,合并 CHCl₃ 和 CHCl₃-MeOH(1:1) 提取液,减压浓缩得浸膏 4.8 kg。称取 1.7 kg 经硅胶柱色谱分离,CHCl₃-MeOH 梯度洗脱,(9:1) 洗脱部分静置后有黄色粉末析出,经氯仿-甲醇反复重结晶得化合物 I,(8:2) 部分经反复硅胶柱色谱分离得到化合物 II~V,(7:3) 洗脱部分经反复硅胶柱色谱分离得化合物 VI~IX。

3 结构鉴定

化合物 I:强荧光黄色粉末,碘化铯钾反应呈阳性,熔点 230~233 $^{\circ}$ C。¹H-NMR(DMSO-d₆) δ :8.83

(1H,s,H-4),8.41(1H,d,J=7.9 Hz,H-5),7.34(1H,dd,J=7.9,7.2 Hz,H-6),7.64(1H,dd,J=8.2,7.2 Hz,H-7),7.81(1H,d,J=8.2 Hz,H-8),11.59(1H,s,NH-9),7.42(1H,d,J=3.2 Hz,H-3'),6.62(1H,d,J=3.2 Hz,H-4'),4.68(2H,s,H-6'),¹³C-NMR(DMSO-d₆) δ :131.9(s,C-1),132.5(s,C-1a),137.0(s,C-3),115.7(d,C-4),129.8(s,C-4a),120.9(s,C-5a),122.0(d,C-5),120.5(d,C-6),128.9(s,C-7),112.8(d,C-8),141.4(s,C-8a),166.4(s,C-10),151.2(s,C-2'),111.1(d,C-3'),109.2(d,C-4'),157.3(s,C-5'),56.0(t,C-6')。正离子 FAB-MS:309[M+1]⁺。上述波谱数据与文献值^[4,5]吻合,故该化合物 I 被鉴定为酒渣碱(flazine)。

化合物 II:无色针晶(石油醚-丙酮)。¹H-NMR(CDCl₃) δ :3.94(1H,m,H-3),6.22(1H,d,J=8.5 Hz,H-6),6.48(1H,d,J=8.5 Hz,H-7),0.86(3H,s,H-18),1.06(3H,s,H-19),0.97(3H,d,J=6.8 Hz,H-21),5.11(1H,dd,J=15.3,8.0 Hz,H-22),5.19(1H,dd,J=15.3,7.5 Hz,H-23),0.82(3H,d,J=6.8 Hz,H-26),0.83(3H,d,J=6.8 Hz,H-27),0.89(3H,d,J=6.8 Hz,H-28)。¹³C-NMR(CDCl₃) δ :34.7(t,C-1),30.1(t,C-2),66.5(d,C-3),37.0(t,C-4),82.1(s,C-5),135.4(d,C-6),130.7(d,C-7),79.4(s,C-8),51.1(d,C-9),37.0(s,C-10),23.4(t,C-11),39.3(t,C-12),44.6(s,C-13),51.7(d,C-14),20.6(t,C-15),28.6(t,C-16),56.2(d,C-17),12.9(q,C-18),18.2(q,C-19),39.7(d,C-20),20.9(q,C-21),135.2(d,C-22),13.4(d,C-23),42.8(d,C-24),33.1(d,C-25),19.6(q,C-26),19.9(q,C-27),17.5(q,C-28)。EI-MS *m/z*:428[M]⁺(9),410[M-H₂O]⁺(17),396[M-O₂]⁺(55),363(21),271(10),251(30),152(42),107(35),69(100)。上述波谱数据与文献^[6]数据相吻合,故该化合物 II 被鉴定为 5 α ,8 α -过氧麦角甾-6,22-二烯-3 β -醇。

化合物 III:无色针晶(石油醚-丙酮)。¹H-NMR(C₅D₅N):3.94(1H,m,H-3),5.68(1H,br d,J=5.3 Hz,H-6),5.48(1H,br d,J=5.3 Hz,H-7),0.67(3H,s,H-18),1.03(3H,s,H-19),1.07(3H,d,J=6.5 Hz,H-21),5.20(1H,dd,J=15.3,8.0 Hz,H-22),5.27(1H,dd,J=15.3,7.5 Hz,H-23),0.86(3H,d,J=6.6 Hz,H-26),0.87(3H,d,J=6.6 Hz,H-27),0.96(3H,d,J=6.8 Hz,H-28)。¹³C-NMR(C₅D₅N) δ :39.0(t,C-1),33.0(t,C-2),69.9(d,C-

3), 42.0 (t, C-4), 140.9 (s, C-5), 119.7 (d, C-6), 117.2 (d, C-7), 141.3 (s, C-8), 46.7 (d, C-9), 37.5 (s, C-10), 21.4 (t, C-11), 39.4 (t, C-12), 43.1 (s, C-13), 54.9 (d, C-14), 23.4 (t, C-15), 28.8 (t, C-16), 55.9 (d, C-17), 12.2 (q, C-18), 16.6 (q, C-19), 40.8 (d, C-20), 21.4 (q, C-21), 136.2 (d, C-22), 132.2 (d, C-23), 43.1 (d, C-24), 33.4 (d, C-25), 19.9 (q, C-26), 20.2 (q, C-27), 17.9 (q, C-28)。EI-MS m/z : 396[M]⁺ (25), 378[M-H₂O]⁺ (3), 363 (19), 337 (17), 271 (33), 253 (20), 157 (25), 143 (27), 105 (34), 69 (100)。上述波谱数据与文献^[7]数据相吻合, 故该化合物 III 被鉴定为麦角甾-5,7,22-三烯-3 β -醇。

化合物 IV: 无色针晶(石油醚-丙酮)。¹H-NMR (C₃D₅N) δ : 3.96 (1H, m, H-3), 5.61 (1H, br d, $J=5.3$ Hz, H-6), 5.42 (1H, br d, $J=5.3$ Hz, H-7), 0.62 (3H, s, H-18), 0.90 (3H, s, H-19), 1.05 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-21), 5.20 (1H, dd, $J=15.9, 7.6$ Hz, H-22), 5.26 (1H, dd, $J=15.9, 7.2$ Hz, H-23), 0.85 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-26), 0.86 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-27), 0.95 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-28), 5.03 (1H, d, $J=17.7$ Hz, H-1'), 4.00-4.30 (4H, m, H-2', 3', 4', 5'), 4.58 (1H, dd, $J=12.0, 1.8$ Hz, H-6'a), 4.40 (1H, d, $J=12.0, 4.5$ Hz, H-6'b)。¹³C-NMR (C₃D₅N) δ : 38.6 (t, C-1), 30.6 (t, C-2), 76.9 (d, C-3), 38.0 (t, C-4), 140.2 (s, C-5), 120.1 (d, C-6), 117.0 (d, C-7), 141.0 (s, C-8), 46.4 (d, C-9), 37.5 (s, C-10), 21.3 (t, C-11), 39.3 (t, C-12), 43.0 (s, C-13), 54.8 (d, C-14), 23.4 (t, C-15), 28.7 (t, C-16), 55.9 (d, C-17), 12.2 (q, C-18), 16.4 (q, C-19), 40.8 (d, C-20), 21.4 (q, C-21), 136.1 (d, C-22), 132.2 (d, C-23), 43.1 (d, C-24), 33.4 (d, C-25), 19.9 (q, C-26), 20.2 (q, C-27), 17.9 (q, C-28), 102.6 (d, C-1'), 75.4 (d, C-2'), 78.6 (d, C-3'), 71.7 (d, C-4'), 78.5 (d, C-5'), 62.9 (t, C-6')。EI-MS m/z : 396[M-Glc]⁺, 378, 363, 337, 253。上述波谱数据与文献值^[7]相吻合, 故该化合物 IV 被鉴定为麦角甾-5,7,22-三

烯-3 β -O- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 V: 白色粉末(CHCl₃-MeOH)。¹H-NMR 和¹³C-NMR波谱数据与文献值^[8]一致, 故该化合物 V 被鉴定为尿嘧啶。

化合物 VI: 无色晶体(CHCl₃-MeOH)。¹H-NMR、¹³C-NMR 和 FAB-MS 波谱数据与文献值^[8]相符, 故该化合物 VI 被鉴定为硫代乙酸酐

化合物 VII: 无色晶体(石油醚-丙酮)。NMR 与 MS 数据与文献^[8]报道一致, 故该化合物被鉴定为硬脂酸。

化合物 VIII: 无色晶体(CHCl₃-MeOH)。¹H-NMR 和¹³C-NMR波谱数据与文献值^[9]一致, 故该化合物被鉴定为 3-吡啶甲酸。

化合物 IX: 无色针晶(CHCl₃-MeOH), ¹H-NMR、¹³C-NMR 和 EI-MS 数据与文献值^[8]完全一致, 故该化合物 IX 被鉴定为 D-阿洛糖醇。

References:

[1] Yun M S, Sun P Q. *Sichuan Mushroom* (四川真菌) [M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press, 1995.
 [2] Tringali C, Geraci C, Nicolosi G, et al. An antitumor principle from *Suillus granulatus* [J]. *J Nat Prod*, 1989, 52: 844-845.
 [3] Tringali C, Piattelli M, Geraci C, et al. Antimicrobial tetraprenylphenols from *Suillus granulatus* [J]. *J Nat Prod*, 1989, 52: 941-947.
 [4] Nakatsuka SI, Feng B N, Goto T, et al. Structures of flazin and YS, highly fluorescent compounds isolated from Japanese soy Sauce [J]. *Tetrahedron Lett*, 1986, 27: 3399-3402.
 [5] Su B N, Chang L C, Park E J, et al. Bioactive constituents of the seeds of *Brucea javanica* [J]. *Planta Med*, 2002, 68: 730-733.
 [6] Gao J M, Hu L, Liu J K. A novel sterol from Chinese truffles *Tuber indicum* [J]. *Steroids*, 2001, 66: 771-775.
 [7] Takaishi Y, Uda M, Ohashi T, et al. Glycosides of ergosterol derivatives from *Hericium erinacens* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30: 4117-4120.
 [8] Gao J M, Shen J, Yang X, et al. The chemical constituents of *Russula ochroleuca* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 2001, 23(3): 385-393.
 [9] Dommisse R, Freyne E, Esmans E, et al. ¹³C-NMR shift increments for 3-substituted pyridines [J]. *Heterocycles*, 1981, 16: 1893-1897.

《中草药》投稿特别注意事项

1. 实验性论文需要单位介绍信(注明: 论文内容真实, 作者排名无争议, 无一稿两投, 无泄密)。
2. 创新性论文优先发表, 新化合物免收版面费。
3. 图题、表题、图注、表注需中英文双语表示。
4. 文后参考文献译成英文。
5. 本刊不收审稿费, 但刊用稿件要收取版面费。
6. 投稿时请留下联系方式(电话和 E-mail)。