黄绿蜜环菌水提取物的化学成分

马 琳[1],张耀洲[1*],党 军[2]

([1]天津大学药物科学与技术学院,天津 300072;[2]中国科学院西北高原生物研究所,西宁 810008)

摘 要 研究黄绿蜜环菌(*Armillaria luteo-virens*)子实体水提取物中的化学成分。采用反向/亲水二维制备液相色谱法对黄绿蜜环菌子实体水提取物进行分离纯化得到单体化合物,并根据理化性质和波谱学技术鉴定化合物结构。从黄绿蜜环菌子实体水提取物中分离得到7个化合物,分别鉴定为焦谷氨酸(1)、尿苷(2)、2′-脱氧尿苷(3)、尿嘧啶(4)、鸟苷(5)、肌苷(6)、腺苷(7)。化合物1~7均为首次从黄绿蜜环菌中分离得到。

关键词 黄绿蜜环菌;化学成分;反向/亲水二维制备液相色谱法;结构鉴定

中图分类号 R284.1 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2016)03-0291-03

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20160307

引用本文 马琳,张耀洲,党军. 黄绿蜜环菌水提取物的化学成分[J]. 中国药科大学学报,2016,47(3):291-293.
Cite this article as: MA Lin,ZHANG Yaozhou,DANG Jun. Chemical constituents from water extract of *Armillaria luteo-virens*[J]. *J China Pharm Univ*,2016,47(3):291-293.

Chemical constituents from water extract of *Armillaria luteo-virens*

MA Lin[1],ZHANG Yaozhou[1*],DANG Jun[2]

[1]*School of Pharmaceutical Science and Technology,Tianjin University,Tianjin 300072;*

[2]*Northwest Institute of Plateau Biology,Chinese Academy of Sciences,Xining 810008,China*

Abstract A two-dimensional preparative liquid chromatographic method was developed for purification of constituents from water extract of *Armillaria luteo-virens* using reversed phase preparative liquid chromatography (RPLC) coupled with hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC). Seven compounds were isolated from fruit bodies of *Armillaria luteo-virens*, and their structures were identified on the basis of physicochemical and spectroscopic analyses. These compounds were identified as pyroglutamic acid (**1**), uridine (**2**), 2′-deoxyuridine (**3**), uracil (**4**), guanosine (**5**), inosine (**6**), and adenosine (**7**). All the compounds were purified and identified from fruit bodies of *Armillaria luteo-virens* for the first time.

Key words *Armillaria luteo-virens*; chemical constituents; RPLC/ HILIC; structural identification

This study was supported by the Key Research Program of the Chinese Academy of Sciences(No. KSZD-EW-Z-004-05-2)

黄绿蜜环菌(*Armillaria luteo-virens*),又名黄蘑菇、金蘑菇,是一种珍稀野生食药用真菌。野生黄绿蜜环菌具有较高的营养价值,能够增强机体免疫能力和抗病能力[1]。有研究表明其硒含量较高,对重金属汞、镉等有解毒作用[2]。黄绿蜜环菌还具有抗流感、防治神经炎、脚气病、抗氧化和抗肿瘤等作用[3]。另有研究对黄绿蜜环菌子实体乙醚提取挥发油进行了测定,主要包括长链不饱和脂肪酸和部分麦角甾醇类化合物[4]。虽然对黄绿蜜环菌已有较多的报道,但尚未见对其单体化合物成分的研究报道。本实验究从黄绿蜜环菌子实体水提取物中分离得到7个化合物,分别鉴定为焦谷氨酸、尿苷、2′-脱氧尿苷、尿嘧啶、鸟苷、肌苷、腺苷,所有化合物均为首次从该真菌中分离得到。对黄绿蜜环菌水提取物的化学成分进行分析,可为黄绿蜜环菌的进一步研究及其相关食品、保健品、药品等的开发提供理论依据。

收稿日期 2015-12-19 * **通信作者** Tel:15102202719 E-mail:zyz_tjedu@126.com

基金项目 中国科学院重点部署项目资助项目(No. KSZD-EW-Z-004-05-2)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1 材 料

1.1 药材与试剂

黄绿蜜环菌购自青海省祁连县,由中科院西北高原生物研究所王启兰研究员鉴定为 *Armillaria luteo-virens* 的子实体。甲醇、乙腈为色谱纯(天津康科德试剂有限公司);其余试剂均为市售分析纯。实验用水为蒸馏水,经 Millipore 纯水器过滤而得。

1.2 仪 器

AL204 型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);DPX-400 核磁共振仪、Avance 300 核磁共振仪(德国 Bruker 公司);质谱用 Autospec-3000 仪测定(美国 Waters 公司);XT-4 型显微熔点测定仪(杭州雄发仪器有限公司);色谱柱为 10 μm 反向 C_{18} 制备柱(250 mm×50 mm)(日本大曹株式会社);10 μm 亲水色谱柱 XAmide(250 mm×20 mm)、Click XIon(250 mm×20 mm)(华谱新创科技有限公司);制备型液相仪器:DVT-DAC50(D-PLC601100)制备纯化系统(江苏迪沃特仪器设备科技公司);FLEXATM 模块化制备色谱(天津博纳艾杰尔科技有限公司)。

2 提取与分离

黄绿蜜环菌子实体 20 kg 经超微粉碎后过 40 目筛,粉末依次用 10、8、6 倍量超纯水加热提取 3 次,每次 2 h,合并提取液,6 000 r/min 离心 30 min,收集上清液浓缩至 2 L,加入 80% 无水乙醇醇沉处理,6 000 r/min 离心后减压干燥得到水提取浸膏(7 440 g)。用 25% 甲醇水溶液溶解,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,通过反向色谱分离模式进行第一维制备,以水-甲醇(95:5→5:95)梯度洗脱,检测波长 254 nm,流速 60 mL/min,共收集 14 个组分(Fr. 1 ~ Fr. 14)。Fr. 5(190.5 g)经 XAmide 色谱柱进行第二维制备,以水-乙腈(0:1→95:5)梯度洗脱,检测波长 254 nm,流速 20 mL/min,得化合物 **1**(82 mg)。Fr. 6(200 g)经 XAmide 色谱柱进行第二维制备,以水-乙腈(0:1→95:5)梯度洗脱,检测波长 254 nm,流速 20 mL/min,得化合物 **2**(158 mg)、**3**(126 mg)、**4**(94 mg)。Fr. 9(275 g)经 XIon 色谱柱进行第二维制备,以水-乙腈(0:1→95:5)梯度洗脱,检测波长 254 nm,流速 20 mL/min,得化合物 **5**(105 mg)和 **6**(96 mg)。Fr. 11(310 g)经XAmide色谱柱进行二维制备,以水-乙腈(0:1→95:5)梯度洗脱,检测波长 254 nm,流速 20 mL/min,得化合物 **7**(283 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 分子式为 $C_5H_7NO_3$。无色针状结晶,mp: 158 ~ 160 ℃,EI-MS *m/z* 129 $[M]^+$,101(M - CO),84(M - COOH),56(101 - COOH),46。^{1}H NMR(DMSO-d_6,600 MHz) δ: 4.06(1H,dd,*J* = 8.8,4.3 Hz,H-5),2.11(2H,t,*J* = 8.2 Hz,H-3),7.91(1H,s,NH),7.66(1H,dd,*J* = 7.4,8.0 Hz,H-10),1.93(1H,m,H-4β),12.6(1H,br. s,COOH),8.45(1H,dd,*J* = 7.8,1.5Hz,H-11),2.30(1H,m,H-4α)。^{13}C NMR(DMSO-d_6,150 MHz) δ: 24.8(t,C-4),30.1(t,C-3),174.9(s,COOH),54.8(d,C-5),178.0(s,C-2)。根据以上数据,并与文献[5]数据对照,确定化合物 **1** 为焦谷氨酸。

化合物 2 分子式为 $C_9H_{12}N_2O_6$。白色粉末,mp: 165 ~ 170 ℃,ESI-MS *m/z* 245 $[M + H]^+$。^{1}H NMR(CD_3OD,600 MHz) δ: 8.00(1H,d,*J* = 8.3 Hz,H-6),5.70(1H,d,*J* = 8.3 Hz,H-5),5.90(1H,d,*J* = 5.0Hz,H-1′),4.18(1H,t,*J* = 5.0 Hz,H-2′),4.14(1H,m,H-3′),4.00(1H,m,H-4′),3.73(1H,dd,*J* = 2.8,12.3Hz,H-5′a),3.83(1H,dd,*J* = 2.3,12.3 Hz,H-5′b);^{13}C NMR(CD_3OD,150 MHz) δ: 163.1(s,C-4),150.7(s,C-2),140.7(d,C-6),101.7(d,C-5),87.7(d,C-1′),84.8(d,C-4′),73.5(d,C-3′),69.8(d,C-2′),60.8(t,C-5′)。以上数据与文献报道基本一致[6-7],故鉴定化合物 **2** 为尿嘧啶核苷。

化合物 3 分子式为 $C_9H_{12}N_2O_5$。白色结晶性粉末,mp: 162 ~ 164 ℃,ESI-MS *m/z* 229.1 $[M + H]^+$。^{1}H NMR(DMSO-d_6,600 MHz) δ: 11.27(1H,br. s,H-1),7.85(1H,d,*J* = 8.2 Hz,H-4),6.15(1H,dd,*J* = 6.5,7.2 Hz,H-1′),5.63(1H,*d*,*J* = 8.2 Hz,H-5),4.23(1H,m,H-3′),3.78(1H,dd,*J* = 7.1,3.8 Hz,H-4′),3.55(2H,dd,*J* = 12.1,3.8 Hz,H-5′),2.08(2H,m,H-2′);^{13}C NMR(DMSO-d_6,150 MHz) δ: 163.8(s,C-4),151.0(s,C-2),141.1(d,C-6),102.2(d,C-5),87.9(d,C-4′),84.7(d,C-1′),71.0(d,C-3′),61.8(t,C-5′),40.0(t,C-2′)。以上数据与文献报道基本一致[8],鉴定

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

化合物 3 为 2′-脱氧尿苷。

化合物 4　分子式为 $C_4H_4N_2O_2$,淡黄色固体,mp: 334 ~ 338 ℃,ESI-MS *m/z* 113 $[M+H]^+$。^{1}H NMR(DMSO-d_6, 600 MHz) δ: 11.02 (NH, br. s), 7.43 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-6), 5.38 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-5), 10.94 (NH, br. s)。^{13}C NMR(DMSO-d_6, 150 MHz) δ: 142.5 (C-6), 151.8 (C-2), 164.7 (C-4), 100.2 (C-5)。与化合物 2(尿嘧啶核苷)的波谱数据比较发现,化合物 4 中缺少一个核糖残基,只有苷元结构。将以上数据与文献[9]报道的尿嘧啶比较,确定化合物 4 为尿嘧啶。

化合物 5　分子式为 $C_{10}H_{13}N_5O_5$。白色无定型粉末,mp: 240 ~ 243 ℃,ESI-MS *m/z* 282 $[M-H]^-$,^{1}H NMR(DMSO-d_6, 600 MHz) δ: 10.63 (1H, s, H-1), 7.93 (1H, s, H-8), 6.52 (2H, s, 2-NH_2), 5.69 (1H, d, *J* = 5.9 Hz, H-1′); ^{13}C NMR(DMSO-d_6, 150 MHz) δ: 156.7 (C-6), 153.6 (C-2), 151.3 (C-4), 135.5 (C-8), 116.7 (C-5), 86.3 (C-1′), 85.2 (C-4′), 73.7 (C-3′), 70.3 (C-2′), 61.4 (C-5′),以上数据与文献报道一致[10],故鉴定化合物 5 为鸟苷。

化合物 6　分子式为 $C_{10}H_{12}N_4O_5$。白色粉末,mp: 212 ~ 213 ℃。ESI-MS *m/z* 269 $[M+H]^+$。^{1}H NMR(DMSO-d_6, 600 MHz) δ: 12.39 (1H, br. s, H-1), 8.34 (1H, s, H-2), 8.07 (1H, s, H-8), 5.86 (1H, d, *J* = 5.6 Hz, H-1′), 4.49 (1H, m, H-2′), 4.13 (1H, m, H-3′), 3.97 (1H, m, H-4′), 3.62 (1H, m, H-5′a), 3.54 (1H, m, H-5′b); ^{13}C NMR(DMSO-d_6, 150 MHz) δ: 157.0 (C-6), 149.2 (C-2), 148.7 (C-4), 141.9 (C-8), 124.9 (C-5), 88.3 (C-1′), 85.9 (C-4′), 74.1 (C-2′), 70.5 (C-3′), 61.6 (C-5′),根据以上数据,参考文献[11-12],鉴定化合物 6 为肌苷。

化合物 7　分子式为 $C_{10}H_{13}N_5O_4$。白色粉末,mp: 232 ~ 234 ℃,ESI-MS *m/z* 268 $[M+H]^+$。^{1}H NMR(DMSO-d_6, 600 MHz) δ: 7.64 (1H, s, H-8), 7.59 (1H, s, H-2), 6.59 (1H, br. s, NH_2), 5.89 (1H, d, *J* = 6.5 Hz, H-1′), 4.65 (1H, d, *J* = 5.2 Hz, H-2′), 4.17 (1H, m, H-3′), 3.89 (1H, d, *J* = 3.0 Hz, H-5′), 3.65 (1H, dd, *J* = 12.5, 3.2 Hz, H-5′a), 3.63 (1H, dd, *J* = 12.5, 3.2 Hz, H-5′b); ^{13}C NMR(DMSO-d_6, 150 MHz) δ: 154.4 (C-6), 151.9 (C-4), 151.5 (C-2), 139.8 (C-8), 116.6 (C-5), 89.3 (C-1′), 87.9 (C-4′), 75.1 (C-2′), 72.5 (C-3′), 62.6 (C-5′)。根据以上数据,参考文献[13-14],鉴定化合物 7 为腺苷。

参 考 文 献

[1] Bian SP. Analysis on nutrition composition of QYM [J]. *Sci Tech Qinghai Agric Forest*(青海农林科技), 2005(2): 39-40.

[2] Rayman M. The importance of selenium to human health [J]. *Lancet*, 2000, **356**(9225): 233-241.

[3] Zhou LY. Review on the research of *Armillaria luteo-viren* [J]. *Anhui Agric Sci Bull*(安徽农学通报), 2010, **16**(3): 52-53, 60.

[4] Zhou JS, Xiong HY, Yang CJ, *et al*. Chemical constituent of volatile oil from fruiting body of *Armillaria luteo-virens* [J]. *Agric Sci Tech*(农业科学与技术), 2008, **9**(2): 90-92.

[5] Hao XY, Tan NH, Zhou J. Constituents of *Gastrodia elata* in Guizhou [J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究), 2000, **22**(1): 81-84.

[6] Ma BJ, Ruan Y, Liu JK. Chemical study of nucleosides on *Cordyceps militaris* [J]. *J Chin Med Mater*(中药材), 2007, **30**(8): 957-958.

[7] Lu HM, Xie HH, Yang YF, *et al*. Chemical constituents from the macroalga *Gracilaria lemaneiformis* [J]. *J Trop Subtrop Bot*(热带亚热带植物学报), 2011, **19**(2): 166-170.

[8] Zhou ZF, Yi YH, Yao XS, *et al*. Studies on chemical constituents of *Acaudina molpadioides* Semper [J]. *Chin J Nat Med*(中国天然药物), 2004, **2**(6): 348-350.

[9] Zhou SM, Zhou K, Xiao DJ. Natural nitrogenous compounds from the South China Sea marine sponge *Clathria fasciculate* [J]. *Chin J Mar Drugs*(中国海洋药物杂志), 2005, **24**(4): 31-35.

[10] Li QY, Liang H, Wang B, *et al*. Chemical constituents of *Momordica charantia* L. [J]. *Acta Pharm Sin*(药学学报), 2009, **44**(9): 1014-1018.

[11] Cao XW. Studies on the chemical constituents from the Bulbus Fritillariae Cirrhosae and quality assessment of *Fritillaria* species (川贝母的化学成分研究与贝母属药用植物质量评价) [D]. *Beijing*: *Peking Union Medical College*, 2008.

[12] Tian EL, Yang GZ, Mei ZN, *et al*. Chemical constituents from stems of *Glycosmis pentaphylla* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2014, **45**(10): 1358-1362.

[13] Liu L, Chen YP, Wan Z, *et al*. Studies on chemical constituents of in herb *Pyrola calliatha* [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2007, **32**(17): 1762-1765.

[14] Liu J, Yu ZB, Ye YH, *et al*. Chemical constituents from *Portulaca oleracea* L. [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2007, **19**: 398-399.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net