

• 化学成分 •

赤芝中羊毛脂烷型三萜类化合物及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究曹新民¹, 张华华¹, 周 健²

1. 杭州市富阳区中医院 药剂科, 浙江 杭州 311400

2. 南昌大学第一附属医院 药学部, 江西 南昌 330006

摘要: 目的 研究赤芝 *Ganoderma lucidum* 的干燥子实体乙醇提取物的化学成分及其活性。方法 运用硅胶柱色谱、中压液相色谱、HPLC 等色谱技术对赤芝 95%乙醇提取物进行系统分离, 并结合 UV、HR-ESI-MS、ESI-MS、1D-NMR、2D-NMR 等波谱学手段对所得到的化合物进行结构鉴定; 考察化合物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。结果 从赤芝 95%乙醇提取物中分离得到 11 个三萜类化合物, 分别鉴定为灵芝醇 A (1)、灵芝酸 H (2)、灵芝酸 AM1 (3)、灵芝酸 D (4)、灵芝酸 D 甲酯 (5)、ganolucidic acid E (6)、11 α -hydroxy-3,7-dioxo-5 α -lanosta-8,24(*E*)-dien-26-oic acid (7)、灵芝烯酸 D (8)、赤芝酸 A (9)、赤芝酸 F 甲酯 (10)、赤芝酸 B (11)。结论 化合物 1 为新化合物, 化合物 1 和 5 显示了一定的 α -葡萄糖苷酶抑制作用。

关键词: 赤芝; 羊毛脂烷型; 三萜; α -葡萄糖苷酶; 灵芝醇 A; 灵芝酸 D 甲酯

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)07-1275-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.07.002

Lanostane triterpenoids of *Ganoderma lucidum* and their inhibitory effect on α -glucosidaseCAO Xin-min¹, ZHANG Hua-hua¹, ZHOU Jian²

1. Department of Pharmacy, Hangzhou Fuyang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 311400, China

2. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents from the dried fruiting body of *Ganoderma lucidum* and its activities. **Methods** The compounds were isolated and purified from the 95% ethanol extract of *G. lucidum* by silica gel CC, MPLC, HPLC, and so on. Their structures were identified by extensive spectroscopic analysis. The compounds were evaluated for their inhibitory effects against α -glucosidase compared with those of the positive control acarbose. **Results** A total of 11 lanostane triterpenoids were isolated from the 95% ethanol extract of *G. lucidum* and identified as ganoderanol A (1), ganoderic acid H (2), ganoderic acid AM1 (3), ganoderic acid D (4), methyl ganoderate D (5), ganolucidic acid E (6), 11 α -hydroxy-3,7-dioxo-5 α -lanosta-8,24 (*E*)-dien-26-oic acid (7), ganoderenic acid D (8), lucidenic acid A (9), methyl lucidenate F (10), and lucidenic acid B (11). **Conclusion** Among them, compound 1 is a new compound. Additionally, compounds 1 and 5 show moderate inhibitory effect on α -glucosidase.

Key words: *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst.; lanostane-type; triterpenoids; α -glucosidase; ganoderanol A; methyl ganoderate D

赤芝为多孔菌科灵芝属赤芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst. 的干燥子实体。我国具有悠久的灵芝使用历史与文化,《神农本草经》将灵芝属列为上品,描述为“轻身不老”药物,特别记载赤芝“味苦、性平、无毒”,主治“胸中结”“益心气,补中,增智慧,不忘,延年神仙”。《中国药典》2015 版一部将赤芝与紫芝 *G. sinense* Zhao, Xu et

Zhang 的干燥子实体均收载于灵芝项下^[1]。赤芝药材性平、味甘,归心、肺、肝、肾经;具有补气安神、止咳平喘的功效;用于心神不宁、失眠心悸、肺虚咳嗽、虚劳短气、不思饮食。现代药理学研究显示赤芝提取物及其单体化学成分具有抗肿瘤、抗病毒、保肝、调节免疫、降血糖、降血压和改善睡眠等药理作用^[2-4]。赤芝中的主要化学成分类型为多

收稿日期: 2016-11-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81560632)

作者简介: 曹新民,男,主管中药师,研究方向为中药化学。Tel: 15355466003 E-mail: 15355466003@163.com

*通信作者 周 健,博士,研究方向为中药药效物质基础研究。Tel: (0791)88691672 E-mail: jianke1986@126.com

糖、三萜酸, 其他类型的化学成分为生物碱、甾醇类、氨基酸、多肽、核苷类^[5-8]。本实验采用色谱、波谱技术对赤芝中的三萜类成分进行分离与鉴定, 获得了 11 个羊毛脂烷型三萜类化合物, 分别为灵芝醇 A (ganoderanol A, **1**)、灵芝酸 H (ganoderic acid H, **2**)、灵芝酸 AM1 (ganoderic acid AM1, **3**)、灵芝酸 D (ganoderic acid D, **4**)、灵芝酸 D 甲酯 (methyl ganoderate, **5**)、ganolucidic acid E (**6**)、11 α -hydroxy-3,7-dioxo-5 α -lanosta-8,24(*E*)-dien-26-oic acid (**7**)、灵芝烯酸 D (ganoderenic acid D, **8**)、赤芝酸 A (lucidenic acid A, **9**)、赤芝酸 F 甲酯 (methyl lucidenate F, **10**)、赤芝酸 B (lucidenic acid B, **11**)。其中化合物 **1** 为具有新结构的五降三萜类化合物 (图 1)。进一步采用 α -葡萄糖苷酶考察赤芝子实体提取物中的三萜类成分对其抑制活性。

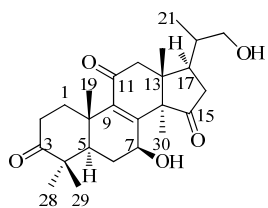


图 1 赤芝中的新羊毛脂烷型三萜类化合物

Fig. 1 New Lanostane triterpenoids obtained from *G. lucidum*

1 材料与材料

UV-260 紫外分光光度计 (日本岛津公司); RY-1G 熔点测定仪 (中国天津天光光学仪器有限公司); Autopol IV-T/V 旋光仪 (美国 DKSH 公司); 核磁共振仪: BRUKER 500 核磁共振仪 (TMS 为内标, BRUKER 公司); 质谱仪: API3200 型质谱仪 (AB SCIEX 公司); 高分辨率质谱: Agilent 1100 Series LC-MSD-Trap-SL 型 (Agilent 公司); 高效液相色谱仪: Agilent 1100 型高效液相色谱仪 (Agilent 公司); 中压液相色谱仪: Angel Rp C₁₈ (博纳艾杰尔); 酶标仪: Thermo 354 型 (Thermo 公司)。柱色谱硅胶 (100~200、160~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂); 薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂)。所用分析纯试剂 (甲醇、石油醚、醋酸乙酯、氯仿、二氯甲烷、丙酮) 为天津化学试剂公司生产; 色谱纯乙腈、色谱纯甲醇为 Sigma 公司生产。

药材购自江西南华医药有限公司, 经南昌大学第一附属医院万跃生副主任中药师鉴定为赤芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst 的干燥子实体。

2 提取与分离

赤芝干燥子实体 10 kg, 切片后经 95%乙醇加热回流提取, 得提取物 400 g 分散于 10 L 蒸馏水中, 加入 10%盐酸水溶液调节 pH 为 3。水液分批置于 5 L 的分液漏斗中, 加入三分之二体积的氯仿萃取 3 次。氯仿萃取液经旋转蒸发仪减压浓缩后, 得到提取物共 112 g。氯仿提取物 112 g 经二氯甲烷溶解后, 通过硅胶柱色谱进行分离, 以石油醚-丙酮 (20:1→1:1) 作为洗脱系统依次进行洗脱, 共得到 63 个流分。所得流分经 TLC 硅胶柱色谱进行分析, 合并相似的流分后, 共得到 14 个样品。其中 8 号样品经 TLC 分析显示与灵芝酸 D 对照品具有相似的显色特征。进一步通过中压液相, 分析型 HPLC, 制备型 HPLC (CH₃CN-H₂O 系统, 体积流量 8 mL/min, 检测波长 254、280 nm) 对 8 号样品 (12.3 g) 进行系统的分离, 得到了 11 个化合物 **1** (CH₃CN-H₂O 37:63, *t_R*=56 min, 3.5 mg)、**2** (CH₃CN-H₂O 42:58, *t_R*=47 min, 7.4 mg)、**3** (CH₃CN-H₂O 42:58, *t_R*=25 min, 8.6 mg)、**4** (CH₃CN-H₂O 40:60, *t_R*=39 min, 5.8 mg)、**5** (CH₃CN-H₂O 45:55, *t_R*=42 min, 20.2 mg)、**6** (CH₃CN-H₂O 37:63, *t_R*=36 min, 4.6 mg)、**7** (CH₃CN-H₂O 38:52, *t_R*=34 min, 9.3 mg)、**8** (CH₃CN-H₂O 37:63, *t_R*=42 min, 7.5 mg)、**9** (CH₃CN-H₂O 36:64, *t_R*=47 min, 9.3 mg)、**10** (CH₃CN-H₂O 44:66, *t_R*=40 min, 19.4 mg)、**11** (CH₃CN-H₂O 35:65, *t_R*=31 min, 15.0 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定形粉末, mp 212~215 °C, [α]_D²⁰ +17.8° (*c* 0.1, CH₃OH)。UV 显示该化合物在甲醇溶液中的最大吸收波长为 261 nm。HR-ESI-MS 显示了准分子离子峰 *m/z* 439.245 0 [M+Na]⁺ (calcd for 439.246 0), 结合 NMR 数据, 确定分子式为 C₂₅H₃₆O₅。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) 给出了 6 个甲基信号 (δ_H 1.03, 1.10, 1.11, 1.13, 1.27, 1.36), 1 个氧化亚甲基信号 (δ_H 3.63, 3.52), 1 个氧化次甲基信号 [δ_H 4.86 (1H, dd, *J*=9.5, 7.5 Hz, H-7)]。¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) 给出了 25 个碳信号, 其中 6 个甲基, 2 个羟基化碳 (δ_C 66.4, 67.3), 2 个未共轭的酮 (δ_C 216.7, 218.2) 以及 1 个 α,β -不饱和酮 (δ_C 157.9, 141.2, 197.8)。通过上述波谱数据分析, 推测化合物 **1** 为赤芝中的降碳羊毛脂烷型灵芝酸类成分类似物^[9]。在化合物 **1** 的 ¹H-¹H COSY 谱中, 观察到 4 个偶合系统 (图 2), 分别为 H-1/H-2 (δ_H 2.95/2.52),

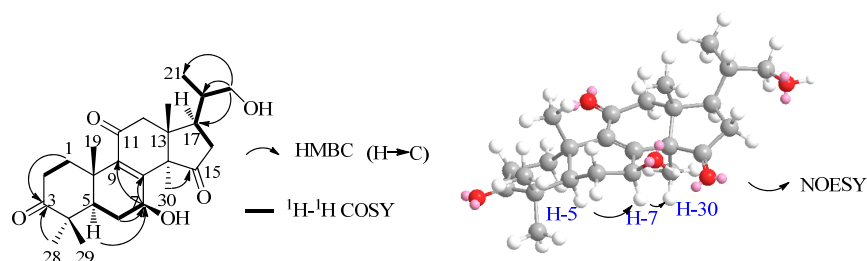


图2 化合物1中的关键2D-NMR相关信号

Fig. 2 Key 2D-NMR correlations of compound 1

H-5/H-6/H-7 (δ_{H} 1.57/2.13/4.86), H-16/H-17/H-20/H-21 (δ_{H} 2.78/2.23/1.71/1.10), H-20/H-22 (δ_{H} 1.71/3.63/3.52)。在化合物1的HMBC谱中, 远程碳氢相关信号 H-1/C-3, H-28/C-3, H-30/C-15 确定了 3,15-二酮片段。同时, HMBC 相关信号 H-6/C-7, H-5/C-7, H-7/C-8, H-7/C-9 确定了 7-OH 的存在。H-22 与 C-17、C-20 以及 C-21 的远程相关表明了 C-22 为羟甲基(图2)。因此, 通过 ^1H - ^1H COSY 以及 HMBC 相关信号, 鉴定了化合物1的平面结构。在 NOESY 谱中, H-7 与 H-5、H-30 显示出了相关(图2), 表明 H-7 为 α 构型。因此, 通过上述波谱数据分析, 化合物1的结构确定为降碳羊毛脂烷型三萜, 如图2所示, 命名为 ganoderanol A。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 2.95 (1H, m, H-1a), 1.48 (1H, m, H-1b), 2.52 (1H, m, H-2a), 2.48 (1H, m, H-2b), 1.57 (1H, dd, $J = 13.5, 1.5$ Hz, H-5), 2.13 (1H, m, H-6a), 1.66 (1H, m, H-6b), 4.86 (1H, dd, $J = 9.5, 7.5$ Hz, H-7), 2.78 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-12a), 2.72 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-12b), 2.78 (1H, m, H-16a), 2.17 (1H, m, H-16b), 2.23 (1H, m, H-17), 1.03 (3H, s, H-18), 1.27 (3H, s, H-19), 1.71 (1H, m, H-20), 1.10 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 3.63 (1H, dd, $J = 11.0, 3.5$ Hz, H-22a), 3.52 (1H, dd, $J = 11.0, 5.5$ Hz, H-22b), 1.13 (3H, s, H-28), 1.11 (3H, s, H-29), 1.36 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} : 35.7 (t, C-1), 34.3 (t, C-2), 216.7 (s, C-3), 46.8 (s, C-4), 48.9 (d, C-5), 27.7 (t, C-6), 66.4 (d, C-7), 157.9 (s, C-8), 141.2 (s, C-9), 38.3 (s, C-10), 197.8 (s, C-11), 50.1 (t, C-12), 59.1 (s, C-13), 44.9 (s, C-14), 218.2 (s, C-15), 40.8 (t, C-16), 42.6 (d, C-17), 17.8 (q, C-18), 18.2 (q, C-19), 38.0 (d, C-20), 16.8 (q, C-21), 67.3 (t, C-22), 27.0 (q, C-28), 20.8 (q, C-29), 24.7 (q, C-30)。

化合物2: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z : 595.0 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 3.27 (1H,

dd, $J = 11.5, 5.0$ Hz, H-3), 5.64 (1H, s, H-12), 0.90 (3H, s, H-18), 1.36 (3H, s, H-19), 0.99 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-21), 1.23 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-27), 1.04 (3H, s, H-28), 0.83 (3H, s, H-29), 1.77 (3H, s, H-30), 2.25 (3H, s, Ac); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} : 36.8 (C-1), 27.4 (C-2), 77.7 (C-3), 40.6 (C-4), 51.5 (C-5), 33.4 (C-6), 199.1 (C-7), 151.9 (C-8), 39.2 (C-9), 39.2 (C-10), 194.1 (C-11), 79.3 (C-12), 48.1 (C-13), 58.6 (C-14), 206.0 (C-15), 38.0 (C-16), 44.8 (C-17), 12.3 (C-18), 18.1 (C-19), 29.5 (C-20), 21.8 (C-21), 48.5 (C-22), 207.6 (C-23), 46.5 (C-24), 34.6 (C-25), 180.3 (C-26), 17.0 (C-27), 28.0 (C-28), 15.7 (C-29), 21.4 (C-30), 21.0 (Ac), 170.4 (Ac)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物2为灵芝酸H。

化合物3: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z : 513.5 $[\text{M} - \text{H}]^-$, $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_7$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 2.84 (1H, m, H-1a), 1.25 (1H, m, H-1b), 1.75 (1H, m, H-2a), 1.70 (1H, m, H-2b), 3.28 (1H, dd, $J = 11.5, 4.5$ Hz, H-3), 1.59 (1H, dd, $J = 13.5, 4.5$ Hz, H-5), 2.60 (2H, m, H-6), 2.87 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-12a), 2.68 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-12b), 2.67 (1H, m, H-16a), 1.92 (1H, dd, $J = 18.5, 9.0$ Hz, H-16b), 2.22 (1H, m, H-17), 0.86 (3H, s, H-18), 1.28 (3H, s, H-19), 2.12 (1H, m, H-20), 0.97 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 2.37 (2H, m, H-22), 2.82 (1H, m, H-24a), 2.46 (1H, dd, $J = 18.0, 5.0$ Hz, H-24b), 2.98 (1H, m, H-25), 1.22 (3H, d, $J = 7.5$ Hz, H-26), 1.03 (3H, s, H-28), 0.89 (3H, s, H-29), 1.52 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} : 33.8 (C-1), 27.5 (C-2), 77.8 (C-3), 39.3 (C-4), 51.0 (C-5), 36.4 (C-6), 199.5 (C-7), 147.2 (C-8), 151.8 (C-9), 40.6 (C-10), 199.9 (C-11), 49.7 (C-12), 57.2 (C-13), 44.5 (C-14), 207.82 (C-15), 16.4 (C-16), 45.1 (C-17), 16.4 (C-18), 18.0 (C-19), 32.2 (C-20), 19.8 (C-21), 49.1 (C-22), 207.84 (C-23), 46.6

(C-24), 34.6 (C-25), 17.0 (C-26), 180.4 (C-27), 28.0 (C-28), 15.6 (C-29), 22.1 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **3** 为灵芝酸 AM1。

化合物 **4**: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z : 553.2 $[M+Na]^+$, $C_{30}H_{42}O_8$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 2.85 (1H, m, H-1a), 1.51 (1H, m, H-1b), 2.55 (1H, m, H-2a), 2.48 (1H, m, H-2b), 1.55 (1H, m, H-5), 2.09 (1H, m, H-6a), 1.71 (1H, m, H-6b), 4.88 (1H, dd, $J = 9.0, 7.5$ Hz, H-7), 3.88 (1H, brs, H-12), 2.75 (1H, m, H-16a), 1.97 (1H, m, H-16b), 2.13 (1H, m, H-17), 0.95 (3H, s, H-18), 1.23 (3H, s, H-19), 2.03 (1H, m, H-20), 1.18 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 2.60 (1H, m, H-22a), 2.14 (1H, m, H-22b), 2.53 (1H, m, H-24a), 2.41 (1H, m, H-24b), 1.55 (1H, m, H-25), 1.07 (3H, 3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-27), 1.13 (3H, s, H-28), 1.10 (3H, s, H-29), 1.49 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 36.8 (C-1), 35.1 (C-2), 218.7 (C-3), 47.6 (C-4), 49.7 (C-5), 29.1 (C-6), 67.2 (C-7), 160.6 (C-8), 141.1 (C-9), 39.2 (C-10), 201.1 (C-11), 80.4 (C-12), 50.3 (C-13), 60.3 (C-14), 219.6 (C-15), 40.4 (C-16), 47.8 (C-17), 18.7 (C-18), 17.9 (C-19), 33.1 (C-20), 21.1 (C-21), 49.0 (C-22), 211.1 (C-23), 41.7 (C-24), 36.1 (C-25), 180.6 (C-26), 17.6 (C-27), 27.6 (C-28), 19.2 (C-29), 27.4 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **4** 为灵芝酸 D。

化合物 **5**: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z 527.5 $[M-H]^-$, $C_{31}H_{44}O_7$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 2.94 (1H, m, H-1a), 1.50 (1H, m, H-1b), 2.57 (1H, m, H-2a), 2.51 (1H, m, H-2b), 1.55 (1H, m, H-5), 2.11 (1H, m, H-6a), 1.66 (1H, m, H-6b), 4.84 (1H, m, H-7), 2.77 (2H, d, $J = 17.0$, H-12), 2.66 (1H, m, H-16a), 2.05 (1H, m, H-16b), 2.15 (1H, m, H-17), 1.03 (3H, s, H-18), 1.26 (3H, s, H-19), 2.15 (1H, m, H-20), 1.00 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 2.45 (1H, m, H-22a), 2.36 (1H, m, H-22b), 2.75 (1H, m, H-24a), 2.43 (1H, m, H-24b), 2.95 (1H, m, H-25), 1.19 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-27), 1.13 (3H, s, H-28), 1.11 (3H, s, H-29), 1.34 (3H, s, H-30), 3.68 (3H, s, OCH_3); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 35.7 (C-1), 34.3 (C-2), 216.6 (C-3), 46.8 (C-4), 49.1 (C-5), 27.7 (C-6), 66.3 (C-7), 157.8 (C-8), 141.2 (C-9), 38.3 (C-10), 197.6 (C-11), 50.2 (C-12), 45.0 (C-13), 59.3 (C-14), 217.6 (C-15), 41.0 (C-16), 45.7 (C-17), 17.7 (C-18), 19.6 (C-19), 32.0

(C-20), 18.2 (C-21), 48.9 (C-22), 207.7 (C-23), 46.7 (C-24), 34.7 (C-25), 176.7 (C-26), 20.8 (C-27), 27.0 (C-28), 17.1 (C-29), 24.7 (C-30), 51.9 (OCH_3)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **5** 为灵芝酸 D 甲酯。

化合物 **6**: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z : 519.3 $[M+Cl]^-$, $C_{30}H_{44}O_5$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 2.57 (1H, m, H-1a), 2.25 (1H, m, H-1b), 2.57 (1H, m, H-2a), 2.21 (1H, m, H-2b), 2.11 (1H, m, H-5), 2.36 (2H, m, H-6), 2.11 (1H, m, H-7a), 1.72 (1H, m, H-7b), 2.05 (2H, m, H-12), 3.89 (1H, m, H-15), 2.06 (1H, m, H-16a), 1.45 (1H, m, H-16b), 1.87 (1H, m, H-17), 0.70 (3H, s, H-18), 1.34 (3H, s, H-19), 2.38 (1H, m, H-20), 0.96 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 2.65 (1H, m, H-22a), 2.13 (1H, m, H-22b), 2.76 (1H, m, H-23a), 1.85 (1H, m, H-23b), 6.93 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-24), 1.88 (3H, s, H-27), 1.11 (3H, s, H-28), 1.12 (3H, s, H-29), 0.97 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 35.4 (C-1), 34.4 (C-2), 214.6 (C-3), 47.2 (C-4), 50.4 (C-5), 23.8 (C-6), 31.9 (C-7), 162.8 (C-8), 139.5 (C-9), 39.5 (C-10), 198.2 (C-11), 47.9 (C-12), 44.9 (C-13), 41.4 (C-14), 72.7 (C-15), 28.2 (C-16), 45.6 (C-17), 15.9 (C-18), 17.9 (C-19), 37.1 (C-20), 25.0 (C-21), 35.2 (C-22), 30.2 (C-23), 141.4 (C-24), 128.5 (C-25), 170.9 (C-26), 12.5 (C-27), 25.4 (C-28), 21.4 (C-29), 11.9 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **6** 为 ganolucidic acid E。

化合物 **7**: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z : 485.4 $[M+H]^+$, $C_{30}H_{44}O_5$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 2.30 (1H, m, H-1a), 2.17 (1H, m, H-1b), 2.72 (1H, m, H-2a), 2.50 (1H, m, H-2b), 2.28 (1H, dd, $J = 13.5, 4.5$ Hz, H-5), 2.62 (1H, m, H-6a), 2.44 (1H, m, H-6b), 4.53 (1H, dd, $J = 8.5, 5.0$ Hz, H-11), 2.53 (1H, m, H-12a), 1.87 (1H, m, H-12b), 2.11 (1H, m, H-15a), 1.64 (1H, m, H-15b), 1.99 (1H, m, H-16a), 1.31 (1H, m, H-16b), 1.59 (1H, m, H-17), 0.69 (3H, s, H-18), 1.40 (3H, s, H-19), 1.40 (1H, m, H-20), 0.96 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 1.59 (1H, m, H-22a), 1.21 (1H, m, H-22b), 2.13 (1H, m, H-23a), 2.26 (1H, m, H-23b), 6.90 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-24), 1.85 (3H, s, H-26), 1.12 (3H, s, H-28), 1.13 (3H, s, H-29), 1.15 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 34.9 (C-1), 34.6 (C-2), 214.5 (C-3), 47.5 (C-4), 50.9 (C-5), 37.6 (C-6),

199.5 (C-7), 142.2 (C-8), 158.8 (C-9), 40.1 (C-10), 65.8 (C-11), 44.6 (C-12), 48.2 (C-13), 47.6 (C-14), 32.7 (C-15), 28.0 (C-16), 49.8 (C-17), 17.0 (C-18), 19.3 (C-19), 36.1 (C-20), 18.4 (C-21), 34.7 (C-22), 25.9 (C-23), 145.6 (C-24), 126.6 (C-25), 172.3 (C-26), 12.0 (C-27), 25.2 (C-28), 21.6 (C-29), 25.4 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **7** 为 11 α -hydroxy-3,7-dioxo-5 α -lanosta-8,24(*E*)-dien-26-oic acid。

化合物 **8**: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z 481.3 $[M+Na]^+$, $C_{30}H_{42}O_7$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 2.97 (1H, m, H-1a), 1.48 (1H, m, H-1b), 2.99 (1H, m, H-2a), 2.51 (1H, m, H-2b), 1.58 (1H, dd, $J = 13.5, 4.5$ Hz, H-5), 2.12 (1H, m, H-6a), 1.68 (1H, m, H-6b), 4.89 (1H, dd, $J = 9.0, 7.5$ Hz, H-7), 2.57 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-12a), 2.63 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-12b), 2.97 (1H, m, H-16a), 2.57 (1H, m, H-16b), 3.09 (1H, t, $J = 9.5$ Hz, H-17), 0.89 (3H, s, H-18), 1.26 (3H, s, H-19), 2.18 (3H, s, H-21), 6.05 (1H, brs, H-22), 2.66 (1H, m, H-24), 2.51 (1H, m, H-25), 1.25 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-26), 1.13 (3H, s, H-28), 1.11 (3H, s, H-29), 1.41 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 35.8 (C-1), 34.4 (C-2), 216.60 (C-3), 46.9 (C-4), 49.1 (C-5), 27.8 (C-6), 66.5 (C-7), 157.6 (C-8), 141.5 (C-9), 38.5 (C-10), 197.1 (C-11), 49.1 (C-12), 46.1 (C-13), 58.8 (C-14), 216.68 (C-15), 38.0 (C-16), 49.9 (C-17), 19.2 (C-18), 18.3 (C-19), 154.1 (C-20), 21.1 (C-21), 124.8 (C-22), 198.2 (C-23), 47.7 (C-24), 34.7 (C-25), 179.1 (C-26), 17.2 (C-27), 27.2 (C-28), 20.9 (C-29), 24.8 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **8** 为灵芝烯酸 D。

化合物 **9**: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z 493.2 $[M+Cl]^-$, $C_{27}H_{38}O_6$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 2.95 (1H, m, H-1a), 1.50 (1H, m, H-1b), 2.50 (1H, m, H-2a), 2.47 (1H, m, H-2b), 1.58 (1H, m, H-5), 2.11 (1H, m, H-6a), 1.68 (1H, m, H-6b), 4.85 (1H, m, H-7), 2.76 (1H, d, $J = 16.5$ Hz, H-12a), 2.75 (1H, d, $J = 16.5$ Hz, H-12b), 2.80 (1H, dd, $J = 20.0, 8.5$ Hz, H-16a), 2.17 (1H, m, H-16b), 2.01 (1H, m, H-17), 1.01 (3H, s, H-18), 1.26 (3H, s, H-19), 1.59 (1H, m, H-20), 0.99 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 1.80 (1H, m, H-22a), 1.37 (1H, m, H-22b), 2.47 (1H, m, H-23a), 2.35 (1H, m, H-23b), 1.11 (3H, s, H-28), 1.09 (3H, s, H-29), 1.33

(3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 30.9 (C-1), 34.4 (C-2), 217.0 (C-3), 46.9 (C-4), 49.0 (C-5), 27.7 (C-6), 66.5 (C-7), 157.9 (C-8), 141.4 (C-9), 38.4 (C-10), 197.9 (C-11), 50.3 (C-12), 45.1 (C-13), 59.5 (C-14), 218.1 (C-15), 41.2 (C-16), 46.4 (C-17), 17.8 (C-18), 18.3 (C-19), 35.3 (C-20), 18.1 (C-21), 30.5 (C-22), 35.8 (C-23), 178.4 (C-24), 27.1 (C-28), 20.9 (C-29), 24.8 (C-130)。以上数据与文献报道基本一致^[17-18], 故鉴定化合物 **9** 为赤芝酸 A。

化合物 **10**: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z 471.6 $[M+H]^+$, $C_{28}H_{38}O_6$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 2.85 (1H, m, H-1a), 1.77 (1H, m, H-1b), 2.60 (1H, m, H-2a), 2.45 (1H, m, H-2b), 2.30 (1H, m, H-5), 2.67 (1H, m, H-6a), 2.44 (1H, m, H-6b), 2.88 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, H-12a), 2.75 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, H-12b), 2.80 (1H, m, H-16a), 1.95 (1H, m, H-16b), 2.15 (1H, m, H-17), 0.86 (3H, s, H-18), 1.28 (3H, s, H-19), 1.55 (1H, m, H-20), 0.96 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 2.44 (1H, m, H-22a), 2.30 (1H, m, H-22b), 1.83 (1H, m, H-23a), 1.38 (1H, m, H-23b), 1.14 (3H, s, H-28), 1.12 (3H, s, H-29), 1.65 (3H, s, H-30), 3.68 (3H, s, OCH_3); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 34.7 (C-1), 34.0 (C-2), 215.5 (C-3), 47.1 (C-4), 51.1 (C-5), 37.4 (C-6), 199.6 (C-7), 149.9 (C-8), 147.0 (C-9), 39.5 (C-10), 199.5 (C-11), 49.1 (C-12), 44.0 (C-13), 57.3 (C-14), 207.4 (C-15), 40.0 (C-16), 45.3 (C-17), 16.2 (C-18), 18.8 (C-19), 35.5 (C-20), 18.4 (C-21), 30.9 (C-22), 31.1 (C-23), 173.9 (C-24), 27.8 (C-28), 20.4 (C-29), 21.0 (C-30), 51.8 (OCH_3)。以上数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **10** 为赤芝酸 F 甲酯。

化合物 **11**: 白色无定形粉末, ESI-MS m/z 481.3 $[M+Na]^+$, $C_{30}H_{42}O_7$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 2.79 (1H, m, H-1a), 1.34 (1H, m, H-1b), 2.64 (1H, m, H-2a), 2.35 (1H, m, H-2b), 1.48 (1H, dd, $J = 13.5, 2.0$ Hz, H-5), 2.18 (1H, m, H-6a), 1.79 (1H, m, H-6b), 4.83 (1H, t, $J = 8.5$ Hz, H-7), 4.37 (1H, s, H-12), 2.68 (1H, m, H-16a), 2.31 (1H, m, H-16b), 2.47 (1H, m, H-17), 0.83 (3H, s, H-18), 1.43 (3H, s, H-19), 1.96 (1H, m, H-20), 1.15 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 1.87 (1H, m, H-22a), 1.29 (1H, m, H-22b), 2.47 (1H, m, H-23a), 2.35 (1H, m, H-23b), 1.13 (3H, s, H-28), 1.13 (3H, s, H-29), 1.44 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 35.3 (C-1), 34.4 (C-2), 215.9 (C-3),

46.8 (C-4), 49.6 (C-5), 27.9 (C-6), 66.0 (C-7), 158.4 (C-8), 140.7 (C-9), 37.8 (C-10), 199.8 (C-11), 78.5 (C-12), 51.8 (C-13), 60.4 (C-14), 217.3 (C-15), 38.0 (C-16), 47.1 (C-17), 12.2 (C-18), 18.4 (C-19), 31.7 (C-20), 20.7 (C-21), 29.7 (C-22), 31.7 (C-23), 177.6 (C-24), 26.5 (C-28), 21.4 (C-29), 23.5 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[17],故鉴定化合物 **11** 为赤芝酸 B。

4 化合物 1~11 对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用

市售 α -葡萄糖苷酶(酵母)配制成 0.2 U/mL 的酶溶液。*p*-硝基苯- β -D-半乳糖苷(PNPG)配制成 2.5 mmol/L PNPG 溶液。阿卡波糖为阳性对照药。于 96 孔板中,每孔 140 μ L 磷酸钾缓冲溶液(PB, pH 6.8)反应体系中包含 20 μ L 0.2 U/mL 的 α -葡萄糖苷酶溶液以及特定浓度的待测化合物(浓度梯度依次为 25、50、100、200、400 μ mol/L),DMSO 的浓度控制在 1.6% (不影响葡萄糖苷酶的活性),37 $^{\circ}$ C 恒温孵育 15 min 后,加入 20 μ L (2.5 mmol/L) PNPG 溶液,继续于 37 $^{\circ}$ C 恒温孵育 15 min; 加入 80 μ L (0.2 mol/L) Na_2CO_3 终止液,并于 405 nm 波长下测定体系的吸光度(*A*)值,计算得出化合物对 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 值,结果见表 1。

表 1 三萜类化合物 1~11 对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用
Table 1 Inhibitory effects of triterpenoids 1—11 on α -glucosidase

化合物	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	化合物	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$
1	65.2	7	176.5
2	126.4	8	145.3
3	155.8	9	165.0
4	>200	10	>200
5	57.5	11	>200
6	>200	阿卡波糖	380.5

根据上述灵芝中羊毛脂烷型三萜类成分的结构特征以及对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用,本研究初步总结了其结构与活性之间的关系:1)降碳的羊毛脂烷型三萜的抑制作用弱于完整的羊毛脂烷型三萜;2)具有 $\Delta^{24,25}$ 双键的三萜,其 α -葡萄糖苷酶的抑制作用减弱;3)当 C-7 连接醇羟基,形成 α,β -不饱和酮(C-8/C-9/C-11)共轭系统时, α -葡萄糖苷酶的抑制作用强于二酮烯共轭系统(C-7/C-8/C-9/C-11)。

5 讨论

研究显示赤芝子实体中的三萜类成分主要为具有高度氧化的羊毛脂烷型骨架,且具有羧酸侧链。

同时,赤芝中出现了较多的降碳三萜,多发生于侧链。本研所得到的新结构即为五降三萜。 α -葡萄糖苷酶的抑制活性研究显示部分三萜类成分具有一定的 α -葡萄糖苷酶抑制作用。因此,本研究表明具有羊毛脂烷三萜或降碳三萜为赤芝中的主要成分类型,并且可能为赤芝降血糖的主要物质基础。

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2015.
- [2] Liu J, Shiono J, Shimizu K, *et al.* Ganoderic acid DM: anti-androgenic osteoclastogenesis inhibitor [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19(8): 2154-2157.
- [3] Lee I, Kim J P, Ryoo I J, *et al.* Lanostane triterpenes from *Ganoderma lucidum* suppress the adipogenesis in 3T3-L1 cells through down-regulation of SREBP-1c [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(18): 5577-5581.
- [4] Weng Y F, Xiang L, Matsuura A, *et al.* Ganoderasides A and B, two novel anti-aging ergosterols from spores of a medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* on yeast via UTH1 gene [J]. *Bioorg Med Chem*, 2010, 18(3): 999-1002.
- [5] Wang J L, Li Y B, Liu R M, *et al.* A new ganoderic acid from *Ganoderma lucidum* mycelia [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2010, 12(8): 727-730.
- [6] Pan D, Wang L Q, Chen C H, *et al.* Structure characterization of a novel neutral polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies [J]. *Food Chem*, 2012, 135(3): 1097-1103.
- [7] Hu L L, Ma Q Y, Huang S Z. A new nortriterpenoid from the fruiting bodies of *Ganoderma tropicum* [J]. *Phytochem Lett*, 2014, 7(1): 11-13.
- [8] Nguyen V T, Tung N T, Cuong T D, *et al.* Cytotoxic and anti-angiogenic effects of lanostane triterpenoids from *Ganoderma lucidum* [J]. *Phytochem Lett*, 2015, 12: 69-74.
- [9] Zhao X R, Huo X K, Dong P P, *et al.* Inhibitory effects of highly oxygenated lanostane derivatives from the fungus *Ganoderma lucidum* on P-glycoprotein and α -glucosidase [J]. *J Nat Prod*, 2015, 78(8): 1868-1876.
- [10] 刘思好,王艳,何蓉蓉,等.灵芝的化学成分[J].沈阳药科大学学报,2008,25(3): 183-188.
- [11] Lin C N, Kuo S H, Won S J. Steroids of formosan *Ganoderma amboinense* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 32(6): 1549-1551.
- [12] Qiao Y, Zhang X M, Qiu M H. Two novel lanostane triterpenoids from *Ganoderma sinense* [J]. *Molecules*, 2007, 12(8): 2038-2046.
- [13] Kohda H, Tokumoto W, Sakamoto K, *et al.* The

- biologically active constituents of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. histamine release-inhibitory triterpenes [J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33(4): 1367-1374.
- [14] Nishitoba T, Oda K, Sato H, *et al.* Novel triterpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum* [J]. *Agric Biol Chem*, 1988, 52(2): 367-372.
- [15] Cheng C R, Yue Q X, Wu Z Y, *et al.* Cytotoxic triterpenoids from *Ganoderma lucidum* [J]. *Phytochemistry*, 2010, 71(13): 1579-1585.
- [16] Komoda Y, Nakamura H, Ishihara S, *et al.* Structures of new terpenoid constituents of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst (Polyporaceae) [J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33(11): 4829-4835.
- [17] Nishitoba T, Sato H, Kasai T, *et al.* New bitter C₂₇ and C₃₀ terpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum* (Reishi) [J]. *Agric Biol Chem*, 1985, 49(6): 1793-1798.
- [18] Seo H W, Hung T M, Na M, *et al.* Steroids and Triterpenes from the fruit bodies of *Ganoderma lucidum* and their anti-complement activity [J]. *Arch Pharm Res*, 2009, 32(11): 1573-1579.
- [19] Kikuchi T, Matsuda S, Kadota S, *et al.* Ganoderic acid D, E, F, and H and lucidenic acid D, E, and F, new triterpenoids from *Ganoderma lucidum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33(6): 2624-2627.