

• 化学成分 •

皱盖假芝中 1 个新的木脂素类成分

胡秋月¹, 马祖红¹, 杨桥芬¹, 娄水珠¹, 杜刚², 杨海英¹, 周敏^{2*}, 董淼^{2*}

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 对皱盖假芝 *Amauroderma rude* 子实体中的化学成分进行初步研究。方法 采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、液相色谱等多种色谱方法对皱盖假芝子实体醋酸乙酯相中的化学成分进行分离纯化, 并根据其理化性质和波谱数据鉴定化合物结构。结果 从皱盖假芝醋酸乙酯相中分离得到 3 个化合物, 包括 1 个新的木脂素和 2 个已知的甾醇类化合物, 分别鉴定为 3,4-二羟基苯甲酰乙酰酮 (1)、(22*E*,24*R*)-3 β ,5 α -二氢-麦角甾-7,22-二烯-6-酮 (2)、(22*E*,24*R*)-麦角甾-6,9,22-三烯-3 β ,5 α ,8 α -三醇 (3)。结论 化合物 1 为新的木脂素类成分, 命名为假芝木脂素 B。

关键词: 皱盖假芝; 木脂素; 甾醇类; 假芝木脂素 B; (22*E*,24*R*)-3 β ,5 α -二氢-麦角甾-7,22-二烯-6-酮

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)24-5913-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.24.001

A new lignan from *Amauroderma rude*HU Qiu-yue¹, MA Zu-hong¹, YANG Qiao-fen¹, LOU Shui-zhu¹, DU Gang², YANG Hai-ying¹, ZHOU Min², DONG Miao²

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** Study on the chemical constituents in the ethyl acetate phase extracted from the fruiting bodies of *Amauroderma rude*. **Methods** Silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 gel and liquid chromatography were used to separate and purify the chemical constituents in fruiting bodies of *Amauroderma rude*. The compounds were identified according to their physical and chemical properties and spectroscopic data. **Results** Three compounds including one new lignan and two known sterols were isolated from the ethyl acetate phase of this fungus. Their structures were identified as 3,4-dihydroxyphenacyl acetyl ketone (1), (22*E*,24*R*)-3 β ,5 α -dihydrox-ergosta-7,22-diene-6-one (2), and (22*E*,24*R*)-ergosta-6,9,22-trien-3 β ,5 α ,8 α -triol (3). **Conclusion** Compound 1 was a new lignan and named amaurolignan B.

Key words: *Amauroderma rude* (Berk.) Pat.; lignan; sterols; amaurolignan B; (22*E*,24*R*)-3 β ,5 α -dihydrox-ergosta-7,22-diene-6-one

皱盖假芝 *Amauroderma rude* (Berk.) Pat., 属真菌界担子菌亚门灵芝科 (Ganodermataceae) 假芝属 *Amauroderma* (Potouillard.) 真菌。其生长于热带及亚热带地区, 在我国主要分布于福建、云南、海南等地^[1-2], 因其幼嫩的子实体在损伤后会流出血样的分泌物, 因此又名血芝^[3-5]。研究表明, 皱盖假芝水提物具有抗氧化、抗肿瘤等作用^[6-8], 并在对受

试肿瘤细胞的抑杀实验中也明显优于其他的食药食用菌^[9]。其有机相提取物中的麦角甾醇、巴西红厚壳素、6-脱氧巴西红厚壳素等成分具有抑制肿瘤细胞生长的作用^[10-11]。因此对皱盖假芝的化学成分进行系统研究对寻找新的药用活性化合物具有一定的指导意义。本实验主要对产于云南瑞丽人工种植的皱盖假芝乙醇提取物进行研究, 分离得到 3 个化合物,

收稿日期: 2019-06-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31600282)

作者简介: 胡秋月 (1992—), 女, 硕士在读, 主要从事天然产物化学研究。

*通信作者 周敏, 男, 副教授, 硕士生导师。Tel: (086)68329045 E-mail: zhoushumin@163.com
董淼, 女, 讲师。Tel: (086)68329045 E-mail: dmmiao@foxmail.com

分别鉴定为 3,4-二羟基苯甲酰乙酰酮 (3,4-dihydroxy-phenacyl acetyl ketone, **1**)、(22*E*,24*R*)-3 β ,5 α -二氢-麦角甾-7,22-二烯-6-酮 [(22*E*,24*R*)-3 β ,5 α -dihydroxy ergosta-7,22-diene-6-one, **2**]、(22*E*,24*R*)-麦角甾-6,9,22-三烯-3 β ,5 α ,8 α -三醇 [(22*E*,24*R*)-ergosta-6,9,22-trien-3 β ,5 α ,8 α -triol, **3**]。其中, 化合物 **1** 为 1 个新的木脂素, 命名为假芝木脂素 B; 化合物 **2**~**3** 为已知的甾醇类成分。

1 仪器与试剂

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、ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×9.4 mm, 5 μ m), 美国 Agilent 公司; MCI 填充材料为 MCI-gel CHP-20P (75~150 μ m); YMC-Pack ODS-A 色谱柱 (250 mm×20 mm, 5 μ m, 美国伯乐 Bio-Rad 公司); EYEL4 OSB-2100 型旋转蒸发仪、AUTO SCIENCE AS20500A 型高功率数控超声波清洗器 (云南科仪化玻有限公司); DLSB-5 L/25 低温冷却液循环泵 (予华仪器有限责任公司); METTLER TOLEDO LE204E 型精密电子天平 (美特勒-托利多仪器上海有限公司)。

柱色谱硅胶 (80~120、100~200、200~300 目)、GF₂₅₄ (100 mm×100 mm) 硅胶板 (青岛海洋化工厂); 显色剂: 10% H₂SO₄ 乙醇溶液; 工业级二氯甲烷、甲醇、醋酸乙酯、石油醚 (呈贡滨博教学仪器经营部); 色谱纯乙腈、甲醇 (天津天泰精细化学品有限公司); 超纯水 (娃哈哈纯净水)。

本研究所用的材料于 2017 年 4 月购自于昆明市菊花村药材交易市场, 由云南民族大学杨青松副教授鉴定为云南瑞丽人工种植的皱盖假芝 *Amauroderma rude* (Berk.) Pat. 子实体。

2 提取与分离

将晒干的皱盖假芝子实体 35 kg 粉碎后过 30 目筛, 用 95% 的乙醇水溶液加热回流提取 3 次, 每次 2 h, 浓缩提取液所得粗提物用醋酸乙酯萃取, 减压浓缩得浸膏 (1.2 kg), 浸膏用正相硅胶 (100~200 目) 拌样后进行柱色谱分离, 所用洗脱体系分别为石油醚-二氯甲烷 (2:1)、二氯甲烷-甲醇 (80:1、20:1、8:1、5:1、2:1), 得到 6 个组分 (A~F)。Fr. D (80 g) 溶解后用 MCI-gel 树脂分离, 用 30%、55%、85% 甲醇-水溶液进行梯度洗脱, 得到 3 个组分 (Fr. D-1~D-3)。将 Fr. D-2 (20 g) 经正相硅胶柱不断细分后进行 HPLC 半制备分离 [YMC-Pack

ODS-A (250 mm×20 mm, 5 μ m), 体积流量 5 mL/min, 以 70% 甲醇-水溶液为流动相, 保留时间为 12.8 min] 收集色谱峰得化合物 **1** (11.6 mg)。Fr. D-1 (5.6 g) 细分后经 HPLC 纯化 [ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm×9.4 mm, 5 μ m), 体积流量 3 mL/min, 以 85% 甲醇-水溶液为流动相] 收集保留时间为 8.5 min 和 13.2 min 的色谱峰, 分别得到化合物 **2** (20.1 mg) 和 **3** (42.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色油状物, 根据其高分辨质谱 HR-ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z 345.098 6 [M-H]⁻ (计算值 346.105 3) 得到其分子式 C₁₈H₁₈O₇, 计算其不饱和度为 10。UV 光谱在 203、232、280、312 nm 处有最大吸收; IR 谱显示出羟基 (3 429 cm⁻¹)、羰基 (1 759 cm⁻¹) 和芳环 (1 606, 1 517, 1 498 cm⁻¹) 等特征吸收。¹H-NMR 和 ¹³C-NMR (CD₃OD) 数据见表 1。图谱中显示了 18 个碳信号和 14 个氢信号。其中, ¹H-NMR 中观察到 2 个 1,3,4-三取代的苯环的质子信号 δ_H [6.77 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-6), 7.37 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-5), 7.46 (1H, d, J = 10.5 Hz,

表 1 化合物 **1** 的核磁共振数据 (400/100 MHz, CD₃OD)
Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compound **1** (400/100 MHz, CD₃OD)

碳位	δ_C	δ_H
1	128.5 s	
2	116.0 d	7.46 (d, J = 10.5 Hz)
3	146.5 s	
4	152.9 s	
5	123.7 d	7.37 (d, J = 9.0 Hz)
6	116.4 d	6.77 (d, J = 9.2 Hz)
7	199.8 s	
8	42.0 t	3.35 (dd, J = 16.2, 7.5 Hz) 3.14 (d, J = 17.6 Hz)
9	66.9 t	3.48 (dd, J = 18.0, 6.4 Hz)
10	15.6 q	1.08 (t, J = 5.3 Hz)
1'	78.4 d	5.30 (brs)
2'	197.6 s	
1''	130.4 s	
2''	116.0 d	7.46 (d, J = 10.5 Hz)
3''	146.7 s	
4''	152.5 s	
5''	123.3 d	7.37 (d, J = 9.0 Hz)
6''	115.9 d	6.79 (d, J = 9.4 Hz)

H-2)] 以及 [6.79 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-6''), 7.37 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5''), 7.46 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-2'')]; 1 个与氧相连的质子信号 δ_{H} 5.30 (1H, brs, H-1'); 2 个亚甲基信号 δ_{H} 3.35 (1H, dd, $J = 16.2, 7.5$ Hz, H-8), 3.14 (1H, d, $J = 17.6$ Hz, H-8) 和 δ_{H} 3.48 (2H, dd, $J = 18.0, 6.4$ Hz, H-9) 以及 1 个甲基信号 δ_{H} 1.08 (3H, t, $J = 5.3$ Hz, H-10)。在 ^{13}C -NMR 和 DEPT 谱中包括 8 个季碳信号 [6 个苯环上的季碳 C-1 (δ_{C} 128.5), C-3 (δ_{C} 146.5), C-4 (δ_{C} 152.9), C-1' (δ_{C} 130.4), C-3'' (δ_{C} 146.7), C-4'' (δ_{C} 152.5), 以及 2 个羰基信号 C-7 (δ_{C} 199.8) 和 C-2' (δ_{C} 197.6)], 7 个次甲基信号 [6 个苯环上的次甲基 C-2 (δ_{C} 116.0), C-5 (δ_{C} 123.7), C-6 (δ_{C} 116.4), C-2'' (δ_{C} 116.0), C-5'' (δ_{C} 123.3), C-6'' (δ_{C} 115.9) 以及 1 个连氧的次甲基 C-1' (δ_{C} 78.4)], 2 个亚甲基以及 1 个甲基信号, 这些特征信号与文献报道的木脂素类化合物 3,4-dihydroxyphenacyl caffeate^[12] 非常相似。不同之处在于在 3,4-dihydroxyphenacyl caffeate 的基础上化合物 1 的 C-1' 位多了 1 个乙氧基取代片段 C-9 (δ_{C} 66.9) 和 C-10 (δ_{C} 15.6), 这一推测可以通过 H-1' 与 C-9、C-10 以及 H-9 与 C-1'、C-10、C-2' 的 HMBC 相关 (图 1) 以及 H-9/H-10 的 ^1H - ^1H COSY 相关得到证明; 另外, 3,4-dihydroxyphenacyl caffeate 中酯基变为化合物 1 的 C-7 (δ_{C} 199.8) 位的羰基和 C-8 (δ_{C} 42.0) 的 1 个亚甲基, 通过观察到 H-1' 与 C-7、C-8、C-2', H-9 与 C-7 以及 H-8 与 C-1'、C-2'、C-7 的 HMBC 相关以及 H-1'/H-8 的 ^1H - ^1H COSY 相关得到证实。因此鉴定化合物 1 为 3,4-二羟基苯甲酰乙酰酮 (图 2), 为 1 个新化合物, 命名为假芝木脂素 B。

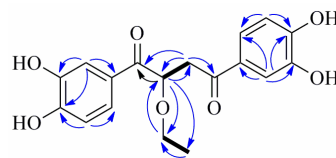


图 1 化合物 1 的主要 HMBC (↗) 和 COSY (↘) 相关
Fig. 1 Key HMBC correlations (↗) and COSY correlations (↘) of compound 1

化合物 2: 黄色粉末状, 分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$, ^1H -NMR (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 1.23 (2H, m, H-1), 1.27 (2H, m, H-2), 4.70 (1H, td, $J = 11.3, 5.6$ Hz, H-3), 1.35 (2H, m, H-4), 5.92 (1H, s, H-7), 2.32 (1H, dd, $J = 13.8, 11.4$ Hz, H-9), 1.49 (2H, m, H-11), 2.03 (2H, m, H-12), 1.93~1.87 (1H, m, H-14), 1.47 (2H, m, H-15), 1.84 (2H, dd, $J = 16.8, 5.3$ Hz, H-16), 1.35 (1H, d, $J = 4.3$ Hz, H-17), 0.61 (3H, s, H-18), 0.97 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-19), 1.10 (3H, s, H-21), 5.28 (1H, dd, $J = 15.3, 7.5$ Hz, H-22), 5.19 (1H, dd, $J = 15.3, 8.3$ Hz, H-23), 0.87 (3H, d, $J = 3.5$ Hz, H-26), 0.89 (3H, d, $J = 3.4$ Hz, H-27), 1.06 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-28); ^{13}C -NMR (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 32.0 (C-1), 31.6 (C-2), 67.4 (C-3), 39.5 (C-4), 77.7 (C-5), 200.3 (C-6), 121.0 (C-7), 164.3 (C-8), 44.7 (C-9), 41.6 (C-10), 22.5 (C-11), 38.1 (C-12), 45.0 (C-13), 56.4 (C-14), 23.1 (C-15), 28.6 (C-16), 56.2 (C-17), 13.1 (C-18), 16.8 (C-19), 41.0 (C-20), 21.7 (C-21), 136.2 (C-22), 132.8 (C-23), 43.5 (C-24), 33.7 (C-25), 20.5 (C-26), 20.2 (C-27), 18.2 (C-28)。以上数据与文献报道一致^[13-14], 故鉴定化合物 2 为 (22E,24R)-3 β ,5 α -二氢-麦角甾-7,22-二烯-6-酮, 结构见图 2。

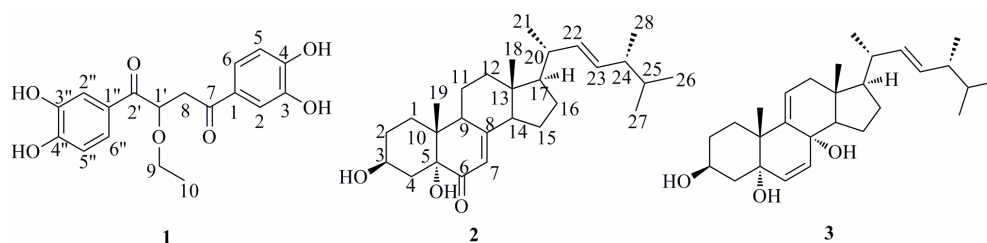


图 2 化合物 1~3 的结构

Fig. 2 Structures of compounds 1—3

化合物 3: 黄色粉末状; 分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$; ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.39 (2H, m, H-1), 1.47 (2H, m, H-2), 4.04~3.91 (1H, m, H-3), 1.63~1.55 (2H, m, H-4), 6.59 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 6.28 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7), 5.42 (1H, d, $J = 4.3$ Hz, H-11), 2.26 (2H, dd, $J = 17.0, 6.0$ Hz, H-12), 1.67

(2H, d, $J = 10.6$ Hz, H-15), 1.93 (2H, m, H-16), 0.73 (3H, s, H-18), 0.92 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-19), 1.00 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 5.24 (1H, dd, $J = 15.2, 7.4$ Hz, H-22), 5.16 (1H, dd, $J = 15.3, 8.1$ Hz, H-23), 0.81 (3H, s, H-26), 0.85 (3H, s, H-27), 1.08 (3H, s, H-28); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 32.7 (C-1), 30.6

(C-2), 66.2 (C-3), 36.1 (C-4), 82.8 (C-5), 135.6 (C-6), 130.7 (C-7), 78.4 (C-8), 142.7 (C-9), 38.0 (C-10), 119.7 (C-11), 41.2 (C-12), 43.7 (C-13), 48.2 (C-14), 28.7 (C-15), 21.0 (C-16), 55.9 (C-17), 25.6 (C-18), 13.0 (C-19), 40.0 (C-20), 20.8 (C-21), 135.2 (C-22), 132.5 (C-23), 42.8 (C-24), 33.1 (C-25), 17.6 (C-26), 19.7 (C-27), 20.0 (C-28)。以上数据与文献报道一致^[15-16], 故鉴定化合物 **3** 为 (22E,24R)-麦角甾-6,9,22-三烯-3 β ,5 α ,8 α -三醇, 结构见图2。

4 讨论

本实验通过对皱盖假芝子实体的化学成分进行研究, 最终从醋酸乙酯相中分离得到化合物 **1~3**, 结构鉴定确定化合物 **1** 为新的木脂素类成分, 新颖之处在于乙氧基和 C-7 位羰基的存在, 此类木脂素多数存在于植物之中^[12,17], 在真菌中比较少见。化合物 **2**、**3** 为已知的甾醇类成分, 此类成分多具有抗炎作用^[18], 下一步为完善实验, 充分了解皱盖假芝的物质基础及活性成分, 将进行抗炎活性筛选。

参考文献

- [1] 刘振祥, 张 胜. 食用菌栽培技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- [2] 贾定洪, 郑林用, 张小平, 等. 灵芝属真菌分类研究现状及分析 [J]. 西南农业学报, 2003, 16(增刊): 64-68.
- [3] 马海昇, 李海珍, 姚志伟. 血芝液体培养及条件优化的初步研究 [J]. 化学与生物工程, 2010, 27(3): 70-72.
- [4] Campacci T V S, Gugliotta A D M. A review of *Amauroderma* in Brazil, with *A. oblongisporum* newly recorded from the neotropics [J]. *Mycotaxon*, 2009, 110(10): 423-436.
- [5] Gomes-Silva A C, Baltazar J M, Ryvarden L, et al. *Amauroderma calcigenum* (Ganodermataceae, Basidiomycota) and its presumed synonym *A. partitum* [J]. *Nova Hedwigia*, 2010, 90(4): 449-455.
- [6] 肖自添, 刘 明, 何焕清. 假芝驯化栽培及其抗氧化活性研究 [J]. 菌物学报, 2017, 36(3): 358-366.
- [7] 王 谦, 齐悦歌. 以香菇柄为主料固态发酵血芝提取液的抗氧化活性研究 [J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(2): 682-685.
- [8] 余雄涛, 黄纪国, 韩园园, 等. 皱盖假芝水提物抑制单纯疱疹病毒研究 [J]. 食用菌学报, 2015, 22(3): 55-59.
- [9] Shan X H, 翟云燕, 吴金洋, 等. 不同灵芝、多孔菌样品对 LN-CaP 和 A549 细胞生长的影响 [J]. 食药菌, 2013, 6(6): 339-345.
- [10] Li X, Wu Q, Xie Y, et al. Ergosterol purified from medicinal mushroom *Amauroderma rudeinhibits* cancer growth in vitro and in vivo by up-regulating multiple tumor suppressors [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(19): 17832-17846.
- [11] 湛永蕾, 马青云, 黄圣卓, 等. 皱盖假芝子实体的化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(6): 881-885.
- [12] Yaoita Y, Kikuchi M. Petasiphenone, a phenolic compound from rhizomes of *Petasites japonicus* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(6): 1773-1774.
- [13] Ishizuka T, Yaoita Y, Kikuchi M. Sterol constituents from the fruit bodies of *Grifola frondosa* (FR.) S. F. GRAY [J]. *Chem Pharm Bull*, 1997, 45(11): 1756-1760.
- [14] Yang S P, Xu J, Yue J M. Sterols from the fungus *Catathelasma imperiale* [J]. *Chin J Chem*, 2003, 21(10): 1390-1394.
- [15] Amagata T, Tanaka M, Yamada T, et al. Variation in cytostatic constituents of a sponge-derived gymnasella *dankaliensis* by manipulating the carbon source [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(11): 1731-1740.
- [16] Wang S, Zhang L, Liu L Y, et al. Six novel steroids from culture of basidiomycete *Polyporus ellisii* [J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2012, 2(6): 240-244.
- [17] Stromeier S, Petereit F, Nahrstedt A. Phenolic esters from the rhizomes of *Cimicifuga racemosa* do not cause proliferation effects in MCF-7 cells [J]. *Planta Med*, 2005, 71(6): 495-500.
- [18] Kawagishi H, Katsumi R, Sazawa T, et al. Cytotoxic steroids from the mushroom *Agaricus blazei* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(9): 2777-2779.