

云芝化学成分研究

秦向东^{1,2}, 刘吉开²

(1. 云南农业大学 基础与信息工程学院, 云南 昆明 650201;

2. 中国科学院 昆明植物研究所, 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204)

摘要: 从真菌云芝子实体中分离鉴定了6个化合物和1个混合物, 分别为: (22E, 24R) - ergosta-7, 22-dien-3 β -ol (1)、(22E, 24R) - ergosta-6, 22-dien-3 β , 5 α , 8 α -triol (2)、5 α , 6 α -epoxy - (22E, 24R) - ergosta-8, 22-dien-3 β , 7 α -diol (3)、二十四碳酸(4)、二十六碳酸(5)和 α , α -trehalose (6); 混合物可推测主要由 russulamide (7)、ascolipid C (8)、ascolipid D (9) 组成。除化合物1外, 其余化合物均为该种首次分离得到。

关键词: 高等真菌; 云芝; 化学成分

中图分类号: R 284.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-390X (2012) 05-0774-03

Chemical constituents of *Coriolus versicolor*

QIN Xiang-dong^{1,2}, LIU Ji-kai²

(1. College of Basic Science and Information Engineering, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: Six compounds and a white amorphous powder were isolated from the fruiting bodies of *Coriolus versicolor* by column chromatographic methods, structures established by spectroscopic methods. Six compounds were determined to be (22E, 24R) - ergosta-7, 22-dien-3 β -ol (1), (22E, 24R) - ergosta-6, 22-dien-3 β , 5 α , 8 α -triol (2), 5 α , 6 α -epoxy - (22E, 24R) - ergosta-8, 22-dien-3 β , 7 α -diol (3), tetracosanoic acid (4), hexacosanoic acid (5), and α , α -trehalose (6), and the white powder to be a mixture of russulamide (7), ascolipid C (8), ascolipid D (9). Compounds 2~9 were isolated for the first time from *C. versicolor*.

Key words: higher fungi; *Coriolus versicolor*; chemical constituents

云芝 (*Coriolus versicolor*) 属多孔菌科 (Polyporaceae) 真菌, 广泛分布在我国黑龙江、吉林、辽宁、云南等20多个省区^[1-2]。作为一种药用真菌, 云芝具有扶正固本、止咳平喘、去湿化痰、疗肺疾等功效, 可以治疗慢性支气管炎、肝炎、小儿痉支炎等疾病, 还可以用作癌症免疫治疗的药物。研究显示, 从云芝菌丝体、发酵液和子实体中提取的云芝多糖结构不尽相同, 但都具有明显的抑肿瘤、抗炎、抗病毒等多种活性^[3-5], 由此开发研制的多种药物, 在临床使用中均取得了明显疗效。除药用外, 云芝中富含的多种酶也被

广泛应用^[6]。目前, 关于云芝的研究主要围绕多糖和酶展开, 对于其他成分研究较少。为进一步了解云芝的化学组成, 我们对云芝子实体进行了研究, 从中分离鉴定了9个化合物, 化合物2~9为该种首次报道。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

云芝 (*Coriolus versicolor*) 于2002年9月采于中科院昆明植物研究所昆明植物园内。

ZF-II型三用紫外分析仪 (上海安亭电子仪器

收稿日期: 2011-12-01 修回日期: 2011-12-31 网络出版时间: 2012-09-07 11:00

作者简介: 秦向东 (1975-), 女, 河北人, 副教授, 博士, 主要从事天然产物研究。

E-mail: qinxd0708@yahoo.com.cn

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20120907.1100.201205.774_027.html

厂)、DB-III型电热板(常州国华电器有限公司)、RE-3000旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)、SHZ-CB型循环水式多用真空泵(河南巩义市英峪予华仪器厂)、X-4数字显示显微熔点测定仪(巩义市予华仪器有限责任公司)、VG AutoSpec-3000质谱仪(美国Beckman公司)、Bruker AV-400和DRX-500核磁共振波谱仪(瑞士Bruker公司)、Horiba SEPA-300旋光仪、ISO 9001型分析天平(北京赛多利斯天平有限公司)。

薄层硅胶板(青岛海洋化工厂分厂)、80-100目柱层析硅胶、200-300目层析硅胶和层析硅胶H(青岛美高集团有限公司)。显色剂为香草醛-浓硫酸显色剂。所用洗脱溶剂均为工业纯,使用前经过重蒸,其他试剂为分析纯。

柱层析材料和薄层层析材料均为青岛海洋化工厂生产。

1.2 提取与分离

干燥粉碎的子实体955g,分别用氯仿-甲醇(1:1, V/V)、甲醇各提取3次,提取液合并,减压浓缩得黑褐色膏状粗提物(40g),80~100目硅胶拌样后,以氯仿-甲醇系统洗脱,进行硅胶柱层析,得到7个组分Fr.1~7。由Fr.6(氯仿-甲醇系统洗脱,9:1, V/V)直接得到化合物7,8,9的混合物(22.3mg);由Fr.9(氯仿-甲醇系统洗脱,1:1, V/V)直接得到化合物6(540mg);Fr.3(氯仿-甲醇系统洗脱,98:2, V/V)进一步进行柱层析,用氯仿-甲醇系统洗脱,由氯仿洗脱部分得到化合物1(140mg)、2(21mg)、5(11.8mg);由氯仿-甲醇(98:2, V/V)洗脱部分得到化合物4(12mg);Fr.4(氯仿-甲醇,95:5, V/V,洗脱)进行柱层析(氯仿-甲醇系统洗脱),由氯仿-甲醇(95:5, V/V)洗脱部分得到化合物3(13.1mg)。

2 结果与分析

2.1 化合物结构鉴定结果

(22E, 24R) - ergosta - 7, 22 - dien - 3 β - ol (1): 无色针晶(氯仿-甲醇); m. p. 159.5 - 161°C; EI - MS m/z (rel. int.): 398 [M] + (60), 380 (20), 355 (8), 340 (4), 325 (3), 300 (16), 271 (75), 255 (60); ^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3): 83.58 (1H, m, H - 3), 0.52 (3H, s, H - 18), 0.78 (3H, s, H - 19), 0.99 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H - 21), 5.18 (2H, m, H - 22, 23), 0.81 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H - 27), 0.91 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H - 28); ^{13}C - NMR - DEPT (100 MHz, CDCl_3):

837.1 (C - 1, CH_2), 33.6 (C - 2, CH_2), 71.1 (C - 3, CH), 38.0 (C - 4, CH_2), 40.2 (C - 5, CH), 29.6 (C - 6, CH_2), 117.5 (C - 7, CH), 139.6 (C - 8, C), 49.4 (C - 9, CH), 34.2 (C - 10, C), 21.5 (C - 11, CH_2), 39.4 (C - 12, CH_2), 43.3 (C - 13, C), 55.1 (C - 14, CH), 22.9 (C - 15, CH_2), 28.1 (C - 16, CH_2), 55.9 (C - 17, CH), 12.1 (C - 18, CH_3), 13.1 (C - 19, CH_3), 40.5 (C - 20, CH), 21.1 (C - 21, CH_3), 135.7 (C - 22, CH), 131.9 (C - 23, CH), 42.8 (C - 24, CH), 33.1 (C - 25, CH), 17.6 (C - 26, CH_3), 19.6 (C - 27, CH_3), 20.0 (C - 28, CH_3); 以上波谱数据与文献^[7-8]相符。

(22E, 24R) - ergosta - 6, 22 - dien - 3 β , 5 α , 8 α - triol (2): 无色针晶; Negative FAB - MS m/z (%): 429 [M - 1]⁻ (100); ^1H - NMR (500 MHz, CDCl_3): 86.23 (1H, d, $J = 8.5$, H - 6), 6.49 (1H, d, $J = 8.5$, H - 7), 5.20 (1H, dd, $J = 15.3, 7.5$, H - 22), 5.12 (1H, dd, $J = 15.3, 8.2$, H - 23), 3.94 (1H, m, H - 3), 2.08 ~ 0.79 (其他); ^{13}C - NMR - DEPT (100 MHz, CDCl_3): 837.0 (C - 1, CH_2), 30.1 (C - 2, CH_2), 66.5 (C - 3, CH), 34.7 (C - 4, CH_2), 79.4 (C - 5, C), 130.7 (C - 6, CH), 135.4 (C - 7, CH), 82.1 (C - 8, C), 51.1 (C - 9, CH), 37.0 (C - 10, C), 20.6 (C - 11, CH_2), 39.4 (C - 12, CH_2), 44.6 (C - 13, C), 51.7 (C - 14, CH), 28.6 (C - 15, CH_2), 23.4 (C - 16, CH_2), 56.2 (C - 17, CH), 12.9 (C - 18, CH_3), 18.1 (C - 19, CH_3), 39.7 (C - 20, CH), 19.6 (C - 21, CH_3), 132.3 (C - 22, CH), 135.2 (C - 23, CH), 42.7 (C - 24, CH), 33.1 (C - 25, CH), 20.0 (C - 26, CH_3), 20.9 (C - 27, CH_3), 17.5 (C - 28, CH_3); 其波谱数据与文献[9]值相符。

5 α , 6 α - epoxy - (22E, 24R) - ergosta - 8, 22 - dien - 3 β , 7 α - diol (3): 无色针晶; EI - MS m/z (rel. int.): 428 [M]⁺ (1.5), 410 (22), 395 (10), 392 (18), 377 (32), 349 (5), 285 (21), 267 (52), 249 (82); ^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3): 80.56 (3H, s), 0.79 (3H, d, $J = 6.54$), 0.80 (3H, d, $J = 6.49$), 0.88 (3H, d, $J = 6.78$), 0.99 (3H, d, $J = 6.57$), 1.11 (3H, s), 2.15 - 1.59 (19H, m), 3.28 (1H, d, $J = 2.43$), 3.92 (1H, m), 4.20 (1H,

brs), 5.11 - 5.22 (2H, m); ^{13}C - NMR - DEPT (100MHz, CDCl_3): δ 30.8 (C-1, CH_2), 30.2 (C-2, CH_2), 67.1 (C-3, CH), 39.1 (C-4, CH_2), 65.7 (C-5, C), 62.6 (C-6, CH), 68.5 (C-7, CH), 134.4 (C-8, C), 126.9 (C-9, C), 38.0 (C-10, C), 23.4 (C-11, CH_2), 35.7 (C-12, CH_2), 42.1 (C-13, C), 49.6 (C-14, CH), 23.8 (C-15, CH_2), 28.8 (C-16, CH_2), 53.7 (C-17, CH), 11.3 (C-18, CH_3), 22.8 (C-19, CH_3), 40.4 (C-20, CH), 20.9 (C-21, CH_3), 135.5 (C-22, CH), 132.0 (C-23, CH), 42.8 (C-24, CH), 33.1 (C-25, CH), 19.6 (C-26, CH_3), 20.0 (C-27, CH_3), 17.6 (C-28, CH_3); 其波谱数据与文献 [10] 值相符。

二十四碳酸 (4): 白色无定型粉末; EI - MS m/z (%): 368 $[\text{M}]^+$ (28); Positive FAB - MS m/z (%): 369 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (100); ^1H - NMR (400MHz, pyridine - d_5): δ 2.50 (2H, m, H-2), 1.77 (2H, m, H-3), 1.22 - 1.37 (40H, brs., H-4 ~ 23), 0.83 (3H, t, $J = 6.5\text{Hz}$, H-24); ^{13}C - NMR - DEPT (100MHz, pyridine - d_5): δ 176.1 (C-1, C), 34.9 - 23.0 (C-2 ~ 23, CH_2), 14.3 (C-24, CH_3)。化合物根据波谱数据解析为二十四碳酸。

二十六碳酸 (5): 白色无定型粉末; Positive FAB - MS m/z (%): 383 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (100); ^1H - NMR (400 MHz, pyridine - d_5): δ 0.80 (3H, t, $J = 6.5\text{Hz}$, H-26), 1.20 - 1.34 (42H, brs., H-4 ~ 25), 1.75 (2H, m, H-3), 2.47 (2H, m, H-2); ^{13}C - NMR - DEPT (100 MHz, pyridine - d_5): δ 176.0 (C-1, C), 34.9 - 22.9 (C-2 ~ 25, CH_2), 14.2 (C-26, CH_3)。化合物根据波谱数据解析为二十六碳酸。

α, α - Trehalose (6): 无色方晶; Negative FAB - MS m/z (%): 341 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (45); ^1H - NMR (500 MHz, DMSO): δ 5.21 (2H, d, $J = 3.27$); ^{13}C - NMR - DEPT (100 MHz, DMSO): δ 893.1 (H-1, 1', CH), 72.9 (CH), 72.4 (CH), 71.6 (CH), 70.2 (CH), 60.8 (H-6, 6', CH_2); 以上波谱数据与文献 [11] 相符。

2.2 混合物鉴定结果

russulamide (7)、ascolipid C (8)、ascolipid D (9) 混合物; 白色无定型粉末; Negative FAB - MS m/z 683 $[\text{M}_7]^+$ (100), 669 $[\text{M}_9]^+$ (44), 655 $[\text{M}_8]^+$ (60); ^1H - NMR (400 MHz, pyridine - d_5): δ 4.52 (dd, $J = 10.6, 4.5\text{Hz}$), 4.43

(dd, $J = 10.6, 5.2\text{Hz}$), 5.12 (m), 4.35 (dd, $J = 6.5, 4.0\text{Hz}$), 4.28 (m), 1.93 (m), 1.69 (m), 0.84 (t, $J = 6.7\text{Hz}$), 4.62 (dd, $J = 7.6, 4.0\text{Hz}$), 2.25 (m), 1.95 (m), 1.92 (m), 1.24 ~ 1.41 (m), 8.57 (d, $J = 8.8\text{Hz}$); ^{13}C - NMR - DEPT (pyridine - d_5 , 100MHz): δ 62.0 (C-1, CH_2), 53.0 (C-2, CH), 76.8 (C-3, CH), 73.0 (C-4, CH), 34.2 (C-5, CH_2), 26.7 (C-6, CH_2), 29.6 ~ 32.2 (C-7 ~ 17, CH_2), 14.3 (C-18, CH_3), 175.2 (C-1', C), 72.5 (C-2', CH), 35.7 (C-3', CH_2), 25.8 (C-4', CH_2), 29.7 ~ 20.4 (CH_2), 14.3 (CH_3); 以上波谱数据与文献 [12] 相符, 推测为神经酰胺 russulamide (7), ascolipid C (8), ascolipid D (9) 的混合物。

[参考文献]

- [1] 卯晓岚. 中国经济真菌 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [2] 袁明生, 孙佩琼. 四川蕈菌 [M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1995.
- [3] 郑炯, 张甫生, 黄明发. 云芝多糖生物活性及其提纯化研究进展 [J]. 粮食与油脂, 2007 (2): 44 - 46.
- [4] MITOMI T, OGOSHI K. Clinical study of PSK as an adjuvant immunochemotherapeutic agent against gastric cancer [J]. Japanese Journal of Cancer and Chemotherapy, 1986, 13 (8): 2532 - 2537.
- [5] 单友亮, 庄志铨, 李博华, 等. 云芝多糖研究进展 [J]. 中草药, 1998, 29 (5): 349 - 351
- [6] MACHIDA Y, NAKANISHI T. Purification and properties of pyranose oxidase from *Coriolus versicolor* [J]. Agricultural Biology and Chemistry, 1984, 48 (10): 2463 - 2470.
- [7] 江宏哲, 何蛟青. 树舌灵芝之成分研究 [J]. Chemistry, 1990, 48 (4): 253 - 258.
- [8] KELLER A C, MAILLARD M, HOSTETMAANN K. Antimicrobial steroids from the fungus *Fomitopsis pinicola* [J]. Phytochemistry, 1996, 41 (4): 1041 - 1046.
- [9] HOU Z F, SHI Y P, LI X F, et al. New steroids from *Adenophora stenanthina* subsp. *xifengensis* [J]. Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry, 1997, 36B (3): 293 - 296.
- [10] MASARU K, FUYUKO K. Marine sterols. 18. Isolation and structure of four novel oxygenated sterols from a Gorgonian Coral *Melithaea ocracea* [J]. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1, 1991, 1 (1): 1177 - 1179.
- [11] 于德泉, 杨峻山. 分析化学手册第七分册, 核磁共振波谱分析 [M]. 北京: 化工出版社, 1999: 904 - 905.
- [12] 高锦明. 云南高等真菌中鞘脂类生物活性成分 [D]. 昆明: 中国科学院昆明植物研究所, 2001.