文章编号:1001-6880(2016)1-0001-05

佩氏灵芝中三个新三萜

郭平霞¹²,王心龙²,程永现^{2*},裴妙荣^{1*} ¹山西中医学院,山西 030619;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,昆明 650201

Three New Triterpenoids from Ganoderma petchii

GUO Ping-xia^{1,2} ,WANG Xin-long² ,CHENG Yong-xian^{2*} ,PEI Miao-rong^{1*}

¹Shanxin University of Traditional Chinese Medicine Shanxi 030619 China; ²State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China Kunming Institute of Botany Chinese Academy of Sciences Kunming 650201 China

Abstract: Three new triterpenoids petchinoids A-C (1-3) along with two known phenolic compounds 2 5-dihydroxyace-tophenone (4) and grevillone (5) were isolated from the fruiting bodies of *Ganoderma petchii*. Their structures were i-dentified as by means of spectroscopic methods.

Key words: Ganoderma petchii; Ganodermaceae; triterpenoids

灵芝是一类大型真菌,在我国自古将其作为名 贵中药使用,虽然《中国药典》仅收载了赤芝和紫 芝,但在中国多个药材市场可看到灵芝属多个真菌 均作为灵芝销售,一定程度上表明灵芝属真菌在我 国民间被广泛使用^[1]。灵芝作为名贵中药曾吸引 了国内外众多学者关注^[2],我们前期研究发现灵芝 中芳香杂萜具有抗慢性肾病和神经系统活性^[3-6],表 明此类成分是灵芝属真菌重要的药效物质,值得深 入研究。佩氏灵芝(*G. petchii*)也常见于药材市场, 但缺乏现代化学和药理研究,从亲缘关系出发,我们 认为该药材中也应含有结构新颖的杂萜类成分,在 定向研究获取灵芝杂萜的过程中,我们分离鉴定了 3 个新的三萜成分和 2 个芳环衍生物,在此加以报 道,以丰富灵芝化学。

1 仪器与材料

VGAUTO Spec-3000 及 Finnegan MAT 90 质谱 仪; Bruker AM-400 及 Avance III 600 MHz 核磁共振 仪(TMS 作为内标 δ 为 ppm J 为 Hz)。40~63 μm RP-18(日本 Daiso);45~75 μm MCI gel CHP 20P (日本三菱公司产品);半制备 HPLC 为北京创新通 恒 LC3000型 HPLC 产品,色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈(250 mm × 9.4 mm j. d.5 μm);25~100 μm Sephadex LH-20(Pharmacia 公司)。

样品于 2014 年 7 月购自中国云南省中豪螺狮 湾中药材市场(昆明市),并经中国科学院昆明植物 研究所杨祝良研究员鉴定为佩氏灵芝,凭证标本 (CHYX-0588)保存于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。

2 提取与分离

佩氏灵芝子实体(60.0 kg) 粉碎后用 70% 乙醇 回流提取(150 L × 2 h × 3),回收溶剂,浓缩得总 提物(3.4 kg)。总提物用水适当稀释后用乙酸乙酯 萃取 3 次,得乙酸乙酯萃取部位(2.1 kg),其经 MCI gel CHP 20P 色谱柱分离(甲醇/水,10%~100%) 得 8 个组份(Fr.1~Fr.8)。Fr.5(410.4 g) 经 MCI gel CHP 20P 色谱柱分离(甲醇/水,10%~100%)

收稿日期:2015-10-20 接受日期:2016-01-05

基金项目:国家自然科学基金(21472199)

^{*} 通讯作者 E-mail: yxcheng@ mail. kib. ac. cn; peimr602@163. com

得7个部位(Fr. 5. 1 ~ Fr. 5. 7), Fr. 5. 7 经 MCI gel CHP 20P 色谱柱分离(甲醇/水,10%~100%)得4 个部位(Fr. 5. 7. 1 ~ Fr. 5. 7. 4),其中 Fr. 5. 7. 1 (12.0g)经 Sephadex LH-20柱(甲醇)凝胶过滤得 Fr. 5. 7. 1. 1 ~ Fr. 5. 7. 1. 3。Fr. 5. 7. 1. 2(4.2g)经 RP-48 柱色谱(甲醇/水,30%~100%)分离又得3 个亚组份(Fr. 5. 7. 1. 2. 1 ~ Fr. 5. 7. 1. 2. 3)。Fr. 5. 7. 1. 2. 2(200 mg)经半制备 HPLC(甲醇/水,55%) 得化合物1(24.0 mg $R_1 = 27$ min)及化合物2(30.0 mg $R_1 = 29$ min)。同样, Fr. 5. 7. 1. 2. 3(500 mg)经 半制备 HPLC(乙腈/水,48%)得化合物3(22.5 mg, $R_1 = 29$ min) $A(1.0 \text{ mg } R_1 = 20 \text{ min})$ 和5(1.0 mg, $R_1 = 18 \text{ min})$ 。

3 结构鉴定

化合物1 淡黄色针晶,由¹³C NMR、DEPT 谱及 高分辨质谱 [m/z: 443. 2438 [M-H]⁻(calcd for C₂₆ H₃₅O₆ 443.2439)] 确定其分子式为 C₂₆H₃₆O₆ ,计算 其不饱和度为 9。 [α]²⁴-6.8 (c 0.42, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 267 (3.68), 221 (3.89) $nm_{\circ}^{1}H$ NMR 谱中烯区有 1 个质子($\delta_{H}5.77$, s, H-22)。中场区的质子信号(δ_H4.55,d,J = 7.3 Hz, H-15) 由其化学位移可判断为羟基相连碳上的质 子。另外 高场区还有六个甲基质子信号($\delta_{\rm H}$ 2.15, s ,H-21; $\delta_{\rm H}$ 1.35 s ,H-49; $\delta_{\rm H}$ 1.22 s ,H-30; $\delta_{\rm H}$ 1.01 , s ,H-28; $\delta_{\rm H}$ 0. 93 ,s ,H-18; $\delta_{\rm H}$ 0. 89 ,s ,H-29) 。 在¹³ C NMR 和 HMBC 图谱中可以看到 26 个碳信号,其中 有二个羰基信号(δ_c 205.5,C-7; δ_c 203.0,C-11),四 个双键信号,二个连氧次甲基信号。HMBC 谱显示 H₃-28,H₃-29与C-3相关,表明C-3位有羟基取代; H₃-30 与 C-15 的相关,提示另一个羟基在 C-15 位。¹³C NMR 谱信号与文献报道的 methyl ganoderenate I^[7]比较,发现二者的A、B、C、D环基本一致, 主要区别在于化合物1的C-17位侧链较文献化合 物在侧链末端降了四个碳。侧链上 H₃-21 与 C-20,



图 1 化合物 1-3 的主要 HMBC 和 COSY 相关 Fig. 1 Key HMBC and COSY correlations for 1-3





C-22,H-22 与 C-23 的 HMBC 相关可确定 C-21-C-20-C-22-C-23 片段;H-17 与 C-20 的 HMBC 相关可 确定 C-17 与 C-20 相连。化合物 1 的相对构型是通 过 ROESY 相关确定的,ROESY 谱中 H₃-30 和 H-15 相关表明二者在同侧,H-5 与 H-3 相关,表明 H-3 与 H-5 位于环的同侧。Hb-16 和 H-22 的相关可确定 侧链双键为反式。至此,化合物 1 的结构可以得以 确定,命名为 petchinoid A。

化合物 2 淡黄色针晶 ,由¹³C NMR、DEPT 谱及 高分辨质谱 [*m/z*: 445. 2595 [M-H]⁻(caled for C₂₆ H₃₇O₆ ,445. 2596)]确定其分子式为 C₂₆H₃₈O₆ ,计算 其不饱和度为 8。 [α]²⁴ + 51. 6 (*c* 1. 20 ,MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 268 (3. 88) ,205 (3. 68) nm。与化合物 1 的¹H \neg ¹³C NMR 数据比较 ,发现二 者的主要信号基本一致 ,区别在于化合物 2 较化合 物 1 在 C-20 与 C-22 位的双键信号消失 ,相反多出 一个次甲基信号(δ_c 34. 9 ,C-20)和亚甲基信号(δ_c 42. 4 ,C-22)。由于侧链的自由旋转 ,目前我们尚未 对 C-20 的绝对构型进行确定。至此 ,化合物 2 的结 构得以鉴定 ,并命名为 petchinoid B。

化合物3 黄色针晶,由¹³C NMR、DEPT 谱及高 分辨质谱 [m/z: 485. 3266 [M-H]⁻¹(calcd for C₃₀ H₄₅ O₅ 485. 3272)]确定其分子式为 C₃₀ H₄₆O₅,计算其 不饱和度为 8。 [α]²⁴ + 5.6 (c 0. 598 ,MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 253 (3.94) 214 (4.2) nm。 比较化合物 3 与文献^[8] 中 11 β -dihydroxy-3 ,7-dioxo-5 α -lanosta-8 24(E) -dien-26-oic acid 的¹³ C NMR 数 据 ,可以发现化合物 3 与文献中化合物的唯一区别 是文献中上述化合物的 3 位酮基在化合物 3 中被还 原成羟基 ,这可通过 HMBC 谱中 C-3 与 H₃-28、H₃-29 的相关加以确定。因此 ,化合物 3 的结构得以确 定 ,并命名为 patchinoid C。值得一提的是 ,我们在 文献检索中偶然发现化合物 3(11 位有羟基取代) 的¹³C NMR 数据与 7-oxo-ganoderic acid Z₃(15 位有 羟基取代)^[9]几乎完全一致,经过比对发现二者的 核磁共振图谱也几乎完全一致,究竟羟基是位于11 位还是 15 位? 为此我们对化合物 3 的核磁共振图 谱进行了再次仔细解析 ,HMBC 图谱中可以明显看 ま1 化合物1 3 的气谱数据(400 MHa CD OD S in many Lin Ha)

5

6

11

12

13

15

16

17

18 19

20

21

到 H-I1(δ_H 4.62) 与 C-8 和 C-9 相关 ,H-I2 与 C-9 和 C-11 相关以及 H₃-30 与 C-8, C-14 和 C-15(δ_c 33.5) 相关 据此 我们可以毫不含糊地确定化合物 **3**的11位存在羟基取代而非15位。

1.59 (1H pverlap)

2.57 (1H overlap)

2.33 (1H ,dd ,16.8 2.9) 4.62 (1H d 6.9)

2.20 (1H dd-like 14.4 6.9)

1.95 (1H ,d-like ,14.4)

2.01 (1H pverlap)

1.76 (1H overlap)

2.01 (1H overlap)

1.39 (1H overlap)

1.45 (1H pverlap)

0.89 (3H pverlap)

1.40 (3H s)

1.45 (1H pverlap)

1.02 (3H s)

र र 1	化百物工	~3 的圣信奴	1佰(400	мпz д	LD ₃ OD	$\rho_{\rm H}$ in	ppm "	in nz)
								. .	

Position	1	2	3	
1	2.84 (1H m)	2.82 (1H m)	2.57 (1H øverlap)	
	1.19 (1H dd 13.2 4.4)	1.19 (1H td-like 13.6 3.5)	1.59 (1H øverlap)	
2	1.74 (1H m)	1.77 (1H ,m)	1.76 (1H øverlap)	
	1.67 (1H m)	1.66 (1H ,m)	1.68 (1H "m)	
3	3.22 (1H dd 11.7 4.7)	3.21 (1H dd 11.7 4.5)	3.23 (1H dd 11.7 4.2)	

1.57 (1H d-like 15.1) 2.70 (1H t-like ,15.1)

2.51 (1H ,d-like ,15.1)

2.97 (1H d 14.9)

2.37 (1H overlap)

4.55 (1H ,d ,7.3)

2.37 (1H overlap)

2.01 (1H dd-like 14.6 9.6)

2.84 (1H overlap)

0.93 (3H s)

1.35 (3H s)

2.15 (3H s)

1.56 (1H ,dd ,14.9 ,1.6)

2.70 (1H t-like ,15.1)

2.51 (1H overlap)

2.91 (1H d 15.1)

2.51 (1H overlap)

4.45 (1H d 7.3)

2.51 (1H overlap)

1.47 (1H dd-like 14.1 9.2)

1.77 (1H ,m)

1.11 (3H s)

1.35 (3H s)

2.02 (1H overlap)

1.00 (3H s)

Table 1 ¹ H NMR spectral data of 1-3	(400 MHz , $CD_3 OD \beta_H in ppm J in Hz$)
---	---

22	5.77 (1H s)	2.43 (1H d 11.6) 2.02 (1H øverlap)	1.59 (1Н øverlap) 1.19 (1Н øverlap)
23			2.26 (1H ,m) 2.13 (1H ,m)
24			6.77 (1H ± 7.3)
27			1.80 (3H s)
28	1.01 (3H s)	1.00 (3H s)	0.96 (3H s)
29	0.89 (3H s)	0.89 (3H s)	0.89 (3H øverlap)
30	1.22 (3H s)	1.14 (3H s)	0.86 (3H s)

化合物 4 淡黄色粉末¹H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.23 (1H ,d ,J = 2.9 Hz ,H-6) ,7.01 (1 H ,dd J = 8.9 2.9 Hz ,H-4) 6.79 (1 H ,d J =8.9 Hz, H-3), 2.59 (3H, s, H-8)。以上数据和文 献^[10]基本一致 故确定化合物 4 的结构为 2 5-二羟 基苯乙酮。

化合物 5 淡黄色固体,¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.86 (1H ,d ,J = 9.5 Hz ,H-4) ,7.21 $(1 \text{H }_{d} \text{J} = 8.9 \text{Hz}_{H} \text{H} \text{-} 8)$,7.06 $(1 \text{H}_{d} \text{d}_{J} = 8.9 \text{J}_{H} \text{-} 8)$ 2.8 Hz ,H-7) β .98 (1H ,d J = 2.8 Hz ,H-5) β .40 (1H,d,J = 9.5 Hz,H-3)。以上数据和文献^[11]基 本一致 故确定化合物 5 为银桦内酯。

Table 2 13 C NMR spectral data of 1-3 (150 MHz , CD ₃ OD)					
Position	1	2	3		
1	35.1 t	35.1 t	34.8 t		
2	28.2 t	28.2 t	28.1 t		
3	78.2 d	78.3 d	78.8 d		
4	40.1 s	40.1 s	40.2 s		
5	52.0 d	52.0 d	52.3 d		
6	37.5 t	37.6 t	37.7 t		
7	205.5 s	205.7 s	203.6 s		
8	150.0 s	150.3 s	140.1 s		
9	155.1 s	154.9 s	166.2 s		
10	41.3 s	41.2 s	41.5 s		
11	203.0 s	203.7 s	67.3 d		
12	52.5 t	53.8 t	43.6 t		
13	49.0 s	48.2 s	44.6 s		
14	54.6 s	55.2 s	50.1 s		
15	77.4 d	76.8 d	33.5 t		
16	36.1 t	39.9 t	29.9 t		
17	54.3 d	50.4 d	49.6 d		
18	19.4 q	18.0 q	17.5 q		
19	17.9 q	17.9 q	19.8 q		
20	158.7 s	34.9 d	37.6 d		
21	20.9 q	19.7 q	19.0 q		
22	118.8 d	42.4 t	36.0 t		
23	170.3 s	177.1 s	26.5 t		
24			144.3 d		
25			128.7 s		
26			171.8 s		
27			12.4 q		
28	28.4 q	28.3 q	28.2 q		
29	16.1 q	16.1 q	16.1 q		
30	24.8 q	24.7 q	25.4 q		

表2 化合物1~3的碳谱数据(150 MHz CD₃OD)

致谢:感谢国家自然科学基金资助;感谢晏永明 博士协助图谱解析。

参考文献

- 1 Yang ZL Feng B. What is the Chinese "Lingzhi"? A taxonomic mini-review. Mycology 2013 A(1): 1-4.
- 2 Bishop KS Kao CHJ Xu YY *et al.* From 2000 years of *Gan-oderma lucidum* to recent developments in nutraceuticals. *Phytochemistry* 2015, 114: 56-65.
- 3 Yan YM ,Ai J ,Zhou LL *et al.* Lingzhiols ,unprecedented rotary door-shaped meroterpenoids as potent and selective inhibitors of p-Smad3 from *Ganoderma lucidum*. Org Lett ,

2013 ,15: 5488-5491.

- 4 Luo Q ,Wang XL ,Di L ,et al. Isolation and identification of renoprotective substances from the mushroom Ganoderma lucidum. Tetrahedron , 2015 ,71: 840-845.
- 5 Yan YM ,Wang XL ,Luo Q et al. Metabolites from the mushroom Ganoderma lingzhi as stimulators of neural stem cell proliferation. Phytochemistry 2015, 114: 155-162.
- 6 Zhou FJ ,Nian Y ,Yan YM *et al.* Two new classes of T-type calcium channel inhibitors with new chemical scaffolds from *Ganoderma cochlear. Org Lett* , 2015 ,17: 3082-3085.
- 7 Nishitoba T ,Goto S ,Sato H ,et al. Bitter triterpenoids from the fungus Ganoderma applanatum. Phytochemistry ,1989 , 28: 193-197. (下转第16页)

rived from plants. *Chin J Biochem Pharm* (中国生化药物 杂志) 2012 33:199-202.

- 2 Birari RB ,Bhutani KK. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discov Today* , 2007 ,12: 879-889.
- 3 Liu J. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. J Ethnopharmacol ,1995 ,49(2): 57-68.
- 4 Meng YQ(孟艳秋), Feng CQ(冯楚桥), Zhang LF(张良峰) *et al.* Synthesis and anti-tumor activity of oleanolic acid derivatives. *Acta Pharm Sinica* (药学学报) 2015, 50: 469-474.
- 5 Liu ZF(刘志芳), Tian M(田萌), Ma YW(马跃文) *et al.* Effects of ursolic acid and oleanolic acid on activity and conformation of pancreatic lipase. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药) 2009 20: 2600-2602.
- 6 Tang C(唐初), Chen Y(陈玉), Bai S(柏舜), et al. Advances in the study of structural modification and biological activities of oleanolic acid. Chin J Org Chem (有机化学), 2013 33:46-65.
- 7 Li WL(李文良) Chen J(陈剑) Ma L(马丽) et al. Synthesis and evaluation of α-glucosidase inhibitory activity of oleanic acid derivatives. Chin J Med Chem (中国药物化学 杂志) 2014 24:7-13.
- 8 Ma XH(马学惠) Zhao YC(赵元昌), Yin L(尹镭) *et al.* Studies on the effect of oleanolic acid on experimental liver injury. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1982, 17(2):93-97.
- 9 Ikuya S ,Mitsuki T ,Akio B ,*et al.* Synthesis of heterocyclic compounds by the organotin alkoxide promoted cleavage of γ -

bromo β-lactones. J Org Chem ,1990 55: 2487-2491.

- 10 Bianka S ,Elke P ,René C. Esters and amides of maslinic acid trigger apoptosis in human tumor cells and alter their mode of action with respect to the substitution pattern at C-28. Eur J Med Chem 2013 70: 259-272.
- 11 Vorderwuelbecke T ,Kieslich K ,Erdmann H. Comparison of lipases by different assays. *Enzyme Microb Technol*, 1992, 14:631-639.
- 12 Lee YP ,Chung GH ,Rhee JS. Purification and characterization of *pseudomonas fluorescens* SIK W1 lipase expressed in Escherichia coli. *Biochim Biophys Acta-Lipids Lipid Metab* , 1993 ,1169: 156-164.
- 13 Taha MO ,Dahabiyeh LA ,Bustanji Y ,et al. Combining ligand-based pharmacophore modeling , quantitative structureactivity relationship analysis and in silico screening for the discovery of new potent hormone sensitive lipase inhibitors. J Med Chem 2008 51: 6478-6494.
- 14 Sharma N Sharma VK Seo SY. Screening of some medicinal plants for anti-lipase activity. J Ethnopharmacol 2005 97: 453-456.
- 15 Mohammad M ,Aiedeh KM ,AlKhatib HS *et al.* A Comparative enzymatic inhibition assay as a surrogate indicator of pharmaceutical and potency equivalence of two orlistat formulations. *Jordan J Pharm Sci* 2010 3: 69–77.
- 16 Shi Y ,Chen QX ,Wang Q et al. Inhibitory effects of cinnamic acid and its derivatives on the diphenolase activity of mushroom (*Agaricus bisporus*) tyrosinase. Food Chem , 2005 92:707-712.

(上接第4页)

- 8 Min BS ,Nakamura N ,Miyashiro H ,et al. Triterpenes from the spores Ganaderma lucidum and their inhibitory activity against HIV-1 protease. Chem Pharm Bull ,1998 ,46: 1607– 1612.
- 9 Peng XR ,Liu JQ ,Han ZH *et al.* Protective effects of triterpenoids from *Ganaderma resinaceum* on H₂O₂-induced toxicity in HepG2 cells. *Food Chem* 2013 ,141:920-926.
- 10 Miao JH(苗金花), Yan YM(晏永明), Wang XL(王心 龙) *et al.* A new phenolic dimer from *Ganoderma lucidum*. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发) 2014 26:1545-1547.
- 11 Ma YY(马燕燕), Fu JS(付劲松), Shan XQ(单晓庆), et al. Chemical constituents from Sabina sinoalpina. Chin Tradit Herb Drugs(中草药) 2010 41: 32-36.