

连接。碳谱中 12、20 位置碳的位移较原人参三醇相比发生了明显的变化,向低场位移 δ 6~7,提示连接位置可能在 12、20 位。HMBC 谱中观察到该片段端基质子 δ 5.25 与骨架上的 12、20 位碳之间存在远程相关信号,证实了含氧取代发生在这两个位置上。综上分析,推测该化合物结构为 24,25-烯- β ,6 α -二羟基-12,20-(1⁴羟基)双氧乙基-达玛烷,由于该化合物不易生成晶体,2 位的绝对构型暂未确定。经文献检索,为一新化合物。

原人参三醇(PT)和原人参二醇(PD),均为白色无定形粉末。核磁共振波谱数据与文献一致^[6]。

采用 MTT 法^[7],对 HL-60 白血病细胞的抑制作用测试结果见表2,该化合物的抑制作用明显强

表2 抗 HL-60 细胞抑制试验结果

Table 2 Inhibition against HL-60 cells

化合物	IC ₅₀ / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
1	18.66
PD	33.02
PT	37.45
多西他塞	0.25

于原人参二醇和原人参三醇。

参考文献:

- [1] Chang Y S, Seo E K, Gyllenhaal C, et al. Panax ginseng: a role in cancer therapy [J]. *Integr Cancer Ther*, 2003, 2: 13-33.
- [2] Popovich D G, Kitts D D. Structure-function relationship exists for ginsenosides in reducing cell proliferation and inducing apoptosis in the human leukemia (THP-1) cell line [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2002, 406(1): 1-8.
- [3] Tian Y, Guo H, Han J, et al. Microbial transformation of 20(S)-protopanaxatriol by *Mucor spinosus* [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68: 678-680.
- [4] Zhang J, Guo H, Tian Y, et al. Biotransformation of 20(S)-protopanaxatriol by *Mucor spinosus* and the cytotoxic structure activity relationships of the transformed products [J]. *Phytochemistry*, 2007, 68: 2523-2530.
- [5] Nagai M, Ando T, Tanaka N, et al. Chemical studies on the Oriental plant drugs XXVIII. Saponins and sapogenins of Ginseng. Stereochemistry of the sapogenin of ginsenosides-Rb1, Rb2, and Rc [J]. *Chem Pharm Bull*, 1972, 20: 1212-1216.
- [6] Asakawa J, Kasai R, Yamasaki K, et al. ¹³C-NMR study of Ginseng sapogenins and their related dammarane type triterpenes [J]. *Tetrahedron*, 1977, 33: 1935-1939.
- [7] Sargent J M, Taylor C G. Appraisal of the MTT assay as a rapid test of chemosensitivity in acute myeloid leukaemia [J]. *Br J Cancer*, 1989, 60: 206-210.

紫芝中的一个新三萜

刘超,陈若芸

(中国医学科学院北京协和医学院 药物研究所 中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室,北京 100050)

摘要:目的 研究紫芝 *Ganoderma sinense* 子实体的化学成分。方法 通过反复硅胶、凝胶柱色谱进行分离纯化,利用多种波谱技术鉴定化合物的结构。结果 分离鉴定了4个化合物,分别为紫芝酸(sinensoic acid, 1)、cerebroside D(2)、pokeweed cerebroside(3)、泥湖鞘酰胺(hemisceramide, 4)。结论 化合物1为新化合物,命名为紫芝酸(sinensoic acid),其余化合物均为首次从灵芝属真菌中分离得到。

关键词:紫芝;三萜;sinensoic acid;脑苷

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)01-0008-04

A new triterpene from fungal fruiting bodies of *Ganoderma sinense*

LIU Chao, CHEN Ruoyun

(Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents from the fungal fruiting bodies of *Ganoderma sinense*. **Methods** Individual constituents, isolated and repeatedly purified on silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography, were identified by physicochemical constants and structurally elucidated by spectral methods. **Results** Four compounds were isolated and identified as: sinensoic acid (1), cerebro-

收稿日期:2009-07-15

基金项目:科技部科技基础性工作专项(2007FY130100)

作者简介:刘超(1979—),男,助理研究员,硕士,从事天然产物研究方面的工作。

*通讯作者 陈若芸 Tel: (010) 83161622 E-mail: rych@imm.ac.cn

side D (2), poke-weed cerebroside (3), hemisceramide (4). **Conclusion** Compound 1 is a new compound, others are isolated from the fungus of *Ganoderma* for the first time.

Key words: *Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang; triterpenes, sinensoic acid, cerebroside

紫芝 *Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang 为层菌纲非褶菌目灵芝科灵芝属真菌,其甘、温、无毒,具有滋补强壮、增强机体免疫力的作用^[1]。2005 年版《中国药典》将紫芝和赤芝 *G. lucidum* (Leyss. ex Fr. Karst.) 的干燥子实体共同定为灵芝的药用正品^[2]。之前笔者报道了从紫芝子实体乙醇提取物的氯仿部分分离得到的 8 个化合物^[3]。本文继续报道从氯仿和醋酸乙酯部分得到的 4 个化合物,其中包括 1 个新三萜类化合物,2 个脑苷类化合物和 1 个神经酰胺类化合物。

化合物 1:白色针晶(丙酮),mp 223~225, $[\alpha]_D^{20} + 32.4$ (c 0.05, CHCl₃)。Liebermann-Burchard 反应阳性。IR 显示有羟基(3 469, 3 282 cm⁻¹)和羧基(1 701 cm⁻¹)的存在。UV 只显示有末端吸收(λ_{max} 207.7 nm),说明无共轭基团存在。HR-ESI-MS(+) 给出准分子离子峰 $[M + Na]^+$ m/z : 495.340 9 (计算值为 495.345 0, C₃₀H₄₈O₄Na),结合¹H-NMR、¹³C-NMR 确定化合物 1 的分子式为 C₃₀H₄₈O₄,不饱和度为 7。

¹H-NMR 谱(C₅D₅N, 500 MHz) 显示了均为单峰的 6 个甲基质子信号 δ_H : 1.82, 1.23, 1.06, 1.05, 1.00 和 1.00; 连氧碳上的 1 个偕氢信号 δ_H : 3.43 (t, $J = 7.0$ Hz); 1 个羟甲基氢信号 δ_H : 4.29 (2H, s) 以及 1 个烯氢信号 δ_H : 5.84 (t, $J = 6.5$ Hz)。¹³C-NMR 给出了 30 个碳信号,包括 6 个甲基碳信号 δ_C : 28.4, 24.3, 19.2, 16.2, 16.1, 13.7; 4 个烯碳信号 δ_C : 136.7, 134.1, 134.1, 124.0; 1 个羧基碳信号 δ_C : 178.4; 1 个连氧碳信号 δ_C : 77.8 和 1 个羟甲基的碳信号 δ_C : 67.8。以上数据符合羊毛甾烷类三萜的特征。经比对,化合物 1 与文献报道^[4]的 versisponic acid A (3 β , 15 α , 27-trihydroxy-5 α -lanosta-8, 24 *Z*-dien-21-oic-acid) 的数据较为接近,都拥有 5 α -lanosta-8, 24-dien-21-oic acid 的结构骨架,只是化合物 1 不具有 15 位的羟基,而且二者的重要区别在于 24 位双键的构型。versisponic acid A 的双键为 *Z* 构型,相关碳信号如下排列 δ_C : 26.1 (C-23), 126.4 (C-24), 137.1 (C-25), 21.8 (C-26), 60.8 (C-27); 而化合物 1 的 24 位双键应为 *E* 构型,相关碳信号如下排列(测试溶剂均为 C₅D₅N) δ_C : 26.1 (C-23), 124.0 (C-24), 136.7 (C-25), 67.8 (C-26), 13.7 (C-27)。这点

也从文献数据^[5]得到了佐证。

至此,确定化合物 1 的结构如图 1 所示。结合 DEPT、HSQC 和 HMBC 谱(图 2)以及文献报道^[4-6]对化合物 1 各碳、氢信号进行了归属,结果鉴定为 3 β , 26-dihydroxy-5 α -lanosta-8, 24 *E*-dien-21-oic acid, 为一新化合物,命名为紫芝酸(sinensoic acid)。

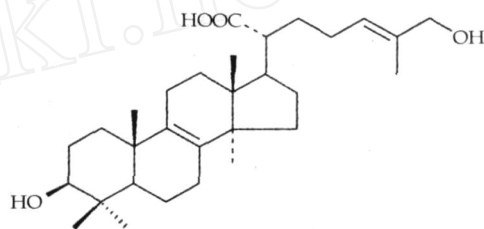


图 1 化合物 1 的化学结构

Fig. 1 Structure of compound 1

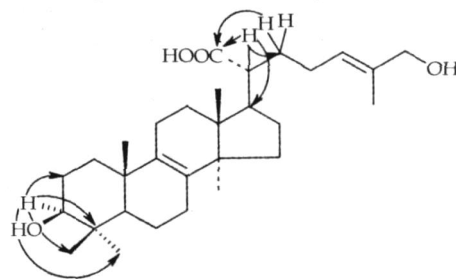


图 2 化合物 1 的 HMBC 相关

Fig. 2 Key HMBC correlation of compound 1

1 材料与仪器

1.1 供试药材:紫芝子实体为人工栽培品种,产于福建,经广东省微生物分析检测中心严舒宁工程师鉴定为紫芝 *G. sinense* Zhao, Xu et Zhang。

1.2 仪器和材料:XT4-100 显微熔点测定仪(未校正);Autospec Ultima ETOF 质谱仪;美国 Varian 公司 Mercury-400 型,INOVA 500 型核磁共振仪(TMS 内标)。硅胶(青岛海洋化工厂),Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司),所用试剂均为 AR 级。

2 提取与分离

紫芝子实体 10 kg 粉碎后,用 95%乙醇加热回流提取 3 次,合并提取液,减压回收溶剂,得浸膏 420 g。将其混悬于水中后,依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯和正丁醇萃取。取氯仿部分共 80 g,经硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇系统梯度洗脱,得到氯仿,氯仿-甲醇 95:5, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 1:1 共 6 个部分,其中氯仿-甲醇 8:2 部分(11.8 g)再经反复

硅胶(石油醚-丙酮系统或氯仿-丙酮系统)和凝胶(甲醇或氯仿-甲醇系统)柱色谱,分别得到化合物1(5 mg)和4(40 mg)。取醋酸乙酯部分共25 g,经硅胶柱色谱分离,石油醚-丙酮系统梯度洗脱,得到5 1,4 1,3 1,2 1,1 1共5个部分,其中石油醚-丙酮4 1部分(3.1 g),石油醚-丙酮3 1部分(1.9 g)和石油醚-丙酮2 1部分(1.8 g),再经反复硅胶(氯仿-丙酮系统或氯仿-甲醇系统)和凝胶(甲醇或氯仿-甲醇系统)柱色谱,分别得到化合物2(34 mg)和3(14 mg)。

3 结构鉴定

化合物1:白色针晶(丙酮),mp 223~225, $[\alpha]_D^{20} + 32.4$ (c 0.05, CHCl₃)。Liebermann-Burchard 反应阳性。IR (显微镜透射法) $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3 469, 3 282, 2 955, 2 680, 1 701, 1 452, 1 372, 1 217, 1 039, 997。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm: 207.7。HR-ESI-MS (+) m/z : 495.340 9 [M + Na]⁺, 计算值为 495.345 0, 分子式为 C₃₀H₄₈O₄。¹H-NMR (C₅D₅N, 500 MHz) δ : 5.84 (1H, t, $J = 6.5$ Hz, H-24), 4.29 (2H, s, H-26), 3.43 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-3), 2.68~2.64 (1H, m, H-20), 1.82 (3H, s, H-27), 1.23 (3H, s, H-30), 1.06 (3H, s, H-31), 1.05 (3H, s, H-18), 1.00 (3H, s, H-32) 和 1.00 (3H, s, H-19)。¹³C-NMR (C₅D₅N, 125 MHz) δ : 178.4 (C-21), 136.7 (C-25), 134.1 (2C, C-8, 9), 124.0 (C-24), 77.8 (C-3), 67.8 (C-26), 50.7 (C-5), 49.6 (C-14), 48.9 (C-20), 47.5 (C-17), 44.7 (C-13), 39.3 (C-4), 37.2 (C-10), 35.9 (C-1), 33.0 (C-22), 30.6 (C-12), 29.2 (C-16), 28.5 (C-2), 28.4 (C-30), 27.3 (C-15), 26.6 (C-7), 26.1 (C-23), 24.3 (C-32), 21.0 (C-11), 19.2 (C-19), 18.5 (C-6), 16.2 (C-31), 16.1 (C-18), 13.7 (C-27)。

化合物2:白色粉末(甲醇),mp 178~179。ESI-MS (+) m/z : 778 [M + Na]⁺。¹H-NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ : 8.35 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, NH), 6.03~5.91 (2H, m, H-4, 5), 5.26 (1H, m, H-8), 4.91 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1), 4.83~4.79 (1H, m, H-2), 4.79 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-3), 4.76~4.69 (1H, m, H-1a), 4.57 (1H, dd, $J = 8.0, 3.6$ Hz, H-2), 4.50 (1H, dd, $J = 11.6, 2.4$ Hz, H-6'a), 4.35 (1H, dd, $J = 11.6, 5.2$ Hz, H-6'b), 4.25 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-1b), 4.23~4.20 (2H, m, H-3'', 4'), 4.04~4.00 (1H, m, H-2'), 3.91~3.90 (1H, m, H-5'), 2.22~2.18 (1H, m, H-3'a), 2.18~2.15 (4H, m, H-6, 7), 2.02~1.99 (3H, m,

H-3 b, OH $\times 2$), 1.80~1.78 (1H, m, OH), 1.74~1.70 (1H, m, OH), 1.61 (3H, s, H-19), 1.39~1.26 (40H, m, H-11~17, 4'~17), 0.86 (6H, t, $J = 7.2$ Hz, H-18, 18')。¹³C-NMR (C₅D₅N, 100 MHz) δ : 175.6 (C-1), 135.8 (C-9), 132.3, 131.9 (C-4, 5), 124.1 (C-8), 105.7 (C-1'), 78.6 (C-3'), 78.5 (C-5'), 75.1 (C-2'), 72.5 (C-2'), 72.3 (C-3), 71.5 (C-4'), 70.2 (C-1), 62.7 (C-6'), 54.6 (C-2), 40.0 (C-10), 35.7 (C-3), 33.1 (C-6), 32.1 (C-7, 16), 30.0~29.6 (C-12~15, 5'~15'), 28.3 (C-11), 28.2 (C-16), 25.9 (C-4), 22.9 $\times 2$ (C-17, 17'), 16.1 (C-19), 14.3 $\times 2$ (C-18, 18')。对比文献数据^[7], 确定化合物2为(2S, 3R, 4E, 8E)-1-(β -D-glucopyranosyl)-3-hydroxy-2-[(R)-2'-hydroxy-octadecanoyl]-amino-9-methyl-4,8-octadecadiene, 即 cerebroside D。

化合物3:白色粉末(甲醇),mp 188~190。ESI-MS (+) m/z : 838 [M + Na]⁺。¹H-NMR (DMSO, 400 MHz) δ : 7.57 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, NH), 5.56 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, OH), 5.35~5.26 (2H, m, H-8, 9), 5.00~4.95 (3H, m, OH $\times 3$), 4.82 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, OH), 4.58~4.55 (1H, m, OH), 4.39 (1H, d, $J = 6.4$ Hz, OH), 4.13 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 4.10~4.05 (1H, m, H-2), 3.85~3.78 (2H, m, H-1a, 2), 3.65~3.59 (2H, m, H-1b, 6'a), 3.46~3.40 (1H, m, H-6'b), 3.39~3.29 (2H, m, H-3, 4), 3.17~3.12 (1H, m, H-3'), 3.06~3.03 (2H, m, H-4'', 5'), 2.95~2.90 (1H, dt, $J = 8.4, 3.6$ Hz, H-2'), 1.97~1.92 (4H, m, H-7, 10), 1.59~1.43 (3H, m, H-5, 3'a), 1.27~1.21 (53H, H-6, 11~17, 3'b, 4'~21), 0.83 (6H, t, $J = 7.2$ Hz, H-18, 22')。¹³C-NMR (DMSO, 100 MHz) δ : 173.8 (C-1'), 129.9, 129.3 (C-8, 9), 103.4 (C-1'), 76.8 (C-5'), 76.5 (C-3'), 74.1 (C-3), 73.4 (C-2'), 70.9 (C-2), 70.5 (C-4), 69.9 (C-4'), 68.9 (C-1), 60.9 (C-6'), 49.8 (C-2), 34.3 (C-3'), 31.8 (C-5), 31.3 (C-4'), 29.2~28.7 (C-12~16, 5'~20), 26.9, 26.6 (C-7, 10), 25.6 (C-6), 24.4 (C-11), 22.1 $\times 2$ (C-17, 21'), 13.9 $\times 2$ (C-18, 22')。对比文献数据^[8], 确定化合物3为1-O- β -D-glucopyranosyl-(2S, 3S, 4R, 8Z)-2-[(2R)-2-hydroxybehenoyl]-amino]-8-octadec-ene-1,3,4-triol, 即 poke-weed cerebroside。

化合物4:白色粉末。ESI-MS (+) m/z : 684 [M + H]⁺, 706 [M + Na]⁺。¹H-NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ : 8.58 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, NH), 5.11 (1H,

$dd, J = 9.2, 4.8 \text{ Hz}$, H-2), 4.64 (1H, $dd, J = 8.0, 4.0 \text{ Hz}$, H-2'), 4.52 (1H, $dd, J = 10.8, 4.8 \text{ Hz}$, H-1a), 4.42 (1H, $dd, J = 10.8, 4.8 \text{ Hz}$, H-1b), 4.36 (1H, m, H-3), 4.29 (1H, t, $J = 6.8 \text{ Hz}$, H-4), 2.27~2.20 (2H, m, H-5a, 3'a), 2.06~2.03 (2H, m, H-5b, 3'b), 1.98~1.90 (1H, m, H-6a), 1.80~1.66 (3H, s, H-6b, 4'), 1.46~1.25 (6H, m, H-7~20, 5'~20'), 0.86 (6H, t, $J = 6.4 \text{ Hz}$, CH_3 -21, 21')。 $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) δ : 175.3 (C-1'), 76.7 (C-3), 73.0 (C-4), 72.5 (C-2'), 62.0 (C-1), 52.9 (C-2), 35.7 (C-5), 34.1 (C-3'), 32.1 (C-6, 4'), 30.3~29.5 (C-7~18, 5'~18'), 26.6 (C-19), 25.8 (C-19'), 22.9 (C-20, 20'), 14.3 (C-21, 21')。经与文献数据^[9]比对, 确定化合物4为泥湖鞘鞍醇 (hemis-ceramide)。

参考文献:

- [1] 林志彬. 灵芝的现代研究 [M]. 第3版. 北京: 北京工业化学出版社, 2007.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2005.
- [3] 刘超, 王洪庆, 李保明, 等. 紫芝子实体的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(3): 235-237.
- [4] Yoshikawa K, Matsumoto K, Mine C, et al. Five lanostane triterpenoids and three saponins from the fruit body of *Laetiporu versisporus* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2000, 48(10): 1418-1421.
- [5] 龚运淮, 丁立生. 核磁共振碳谱分析 [M]. 云南: 云南科技出版社, 2006.
- [6] Gan K H, Fann Y F, Hsu S H, et al. Mediation of the cytotoxicity of lanostanoids and steroids of *Ganoderma tsugae* through apoptosis and cell cycle [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61(4): 485-487.
- [7] Gao J M, Hu L, Dong Z J, et al. New glycosphingolipid containing an unusual sphingoid base from the basidiomycete *Polyporus ellisii* [J]. *Lipids*, 2001, 36(5): 521-527.
- [8] Kang S S, Kim J S, Son K H, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitory cerebroside from *Phytolacca radix* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49(3): 321-323.
- [9] 任玉琳, 杨峻山. 泥湖菜中两个新化合物的结构研究 [J]. 药学报, 2002, 37(6): 440-443.

抗肿瘤中药青龙衣化学成分的研究

周媛媛¹, 王 栋¹, 牛 峰²

(1. 黑龙江中医药大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 哈药集团制药六厂, 黑龙江 哈尔滨 150056)

摘要:目的 研究抗肿瘤中药青龙衣的化学成分。方法 近年大量的药理实验及临床研究表明青龙衣 CHCl_3 及 EtOAc 部分具有显著的抗肿瘤作用, 且毒性较小。本实验利用硅胶柱色谱和大孔吸附树脂分离化合物, 并利用 1D-NMR 及 2D-NMR 光谱数据确定了化合物的结构。结果 从青龙衣的 CHCl_3 活性部位中分得 8 个化合物, 并分别确定为 20(S)-原人参二醇-3-酮(1)、达玛烷-20, 24-二烯-3 β -醇(2)、茸毛香杨梅酮(galeon)(3)、胡桃宁 A(juglamin A)(4)、2 α , 3 β , 23-三羟基-12-烯-28-齐墩果酸(5)、2 α , 3 β , 23-三羟基-12-烯-28-熊果酸(6)、齐墩果酸(7)、熊果酸(8)。结论 化合物1为首次从天然资源中分离得到的新天然产物; 化合物2及5~8均为首次从胡桃属植物中分离得到, 此前未见该属三萜类化合物的报道; 化合物3为首次从青龙衣中分离得到。

关键词: 青龙衣; 20(S)-原人参二醇-3-酮; 抗肿瘤活性

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2010)01-0011-04

Studies on constituents from pericarps of *Juglans mandshurica* with anti-tumor activity

ZHOU Yuan-yuan¹, WANG Dong¹, NIU Feng²

(1. College of Pharmacy, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. Harbin Pharmaceutical Group Sixth Pharmaceutical Factory, Harbin 150056, China)

Abstract: **Objective** To study the chemical components from the pericarps of *Juglans mandshurica* with anti-tumor activity. **Methods** It showed that pericarps of *J. mandshurica* had a good performance in treating cancer and low toxicity from CHCl_3 and EtOAc portions by a lot of pharmacological experiments and modern clinical application in the past. Compounds were isolated by chromatography on silica gel columns and AB-8 macroporous resin. On the basis of spectral evidences including 1D-NMR and 2D-NMR,

收稿日期: 2009-09-15

基金项目: 黑龙江省研究生创新科研项目 (YJSCX2007-0177 HLJ)

作者简介: 周媛媛, 女, 博士, 主要从事中药药效物质基础研究, 工作于黑龙江中医药大学药学院。

Tel: (0451) 82193646 E-mail: zhouyuan1998@163.com

*通讯作者 王 栋