

- 核细胞 TNF- α 水平及增殖活性的影响 [J]. 中国生化药物杂志, 2004, 25(5): 268-270.
- [8] Fumihide T, Nobuo Y, Remiko Y, *et al.* The liquid culture filtrates of *Paecilomyces tenuipes* (Peck) Samson (= *Isaria japonica* Yasuda) and *Paecilomyces cicadae* (Miquel) Samson (= *Isaria sinclairii* (Berk.) Llod) regulate Th1 and Th2 cytokine response in murine Peyer's patch cells *in vitro* and *ex vivo* [J]. *Int Immunopharmacol*, 2005, 5(5): 903-916.
- [9] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术 [M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1999.
- [10] 王展, 方积年. 高场核磁共振波谱在多糖结构中的应用 [J]. 分析化学评述与进展, 2000, 28(2): 242.
- [11] Stenutz R, Jansson P E, Widmalm G. Computer-assisted structural analysis of oligo- and polysaccharides: An extension of CASPER to multibranched structures [J]. *Carbohydr Res*, 1998, 306(1-2): 11-17.
- [12] Wang X S, Duan J Y, Fang J N. Structural features of a polysaccharide from *Centella asiatica* [J]. *Chin Chem Lett*, 2004, 15(2): 189.
- [13] Yuriy A K, Alexander S S, Sofya N S, *et al.* Structure of the O-polysaccharide of *Aeromonas hydrophila* O:34; a case of random O-acetylation of 6-deoxy-L-talose [J]. *Carbohydr Res*, 2002, 337(15): 1381-1386.
- [14] Dominika D, Philip V T, Nikolay P A, *et al.* Structure of the O-specific polysaccharide of *Proteus penneri* 103 containing ribitol and 2-aminoethanol phosphates [J]. *Carbohydr Res*, 2002, 337(17): 1535-1540.
- [15] Zhao G H, Kan J Q, Lib Z X, *et al.* Structural features and immunological activity of a polysaccharide from *Dioscorea opposita* Thunb. roots [J]. *Carbohydr Poly*, 2005, 61(2): 125-131.
- [16] Fishman M, Gunther G. Induction of tumor cell resistance to macrophage-mediated lysis by preexposure to non-activated macrophages [J]. *Cell Immunol*, 1986, 99(1): 241-256.
- [17] Chen Y J, Shiao M S, Lee S S, *et al.* Effect of *Cordyceps sinensis* on the proliferation and differentiation of human leukemic U937 cells [J]. *Life Sci*, 1997, 60(25): 2349-2359.
- [18] 陆榕, 孙立崧, 王仲孚, 等. 细脚拟青霉多糖 I 的化学结构 [J]. 中草药, 2001, 32(10): 865-867.
- [19] 袁建国, 程显好, 侯永勤. 冬虫草夏草多糖组分分析及药理实验 [J]. 食品与药品, 2005, 7(1A): 45-48.

变绿红菇化学成分研究

汤建国^{1,2}, 邵红军¹, 刘吉开^{1*}

(1. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204;

2. 红塔烟草(集团)有限责任公司技术中心, 云南 玉溪 653100)

摘要:目的 研究变绿红菇 *Russula virescens* 子实体化学成分。方法 变绿红菇子实体用 95%乙醇浸泡提取浓缩, 经硅胶、RP-8、Sephadex LH-20 等多种材料进行分离, 波谱学方法鉴定化合物的结构。结果 分离鉴定了 8 个化合物, 分别为铁屎米酮 (canthin-6-one, I)、3 β -羟基-5 α , 8 α -过氧化麦角甾-6, 22-二烯 (II)、3 β -羟基-麦角甾-5, 7-22-三烯 (III)、3 β , 5 α , 6 β -三羟基-麦角甾-7, 22-二烯 (IV)、硫代乙酸酐 (V)、顺丁烯二酸 (VI)、D-阿洛醇 (VII)、腺嘌呤核苷 (VIII)。结论 所有化合物均为首次从该菌中分到, 其中化合物 I 为首次从该属中分到。

关键词:变绿红菇; 铁屎米酮; 3 β -羟基-5 α , 8 α -过氧化麦角甾-6, 22-二烯

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)12-1776-03

Chemical constituents of *Russula virescens*

TANG Jian-guo^{1,2}, SHAO Hong-jun¹, LIU Ji-kai¹

(1. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany,

Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; 2. Center of Technology,

Hongta Tobacco Group Co., Ltd., Yuxi 653100, China)

Abstract: Objective To study the active constituents of *Russula virescens*. **Methods** The compounds were isolated by silica gel, RP-8, Sephadex LH-20 and their structures were elucidated by spectral methods. **Results** Eight compounds were isolated and identified as canthin-6-one (I), 5 α , 8 α -epidioxy-(22E, 24R)-ergosta-6, 22-dien-3 β -ol (II), (22E, 24R)-ergosta-5, 7, 22-trien-3 β -ol (III), (22E, 24R)-ergosta-7, 22-dien-3 β , 5 α , 6 β -triol (IV), thioacetic anhydride (V), maleic acid (VI), D-allitol (VII), ribosido-

收稿日期: 2008-03-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30470027)

作者简介: 汤建国 (1975-), 湖南沅江市人, 中国科学院昆明植物研究所在读博士生, 从事高等真菌次生代谢产物活性成分研究。

Tel: (0871) 5223411 E-mail: tjg111@163.com

* 通讯作者 刘吉开 E-mail: jkliu@mail.kib.ac.cn

enine (Ⅷ)。Conclusion All compounds are isolated from this high fungus for the first time and compound I is firstly isolated from plants of genus *Russula*.

Key words: *Russula virescens* (Schaeff) Fr.; canthin-6-one; 5 α , 8 α -epidioxy-(22*E*, 24*R*)-ergosta-6, 22-dien-3 β -ol

变绿红菇 *Russula virescens* (Schaeff) Fr. 属红菇科红菇属真菌, 云南俗称“青头菌”, 我国各地均有分布^[1]; 文献报道其子实体热水提取物对小鼠肉瘤180和艾氏腹水癌的抑制率均为70%^[2]; 其化学成分国内外均未见报道, 为了寻找其抗癌活性成分, 本实验研究变绿红菇子实体中的次生代谢产物, 利用常规分离手段从其乙醇提取物中分离鉴定了8个化合物, 分别为铁屎米酮(I)、3 β -羟基-5 α , 8 α -过氧化麦角甾-6, 22-二烯(Ⅱ)、3 β -羟基-麦角甾-5, 7, 22-三烯(Ⅲ)、3 β , 5 α , 6 β -三羟基-麦角甾-7, 22-二烯(Ⅳ)、硫代乙酸酐(V)、顺丁烯二酸(Ⅵ)、*D*-阿洛醇(Ⅶ)、腺嘌呤核苷(Ⅷ)。所有化合物均为首次从该菌中分到, 化合物I为首次从该属中分到, 文献报道化合物I^[3,4]和Ⅱ^[5-7]有极强的抗癌活性, 是该菌子实体抗癌主要活性成分。

1 材料与仪器

变绿红菇 *R. virescens* (Schaeff) Fr. 新鲜子实体采集于云南昆明附近, 标本由昆明植物研究所分类室王向华女士鉴定, 真菌标本存于昆明植物研究所隐花植物标本馆(HKAS38747)。熔点用四川大学科学仪器厂生产的XRC-1型显微熔点仪测定; NMR由Bruker AM-400核磁共振仪测定, TMS为内标; MS由VG Auto Spec-3000和API QS-TAR Pulsar质谱仪测定; 薄层色谱硅胶和柱色谱硅胶均为青岛海洋化工厂产品; RP-8和Sephadex LH-20为Merk产品。显色方法为254和365 nm荧光、硫酸-香草醛加热显色及碘蒸气显色。

2 提取与分离

新鲜变绿红菇子实体用95%乙醇室温提取得到约36 g浸膏。浸膏以醋酸乙酯-水分配, 减压浓缩回收溶剂, 得到醋酸乙酯部分约9 g, 水相减压浓缩后用热甲醇溶解得到甲醇部分约16 g。醋酸乙酯部分上硅胶柱色谱分离, 以石油醚-丙酮系统洗脱得3组分, 组分1经反复柱色谱得化合物I(8 mg)、Ⅱ(12 mg)和Ⅲ(15 mg); 组分2经重结晶得化合物Ⅳ(40 mg); 组分3经反复柱色谱、Sephadex LH-20(甲醇-氯仿1:1洗脱)分离得化合物V(14 mg)。甲醇部分上硅胶柱分离, 以氯仿-甲醇梯度洗脱得2组分, 组分1经反复柱色谱、RP-8色谱、重结晶得化合

物Ⅵ(18 mg)和Ⅶ(20 mg); 组分2经反复柱色谱、重结晶得化合物Ⅷ(16 mg)。

3 结构鉴定

化合物I: 铁屎米酮(canthin-6-one), 黄色晶体, C₁₄H₈N₂O, mp 161~163 °C; ESI-MS m/z : 243 ([M+Na]⁺, 100); ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 8.70(1H, d, J =4.8 Hz, H-2), 8.50(1H, d, J =8.0 Hz, H-8), 7.98(1H, d, J =8.0 Hz, H-11), 7.90(1H, d, J =9.6 Hz, H-4), 7.80(1H, d, J =4.8 Hz, H-1), 7.59(1H, t, J =8.0 Hz, H-9), 7.42(1H, t, J =8.0 Hz, H-10), 6.88(1H, d, J =9.6 Hz, H-5); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 159.2(C-6), 145.6(C-2), 139.3(C-4), 139.1(C-7a), 135.9(C-3a), 131.7(C-3b), 130.6(C-9), 129.9(C-11b), 128.7(C-5), 125.4(C-10), 124.1(C-11a), 122.4(C-11), 117.0(C-8), 116.2(C-1)。以上波谱数据与文献相符^[3]。

化合物Ⅱ: 3 β -羟基-5 α , 8 α -过氧化麦角甾-6, 22-二烯, 无色针晶, C₂₈H₄₄O₃, mp 177~178 °C; EI-MS m/z : 428([M]⁺, 10), 410([M-H₂O]⁺, 20), 396([M-O₂]⁺, 100), 337(24), 363(32), 248(37), 152(30), 107(29), 95(32), 81(56), 69(87), 55(85); ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 6.50(1H, d, J =8.4 Hz, H-7), 6.22(1H, d, J =8.4 Hz, H-6), 5.19(1H, dd, J =15.2, 7.6 Hz, H-23), 5.11(1H, dd, J =15.2, 7.6 Hz, H-22), 3.94~3.92(1H, m, H-3), 1.06(3H, s, H-19), 0.97(3H, d, J =6.4 Hz, H-21), 0.86(3H, s, H-18), 0.89(3H, d, J =5.2 Hz, H-28), 0.83(3H, d, J =4.8 Hz, H-26), 0.82(3H, d, J =4.8 Hz, H-27)。¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 135.4(C-6), 135.2(C-22), 132.4(C-23), 130.8(C-7), 82.1(C-5), 79.4(C-8), 66.7(C-3), 56.4(C-17), 51.5(C-14), 51.2(C-9), 44.6(C-13), 42.8(C-24), 39.5(C-20), 39.1(C-12), 37.1(C-10), 37.0(C-4), 34.7(C-1), 33.5(C-25), 30.3(C-2), 28.2(C-16), 23.5(C-11), 20.7(C-15), 19.9(C-27), 19.7(C-26), 18.8(C-21), 18.2(C-19), 17.5(C-28), 12.6(C-18)。以上波谱数据与文献相符^[5]。

化合物Ⅲ: 3 β -羟基-麦角甾-5, 7, 22-三烯, 无色

针晶, $C_{28}H_{44}O$, mp 152~154 °C; EI-MS m/z : 396 ($[M]^+$, 100), 378 ($[M-H_2O]^+$, 7), 363 (79), 337 (43), 253 (38), 157 (37), 143 (46), 109 (29), 95 (32), 81 (56), 69 (84), 55 (87); 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.56~5.54 (1H, m), 5.18~5.17 (2H, m, H-22, 23), 3.62~3.60 (1H, m, H-3), 1.02 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-4), 0.91 (3H, s, H-19), 0.90 (3H, d, $J=6.4$ Hz, H-21), 0.78 (3H, d, $J=6.4$ Hz, H-26, 27), 0.67 (3H, s, H-18)。 ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 141.3 (C-8), 139.8 (C-5), 135.6 (C-22), 132.1 (C-23), 119.6 (C-6), 116.4 (C-7), 70.5 (C-3), 55.9 (C-17), 54.6 (C-14), 46.4 (C-9), 42.9 (C-13), 42.8 (C-24), 40.9 (C-4), 40.4 (C-20), 39.2 (C-12), 38.4 (C-1), 37.1 (C-10), 33.1 (C-25), 32.1 (C-2), 28.3 (C-16), 23.0 (C-15), 21.2 (C-21), 21.2 (C-11), 19.9 (C-26), 19.7 (C-27), 17.6 (C-28), 16.3 (C-19), 12.1 (C-18)。以上波谱数据与文献相符^[8]。

化合物 N: 3 β , 5 α , 6 β -三羟基-麦角甾-7, 22-二烯, 无色针晶, $C_{28}H_{46}O_3$, mp 224~226 °C; EI-MS m/z : 430 ($[M]^+$, 5), 412 ($[M-H_2O]^+$, 100), 394 (70), 379 (65), 251 (35), 107 (28); 1H -NMR (C_5D_5N , 400 MHz) δ : 5.75 (1H, dd, $J=4.8, 2.4$ Hz, H-7), 5.24 (1H, dd, $J=15.2, 7.6$ Hz, H-23), 5.19 (1H, dd, $J=15.2, 7.6$ Hz, H-22), 4.82~4.80 (1H, m, H-3), 4.31 (1H, br. s, H-6), 0.67 (3H, s, H-18), 1.53 (3H, s, H-19), 1.07 (3H, d, $J=6.4$ Hz, H-21), 0.96 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-28), 0.87 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-27), 0.86 (3H, d, $J=6.4$ Hz, H-26); ^{13}C -NMR (C_5D_5N , 100 MHz) δ : 142.1 (C-8), 136.4 (C-22), 132.2 (C-23), 120.4 (C-7), 76.2 (C-5), 74.3 (C-6), 67.6 (C-3), 56.3 (C-17), 55.3 (C-14), 43.8 (C-9), 43.8 (C-13), 43.1 (C-24), 41.9 (C-4), 40.7 (C-20), 40.0 (C-12), 38.1 (C-10), 33.8 (C-2), 33.4 (C-25), 32.6 (C-1), 28.4 (C-16), 23.5 (C-15), 22.4 (C-11), 20.7 (C-26), 20.1 (C-21), 19.8 (C-27), 17.8 (C-28), 18.8 (C-19), 12.4 (C-18)。以上波谱数据与文献相符^[8]。

化合物 V: 硫代乙酸酐, $C_4H_6O_2S$, 白色粉末; FAB⁻-MS m/z : 117 (100, $[M-H]^-$); 1H -NMR (C_5D_5N , 400 MHz) δ : 2.56 (3H, s, $-CH_3$); ^{13}C -NMR (C_5D_5N , 100 MHz) δ : 176.2 (s, CO), 29.8 (s, $-CH_3$)。以上波谱数据与文献相符^[9]。

化合物 VI: 顺丁烯二酸, 无色针晶, $C_4H_4O_4$, mp 136~138 °C; FAB⁻-MS m/z : 115 (100, $[M-H]^-$); ^{13}C -NMR (D_2O , 100 MHz) δ : 173.8 (s, C-1, 4), 136.5 (d, C-2, 3)。以上波谱数据与文献相符^[9]。

化合物 VII: D-阿洛醇, 无色针晶, $C_{12}H_{14}O_6$, mp 154~156 °C; FAB⁻-MS m/z : 181 (100, $[M-H]^-$); 1H -NMR (D_2O , 400 MHz) δ : 3.74 (2H, dd, $J=2.8, 11.6$ Hz), 3.62 (4H, m), 3.55 (2H, dd, $J=2.8, 11.6$ Hz); ^{13}C -NMR (D_2O , 100 MHz) δ : 73.6 (C-3, 4), 72.0 (C-2, 5), 66.0 (C-1, 6)。以上数据与文献相符^[10]。

化合物 VIII: 腺嘌呤核苷, 白色粉末, $C_{10}H_{13}N_5O_4$, FAB⁻-MS m/z : 266 (100, $[M-H]^-$); 1H -NMR (C_5D_5N , 400 MHz) δ : 8.70 (1H, s, H-2), 8.60 (1H, s, H-8), 8.42 (1H, br. s, NH_2), 6.70 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-1'), 5.48 (1H, t, $J=6.0$ Hz, H-2'), 5.05~5.03 (1H, m, H-4'), 4.75 (1H, t, $J=2.8$ Hz, H-3'), 4.29 (1H, dd, $J=2.4, 12.4$ Hz, H-5a), 4.12 (1H, dd, $J=2.4, 12.4$ Hz, H-5b); ^{13}C -NMR (C_5D_5N , 100 MHz) δ : 157.8 (C-6), 153.3 (C-2), 149.6 (C-4), 140.6 (C-8), 121.5 (C-5), 90.9 (C-1'), 87.7 (C-4'), 75.6 (C-2'), 72.4 (C-3'), 63.1 (C-5')。以上波谱数据与文献相符^[10]。

参考文献:

- [1] Hawksworth D L, Kirk P M, Sutton B C, *et al.* *Dictionary of the Fungi* [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1995.
- [2] 卯晓岚. 中国大型真菌 [M]. 郑州: 河南科技出版社, 2000.
- [3] Fukamiya N, Okano M, Aratani T, *et al.* Antitumor agents, 79. Cytotoxic antileukemic alkaloids from *Brucea antidysenterica* [J]. *J Nat Prod*, 1986, 49: 428-434.
- [4] Said A, Tokuda H, Farag A, *et al.* Antitumor activity of *Ailanthus excelsa* (Roxb.) [J]. *Planta Med*, 2006, 72: 965-966.
- [5] Matsueda S, Katsukura Y. Antitumor-active photochemical oxidation products of provitamin D [J]. *Chem Ind*, 1985, 12: 411-412.
- [6] Kahlos K, Kangas L, Hiltunen R, *et al.* Ergosterol peroxide, an active compound from *Inonotus rodatus* [J]. *Planta Med*, 1989, 55(4): 389-390.
- [7] Lin C N, Tome W P, Won S J. Novel cytotoxic principles of *Formosan Ganoderma lucidum* [J]. *J Nat Prod*, 1991, 54(4): 998-1002.
- [8] Gao J M, Hu L, Liu J K. A novel sterol from Chinese truffles *Tuber indicum* [J]. *Steroids*, 2001, 66: 771-774.
- [9] 麻兵继, 刘吉开. 密褶红菇化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(1): 29-32.
- [10] Gao J M, Dong Z J, Liu J K. A new ceramide from the Basidiomycete *Russula cyanoxantha* [J]. *Lipids*, 2001, 36: 175-180.