

皱盖假芝子实体的化学成分研究

湛永蕾^{1,2}, 马青云¹, 黄圣卓¹, 戴好富¹, 华燕^{2*}, 赵友兴^{1*}

1. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所/农业部热带作物生物学与遗传资源利用重点实验室, 海南 海口 571101

2. 西南林业大学林学院, 云南 昆明 650224

摘要: 目的 研究灵芝科假芝属皱盖假芝 *Amauroderma rude* 子实体中的化学成分。方法 采用正、反相硅胶柱色谱与 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱进行分离纯化, 并运用各种波谱方法鉴定化合物结构, 采用 MTT 法测试化合物对人体肿瘤细胞株的细胞毒活性。结果 从皱盖假芝子实体 95%乙醇提取物中分离鉴定了 12 个化合物, 分别鉴定为 diptoindonesin D (1)、6-脱氧巴西红厚壳素 (2)、巴西红厚壳素 (3)、3-羧基吲哚 (4)、3,4-二羟基苯甲酸甲酯 (5)、3,4-二羟基苯乙醇 (6)、3 β -羟基-7,22E-二烯-麦角甾 (7)、3 β ,7 α -二羟基-8,22E-二烯-5 α ,6 α -环氧-麦角甾 (8)、3 β -羟基-7 α -甲氧基-8(14),22E-二烯-5 α ,6 α -环氧-麦角甾 (9)、5 α ,8 α -过氧麦角固醇 (10)、3 β ,5 β ,7 β -三羟基-6,22E-二烯-麦角甾 (11) 和 3 β ,5 α ,6 β -三羟基-7,22E-二烯-麦角甾 (12)。化合物 2 与 3 对人体肿瘤细胞株 HL-60、SMMC-7721、A549、MCF-7 和 SW-480 具有一定生长抑制活性, 化合物 9 对 HL-60、MCF-7 和 SW-480 具有一定生长抑制活性。结论 化合物 1~12 均为首次从皱盖假芝子实体中分离得到, 化合物 2、3 和 9 对人体肿瘤细胞株具有一定细胞毒活性。

关键词: 皱盖假芝; 巴西红厚壳素; 3-羧基吲哚; 5 α ,8 α -过氧麦角固醇; 细胞毒活性

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)06-0881-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.06.004

Chemical constituents from fruiting bodies of *Amauroderma rude*

CHEN Yong-lei^{1,2}, MA Qing-yun¹, HUANG Sheng-zhuo¹, DAI Hao-fu¹, HUA Yan², ZHAO You-xing¹

1. Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops, Ministry of Agriculture, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agriculture Sciences, Haikou 571101, China

2. College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the fruiting bodies in *Amauroderma rude* of family Ganodermataceae. **Methods** The constituents were separated by column chromatography and their structures were elucidated by spectral data analyses. The cytotoxicities of compounds were evaluated using MTT methods. **Results** Twelve compounds were isolated and identified from the fruiting bodies of *A. rude* and were identified as diptoindonesin D (1), 6-deoxyjacareubin (2), jacareubin (3), 1H-indole-3-carboxylic acid (4), methyl 3,4-dihydroxybenzoate (5), 3,4-dihydroxyphenylethanol (6), 3 β -hydroxy-7,22E-dien-ergosta (7), 3 β ,7 α -dihydroxy-8,22E-5 α ,6 α -epoxyergosta (8), 3 β -hydroxy-7 α -methoxy-8(14),22E-dien-5 α ,6 α -epoxyergosta (9), ergosterol 5 α ,8 α -peroxide (10), 3 β -5 β -8 β -trihydroxy-6,22E-ergosta (11), and 3 β ,5 α -6 β -trihydroxy-7,22E-dien-ergosta (12). Compounds 2 and 3 exhibited the cytotoxic activities against HL-60, SMMC-7721, A-549, MCF-7, and SW-480 cell lines and compound 9 showed the cytotoxic activities against HL-60, MCF-7, and SW-480 cell lines. **Conclusion** All the compounds are obtained from this fungus for the first time. Compounds 2, 3, and 9 show the definite cytotoxicities against five cell lines.

Key words: *Amauroderma rude* (Berk.) Pat.; jacareubin; 1H-indole-3-carboxylic acid; ergosterol 5 α ,8 α -peroxide; cytotoxicities

皱盖假芝 *Amauroderma rude* (Berk.) Pat. 为担子菌纲灵芝科 (Ganodermataceae) 假芝属 *Amauroderma* 大型真菌, 生于阔叶树桩旁地上, 分布于我国福建、海南、贵州等省区^[1]。皱盖假芝是

收稿日期: 2015-08-07

基金项目: 海南省自然科学基金 (20152035); 公益性行业 (农业) 科研专项 (201303117); 海南省重大科技专项 (ZDZX2013008-4); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (ITBB2015ZD02)

作者简介: 湛永蕾 (1986—), 男, 云南保山人, 硕士, 从事天然产物化学研究。E-mail: chen Yonglei23@163.com

*通信作者 华燕, 女, 博士, 教授。Tel: 13888668877 E-mail: amony2009@163.com

赵友兴, 男, 博士, 研究员。Tel: (0898) 66989095 E-mail: zhaoyx1011@163.com

海南省主要的药用灵芝科真菌资源^[2], 在民间用于提高免疫和肿瘤的辅助治疗。有关皱盖假芝的研究报道极少, 只对皱盖假芝深层发酵液多糖提取工艺进行了研究^[3], 迄今关于皱盖假芝的小分子天然产物及其生物活性研究未见报道, 其小分子药效物质基础尚不清楚。近年灵芝科真菌的药效物质基础与药理作用的研究方兴未艾, 研究的真菌种类越来越多, 其新颖活性成分和新的药理功效仍不断被发现^[4-8]。为了深入认识皱盖假芝中化学成分及其生物活性, 本实验采用各种色谱分离方法从皱盖假芝子实体的乙醇提取物中分离鉴定了 12 个化合物, 分别鉴定为 diptoindonesin D (**1**)、6-脱氧巴西红厚壳素 (6-deoxyjacareubin, **2**)、巴西红厚壳素 (jacareubin, **3**)、3-羧基吲哚 (1*H*-indole-3-carboxylic acid, **4**)、3,4-二羟基苯甲酸甲酯 (methyl-3,4-dihydroxybenzoate, **5**)、3,4-二羟基苯乙醇 (3,4-dihydroxyphenylethanol, **6**)、3 β -羟基-7,22*E*-二烯-麦角甾 (3 β -hydroxy-7,22*E*-dien-ergosta, **7**)、3 β ,7 α -二羟基-8,22*E*-二烯-5 α ,6 α -环氧-麦角甾 (3 β ,7 α -dihydroxy-8,22*E*-dien-5 α ,6 α -epoxyergosta, **8**)、3 β -羟基-7 α -甲氧基-8(14),22*E*-二烯-5 α ,6 α -环氧-麦角甾 [3 β -hydroxy-7 α -methoxy-8(14),22*E*-dien-5 α ,6 α -epoxyergosta, **9**]、5 α ,8 α -过氧麦角固醇 (ergosterol 5 α ,8 α -peroxide, **10**)、3 β ,5 β ,7 β -三羟基-6,22*E*-二烯-麦角甾 (3 β ,5 β ,7 β -trihydroxy-6,22*E*-dien-ergosta, **11**)、3 β ,5 α ,6 β -三羟基-7,22*E*-二烯-麦角甾 (3 β ,5 α ,6 β -trihydroxy-7,22*E*-dien-ergosta, **12**)。所有化合物均为首次从皱盖假芝子实体中分离得到。采用 MTT 法测定抗肿瘤活性发现化合物 **2**、**3** 和 **9** 具有一定肿瘤细胞毒活性。

1 仪器与材料

核磁共振 (NMR) 用 Bruker DRX-500 核磁共振光谱仪测定; 质谱 (MS) 用 Bruker HCT/Esquire 型液相离子阱色谱质谱联用仪测定; 柱色谱硅胶 (200~300 目) 和薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ 均为青岛海洋化工厂生产; Sephadex LH-20 为 GE Biosciences 公司产品。

皱盖假芝于 2011 年 9 月采自海南省陵水县, 由海南大学吴兴亮教授鉴定为灵芝科假芝属真菌皱盖假芝 *Amauroderma rude* (Berk.) Pat., 凭证标本 (2011JZ02) 存放于中国热带农业科学院热带生物技术研究所。

2 提取与分离

皱盖假芝子实体 (5.0 kg) 晒干后粉碎, 用 95%

乙醇浸提 3 次, 每次 7 d。滤液经真空减压浓缩至无醇味后得粗浸膏, 粗浸膏分散于水中成悬浊液, 依次用醋酸乙酯、正丁醇萃取, 萃取液分别减压浓缩至浸膏, 得醋酸乙酯部分 64 g 和正丁醇部分 18 g。醋酸乙酯部分经减压硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (8:1→1:5) 梯度洗脱, 得到 5 个组分 Fr. 1~5。Fr. 1 (18 g) 采用硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯 (6:1→3:1) 梯度洗脱和重结晶得到化合物 **7** (400 mg)。Fr. 2 (4.4 g) 采用硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯 (6:1→3:1) 梯度洗脱和 Sephadex LH-20 色谱 (95%乙醇) 得到化合物 **2** (15 mg)。Fr. 3 (2.5 g) 采用硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯 (3:1→2:1) 梯度洗脱和 Sephadex LH-20 色谱 (氯仿-甲醇 1:1) 得到化合物 **3** (18 mg)、**4** (4 mg)、**5** (11.5 mg)。Fr. 4 (1.4 g) 采用硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯 (2:1→1:1) 梯度洗脱和 Sephadex LH-20 色谱 (氯仿-甲醇 1:1) 得到化合物 **1** (3.7 mg)、**6** (7 mg)、**8** (12 mg)、**9** (27 mg)、**10** (300 mg)。正丁醇部分以氯仿-甲醇 (7:1→3:1) 梯度洗脱和 Sephadex LH-20 色谱 (氯仿-甲醇 1:1) 得到化合物 **11** (15 mg) 和 **12** (16 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 379 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{21}H_{15}O_7$ 。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6.84 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, H-6), 6.77 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-14), 6.62 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-12), 6.60 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-18, 20), 6.84 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, H-17, 21), 6.32 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, H-4), 5.82 (1H, s, H-9); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 198.7 (C-1), 112.0 (C-2), 167.3 (C-3), 107.2 (C-4), 165.5 (C-5), 113.3 (C-6), 139.8 (C-7), 198.1 (C-8), 55.6 (C-9), 110.0 (C-10), 143.1 (C-15), 111.2 (C-14), 157.5 (C-13), 107.4 (C-12), 159.3 (C-11), 131.0 (C-16), 129.2 (C-17, 21), 116.3 (C-18, 20), 157.1 (C-19)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **1** 为 diptoindonesin D。

化合物 **2**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : $[M+Na]^+$ 333, 分子式 $C_{18}H_{14}O_5$ 。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 13.12 (1H, s, 1-OH), 7.61 (1H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, H-8), 7.21 (1H, dd, $J = 7.9, 1.8$ Hz, H-6), 7.20 (1H, dd, $J = 7.9, 7.8$ Hz, H-7), 6.79 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-13), 6.43 (1H, s, H-4), 5.60 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-14), 1.45 (6H, s, H-15, 16); ¹³C-NMR (125 MHz,

DMSO- d_6) δ : 161.6 (C-1), 105.2 (C-2), 158.0 (C-3), 95.8 (C-4), 146.5 (C-5), 121.1 (C-6), 124.5 (C-7), 116.0 (C-8), 181.9 (C-9), 78.9 (C-12), 115.7 (C-13), 128.4 (C-14), 28.6 (C-15), 28.6 (C-16), 157.7 (C-4a), 121.9 (C-8a), 104.1 (C-9a), 146.0 (C-10a)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **2** 为 6-脱氧巴西红厚壳素。

化合物 **3**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : $[M+Na]^+$ 349, 分子式 $C_{18}H_{14}O_6$ 。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 13.43 (1H, s, 1-OH), 7.40 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-8), 6.84 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-7), 6.40 (1H, d, $J = 10.1$ Hz, H-13), 6.30 (1H, s, H-4), 5.65 (1H, d, $J = 10.1$ Hz, H-14), 1.33 (6H, s, H-15, 16); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 159.6 (C-1), 103.9 (C-2), 157.0 (C-3), 94.8 (C-4), 132.6 (C-5), 152.2 (C-6), 113.3 (C-7), 116.0 (C-8), 180.0 (C-9), 78.3 (C-12), 114.6 (C-13), 128.4 (C-14), 28.0 (C-15, 16), 156.6 (C-4a), 113.0 (C-8a), 102.3 (C-9a), 146.1 (C-10a)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **3** 为巴西红厚壳素。

化合物 **4**: 无色油状物, ESI-MS m/z : 162 $[M+H]^+$, 分子式 $C_9H_7NO_2$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.98 (1H, s, H-2), 8.09 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-4), 7.20 (1H, m, H-5), 7.18 (1H, m, H-6), 7.45 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-7); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 169.2 (COOH), 133.4 (C-2), 127.6 (C-3), 122.4 (C-4), 123.6 (C-5), 122.0 (C-6), 112.9 (C-7), 108.7 (C-3a), 138.2 (C-7a)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **4** 为 3-羧基喹啉。

化合物 **5**: 无定形粉末, ESI-MS m/z : 191 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_8H_8O_4$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.81 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.40 (1H, dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz, H-6), 7.42 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5), 3.83 (3H, s, OCH_3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 122.6 (C-1), 115.8 (C-2), 151.7 (C-3), 146.2 (C-4), 123.6 (C-5), 117.4 (C-6), 168.9 (C-7), 52.3 (OCH_3)。上述数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **5** 为 3,4-二羟基苯甲酸甲酯。

化合物 **6**: 无定形粉末, ESI-MS m/z : 177 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_8H_{10}O_3$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.70 (2H, m, H-5, 6), 6.55 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 3.80 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, H-8), 2.68 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, H-7); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 131.8 (C-1), 116.3 (C-2), 146.1 (C-3), 144.6 (C-4), 117.1 (C-5),

121.2 (C-6), 39.6 (C-7), 64.6 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **6** 为 3,4-二羟基苯乙醇。

化合物 **7**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 421 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{28}H_{46}O$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.20 (1H, m, H-23), 5.19 (1H, m, H-22), 5.16 (1H, m, H-7), 3.58 (1H, m, H-3), 1.00 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-21), 0.90 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-26), 0.83 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-27), 0.82 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-28), 0.79 (3H, s, H-19), 0.54 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 37.3 (C-1), 29.8 (C-2), 71.2 (C-3), 38.1 (C-4), 40.1 (C-5), 31.6 (C-6), 117.6 (C-7), 139.7 (C-8), 49.6 (C-9), 34.4 (C-10), 21.7 (C-11), 39.6 (C-12), 43.4 (C-13), 55.3 (C-14), 23.1 (C-15), 28.2 (C-16), 56.1 (C-17), 12.2 (C-18), 13.2 (C-19), 40.6 (C-20), 21.3 (C-21), 135.8 (C-22), 132.0 (C-23), 43.0 (C-24), 33.2 (C-25), 20.1 (C-26), 19.8 (C-27), 17.7 (C-28)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **7** 为 3 β -羟基-7,22 E -二烯-麦角甾。

化合物 **8**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 451 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{28}H_{44}O_3$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.18 (2H, m, H-22, 23), 4.40 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-7), 4.22 (1H, m, H-3), 3.30 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 1.13 (3H, s, H-19), 1.01 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 0.90 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-28), 0.84 (3H, d, $J = 7.6$ Hz, H-27), 0.81 (3H, d, $J = 7.5$ Hz, H-26); 0.56 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 30.9 (C-1), 30.3 (C-2), 68.7 (C-3), 39.3 (C-4), 65.8 (C-5), 62.7 (C-6), 67.2 (C-7), 134.6 (C-8), 127.0 (C-9), 38.1 (C-10), 23.5 (C-11), 35.8 (C-12), 42.2 (C-13), 49.7 (C-14), 24.0 (C-15), 29.1 (C-16), 53.8 (C-17), 11.4 (C-18), 23.0 (C-19), 40.5 (C-20), 21.1 (C-21), 135.7 (C-22), 132.1 (C-23), 43.0 (C-24), 33.2 (C-25), 19.8 (C-26), 20.1 (C-27), 17.7 (C-28)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **8** 为 3 β ,7 α -二羟基-8,22 E -二烯-5 α ,6 α -环氧-麦角甾。

化合物 **9**: 无色油状物, ESI-MS m/z : 465 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{29}H_{46}O_3$ 。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.24 (1H, m, H-23), 5.16 (1H, m, H-22), 4.20 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-7), 3.76 (1H, m, H-3), 3.43 (3H, s, 7- OCH_3), 3.11 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-6), 1.05 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 0.96 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-28), 0.89 (3H, s, H-19), 0.86 (6H, d, $J = 6.5$ Hz, H-26, 27), 0.54

(3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 33.4 (C-1), 31.9 (C-1), 69.2 (C-3), 40.4 (C-4), 66.9 (C-5), 59.3 (C-6), 74.3 (C-7), 124.1 (C-8), 41.6 (C-9), 37.0 (C-10), 20.3 (C-11), 37.9 (C-12), 55.1 (C-13), 154.0 (C-14), 25.8 (C-15), 28.4 (C-16), 58.2 (C-17), 18.7 (C-18), 17.0 (C-19), 40.6 (C-20), 21.8 (C-21), 136.8 (C-22), 133.4 (C-23), 44.4 (C-24), 34.4 (C-25), 20.5 (C-26), 20.2 (C-27), 18.2 (C-28), 54.8 (OCH_3)。上述数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **9** 为 3 β -羟基-7 α -甲氧基-8(14), 22 E -二烯-5 α ,6 α -环氧-麦角甾。

化合物 **10**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 451 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.49 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7), 6.23 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 5.22 (1H, dd, $J = 7.6, 15.2$ Hz, H-23), 5.14 (1H, dd, $J = 8.2, 15.2$ Hz, H-22), 3.97 (1H, m, H-3), 0.99 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 0.92 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-28), 0.88 (3H, s, H-19), 0.62 (3H, s, H-18), 0.81 (6H, d, $J = 6.0$ Hz, H-26, 27); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 37.1 (C-1), 30.2 (C-2), 66.6 (C-3), 32.8 (C-4), 82.3 (C-5), 135.3 (C-6), 130.9 (C-7), 79.5 (C-8), 51.3 (C-9), 37.1 (C-10), 21.8 (C-11), 39.5 (C-12), 44.7 (C-13), 51.8 (C-14), 23.5 (C-15), 28.8 (C-16), 56.3 (C-17), 13.0 (C-18), 18.3 (C-19), 39.9 (C-20), 21.0 (C-21), 135.6 (C-22), 132.4 (C-23), 42.9 (C-24), 33.2 (C-25), 19.8 (C-26), 20.1 (C-27), 17.7 (C-28)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **10** 为 5 α ,8 α -过氧麦角固醇。

化合物 **11**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 453 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_3$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.14 (1H, s, H-7), 5.08 (1H, dd, $J = 7.5, 15.3$ Hz, H-23), 5.00 (1H, dd, $J = 6.0, 15.3$ Hz, H-22), 3.66 (1H, m, H-3), 0.98 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 0.91 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-28), 0.87 (3H, s, H-19), 0.76 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-26), 0.66 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-27), 0.55 (1H, s, H-18); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 38.8 (C-1), 30.3 (C-2), 67.1 (C-3), 36.8 (C-4), 75.8 (C-5), 143.1 (C-6), 117.4 (C-7), 73.0 (C-8), 43.0 (C-9), 32.6 (C-10), 21.8 (C-11), 38.8 (C-12), 43.5 (C-13), 54.6 (C-14), 22.8 (C-15), 27.8 (C-16), 55.8 (C-17), 12.0 (C-18), 18.0 (C-19), 40.3 (C-20), 20.9 (C-21), 135.4 (C-22), 131.4 (C-23), 42.7 (C-24), 32.9 (C-25), 19.4 (C-26), 19.7 (C-27), 17.4 (C-28)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定

化合物 **11** 为 3 β ,5 β ,7 β -三羟基-6,22 E -二烯-麦角甾。

化合物 **12**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 453 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_3$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.22 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-7), 5.11 (1H, m, H-23), 5.10 (1H, m, H-22), 3.91 (1H, m, H-3), 3.49 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-6), 0.99 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 0.83 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-28), 0.72 (6H, d, $J = 6.4$ Hz, H-26, 27), 0.55 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 30.2 (C-1), 32.7 (C-2), 67.1 (C-3), 39.2 (C-4), 76.0 (C-5), 73.0 (C-6), 117.3 (C-7), 143.4 (C-8), 43.1 (C-9), 37.0 (C-10), 22.1 (C-11), 38.7 (C-12), 43.6 (C-13), 54.7 (C-14), 22.9 (C-15), 27.9 (C-16), 56.1 (C-17), 12.2 (C-18), 18.4 (C-19), 40.4 (C-20), 21.0 (C-21), 135.5 (C-22), 132.1 (C-23), 42.7 (C-24), 33.1 (C-25), 19.8 (C-26), 19.6 (C-27), 17.4 (C-28)。上述数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **12** 为 3 β ,5 α ,6 β -三羟基-7,22 E -二烯-麦角甾。

4 抗肿瘤活性

采用 MTT 法^[19]检测化合物 **2**、**3** 和 **7~10** 对 5 种人体肿瘤细胞 (白血病细胞 HL-60、肝癌细胞 SMMC-7721、肺癌细胞 A549、乳腺癌细胞 MCF-7、结肠癌细胞 SW-480) 的增殖抑制活性。结果显示化合物 **2** 和 **3** 对 5 种人体肿瘤细胞具有一定的细胞毒活性, IC_{50} 值分别为 19.59、32.25、25.87、22.76、19.90 $\mu\text{mol/L}$ 和 7.49、9.04、4.44、21.61、14.02 $\mu\text{mol/L}$ 。化合物 **9** 对 3 种人体肿瘤细胞 HL-60、MCF-7 和 SW-480 表现一定的细胞毒活性, 其 IC_{50} 值分别 15.98、16.28、13.26 $\mu\text{mol/L}$ 。化合物 **7**、**8** 和 **10** 对这 5 种肿瘤细胞无明显细胞毒活性。

参考文献

- [1] 吴兴亮, 戴玉成. 中国灵芝图鉴 [M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [2] 吴兴亮, 郭建荣, 廖其珍, 等. 中国海南岛灵芝资源及其分布特征 [J]. 菌物学报, 1998, 17(2): 122-129.
- [3] 王 谦, 靳发彬, 张俊刚, 等. 皱盖假芝深层发酵液多糖提取工艺优化研究 [J]. 河北大学学报: 自然科学版, 2005, 25(4): 405-407.
- [4] Ma Q Y, Luo Y, Huang S Z, et al. Lanostane triterpenoids with cytotoxic activities from the fruiting bodies of *Ganoderma hainanense* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2013, 15(11): 1214-1219.
- [5] Zhang S S, Ma Q Y, Zou X S, et al. Chemical constituents and their *in vitro* acetylcholinesterase inhibitory activities

- from the fungus *Amauroderma amoiensis* [J]. *Planta Med*, 2013, 79(1): 87-91.
- [6] Peng X R, Liu J Q, Wan L S, *et al.* Four new polycyclic meroterpenoids from *Ganoderma cochlear* [J]. *Org Lett*, 2014, 16(20): 5262-5265.
- [7] Yan Y M, Ai J, Zhou L L, *et al.* Lingzhiols, unprecedented rotary door-shaped meroterpenoids as potent and selective inhibitors of p-Smad3 from *Ganoderma lucidum* [J]. *Org Lett*, 2013, 15(21): 5488-5491.
- [8] Zhang S S, Ma Q Y, Huang S Z, *et al.* Lanostanoids with acetylcholinesterase inhibitory activity from the mushroom *Haddowia longipes* [J]. *Phytochemistry*, 2015, 110(2): 133-139.
- [9] Sahidin, H E H, Juliawaty L D, Syah Y M, *et al.* Cytotoxic properties of oligostilbenoids from the tree barks of *Hopea dryobalanoides* [J]. *Z Naturforsch*, 2005, 60c: 723-727.
- [10] Goh S H, Jantan L. A xanthone from *Calophyllum inophyllum* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(1): 366-367.
- [11] 张 兴, 梅文莉, 曾艳波, 等. 槟榔果实的酚类化学成分与抗菌活性的初步研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2009, 17(1): 74-76.
- [12] 来国防, 朱向东, 罗士德, 等. 野拔子化学成分研究 [J]. 中草药, 2008, 39(5): 661-664.
- [13] 刘召阳, 罗都强. 金莲花的化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(3): 370-373.
- [14] Keller A C, Maillard M P, Hostettmann K. Antimicrobial steroids from the fungus *Fomitopsis pinicola* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(4): 1041-1046.
- [15] Yue J M, Chen S N, Lin Z W, *et al.* Sterols from the fungus *Lactarium volemus* [J]. *Phytochemistry*, 2001, 56: 801-806.
- [16] Gao H, Hong K, Chen G D, *et al.* New oxidized sterols from *Aspergillus awamori* and the *endo*-boat conformation adopted by the cyclohexene oxide system [J]. *Magn Reson Chem*, 2010, 48(1): 38-43.
- [17] 万 辉, 孙荣奇, 吴达俊, 等. 栗色圆孔牛肝菌中的三种甾醇成分 [J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(6): 18-20.
- [18] Piccialli V, Sica D. Four new trihydroxylated sterols from the sponge *Spongionella gracilis* [J]. *J Nat Prod*, 1987, 50(5): 915-920.
- [19] Niu X M, Li S H, Li M L, *et al.* Cytotoxic ent-kaurane diterpenoids from *Isodon eriocalyx* var. *laxiflora* [J]. *Planta Med*, 2002, 68(6): 528-533.