

脱皮马勃化学成分的研究

苏明智^{1,2}, 罗舟², 颜鸣¹, 赵庆春^{1*}

1. 沈阳军区总医院 药剂科, 辽宁 沈阳 110840

2. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

摘要: 目的 研究脱皮马勃的化学成分。方法 采用色谱技术进行分离纯化, 通过理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构。结果 从脱皮马勃中分离鉴定了12个化合物, 分别是麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 β -醇 (1)、麦角甾-7, 22-二烯-3 β -酮 (2)、麦角甾-5 α , 8 α -环二氧-6, 22-二烯-3 β -醇 (3)、麦角甾-7, 22-二烯-3 β , 5 α , 6 β -三醇 (4)、反式桂皮醇 (5)、反式桂皮酸 (6)、对羟基苯甲酸 (7)、4-羟基苯基乙酸酯 (8)、苯丙氨酸 (9)、正二十八烷 (10)、对苯二酚 (11)、棕榈酸 (12)。结论 化合物4~10为首次从脱皮马勃中分离得到。

关键词: 脱皮马勃; 麦角甾-7, 22-二烯-3 β , 5 α , 6 β -三醇; 反式桂皮醇; 对羟基苯甲酸; 4-羟基苯基乙酸酯

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2012)04-0664-03

Studies on chemical constituents of *Lasiosphaera fenzlii*

SU Ming-zhi^{1,2}, LUO Zhou², YAN Ming¹, ZHAO Qing-chun¹

1. Department of Pharmacy, General Hospital of Shenyang Military Region, Shenyang 110840, China

2. School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Key words: *Lasiosphaera fenzlii* Reich.; ergosta-7, 22-diene-3 β , 5 α , 6 β -triol; *trans*-cinnamic alcohol; *p*-hydroxybenzoic acid; 4-hydroxyphenylacetate

脱皮马勃 *Lasiosphaera fenzlii* Reich. 属于灰包科 (Lycoperdaceae) 脱皮马勃属 *Lasiosphaera* Reich. 真菌, 是我国民间常见的用于止血、消肿的药用真菌之一, 其味辛、平, 归肺经。具有清肺利咽、止血之功效^[1]。其药理作用主要表现在止血、抑菌、抗炎止咳、抗肿瘤等方面^[2]。目前对该属真菌化学成分的研究较少, 为了进一步开发和利用丰富的马勃资源, 探明其药理作用的物质基础, 本实验对脱皮马勃进行了系统的化学研究, 从中分离得到12个化合物, 根据理化性质和波谱学数据鉴定其结构分别为麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 β -醇 (ergosta-5, 7, 22-triene-3 β -ol, 1)、麦角甾-7, 22-二烯-3 β -酮 (ergosta-7, 22-dien-3 β -one, 2)、麦角甾-5 α , 8 α -环二氧-6, 22-二烯-3 β -醇 [5 α , 8 β -epidioxy-(22*E*, 24*E*)-ergosta-6, 22-dien-3 β -ol, 3]、麦角甾-7, 22-二烯-3 β , 5 α , 6 β -三醇 (ergosta-7, 22-diene-3 β , 5 α , 6 β -triol, 4)、反式桂皮醇 (*trans*-cinnamic alcohol, 5)、反式桂皮酸 (*trans*-cinnamic acid, 6)、对羟基苯甲酸 (*p*-

hydroxybenzoic acid, 7)、4-羟基苯基乙酸酯 (4-hydroxyphenylacetate, 8)、苯丙氨酸 (phenylalanine, 9)、正二十八烷 (octacosane, 10)、对苯二酚 (*p*-dihydroxybenzene, 11)、棕榈酸 (palmitic acid, 12)。化合物4~10为首次从脱皮马勃中分离得到。

1 仪器与试剂

Bruker—ARX—300型核磁共振仪(瑞士Bruker公司, TMS内标); 制备HPLC (JASCO PU—2087型, Intelligent HPLC Pump, UV—2075型UV-Vis检测器), YMC-pack ODS-A C₁₈ (150 mm×10 mm, 5 μ m) 分离柱; 薄层色谱硅胶和柱色谱硅胶 (青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 (Pharmacia); 用于制备液相的甲醇为色谱纯, 其余试剂为分析纯。

脱皮马勃于2010年3月购自安国市健仁药材有限公司, 经沈阳药科大学孙启时教授鉴定为灰包科脱皮马勃属脱皮马勃 *Lasiosphaera fenzlii* Reich.。

2 提取与分离

脱皮马勃干燥药材25.0 kg, 剪碎后用70%乙醇

收稿日期: 2011-07-12

作者简介: 苏明智 (1986—), 女, 黑龙江省双鸭山市人, 硕士研究生, 从事天然药物化学研究。E-mail: smz0310@163.com

*通讯作者 赵庆春 Tel: (024)28856205 E-mail: zhaoqc53@yahoo.com.cn

加热回流提取3次,每次2 h。合并滤液并减压浓缩后,依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取。取石油醚萃取物31.0 g,经减压硅胶柱色谱分离,石油醚-醋酸乙酯(99:1→9:1)梯度洗脱,得到6个部分(Fr. 1~6),其中Fr. 3经Sephadex LH-20凝胶柱色谱,以二氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,得到化合物**2**(20.3 mg)和**10**(25.6 mg); Fr. 5经减压硅胶色谱分离,石油醚-醋酸乙酯(99:1→9:1)梯度洗脱, Sephadex LH-20凝胶柱色谱以二氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,得到化合物**1**(30.5 mg)、**3**(20.7 mg)、**4**(115.3 mg)、**5**(10.2 mg)。取醋酸乙酯萃取物60.2 g,经减压硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(99:1→9:1)梯度洗脱,得到11个部分(Fr. 1~11),其中Fr. 1经硅胶柱色谱分离,石油醚-醋酸乙酯(100:0→9:1)梯度洗脱, Sephadex LH-20凝胶柱色谱以二氯甲烷-甲醇(1:1)洗脱,得到化合物**12**(10.3 mg); Fr. 7经硅胶柱色谱以二氯甲烷-甲醇(99:1→9:1)梯度洗脱、Sephadex LH-20凝胶柱色谱以甲醇洗脱以及制备HPLC(流动相为甲醇-水25:75)精制得到化合物**6**(15.1 mg)、**7**(9.1 mg)、**8**(8.3 mg)、**9**(8.0 mg); Fr. 8经硅胶柱色谱以二氯甲烷-甲醇(99:1→9:1)梯度洗脱、Sephadex LH-20凝胶柱色谱以甲醇洗脱,得到化合物**11**(11.8 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1**: 无色针状结晶(二氯甲烷), 10%硫酸-乙醇显色, 呈蓝黑色斑点。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.63 (3H, s, 18-CH₃), 0.83 (6H, t, J = 4.8 Hz, 26, 27-CH₃), 0.91 (3H, d, J = 6.9 Hz, 28-CH₃), 0.94 (3H, s, 19-CH₃), 1.03 (3H, d, J = 6.6 Hz, 21-CH₃), 5.18 (2H, m, H-22, 23), 5.38 (1H, m, H-7), 5.57 (1H, m, H-6)。以上数据与文献对照基本一致^[3], 鉴定化合物**1**为麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 β -醇。

化合物**2**: 无色针状结晶(二氯甲烷), 10%硫酸-乙醇显色, 呈紫红色斑点。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.59 (3H, s, 18-CH₃), 0.83 (3H, d, J = 4.5 Hz, 26-CH₃), 0.86 (3H, d, J = 4.5 Hz, 27-CH₃), 0.93 (3H, d, J = 6.9 Hz, 28-CH₃), 1.03 (3H, s, 19-CH₃), 1.05 (3H, d, J = 6.3 Hz, 21-CH₃), 5.21 (3H, m, H-22, 23, 7); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 39.0 (C-1), 38.3 (C-2), 212.2 (C-3), 44.4 (C-4), 43.1 (C-5), 30.2 (C-6), 117.2 (C-7), 140.0 (C-8), 49.1 (C-9), 34.6 (C-10), 21.9 (C-11), 39.5 (C-12), 43.5 (C-13), 55.2

(C-14), 23.1 (C-15), 28.3 (C-16), 56.1 (C-17), 12.4 (C-18), 12.7 (C-19), 40.7 (C-20), 21.3 (C-21), 132.2 (C-22), 135.7 (C-23), 43.1 (C-24), 33.3 (C-25), 19.9 (C-26), 20.2 (C-27), 17.8 (C-28)。以上数据与文献对照基本一致^[4], 鉴定化合物**2**为麦角甾-7, 22-二烯-3 β -酮。

化合物**3**: 无色针状结晶(二氯甲烷), 10%硫酸-乙醇显色, 呈墨绿色斑点。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.81 (3H, d, J = 6.6 Hz, 27-CH₃), 0.82 (3H, s, 18-CH₃), 0.84 (3H, d, J = 6.6 Hz, 26-CH₃), 0.88 (3H, s, 19-CH₃), 0.91 (3H, d, J = 6.9 Hz, 28-CH₃), 1.00 (3H, d, J = 6.6 Hz, 21-CH₃), 3.96 (1H, m, H-3), 5.16 (1H, dd, J = 13.8, 7.8 Hz, H-23), 5.24 (1H, dd, J = 13.8, 7.8 Hz, H-22), 6.24 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-7), 6.50 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-6); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 34.8 (C-1), 30.2 (C-2), 66.6 (C-3), 37.1 (C-4), 82.3 (C-5), 135.3 (C-6), 130.9 (C-7), 79.6 (C-8), 51.8 (C-9), 37.1 (C-10), 20.0 (C-11), 39.5 (C-12), 44.7 (C-13), 51.2 (C-14), 23.5 (C-15), 28.8 (C-16), 56.3 (C-17), 13.0 (C-18), 18.3 (C-19), 39.9 (C-20), 21.0 (C-21), 135.6 (C-22), 132.4 (C-23), 42.9 (C-24), 33.2 (C-25), 19.8 (C-26), 20.8 (C-27), 17.7 (C-28)。以上数据与文献对照基本一致^[4], 鉴定化合物**3**为麦角甾-5 α , 8 α -环二氧-6, 22-二烯-3 β -醇。

化合物**4**: 白色结晶(甲醇), 10%硫酸-乙醇显色, 呈紫色转墨绿色斑点。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 0.60 (3H, s, 18-CH₃), 0.82 (6H, d, J = 6.6 Hz, 26, 27-CH₃), 0.92 (3H, d, J = 6.6 Hz, 28-CH₃), 1.02 (3H, d, J = 6.6 Hz, 21-CH₃), 1.09 (3H, s, 19-CH₃), 3.62 (1H, m, H-3), 4.08 (1H, m, H-6), 5.19 (2H, m, H-22, 23), 5.35 (1H, brs, H-7); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 33.1 (C-1), 30.9 (C-2), 67.7 (C-3), 40.4 (C-4), 76.0 (C-5), 73.7 (C-6), 117.5 (C-7), 144.0 (C-8), 43.5 (C-9), 37.1 (C-10), 22.0 (C-11), 39.2 (C-12), 43.8 (C-13), 54.7 (C-14), 22.9 (C-15), 27.9 (C-16), 56.0 (C-17), 12.3 (C-18), 18.8 (C-19), 39.5 (C-20), 21.1 (C-21), 135.4 (C-22), 132.2 (C-23), 42.8 (C-24), 33.0 (C-25), 19.6 (C-26), 19.9 (C-27), 17.6 (C-28)。以上数据与文献对照基本一致^[5-6], 鉴定化合物**4**为麦角甾-7, 22-二烯-3 β , 5 α , 6 β -三醇。

化合物**5**: 黄色油状(二氯甲烷), 5%香草醛-浓硫酸反应呈绿色斑点。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.34 (2H, m, H-2, 6), 7.26 (1H, m, H-4),

7.19 (2H, m, H-3, 5), 6.57 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7), 6.32 (1H, dt, $J = 15.9, 5.7$ Hz, H-8), 4.28 (2H, dd, $J = 1.5, 5.7$ Hz, H-9, 10); ^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 136.7 (C-1), 131.2 (C-7), 128.6 (C-3, 5), 128.5 (C-4), 127.7 (C-8), 126.5 (C-2, 6), 63.7 (C-9)。由以上数据鉴定化合物 **5** 为反式桂皮醇。

化合物 **6**: 白色结晶 (甲醇), 溴钾酚绿反应呈阳性。 ^1H -NMR (300 MHz, CD_3OD) δ : 7.59 (2H, m, H-2, 6), 7.40 (3H, m, H-3, 4, 5), 7.68 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7), 6.48 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8)。以上数据与文献对照基本一致^[7], 鉴定化合物 **6** 为反式桂皮酸。

化合物 **7**: 白色针状结晶 (甲醇), 溴钾酚绿反应呈阳性, 三氯化铁-铁氰化钾反应呈阳性。 ^1H -NMR (300 MHz, CD_3OD) δ : 7.83 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2, 6), 6.87 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3, 5); ^{13}C -NMR (75 MHz, CD_3OD) δ : 169.7 (-COOH), 163.7 (C-4), 131.3 (C-2, 6), 124.6 (C-1), 116.4 (C-3, 5)。以上数据与文献对照基本一致^[8], 鉴定化合物 **7** 为对羟基苯甲酸。

化合物 **8**: 白色针状结晶 (甲醇), 三氯化铁-铁氰化钾反应呈阳性。 ^1H -NMR (300 MHz, CD_3OD) δ : 7.31 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2, 6), 6.74 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3, 5), 2.09 (3H, s, H-8); ^{13}C -NMR (75 MHz, CD_3OD) δ : 171.3 (C=O), 155.4 (C-4), 131.7 (C-1), 123.3 (C-2, 6), 116.2 (C-3, 5), 23.5 (C-8)。由以上数据可鉴定化合物 **8** 为 4-羟基苯基乙酸酯。

化合物 **9**: 白色粉末 (甲醇), 溴钾酚绿反应呈阳性, 茛三酮-乙醇反应呈阳性。 ^1H -NMR (300 MHz, D_2O) δ : 7.43 (2H, m, H-6, 8), 7.38 (1H, m, H-7), 7.34 (2H, m, H-5, 9), 4.00 (1H, dd, $J = 5.1, 7.8$ Hz, H-2), 3.30 (1H, dd, $J = 5.1, 14.4$ Hz, H-3a), 3.13 (1H, dd, $J = 7.8, 14.4$ Hz, H-3b); ^{13}C -NMR (75 MHz, D_2O) δ : 176.8 (-COOH), 138.0 (C-4), 132.2 (C-5, 9), 132.0 (C-6, 8), 130.5 (C-7), 58.9 (C-2), 39.2 (C-3)。以上数据与文献对照基本一致^[9], 鉴定化合物 **9** 为苯丙氨酸。

化合物 **10**: 白色粉末 (二氯甲烷), 碘蒸气熏呈黄色斑点。 ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (6H, t, $J = 6.5$ Hz, $2 \times -\text{CH}_3$), 1.23 (52H, m, $26 \times$

$-\text{CH}_2$); ^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 32.2 (C-3, 26), 29.9 (C-5~24), 29.6 (C-4, 25), 22.9 (C-2, 27), 14.3 (C-1, 28)。以上数据与文献对照基本一致^[10], 鉴定化合物 **10** 为正二十八烷。

化合物 **11**: 白色针晶 (甲醇), 三氯化铁-铁氰化钾反应呈阳性。与对苯二酚对照品共薄层 (展开条件二氯甲烷-甲醇 9:1), R_f 值一致。HPLC 分析, 与对苯二酚对照品保留时间相同。鉴定化合物 **11** 为对苯二酚。

化合物 **12**: 白色粉末 (二氯甲烷), 碘蒸气熏显黄色斑点。溴甲酚绿呈阳性, 能溶于 0.1% NaOH 溶液。 ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.86 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_3 -16), 1.23 (28H, m, $14 \times -\text{CH}_2$), 1.60 (2H, m), 2.33 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2)。以上数据与文献对照基本一致^[4], 鉴定化合物 **12** 为棕榈酸。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 邓志鹏, 孙隆儒. 中药马勃的研究进展 [J]. 中药材, 2006, 29(9): 996-998.
- [3] 王雪芹, 孙隆儒. 中药脱皮马勃的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19: 809-810, 846.
- [4] 王雪芹. 脱皮马勃次生代谢产物和抗肿瘤活性研究 [D]. 济南: 山东大学, 2007.
- [5] Keishi H, Fuyuki S, Naganori O, *et al.* Stimulative effects of (22*E*, 24*R*)-ergosta-7, 22-diene-3 β , 5 α , 6 β -triol from fruiting bodies of *Tricholoma auratum*, on a mouse osteoblastic cell line MC3T3-E1 [J]. *Biol Pharm Bull*, 2002, 25(8): 1040-1044.
- [6] 张晓琦, 庞国亮, 程 燕, 等. 赤芝孢子的三萜和甾体类成分研究 [J]. 中药材, 2008, 31(1): 41-44.
- [7] 尚振苹, 赵庆春, 谭菁菁, 等. 骨碎补的化学成分 [J]. 实用药物与临床, 2010, 13(4): 262-263, 277.
- [8] 郑公铭, 魏孝义, 徐良雄, 等. 龙眼果核化学成分的研究 [J]. 中草药, 2011, 42(6): 1053-1056.
- [9] 熊 山, 陈玉武, 叶祖光. 楮实子的化学成分研究 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(1): 34-36.
- [10] 王 超, 梁 辉, 郭俊明, 等. 滇南狸尾豆叶醋酸乙酯部分化学成分研究 (II) [J]. 中国民族民间医药, 2011 (2): 28-29.