

2 种北极高等真菌的化学成分分析^{* 1}

秦向东^{1,2}, 刘吉开²

(1. 云南农业大学 基础与信息工程学院, 云南 昆明 650201;

2. 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: 采用柱层析方法结合波谱分析方法首次对采自北极的 2 种高等真菌 *Lepista multiformis* 和 *Russula* sp. 进行了化学成分研究. 共分离鉴定了 6 个化合物, 分别为: $5\alpha, 8\alpha$ -epidioxy-(22*E*, 24*R*)-ergosta-6, 22-dien- 3β -ol (1)、(22*E*, 24*R*)-ergosta-7, 22-dien- $3\beta, 5\alpha, 6\beta$ -triol (2)、阿洛糖醇(3)、 α, α -海藻糖(4)、丙氨酸(5)和 3β -O-glucopyranosyl- $5\alpha, \alpha$ -epidioxiergosta-(22*E*, 24*R*)-ergosta-6, 22-diene (6).

关键词: 高等真菌; 北极; 化学成分

中图分类号: R 284.1; Q 946.91 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-7971(2012)02-0224-03

高等真菌是一种具有“高创造系数”的微生物资源, 从中不断发现结构新颖多样和具有显著生物活性的化合物, 这种结构和活性的多样性对于药物先导化合物的发现具有重要的意义^[1]. 目前发现的真菌有大约 25 万种, 分布几乎遍布了各大洲, 对真菌来源次生代谢产物的研究也涉及了几乎世界各个角落. 对于地球的南北两极而言, 两极地区非常独特的地理、气候和环境特点, 造就了极地微生物的新颖性与多样性. 大量新物种在两极被发现, 同时随着次生代谢产物研究工作的陆续开展, 一批新颖的活性物质被发掘出来, 极地微生物对于科学研究和实际应用的重要意义得到了世界范围的重视, 从而逐步成为生物界的研究热点^[2].

作为真菌次生代谢产物研究工作的一部分^[3-5], 我们首次对极地高等真菌进行了研究. 从 2 种高等真菌 *Lepista multiformis* 和 *Russula* sp. 中分离并鉴定了 6 个化合物. 其中由 *Lepista multiformis* 中分离得到了化合物 1、2、3、4、5, 由 *Russula* sp. 中分离得到了化合物 1、3、4、6.

1 材料与仪器

Lepista multiformis 和 *Russula* sp. 样品于 2002 年 8 月采自挪威斯瓦尔巴特群岛, 由中国科学院昆明植物研究所武素功研究员提供.

ZF-Ⅱ型紫外分析仪(上海安亭电子仪器厂)、DB-Ⅲ型电热板(常州国华电器有限公司)、RE-3000 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)、SHZ-CB 型循环水式多用真空泵(河南巩义市英峪予华仪器厂)、X-4 数字显示显微熔点测定仪(巩义市予华仪器有限责任公司)、VG AutoSpec-3000 质谱仪(美国 Beckman 公司)、Bruker AM-400 和 DRX-500 核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司)、Horiba SEPA-300 旋光仪、ISO 9001 型分析天平(北京赛多利斯天平有限公司).

薄层硅胶板(青岛海洋化工厂分厂)、0.216~0.172 mm 柱层析硅胶、0.077~0.054 mm 层析硅胶和层析硅胶 H(青岛美高集团有限公司). 显色剂为香草醛-浓硫酸显色剂. 所用洗脱溶剂均为工业纯, 使用前经过重蒸, 其他试剂为分析纯.

* 收稿日期: 2011-12-01

作者简介: 秦向东(1975-), 女, 河北人, 副教授, 博士, 主要从事天然产物研究.

2 提取与分离

88 g 干燥并粉碎了的 *Lepista multiformis* 子实体,依次用氯仿(1 L×3)、氯仿-甲醇(体积比 1:1,1 L×3)、甲醇提取(1 L×3),提取液合并后减压浓缩,得浸膏 9 g. 用 0.216~0.172 mm 硅胶拌样后反复进行硅胶(0.077~0.054 mm)柱层析分离,以石油醚-丙酮系统洗脱. 由石油醚-丙酮(体积比 8:2)洗脱部分得化合物 1(135 mg),石油醚-丙酮(体积比 7:3)洗脱部分得化合物 2(9.4 mg),丙酮洗脱部分得化合物 3(127.0 mg)、4(156.4 mg)、5(26.6 mg).

70 g *Russula* sp. 子实体干燥并粉碎后,依次用氯仿(1 L×3)、氯仿-甲醇(体积比 1:1,1 L×3)、甲醇(1 L×3)提取,提取液合并后减压浓缩,得粗提物 12 g. 粗提物加少量水混悬,用乙酸乙酯提取. 提取液减压浓缩得 4 g 黄褐色浸膏. 该浸膏用 0.216~0.172 mm 硅胶拌样后进行反复硅胶(0.077~0.054 mm)柱层析分离,以石油醚-丙酮系统洗脱. 由石油醚-丙酮(体积比 8:2)洗脱部分得化合物 1(38.1 mg),石油醚-丙酮(体积比 7:3)洗脱部分得化合物 6(11.2 mg),丙酮洗脱部分得化合物 4(26.9 mg). 水溶液部分浓缩放置后析出化合物 3(392.6 mg).

3 结构鉴定

$5\alpha,8\alpha$ -epidioxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-6,22-dien-3 β -ol(1) 无色针状结晶(石油醚-丙酮), m. p. = 177.0~178.5 °C; EI-MS(*m/z*): 428[M]⁺, 410[M-H₂O]⁺, 396[M-O₂]⁺, 363, 271, 251, 152, 107; ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃, δ): 3.94(1H, m, H-3), 6.23(1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6), 6.49(1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-7), 0.86(3H, s, H-18), 1.20(3H, s, H-19), 0.98(3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 5.12(1H, dd, *J* = 15.1, 7.5, H-22), 5.20(1H, dd, *J* = 15.1, 7.5, H-23), 0.82(3H, d, *J* = 3.6, H-26), 0.79(3H, d, *J* = 3.4, H-27), 0.88(3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-28), 2.08~1.49(20H, m); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃, δ): 34.7(C-1), 30.1(C-2), 66.5(C-3), 37.0(C-4), 82.1(C-5), 135.4(C-6), 130.7(C-7), 79.4(C-8), 51.1(C-9), 37.0(C-10), 23.4(C-11), 39.4(C-12), 44.6(C-13), 51.7(C-14), 20.6(C-15), 28.6(C-16), 56.2(C-17), 12.9(C-18), 18.1(C-19), 39.7(C-20), 20.9(C-21), 135.2(C-22), 132.3(C-23), 42.7(C-24), 33.1(C-25), 20.0(C-26), 19.6(C-27), 17.5(C-28). 以上波谱数据与文献[6]一致.

(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-3 β ,5 α ,6 β -triol(2) 无色针状结晶(石油醚-丙酮), m. p. = 224.0~227.0 °C; EI-MS(*m/z*): 430[M]⁺, 412[M-H₂O]⁺, 394[M-2H₂O]⁺, 379[M-2H₂O-Me]⁺, 269[M-2H₂O-C₉H₁₇]⁺, 251[M-3H₂O-C₉H₁₇]⁺; ¹H NMR(400 MHz, C₅D₅N₅, δ): 4.84(1H, m, H-3), 4.32(1H, brs, H-6), 5.74(1H, dd, *J* = 5.0 Hz, 2.4, H-7), 0.65(3H, s, H-18), 1.54(3H, s, H-19), 1.05(3H, d, *J* = 6.7 Hz, H-21), 5.20(1H, dd, *J* = 15.4 Hz, 7.8, H-22), 5.25(1H, dd, *J* = 15.4 Hz, 7.2, H-23), 0.84(3H, d, *J* = 6.7 Hz, H-26), 0.86(3H, d, *J* = 6.7 Hz, H-27), 0.94(3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-28); ¹³C NMR(100 MHz, C₅D₅N₅, δ): 32.7(C-1), 33.9(C-2), 68.5(C-3), 42.0(C-4), 76.1(C-5), 74.3(C-6), 120.5(C-7), 141.6(C-8), 43.8(C-9), 38.1(C-10), 22.4(C-11), 39.9(C-12), 43.8(C-13), 55.3(C-14), 23.5(C-15), 28.5(C-16), 56.1(C-17), 12.5(C-18), 18.8(C-19), 40.9(C-20), 20.2(C-21), 136.2(C-22), 132.2(C-23), 43.1(C-24), 33.4(C-25), 21.4(C-26), 19.9(C-27), 17.9(C-28). 以上波谱数据与文献[7,8]一致.

阿洛糖醇(3) 无色针状结晶(水-丙酮), m. p. = 154.4~156 °C; [α]_D^{21.9} = 0°; EI-MS(*m/z*)(%) : 183[M+H]⁺(45), 146(12), 133(70), 115(22), 103(80), 93(55), 74(80), 73(100); ¹H NMR(400 MHz, D₂O, δ): 3.63(4H, m, H-1,6), 3.52(2H, dd, *J* = 6.0 Hz, 11.6, H-2,5), 3.72(2H, dd, *J* = 2.6 Hz, 11.6, H-3,4); ¹³C NMR(100 MHz, D₂O, δ): 71.8(C-3,4), 70.2(C-2,5), 64.2(C-1,6). 以上波谱数据与文献[9]一致.

α, α -海藻糖(4) 无色方晶(水-丙酮), m. p. = 98.5~100.5 °C; Negative FAB-MS(*m/z*)(%) :

341 [M - H]⁻ (45); ¹H NMR (500 MHz, DMSO, δ): 5.21 (2H, d, J = 3.27 Hz, H - 1, 1'); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO, δ): 93.1 (H - 1, 1'), 72.9, 72.4, 71.6, 70.2, 60.8 (H - 6, 6'). 根据波谱数据解析为丙氨酸。

丙氨酸(5) 白色粉末; Negative FAB - MS (m/z) (%): 88 [M - H]⁻ (37); ¹H NMR (400 MHz, D₂O, δ): 3.75 (1H, q, J = 7.21 Hz, H - 2), 1.46 (3H, d, J = 7.21 Hz, H - 3); ¹³C NMR (100 MHz; D₂O, δ): 176.8 (C - 1), 51.7 (C - 2), 17.3 (C - 3). 根据波谱数据解析为丙氨酸。

3β - O - glucopyranosyl - 5α, 8α - epidioxiergosta - (22E, 24R) - ergosta - 6, 22 - diene (6) 白色粉末; Negative FAB - MS: 589 [M - H]⁻; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, δ): 4.94 (1H, d, J = 7.30 Hz), 6.37 (1H, d, J = 8.52 Hz), 6.60 (1H, d, J = 8.52 Hz), 0.78 (3H, s), 1.16 (3H, s), 0.98 (3H, d, J = 6.58 Hz), 5.12 (1H, dd, J = 15.24 Hz, 8.04), 5.22 (1H, dd, J = 15.24 Hz, 7.52), 0.96 (3H, overlap), 0.88 (3H, overlap), 0.98 (3H, d, J = 6.58 Hz), 4.89 (1H, d, J = 7.8 Hz), 4.08 (1H, dd, J = 8.8 Hz, 7.8), 4.18 (1H, dd, J = 8.8 Hz, 8.8), 4.22 (1H, m), 3.75 (1H, ddd, J = 9.3 Hz, 4.9, 2.0), 4.56 (1H, J = 11.7 Hz, 4.9), 4.44 (1H, J = 11.7 Hz, 4.9); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, δ): 35.1 (C - 1), 29.0 (C - 2), 73.8 (C - 3), 34.2 (C - 4), 82.7 (C - 5), 136.1 (C - 6), 131.6 (C - 7), 79.6 (C - 8), 52.2 (C - 9), 37.4 (C - 10), 21. (C - 11), 39.5 (C - 12), 44.6 (C - 13), 52.0 (C - 14), 23.6 (C - 15), 29.2 (C - 16), 56.2 (C - 17), 13.1 (C - 18), 18.1 (C - 19), 40.1 (C - 20), 21.1 (C - 21), 136.0 (C - 22), 132.3 (C - 23), 43.0 (C - 24), 33.3 (C - 25), 20.2 (C - 26), 19.9 (C - 27), 17.8 (C - 28), 103.1 (C - 1'), 75.3 (C - 2'), 78.8 (C - 3'), 71.2 (C - 4'), 78.6 (C - 5'), 62.7 (C - 6'). 以上波谱数据与文献值[7]一致。

参考文献:

- [1] 刘吉开, 胡琳, 丁智慧, 等. 高等真菌次生代谢产物及其生物活性[J]. 中草药, 2003, 34(1): 84-86.
- [2] 曾胤新, 陈波, 邹扬, 等. 极地微生物——新天然药物的潜在来源[J]. 微生物学报, 2008, 48(5): 695-700.
- [3] QIN X D, SHAO H J, DONG Z J, et al. Six new induced sesquiterpenes from the cultures of ascomycete *Daldinia concentrica* [J]. J Antibiot, 2008, 61(9): 556-562.
- [4] QIN X D, DONG Z J, LIU J K. Two new compounds from the ascomycete *Daldinia concentrica* [J]. Helv Chim Acta, 2006, 89: 450-455.
- [5] YANG W Q, QIN X D, SHAO H J, et al. New phenyl - ethanediols from the culture broth of *Boletus edulis* [J]. J Basic Microbiol, 2007, 47: 191-193.
- [6] ISHIZUKA T, YAOITA Y, KIKUCHI M. Sterols from the fruit bodies of *Grifola frondosa* [J]. Chem Pharm Bull, 1997, 45: 1756-1760.
- [7] IORIZZI M, MINALE L, RICCIO R, et al. Polar steroids from the marine scallop *Patinopecten yessoensis* [J]. J Nat Prod, 1988, 51: 1098-1103.
- [8] KAVAGISHI H, KATSUMI R, SAZAWA T, et al. Cytotoxic steroids from the mushroom *Agaricus blazei* [J]. Phytochemistry, 1988, 27(9): 2777-2779.
- [9] GAO J M, DING Z J, LIU J K. Constituents of the basidiomycetes *Russula cyanoxantha* [J]. 云南植物研究, 2000, 22(1): 85-89.
- [10] 于德泉, 杨峻山. 分析化学手册第七分册, 核磁共振波谱分析[M]. 北京: 化工出版社, 1999.

Chemical constituents of two Arctic higher fungi

QIN Xiang-dong^{1,2}, LIU Ji-kai²

(1. College of Basic Science and Information Engineering, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

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

Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

- [8] HAN Ya-qiong, ZHANG Wei-jiang. Simultaneous removal of NO_x and SO₂ in exhausted gas through landfill leachate[J]. Indian Journal of Experimental Biology, 2010, 48:1 237-1 242.
- [9] 王恒颖, 孙珮石, 王洁, 等. 液相催化-生物法同时脱除烟气中 SO₂ 和 NO_x [J]. 武汉理工大学学报, 2010, 32(7): 98-102.
- [10] 孙珮石, 张唯, 王恒颖, 等. 提高生物法净化 NO_x 废气性能的实验探索[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2009, 31(3): 280-284.
- [11] 曾二丽, 孙珮石, 王洁, 等. 生物膜填料塔 SO₂ 废气净化性能研究[J]. 环境污染治理技术与设备, 2006, 7(10): 26-29.
- [12] 谢志荣, 魏在山, 曾贵华, 等. 生物法同时脱硫脱硝试验研究[J]. 环境工程学报, 2009, 3(9): 1 648-1 652.
- [13] 曾二丽, 孙珮石, 王洁, 等. 生物膜填料塔净化 SO₂ 废气的研究[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2006, 28(4): 350-353.
- [14] 徐姣. 生物法脱除工业废气中 SO₂ 和 NO 的研究[D]. 天津: 天津大学, 2008.

Study on biological simultaneous removal of SO₂ and NO_x from high temperature flue gas by biological trickling filter

MAO Yong-yang^{1,2}, WANG Hai-yu¹, SUN Pei-shi¹, ZOU Ping¹,
DONG Lin-qian¹, WANG Jie¹, BI Xiao-yi¹, DENG Fu-tang¹, ZHENG Xiao-yun³

(1. Research Institute of Engineering and Technology, Yunnan University, China;

2. School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming, China;

3. Modern Education Technology Center of Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: The biological trickling filter was set up to study the influence factors of technological conditions on simultaneous desulfurization and denitrogenation of high temperature flue gas. The result revealed that sulfur dioxide and nitrogen oxides were simultaneously removed efficiently. The removal rate of SO₂ was above 99.9%, and the removal rate of NO_x was 60.2%, when temperature was 65 °C, circulating liquid flow was 4.0—7.0 L/h, pH was 1.5, the residence time was 150 second, and inlet mass concentrations of SO₂ and NO_x were 2 000—3 000 mg/m³ and 500—1 000 mg/m³, respectively.

Key words: biological trickling filter; high temperature flue gas; desulfurization and denitrogenation; operation conditions

(上接第 226 页)

Abstract: Chemical constituents of two arctic higher fungi, *Lepista multififormis* and *Russula* sp. were studied by column chromatographic methods for the first time. Six compounds were isolated and determined to be 5 α , 8 α -epidioxy-(22E, 24R)-ergosta-6, 22-dien-3 β -ol(1), (22E, 24R)-ergosta-7, 22-dien-3 β , 5 α , 6 β -triol(2), allitol(3), α , α -trehalose(4), aminopropanoic acid(5), 3 β -O-glucopyranosyl-5 α , 8 α -epidioxyergosta-(22E, 24R)-ergosta-6, 22-diene(6) by spectroscopic methods.

Key words: higher fungi; arctic; chemical constituents