

云南民族药物竹红菌的化学成分研究*

郑立雄^{1,2}, 张慧颖^{1,3}, 李俊², 饶高雄^{1,2,Δ}

(1. 云南中医学院, 云南昆明 650500; 2. 昆明振华制药有限公司, 云南昆明 650034;
3. 曲靖医学高等专科学校, 云南曲靖 655000)

[摘要] 从云南民族药竹红菌 *Hypocrella bambusae* 中分离得到12个化合物, 分别鉴定为癯囊腔菌素 A (Elsinochrome A, 1)、竹红菌甲素 (Hypocrellin A, 2)、竹红菌乙素 (Hypocrellin B, 3)、竹红菌丙素 (Hypocrellin C, 4)、1,8-二羟基蒽醌 (1,8-Dihydroxy anthraquinone, 5)、甘露醇 (d-Mannitol, 6)、尿囊素 (Allantoin, 7)、硬脂酸 (Stearic acid, 8)、麦角甾醇 (Ergosterol, 9)、过氧化麦角甾醇 (Ergosterol peroxide, 10)、软脂酸单甘油酯 (α -Monopalmitin, 11)、软脂酸 (Palmitic acid, 12)。其中癯囊腔菌素 A (1)、竹红菌丙素 (4)、1,8-二羟基蒽醌 (5)、过氧化麦角甾醇 (10)、软脂酸单甘油酯 (11) 均为首次从竹红菌药材中分离得到。

[关键词] 竹红菌; 云南民族药; 化学成分

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1000-2723(2010)03-0025-05

竹红菌是滇西北特色民族药, 来源于肉座菌科竹生小肉座菌 *Hypocrella Bambusae* (B. et Br.) Sacc. 的干燥子座, 主要寄生于高寒山区的箭竹上。纳西族称为“闷巴”(剑川)、“迈博”(丽江); 彝族称为“玛恩”(剑川)、“玛代”(巍山)、“玛斯尼”(宁蒗); 白族称为“竹炎”(鹤庆)、“竹厚”(大理)、“竹华”(云龙、漾濞)。具有清热、解毒、除湿、消肿等功效, 在滇西北地区民族民间广泛使用, 目前已收载于《云南省中药材标准》^[1-4]。

云南省微生物研究所于上世纪70年代率先开展竹红菌的研究, 发现其含有光敏活性萘醌类新成分竹红菌甲素、乙素 (Hypocrellin A、B), 并联合云南省人民医院和昆明振华制药厂等单位开发了用于治疗外阴白斑病变的制剂竹红菌软膏^[5-9]。竹红菌的药效作用由此受到关注, 后来的研究陆续又从竹红菌中得到了甘露醇、尿囊素以及多种氨基酸、脂肪酸等成分^[10-13]。为进一步了解民族药竹红菌的化学物质基础, 我们再次对其化学成分进行了研究。

1 仪器和材料

熔点用 YANACO 显微熔点仪测定, 温度未校正; 红外光谱用 Bio-Rad FTS-135 型红外光谱仪

测定, KBr 压片; UV 用岛津 UV-2450 紫外光谱仪测定; 质谱用 Autospec-3000 质谱仪测定; 核磁共振谱用 Bruker AM-400 型核磁共振谱仪测定, TMS 为内标。柱色谱及薄层色谱硅胶均为青岛海洋化工厂产品; 显色剂为 10% 硫酸乙醇溶液; 其它试剂均为化学纯或分析纯试剂。竹红菌药材采于丽江市永胜县 (2008 年 11 月), 经昆明振华制药厂郭文高级工程师鉴定为肉座菌科竹生小肉座菌 *Hypocrella Bambusae* (B. et Br.) Sacc. 的干燥子座。

2 提取与分离

干燥的竹红菌药材 4.4kg 粉碎为粗粉, 用乙醇回流提取二次, 第一次加乙醇约 15 L, 回流提取 2h, 滤过, 滤渣再加入乙醇 10L 回流提取 1h, 过滤, 合并滤液, 减压回收乙醇得深红色粘稠浸膏 610g; 浸膏用 10L 丙酮分次热溶, 得到丙酮可溶部分 290g (F_A)。

F_A 部分 66g 用 100g 硅胶拌样, 用 1000g 硅胶柱色谱分离, 以环己烷-乙酸乙酯溶剂系统梯度洗脱, 流份经薄层色谱检查后合并为 6 个分段 ($F_1 \sim F_6$)。各分段再分别反复应用硅胶 (用环己烷-乙酸乙酯或氯仿-甲醇溶剂系统洗脱)、葡聚糖凝胶

* 基金项目: 西山区科技计划项目 (西山区 09 科字 08), 昆明市科技计划项目资助 (NO: 昆科计字 09S100312)。

收稿日期: 2009-12-31 修回日期: 2010-03-29

作者简介: 郑立雄 (1983~), 男, 昆明人, 本院 2007 级研究生, 从事中药化学及中药质量控制研究工作。Δ 通讯作者: 饶高雄, Tel: 0871-5919558; E-mail: rao13987124569@qq.com.

LH-20 (用甲醇、丙酮或氯仿-甲醇 1:1 溶剂系统洗脱)、吸附树脂 MCI (甲醇-丙酮溶剂系统洗脱) 等柱色谱分离, 辅以重结晶等常规方法分得化合物 1 (15.3 mg)、2 (772 mg)、3 (96 mg)、4 (173 mg)、5 (7 mg)、6 (874 mg)、7 (260 mg)、8 (74 mg)、9 (166 mg)、10 (46 mg)、11 (213 mg)、12 (136 mg)。

3 研究结果

根据理化性质和光谱测试, 上述化合物分别鉴定为痲囊腔菌素 A (Elsinochrome A, 1)、竹红菌甲素 (Hypocrellin A, 2)、竹红菌乙素 (Hypocrellin B, 3)、竹红菌丙素 (Hypocrellin C, 4)、1, 8-二羟基蒽醌 (1, 8-Dihydroxy anthraquinone, 5)、甘露醇 (d-Mannitol, 6)、尿囊素 (Allantoin, 7)、硬脂酸 (Stearic acid, 8)、麦角甾醇 (Ergosterol, 9)、过氧化麦角甾醇 (Ergosterol peroxide, 10)、软脂酸单甘油酯 (α -Monopalmitin, 11)、软脂酸 (Palmitic acid, 12)。其中化合物痲囊腔菌素 A (1)、竹红菌丙素 (4)、1, 8-二羟基蒽醌 (5)、过氧化麦角甾醇 (10) 和软脂酸单甘油酯 (11) 在竹红菌中为首次报道 (见图 1)。

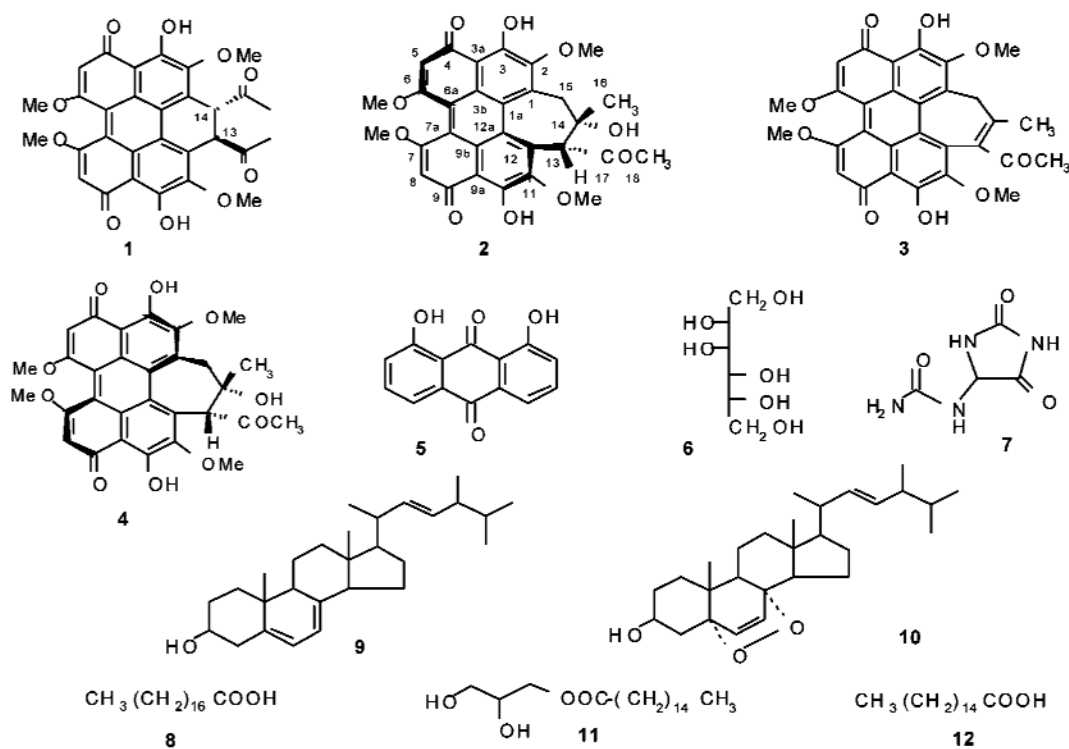


图 1 竹红菌药材主要化学成分的结构式

3.1 结构鉴定

化合物 1: 紫红色块晶 (丙酮)。Mp. 261 ~ 263℃。FAB MS m/z : 545 $[M + 1]^+$ 。UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm: 207, 265, 340, 460, 532, 573。IR ν (KBr) cm^{-1} : 3370, 2967, 1707, 1612, 1577, 1540, 1430, 1358, 1260, 1162。 ^1H -NMR (CDCl_3) δ : 6.60 (s, 2H, H-5 和 H-8), 5.14 (s, 2H, H-13 和 H-14), 4.34 (br. s, 6H, 2-OCH₃ 和 11-OCH₃), 4.06 (br. s, 6H, 6-OCH₃ 和 7-OCH₃), 2.04 (br. s, 6H, 13-COCH₃

和 14-COCH₃)。以上光谱数据和文献报道^[14-15]一致, 鉴定为痲囊腔菌素 A (Elsinochrome A)。

化合物 2: 紫红色块晶 (丙酮), Mp. 250 ~ 252℃。FAB MS m/z : 547 $[M + 1]^+$ 。UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm: 207, 269, 337, 462, 535, 581。IR ν (KBr) cm^{-1} : 3439, 2928, 1738, 1604, 1520, 1452, 1281。 ^1H -NMR (CDCl_3) δ : 6.55、6.51 (各 1H, s, H-5 或 H-8), 4.11、4.08 (各 3H, s, 2-OCH₃ 或 11-OCH₃), 4.07、4.05 (各 3H, s, 6-OCH₃ 或 7-OCH₃), 3.51 (1H,

d, $J = 12.0\text{Hz}$, $H_{\alpha} - 15$), 3.49 (1H, s, $H - 13$), 2.64 (1H, d, $J = 12.0\text{Hz}$, $H_{\beta} - 15$), 1.90 (3H, s, $H - 18$), 1.71 (3H, s, $H - 16$)。¹³ CNMR (CDCl_3) δ : 207.4 (s, C - 17), 180.2 (s, C - 4), 179.7 (s, C - 9), 171.8 (s, C - 3), 170.9 (s, C - 10), 167.4 (s, C - 6), 167.3 (s, C - 7), 150.8 (s, C - 2), 150.5 (s, C - 11), 133.1 (s, C - 1), 133.9 (s, C - 12), 128.4 (s, C - 12a), 127.5 (s, C - 1a), 124.9 (s, C - 3b), 124.8 (s, C - 9b), 118.1 (s, C - 6a), 117.6 (s, C - 7a), 106.7 (s, C - 3a), 106.6 (s, C - 9a), 102.0 (d, C - 8), 101.9 (d, C - 5), 78.7 (s, C - 14), 62.0 (d, C - 13), 61.5 (q, 2 - OCH_3), 60.7 (q, 11 - OCH_3), 56.5 (q, 6 - OCH_3), 56.4 (q, 7 - OCH_3), 41.7 (t, C - 15), 30.8 (q, C - 18), 26.9 (q, C - 16)。以上光谱数据与文献^[16-17]报道一致, 鉴定为竹红菌甲素 (Hypocrellin A)。

化合物 3: 黑红色块晶 (丙酮), Mp. 260 - 264 $^{\circ}\text{C}$ 。FAB MS m/z : 529 $[M + 1]^+$ 。UV λ_{max} (MeOH) nm: 212, 264, 343, 465, 548, 586。IR ν (KBr) cm^{-1} : 3451, 2938, 1690, 1610, 1525, 1456, 1284, 1222, 1156。¹H - NMR (CDCl_3) δ : 6.45、6.35 (各 1H, s, $H - 5$ 或 $H - 8$), 4.10、4.03 (各 3H, s, 2 - OCH_3 或 11 - OCH_3), 4.06 (1H, d, $J = 11.6\text{Hz}$, $H_{\alpha} - 15$), 3.99、3.98 (各 3H, s, 6 - OCH_3 或 7 - OCH_3), 3.17 (1H, d, $J = 11.6\text{Hz}$, $H_{\beta} - 15$), 2.32 (3H, s, $H - 18$), 1.80 (3H, s, $H - 16$)。¹³ CNMR (CDCl_3) δ : 200.0 (s, C - 17), 185.7 (s, C - 4), 185.6 (s, C - 9), 168.3 (s, C - 3), 168.0 (s, C - 10), 165.1 (s, C - 6), 163.6 (s, C - 7), 149.6 (s, C - 2), 146.8 (s, C - 11), 144.7 (s, C - 14), 134.5 (s, C - 13), 134.3 (s, C - 1), 134.1 (s, C - 12), 124.2 (s, C - 1a), 124.1 (s, C - 12a), 124.0 (s, C - 3b), 123.3 (s, C - 9b), 121.9 (s, C - 6a), 121.1 (s, C - 7a), 108.6 (s, C - 3a), 107.4 (s, C - 9a), 103.2 (d, C - 8), 103.1 (d, C - 5), 61.3 (q, 2 - OCH_3), 61.1 (q, 11 - OCH_3), 56.5 (q, 6 - OCH_3), 56.4 (q, 7 - OCH_3), 34.7 (t, C - 15), 29.4 (q, C - 18), 20.7 (q, C -

16)。以上光谱数据与文献报道一致^[16], 鉴定为竹红菌乙素 (Hypocrellin B)。

化合物 4: 深红色针晶 (丙酮), Mp. 230 - 232 $^{\circ}\text{C}$ 。FAB MS m/z : 547 $[M + 1]^+$ 。UV λ_{max} (MeOH) nm: 267, 341, 471, 546, 584。IR ν (KBr) cm^{-1} : 3459, 2940, 1713, 1609, 1527, 1453, 1283, 1159, 997。¹H - NMR (CDCl_3) δ : 6.62 (1H, s, $H - 5$ 或 8), 4.37 (3H, s, 2 或 11 - OCH_3), 4.28 (3H, s, 11 或 2 - OCH_3), 4.18 (3H, s, 6 或 7 - OCH_3), 4.15 (3H, s, 7 或 6 - OCH_3), 3.84 (1H, s, $H - 13$), 3.75 (1H, d, $J = 16.0\text{Hz}$, $H_{\alpha} - 15$), 2.45 (1H, d, $J = 16.0\text{Hz}$, $H_{\beta} - 15$), 1.94 (3H, s, $H - 18$), 1.89 (3H, s, $H - 16$)。¹³ CNMR (CDCl_3) δ : 206.6 (s, C - 17), 179.9 (s, C - 4), 179.5 (s, C - 9), 171.6 (s, C - 3 和 10), 167.5 (s, C - 6), 167.1 (s, C - 7), 150.7 (s, C - 2), 149.0 (s, C - 11), 135.0 (s, C - 1), 131.1 (s, C - 12), 128.2 (s, C - 12a), 127.7 (s, C - 1a), 125.2 (s, C - 3b), 124.3 (s, C - 9b), 117.8 (s, C - 6a), 117.4 (s, C - 7a), 106.9 (s, C - 3a), 106.6 (s, C - 9a), 102.0 (d, C - 8), 101.6 (d, C - 5), 78.5 (s, C - 14), 64.1 (d, C - 13), 61.8 (q, 2 - OCH_3), 60.9 (q, 11 - OCH_3), 56.5 (q, 6 - OCH_3), 56.4 (q, 7 - OCH_3), 42.4 (t, C - 15), 28.4 (q, C - 18), 24.7 (q, C - 16)。以上数据与文献^[17]报道的 Hypocrellin B 基本一致而鉴定结构。但根据以下文献梳理线索结合沈云修等人的命名^[16], 本文修订其名称为竹红菌丙素 (Hypocrellin C)。

化合物 5~12: 均为已知化合物, 根据光谱测试数据和文献比较 (部分化合物还和标准品进行 TLC 对照) 而确定化学结构分别为 1, 8 - 二羟基蒽醌 (5)^[16]、甘露醇 (6)、尿囊素 (7)^[11]、硬脂酸 (8)、麦角甾醇 (9)^[16]、过氧化麦角甾醇 (10)^[16]、和软脂酸单甘油酯 (11)^[18]、软脂酸 (12)。

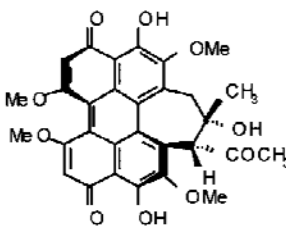
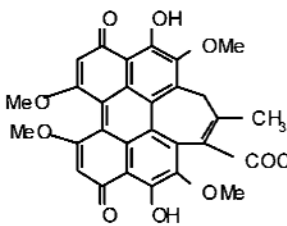
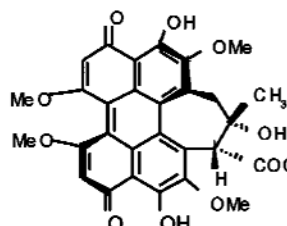
3.2 竹红菌成分文献梳理

竹红菌中存在 3 个结构关联的蒽醌类成分竹红菌甲、乙、丙素 (Hypocrellin A、B、C), 其名称和具体结构的对应关系, 在文献中多有混淆, 应予适当梳理澄清。万象义于 1980 年首先报道竹红菌甲素 (Hypocrellin A)^[5]。陈维新于 1981 年阐明结

构但改名为 Hypocrellin^[19]。万象义于 1985 年首先报道竹红菌乙素 (Hypocrellin B)^[9]。Tadashi 于 1991 年^[17]将陈维新所述 Hypocrellin 恢复为 Hypocrellin A 并阐明绝对构型,但同时又将万象义所述 Hypocrellin B (竹红菌乙素)的结构作为新成分 Hypocrellin C (竹红菌丙素)发表,另把一个竹红菌甲素的异构体(即图 1 中化合物 4)命名为 Hypocrellin B (竹红菌乙素)。

这些报道导致了竹红菌甲、乙、丙素 (Hypocrellin A、B、C) 文献的混乱,按照化合物命名以“公开发表时间优先”的国际惯例,我们认为化合物名称和结构对应关系应以万象义于 1980 年、1985 年发现竹红菌甲、乙素为准,陈维新、Tadashi 等人的后续研究不宜重复命名同一化合物,或用同一名称命名不同化合物。因此,建议修订统一为以下的对应关系(表 1)。

表 1 竹红菌药材中 3 个主要成分名称和结构的对应关系梳理

化合物 结构式			
万象义 ^[5,9]	竹红菌甲素 Hypocrellin A	竹红菌乙素 Hypocrellin B	
陈维新 ^[19]	Hypocrellin		
Tadashi ^[17]	Hypocrellin A	Hypocrellin C	Hypocrellin B
统一为	竹红菌甲素 Hypocrellin A	竹红菌乙素 Hypocrellin B	竹红菌丙素 Hypocrellin C

4 结果讨论

从竹红菌中分离鉴定了 12 个成分,其中蒽醌类 A (1)、竹红菌丙素 (4)、1,8-二羟基蒽醌 (5)、过氧化麦角甾醇 (10) 和软脂酸单甘油酯 (11) 在竹红菌中为首次报道。本文化学成分研究的结果增加了我们对于竹红菌这一云南民族药物化学物质基础的认识。

萘醌类成分是竹红菌治疗外阴白斑病的有效成分,其中以竹红菌甲素 (2) 含量最高是主要成分,丙素 (4) 其次是一般含量成分,而乙素 (2) 和蒽醌类 A (1) 很少属于微量成分,因此,对竹红菌药材质量控制应重视从定性上检查竹红菌甲素、丙素,从定量上控制甲素的含量,研究工作为进一步提高竹红菌药材质量标准打下了基础。

[参考文献]

[1] 大理白族自治州人民政府. 大理中药资源志 [M]. 昆明: 云南民族出版社, 1991: 63.
 [2] 云南省食品药品监督管理局. 云南省中药材标准 [M]. 昆明: 云南美术出版社, 2005: 23.
 [3] 韦群辉, 和即仁, 王润妹. 民族药竹红菌的生物学研究 [J]. 中国民族民间医药杂志, 2000, (1): 47-48.
 [4] 朱丽萍, 杨允辉, 张慧颖, 等. 民族药物竹红菌的研

究及开发进展 [J]. 中国民族民间医药杂志, 2006, (5): 251-252.
 [5] 万象义, 陈远腾. 一种新的光化学疗法药物—竹红菌甲素 [J]. 科学通报, 1980, (24): 1148-1149.
 [6] 梁睿媛, 梅国栋, 朱文英, 等. 竹红菌光化治疗肥厚性瘢痕 62 例报告 [J]. 中华皮肤科杂志, 1982, 15 (2): 87-88.
 [7] 于兰霞, 罗了华, 张胜泉. 竹红菌软膏加光治疗外阴白色病变及其组织变化的研究 [J]. 中华妇产科杂志, 1984, 19 (1): 29-31.
 [8] 王家璧, 包建南. 皮肤淀粉样变苔藓 37 例临床分析及竹红菌光化治疗观察 [J]. 中国医学科学院学报, 1985, 7 (5): 349-351.
 [9] 万象义, 张蔚玲, 王启方. 竹红菌中乙素的分离与鉴定 [J]. 云南大学学报, 1985, 7 (4): 461-463.
 [10] 张蔚玲, 万象义, 王启方. 从竹红菌及竹黑菌、竹黄提取甘露醇的方法 [J]. 云南大学学报, 1985, 7 (3): 357-360.
 [11] 张蔚玲. 竹红菌中尿囊素的分离与鉴定 [J]. 云南大学学报, 1994, 16 (1): 91-92.
 [12] 李聪, 汪汉卿, 谢金伦, 等. 肉座菌科三种药用真菌的化学成分分析比较 [J]. 中草药, 2000, 31 (4): 250-251.
 [13] 张曼华, 陈中, 安静仪, 等. 竹红菌中乙素及脂肪

- 酸的分离鉴定 [J]. 科学通报, 1988, 7: 518-522.
- [14] 刘为忠, 沈云修, 李维莉, 等. 一株产生萘醌类化合物真菌的化学成分研究 (II) [J]. 中草药, 2003, 34 (2): 111-113.
- [15] 陈永宽, 李 聪, 台 红, 等. 痂囊腔菌素 A 的生物合成和光化学反应研究 [J]. 波谱学杂志, 2003, 20 (2): 167-172.
- [16] 沈云修, 荣先国, 高宗华. 竹黄的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27 (9): 674-676.
- [17] Tadashi Kish, Satoshi Tahara, Naoki Taniguchi, et al. New Perylenequinones from *Shiraia bambusicola* [J]. *Planta Med.* 1991, 57: 376-379.
- [18] 叶婕颖, 张庆芝, 饶高雄. 傣药芽鲁哈咪卖的化学成分研究 [J]. 中草药, 2009, 40 (6): 850-852.
- [19] Chen Wei-shin, Chen Yuan-teng, Wan Xiang-yi, et al. Die Struktur des Hypocrellins und seines Photooxydationsproduktes Peroxyhypocrellin [J]. *Liebigs Ann Chem.* 1981: 1880-1885.

(编辑: 左媛媛)

Studies on Chemical Constituents of *Hypocrella bambusae*, an Ethno-remedy in Yunnan

ZHENG Li-xiong^{1,2}, ZHANG Hui-ying^{2,3}, LI Jun², RAO Gao-xiong^{1,2}

(1. Yunnan University of TCM, Kunming Yunnan 650500; 2. Kunming Zhenhua Pharmaceutical Co. LTD, Kunming Yunnan 650034; 3. Qujing Medical College, Qujing Yunnan 655000)

[ABSTRACT] Twelve compounds were isolated from the *Hypocrella bambusae*, an ethno-remedy in Yunnan, and their structures were determined by spectroscopic analysis as Elsinochrome A (1), Hypocrellin A (2), Hypocrellin B (3), Hypocrellin C (4), 1, 8-Dihydroxy anthraquinone (5), d-Mannitol (6), Allantoin (7), Stearic acid (8), Ergosterol (9), Ergosterol peroxide (10), α -Monopalmitin (11), Palmitic acid (12), respectively. Among them, compounds 1, 3, 5, 10-11 were isolated from the ethno-remedy *Hypocrella bambusae* for the first time.

[KEY WORDS] *hypocrella bambusa*; ethno-remedy; yunnan; chemical constituents

(上接第24页)

HPLC Determination of Release of Bulleyaconitine A Controlled Release Patches

ZHANG Wei¹, ZHANG Ling², YANG Zhao-xiang¹

(1. Institute for Drug Research and Development of Kunming Pharmaceutical Corporation, Kunming Yunnan 650100, China; 2. Yunnan Mengsheng Pharmaceutical Ltd., Kunming Yunnan 650217, China)

[ABSTRACT] Objective: To establish an HPLC method for the release of bulleyaconitine A controlled release patches, and provide method for the evaluation and controlling of medicine quality. Method: 6 patches were placed separately into small solution vessels filled with release medium of pure water, the temperature was maintained at $32^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, paddles method was used at rotary speed of $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$. The separation on the chromatography column of lunaC₁₈ (250mm $\times$ 4.6mm, 5 μm) with acetonitrile-0.2% triethylamine (adjusted to pH = 3.1 ± 0.1 with phosphoric acid) (40:60) as mobile phase at the flow-rate of $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. The detective wave-length was 260 nm. The column temperature was 25°C . Result: The calibration curve was linear in the range of $0.099 \mu\text{g} \sim 1.188 \mu\text{g}$, $r = 1.0000$. The release of patches produced in different batches had no significantly difference after detection. Conclusion: The method is sensitive, accurately and quickly for the quality control of bulleyaconitine A controlled release patches.

[KEY WORDS] bulleyaconitine A controlled release patches; release; HPLC