

## 无柄灵芝中 1 个新的杂萜类成分

杨桥芬<sup>1</sup>, 胡秋月<sup>1</sup>, 马祖红<sup>1</sup>, 陈彦君<sup>1</sup>, 孙琰奇<sup>1</sup>, 董淼<sup>2</sup>, 叶艳青<sup>1\*</sup>, 周敏<sup>2\*</sup>

1. 云南民族大学化学与环境学院, 云南 昆明 650500

2. 云南民族大学 民族药资源化学国家民委教育部重点实验室, 云南 昆明 650500

**摘要:** 目的 对无柄灵芝 *Ganoderma resinaceum* 子实体的化学成分进行研究, 以期发现新的化合物。方法 利用硅胶、MCI-GEL 树脂及 PR-HPLC 等多种色谱技术进行分离纯化, 并根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构。结果 从云南瑞丽产无柄灵芝子实体中分离得到 4 个化合物, 分别鉴定为无柄灵芝素 F (1)、 $3\beta,7\beta,15\beta$ -三羟基-11,23-二酮基-羊毛脂-8,16-二烯-26-羧酸 (2)、灵芝酸 XL<sub>2</sub> (3) 和 2,3-二氢-4(1H)-喹诺酮 (4)。结论 其中化合物 1 为 1 个新的杂萜类成分, 命名为无柄灵芝素 F。

**关键词:** 无柄灵芝; 杂萜成分; 无柄灵芝素 F;  $3\beta,7\beta,15\beta$ -三羟基-11,23-二酮基-羊毛脂-8,16-二烯-26-羧酸; 灵芝酸 XL<sub>2</sub>

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)08-1902-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.08.019

## A new meroterpenoid from *Ganoderma resinaceum*

YANG Qiao-fen<sup>1</sup>, HU Qiu-yue<sup>1</sup>, MA Zu-hong<sup>1</sup>, CHEN Yan-jun<sup>1</sup>, SUN Yan-qi<sup>1</sup>, DONG Miao<sup>2</sup>, YE Yan-qing<sup>1</sup>, ZHOU Min<sup>2</sup>

1. School of Chemistry and Environment, Yunnan Minzu University, Kunming 650500, China

2. Key Laboratory of Chemistry in Ethnic Medicinal Resources, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education, Yunnan Minzu University, Kunming 650500, China

**Abstract: Objective** For the purpose of finding new agents, the chemical study on *Ganoderma resinaceum* was carried out. **Methods** The chemical constituents from the dried fruiting bodies of *G. resinaceum* were isolated by column chromatographic methods of silica gel, MCI-Gel resin, and high performance liquid chromatography. The structures were elucidated by spectroscopic methods, including extensive 1D and 2D NMR techniques. **Results** Four compounds including one new meroterpenoid were isolated from this fungus. Their structures were identified as ganoresinains F (1),  $3\beta,7\beta,15\beta$ -trihydroxy-11,23-dioxo-lanost-8,16-dien-26-oic acid (2), ganoderic acid XL<sub>2</sub> (3) and 2,3-dihydro-4(1H)-quinolone (4). **Conclusion** Compound 1 is a new compound and named as ganoresinains F (1).

**Key words:** *Ganoderma resinaceum* Boud; meroterpenoid; ganoresinains F;  $3\beta,7\beta,15\beta$ -trihydroxy-11,23-dioxo-lanost-8,16-dien-26-oic acid; ganoderic acid XL<sub>2</sub>

灵芝在《神农本草经》中被列为上品, 由于其民间传说和不断被证明的药用价值, 在我国已经有 2 000 多年的应用历史, 广泛用于治疗和预防各种疾病<sup>[1]</sup>。广义的灵芝包括灵芝属 *Ganoderma* Karsten 的很多种类, 而狭义的灵芝特指具有药用价值且广泛栽培的种类, 目前比较公认的定义是灵芝为担子菌亚门、层菌纲、多孔菌目、多孔菌科、灵芝属的

子实体<sup>[2]</sup>。

无柄灵芝 *Ganoderma resinaceum* Boud 又名圆孔灵芝、扁灵芝、树芝、三秀灵芝等, 作为灵芝属的 1 个种, 与赤芝、紫芝一样, 长期被用于预防和治疗各类疾病<sup>[3]</sup>。灵芝的化学成分较为复杂, 目前, 从中分离得到的化合物类型主要为三萜、杂萜、甾体、多糖、黄酮等成分<sup>[4-5]</sup>, 且现代研究证明其中的

收稿日期: 2018-12-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31600282); 国家自然科学基金资助项目 (31560099)

作者简介: 杨桥芬 (1992—), 女, 硕士在读, 主要从事天然产物化学成分研究。

\*通信作者 周敏, 男, 副教授, 硕士生导师。Tel: (0871)68329045 E-mail: zhouminynun@163.com

叶艳青, 女, 教授, 硕士生导师。Tel: (0871)68329045 E-mail: ye-qing@163.com

三萜类是其主要有效成分，具有明显的抗癌、增强免疫力和保肝护肝等多种药理作用<sup>[6]</sup>。灵芝属的杂萜类化合物因其新颖的骨架类型及其抗氧化、抗过敏、抗纤维化和抗菌等一系列生物活性受到研究者越来越多的关注<sup>[7]</sup>。已有研究记载无柄灵芝的提取物具有重要的抑菌活性和抗氧化作用<sup>[8]</sup>，但是对于其具体有效活性成分还是未知的。为了进一步了解无柄灵芝的成分，并从中寻找到具有药理活性的物质，本实验对其中的杂萜和三萜类化合物进行分离和结构鉴定，从无柄灵芝子实体 95% 的乙醇提取物中分离得到 4 个化合物，分别鉴定为无柄灵芝素 F (ganoresinains F, 1)、3β,7β,15β-三羟基-11,23-二酮基-羊毛脂-8,16-二烯-26-羧酸 (3β,7β,15β-trihydroxy-11,23-dioxo-lanost-8,16-dien-26-oic acid, 2) 和灵芝酸 XL<sub>2</sub> (ganoderic acid XL<sub>2</sub>, 3)、2,3-二氢-4 (1H)-喹诺酮 [2,3-dihydro-4 (1H)-quinolone, 4]。其中，化合物 1 是 1 个新的含链杂萜化合物。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

UV-2401A 紫外光谱仪（日本岛津公司）；DRX-400 型核磁共振仪（瑞士布鲁克公司）；Agilent-1200 型高效液相色谱仪（美国 Agilent 公司）；Bio-Rad FTS-185 傅里叶变换红外光谱仪、Venusil XBP-C<sub>18</sub> (250 mm×10 mm, 5 μm) 半制备色谱柱、Ultimate XB-Phenyl (250 mm×10 mm, 5 μm) 半制备色谱柱、YMC-Pack ODS-A (250 mm×20 mm, 5 μm) 制备色谱柱（美国伯乐 Bio-Rad 公司）。

正相硅胶 (80~120、200~300 目)、GF<sub>254</sub> (100 mm×100 mm) 硅胶板（青岛海洋化工有限公司）；MCI-gel CHP-20P (75~150 μm) 树脂（南京元宝峰医药科技有限公司）；10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>；AR 级乙腈、四氢呋喃、甲醇、丙酮（天津天泰精细化学品有限公司）；工业级乙醇、二氯甲烷、甲醇、醋酸乙酯（呈贡滨博教学仪器经营部）；超纯水。

### 1.2 材料

本研究所用的无柄灵芝 *Ganoderma resinaceum* Boud 子实体，于 2017 年 4 月购于昆明市菊花村药材交易市场，灵芝由云南民族大学杨青松副教授鉴定。

## 2 提取与分离

取无柄灵芝 45 kg 干燥，粉碎，用 95% 的乙醇水溶液加热回流提取 2 次，每次 60 min，浓缩除去乙醇，提取液用醋酸乙酯萃取，醋酸乙酯相减压浓缩得浸膏。浸膏 (1.0 kg) 正相硅胶拌样后进行柱色

谱分离，分别用二氯甲烷-甲醇 (1:0, 70:1, 40:1, 8:1, 5:1, 0:1) 梯度洗脱，得到 6 个 (Fr. A~F) 组分。Fr. C (500 g) 用正相硅胶柱色谱分离，分别用二氯甲烷-甲醇 (1:0, 40:1, 20:1, 10:1, 5:1, 0:1) 梯度洗脱，得到 6 个组分 (Fr. C-1~C-6)。Fr. C-3 (48.9 g) 用 MCI 中压柱色谱分离，分别用 32%、45%、60%、75%、95% 甲醇水洗脱，得到 5 个组分 (Fr. C-3-I~C-3-V)。将 Fr. C-3-I 和 II 分别用甲醇溶解之后进行 HPLC 分离分析，Fr. C-3-I 用 YMC-Pack ODS-A (250 mm×20 mm, 5 μm) 制备色谱柱，以 53% 甲醇水溶液为流动相，体积流量为 5 mL/min，进样量为 500 μL，收集 22.2~24.8 min 的色谱峰得化合物粗品。粗品再用甲醇溶解，用 Ultimate XB-Phenyl (250 mm×10 mm, 5 μm) 半制备色谱柱纯化，以 53% 甲醇水溶液为流动相，体积流量为 3 mL/min，收集 15.7 min 的色谱峰得化合物 4。Fr. C-3-II 采用 YMC-Pack ODS-A (250 mm×20 mm, 5 μm) 制备色谱柱，以 45% 甲醇水溶液为流动相，体积流量为 5 mL/min，进样量为 400 μL，分别收集 34.5~35.7 min 和 46.8~48.3 min 的色谱峰得化合物粗品 M 和 W。所得的 M 粗分再次用甲醇溶解，用 Ultimate XB-Phenyl (250 mm×10 mm, 5 μm) 半制备色谱柱纯化，以 66% 甲醇为流动相，体积流量为 3 mL/min，分别收集 12.2 min 和 14.0 min 的色谱峰，得到化合物 2 和 1。W 粗分用 Venusil XBP-C<sub>18</sub> (250 mm×10 mm, 5 μm) 半制备色谱柱纯化，以 58% 甲醇为流动相，体积流量为 3 mL/min，收集 7.2 min 色谱峰得化合物 3。化合物 1~4 的收量分别为 18.8、168.7、33.0 和 18.8 mg。

## 3 结构鉴定

化合物 1：淡黄色固体， $[\alpha]_D^{19} -35.8^\circ$  (*c* 0.065, MeOH)，由 <sup>13</sup>C-NMR、DEPT 谱及 HR-ESI-MS *m/z*: 363.181 9 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 364.188 6, C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub>) 确定其分子式为 C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub>，计算其不饱和度为 7。其红外光谱 3 419, 1 711, 1 607, 1 489, 1 463 cm<sup>-1</sup> 显示了强的吸收，提示了化合物中存在羟基、羰基和芳环的共振吸收；紫外光谱在 380、257 和 197 nm 有最大吸收也证实化合物中存在芳环结构。通过观察其 <sup>1</sup>H-NMR 谱，低场区有 3 个芳香质子信号 δ<sub>H</sub> 7.18 (dd, *J* = 2.6, 8.8 Hz, H-5), 6.94 (d, *J* = 8.8 Hz, H-6), 6.91 (d, *J* = 2.6 Hz, H-3)，其偶合常数表明结构中存在一个 ABX 芳环系统。质子信号 (δ<sub>H</sub> 5.10, t, *J* = 7.0 Hz, H-8'; δ<sub>H</sub> 3.20, d, *J* = 9.8 Hz, H-10') 分别

为双键及与羟基相连碳上的质子。从其<sup>13</sup>C-NMR 和 DEPT 谱中观察到 20 个碳信号：3 个甲基、5 个亚甲基、5 个次甲基（4 个 sp<sup>2</sup> 和 1 个 sp<sup>3</sup> 杂化）、1 个酮羰基、4 个 sp<sup>2</sup> 杂化季碳（2 个连氧）以及 2 个连氧的 sp<sup>3</sup> 杂化季碳，这些信号提示这是 1 个杂萜类化合物<sup>[9]</sup>。化合物 1 中存在呋喃环可以由化学位移值 [C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  166.4) 和 C-2' ( $\delta_{\text{C}}$  107.1)] 以及 H-3 与 C-1' ( $\delta_{\text{C}}$  202.7), H-3' 与 C-1', C-2' 的 HMBC 相关得到证实，这与 1 个分离自 *G. theaecolum* (J. D. Zhao) 的杂萜 ganotheaeaecoloid B 极其相似<sup>[10]</sup>。不同之处在于，化合物 1 比 ganotheaeaecoloid B 少 1 个不饱和度，推测 ganotheaeaecoloid B 中的 C 环从 C-6'/11' 之间断裂形成了化合物 1。这一假设可以通过 H-3' 与 C-4', C-5', C-7' 和 C-8', H-6' 与 C-4', C-7', C-8', C-9' 和 C-10', H-12' 与 C-10', C-11', C-13' 以及 H-13' 与 C-10', C-11', C-12' 的 HMBC 相关以及 H-3'/H-4'/H-5'/H-6', H-8'/H-9'/H-10' 的 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY 相关得到证实（图 1）。至此，化合物 1 的结构得以确定，是 1 个新的杂萜，命名为无柄灵芝素 F。ESI-MS  $m/z$ : 363 [M-H]<sup>-</sup>, HR-EI-MS:  $m/z$  363.181 9 [M-H]<sup>-</sup> (计算值 363.188 6, C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub>)。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 6.91 (1H, d,  $J$  = 2.6 Hz, H-3), 7.18 (1H, dd,  $J$  = 8.8, 2.6 Hz, H-5), 6.94 (1H, d,  $J$  = 8.8 Hz, H-6), 5.10 (1H, t,  $J$  = 6.9 Hz, H-8'), 3.20 (1H, d,  $J$  = 9.8 Hz, H-10'), 1.13 (3H, s, H-12'), 1.10 (3H, s, H-13'), 1.57 (3H, s, H-14'); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 166.4 (C-1), 120.9 (C-2), 108.6 (C-3), 153.7 (C-4), 129.3 (C-5), 114.9 (C-6), 202.7 (C-1'), 107.1 (C-2'), 37.8 (C-3'), 24.0 (C-4'), 30.7 (C-5'), 28.7 (C-6'), 136.9 (C-7'), 125.2 (C-8'), 36.3 (C-9'), 78.9 (C-10'), 73.8 (C-11'), 25.7 (C-12'), 24.9 (C-13'), 16.2 (C-14')。

化合物 2：白色粉末，分子式为 C<sub>30</sub>H<sub>44</sub>O<sub>7</sub>; HR-ESI-MS  $m/z$ : 515.299 1 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 2.67 (1H, m, H-1), 0.80 (1H, s, H-1), 1.47 (2H, m, H-2), 2.97 (1H, dd,  $J$  = 11.3, 5.0

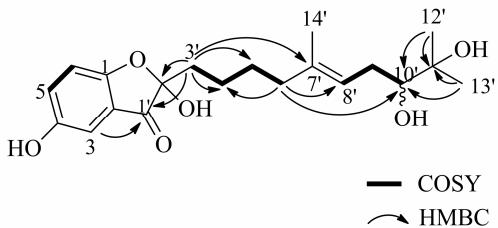


图 1 化合物 1 的主要 HMBC 和 COSY 相关

Fig. 1 Key HMBC and COSY correlations for compound 1

Hz, H-3), 0.77 (1H, s, H-5), 1.94 (1H, dd,  $J$  = 12.4, 7.4 Hz, H-6), 1.42 (1H, m, H-6), 4.31 (1H, dd,  $J$  = 9.4, 7.6 Hz, H-7), 2.80 (1H, d,  $J$  = 15.2 Hz, H-12), 2.70 (1H, m, H-12), 5.26 (1H, s, H-15), 5.08 (1H, s, H-16), 1.10 (3H, s, H-18), 1.05 (3H, s, H-19), 2.44 (1H, m, H-20), 0.85 (3H, d,  $J$  = 6.7 Hz, H-21), 2.37 (1H, d,  $J$  = 8.0 Hz, H-22), 2.33 (1H, d,  $J$  = 5.1 Hz, H-22), 2.56 (1H, m, H-24), 2.10 (1H, d,  $J$  = 15.1 Hz, H-24), 2.70 (1H, m, H-25), 0.96 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz, H-27), 0.83 (3H, s, H-28), 0.65 (3H, s, H-29), 0.83 (3H, s, H-30); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 35.7 (C-1), 29.0 (C-2), 78.8 (C-3), 39.6 (C-4), 50.5 (C-5), 28.3 (C-6), 70.1 (C-7), 161.9 (C-8), 142.6 (C-9), 39.8 (C-10), 201.7 (C-11), 47.3 (C-12), 52.8 (C-13), 57.4 (C-14), 77.9 (C-15), 125.6 (C-16), 155.7 (C-17), 22.7 (C-18), 19.7 (C-19), 28.8 (C-20), 20.7 (C-21), 49.3 (C-22), 209.8 (C-23), 48.7 (C-24), 35.7 (C-25), 179.4 (C-26), 17.5 (C-27), 28.5 (C-28), 16.4 (C-29), 23.3 (C-30)。以上数据与文献报道一致<sup>[11]</sup>，故鉴定化合物 2 为 3 $\beta$ , 7 $\beta$ , 15 $\beta$ -三羟基-11,23-二酮基-羊毛脂-8,16-二烯-26-羧酸。

化合物 3：白色粉末，分子式为 C<sub>30</sub>H<sub>45</sub>O<sub>7</sub>; HR-ESI-MS  $m/z$ : 517.317 7 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 2.91 (1H, m, H-1), 1.06 (1H, dd,  $J$  = 13.4, 4.4 Hz, H-1), 1.59 (2H, m, H-2), 3.16 (1H, dd,  $J$  = 11.3, 5.1 Hz, H-3), 1.48 (1H, m, H-5), 1.66 (1H, m, H-6), 1.44 (1H, m, H-6), 4.50 (1H, d,  $J$  = 4.3 Hz, H-7), 2.80 (1H, d,  $J$  = 17.4 Hz, H-12), 2.35 (1H, m, H-12), 4.55 (1H, dd,  $J$  = 9.3, 6.2 Hz, H-15), 2.21 (1H, m, H-16), 2.17 (1H, m, H-16), 2.23 (1H, m, H-17), 1.18 (3H, s, H-18), 0.98 (3H, s, H-19), 2.03 (1H, m, H-20), 1.00 (3H, s, H-21), 1.31 (2H, m, H-22), 2.39 (1H, m, H-23), 1.69 (1H, m, H-23), 6.73 (1H, t,  $J$  = 7.3 Hz, H-24), 1.78 (3H, s, H-27), 0.98 (3H, s, H-28), 0.78 (3H, s, H-29), 1.23 (3H, s, H-30); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 35.5 (C-1), 28.7 (C-2), 79.2 (C-3), 39.6 (C-4), 47.3 (C-5), 27.7 (C-6), 68.9 (C-7), 162.1 (C-8), 142.2 (C-9), 40.1 (C-10), 202.1 (C-11), 53.8 (C-12), 49.1 (C-13), 55.0 (C-14), 72.7 (C-15), 24.5 (C-16), 52.3 (C-17), 19.3 (C-18), 17.6 (C-19), 75.0 (C-20), 25.3 (C-21), 43.2 (C-22), 32.3 (C-23), 143.8 (C-24), 128.9 (C-25), 171.7 (C-26), 12.4 (C-27), 28.5 (C-28), 16.5 (C-29), 21.8 (C-30)。以上数据与文献报

道一致<sup>[12]</sup>, 故鉴定化合物 3 为灵芝酸 XL<sub>2</sub>。

化合物 4: 黄色油状物, 分子式为 C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>NO; HR-ESI-MS *m/z*: 146.060 6 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.92 (1H, d, *J* = 6.5 Hz, H-2), 6.29 (1H, d, *J* = 6.7 Hz, H-3), 8.20 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5), 7.35 (1H, dt, *J* = 15.0, 7.5 Hz, H-6), 7.64 (1H, dt, *J* = 14.8, 7.4 Hz, H-7), 7.53 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-8); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 141.4 (C-2), 109.7 (C-3), 180.8 (C-4), 126.9 (C-5), 125.5 (C-6), 133.8 (C-7), 119.5 (C-8), 141.5 (C-9), 126.1 (C-10)。以上数据与文献报道一致<sup>[13]</sup>, 故鉴定化合物 4 为 2,3-二氢-4(1H)-喹诺酮。

#### 参考文献

- [1] Peng X R, Liu J Q, Wang C F, et al. Hepatoprotective effects of triterpenoids from *Ganoderma cochlear* [J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(4): 737-743.
- [2] 吕超田, 姚向阳, 孙 程. 灵芝主要活性物质及其药理作用研究进展 [J]. 安徽农学通报, 2011, 17(1): 50-51.
- [3] 彭惺蓉. 无柄灵芝与反柄紫芝的化学成分及生物活性研究 [D]. 昆明: 云南农业大学, 2012.
- [4] 于 璐, 姚 铁, 王 萌, 等. 赤芝中 1 个新的三萜类化合物 [J]. 中草药, 2014, 45(10): 1363-1366.
- [5] Ding P, Qiu J Y, Liang Y J. Chemical constituents of *Ganoderma resinaceum* [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(1): 65-67.
- [6] 郭晓蕾, 翟旭峰, 王怀豫, 等. 不同产地灵芝(赤芝)的 HPLC 指纹图谱评价 [J]. 中华中医药学刊, 2011(12): 2782-2784.
- [7] Peng X, Qiu M. Meroterpenoids from *Ganoderma* species: A review of last five years [J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2018, 8(3): 137-149.
- [8] Al-Fatimi M, Wurster M, Kreisel H, et al. Antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activity of selected basidiomycetes from Yemen [J]. *Die Pharmazie*, 2005, 60(10): 776-780.
- [9] Luo Q, Wang X L, Di L, et al. Isolation and identification of renoprotective substances from the mushroom *Ganoderma lucidum* [J]. *Tetrahedron*, 2015, 71(5): 840-845.
- [10] Luo Q, Tu Z C, Yang Z L, et al. Meroterpenoids from the fruiting bodies of *Ganoderma theaecolum* [J]. *Fitoterapia*, 2018, 125: 273-280.
- [11] Hu L L, Ma Q Y, Huang S Z, et al. A new nortriterpenoid from the fruiting bodies of *Ganoderma tropicum* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2013, 15(4): 357-362.
- [12] Liu L Y, Chen H, Liu C, et al. Triterpenoids of *Ganoderma theaecolum* and their hepatoprotective activities [J]. *Fitoterapia*, 2014, 98: 254-259.
- [13] 李丹丹, 丁丽琴, 杨 灵, 等. 海蒿子含氮有机化学成分研究 [J]. 中草药, 2017, 48(9): 1735-1739.