

佩氏灵芝中三个新三萜

郭平霞^{1,2}, 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**摘要:** 利用各种色谱技术从佩氏灵芝中分离得到 5 个化合物, 结合波谱学方法鉴定了它们的结构, 分别为: petchinoids A-C(1~3)、2,5-二羟基苯乙酮(4)和银桦内酯(5)。其中化合物 1~3 是新化合物。**关键词:** 佩氏灵芝; 灵芝科; 三萜

中图分类号: R93

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.1.001

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-dihydroxyacetophenone (4) and grevillone (5), were isolated from the fruiting bodies of *Ganoderma petchii*. Their structures were identified 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》仅收录了赤芝和紫芝,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 \times 9.4 mm, i. 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 \times 2 h \times 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%)

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 (12.0 g)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 (4.2 g)经RP-18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, $R_t = 27$ min)及化合物**2** (30.0 mg, $R_t = 29$ 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, $R_t = 29$ min), **4** (1.0 mg, $R_t = 20$ min)和**5** (1.0 mg, $R_t = 18$ min)。

3 结构鉴定

化合物1 淡黄色针晶, 由 ^{13}C NMR、DEPT谱及高分辨质谱 [m/z : 443. 2438 [M-H] $^-$ (calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{O}_6$, 443. 2439)] 确定其分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{O}_6$, 计算其不饱和度为9。 [α] $_D^{24}$ -6. 8 (c 0. 42, MeOH); UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) 267 (3. 68), 221 (3. 89) nm。 ^1H NMR谱中烯区有1个质子 (δ_{H} 5. 77, s, H-22)。中场区的质子信号 (δ_{H} 4. 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 (δ_{H} 2. 15, s, H-21; δ_{H} 1. 35, s, H-19; δ_{H} 1. 22, s, H-30; δ_{H} 1. 01, s, H-28; δ_{H} 0. 93, s, H-18; δ_{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 H_3 -28, H_3 -29与C-3相关, 表明C-3位有羟基取代; H_3 -30与C-15的相关, 提示另一个羟基在C-15位。 ^{13}C 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 H_3 -21与C-20,

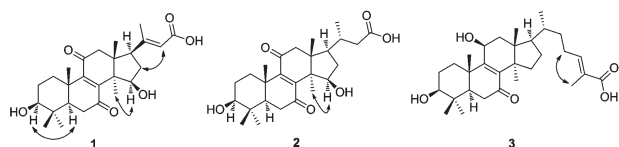


图2 化合物**1-3**的主要ROESY相关

Fig. 2 Key ROESY 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 H_3 -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 ^{13}C NMR、DEPT谱及高分辨质谱 [m/z : 445. 2595 [M-H] $^-$ (calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{O}_6$, 445. 2596)] 确定其分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{O}_6$, 计算其不饱和度为8。 [α] $_D^{24}$ + 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 -、 ^{13}C 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 ^{13}C NMR、DEPT谱及高分辨质谱 [m/z : 485. 3266 [M-H] $^-$ (calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{45}\text{O}_5$, 485. 3272)] 确定其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_5$, 计算其不饱和度为8。 [α] $_D^{24}$ + 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 H_3 -28、 H_3 -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petchinoid 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 ^{13}C NMR数据与7-oxo-ganoderic acid Z_3 (15位有

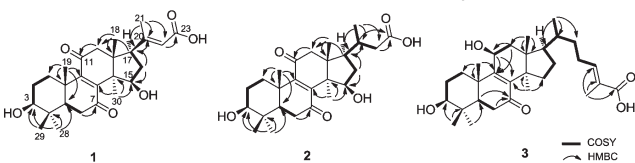


图1 化合物**1-3**的主要HMBC和COSY相关

Fig. 1 Key HMBC and COSY correlations for **1-3**

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

到H-11(δ_{H} 4.62)与C-8和C-9相关,H-12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。

表1 化合物**1**~**3**的氢谱数据(400 MHz,CD₃OD, δ_{H} in ppm,*J* in Hz)

Table 1 ¹H NMR spectral data of **1-3** (400 MHz,CD₃OD, δ_{H} in ppm,*J* in Hz)

Position	1	2	3
1	2.84 (1H,m) 1.19 (1H,dd 13.2,4.4)	2.82 (1H,m) 1.19 (1H,td-like 13.6,3.5)	2.57 (1H,overlap) 1.59 (1H,overlap)
2	1.74 (1H,m) 1.67 (1H,m)	1.77 (1H,m) 1.66 (1H,m)	1.76 (1H,overlap) 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)
5	1.57 (1H,d-like,15.1)	1.56 (1H,dd,14.9,1.6)	1.59 (1H,overlap)
6	2.70 (1H,t-like,15.1) 2.51 (1H,d-like,15.1)	2.70 (1H,t-like,15.1) 2.51 (1H,overlap)	2.57 (1H,overlap) 2.33 (1H,dd,16.8,2.9)
11			4.62 (1H,d,6.9)
12	2.97 (1H,d,14.9) 2.37 (1H,overlap)	2.91 (1H,d,15.1) 2.51 (1H,overlap)	2.20 (1H,dd-like,14.4,6.9) 1.95 (1H,d-like,14.4)
13			
15	4.55 (1H,d,7.3)	4.45 (1H,d,7.3)	2.01 (1H,overlap) 1.76 (1H,overlap)
16	2.37 (1H,overlap) 2.01 (1H,dd-like,14.6,9.6)	2.51 (1H,overlap) 1.47 (1H,dd-like,14.1,9.2)	2.01 (1H,overlap) 1.39 (1H,overlap)
17	2.84 (1H,overlap)	1.77 (1H,m)	1.45 (1H,overlap)
18	0.93 (3H,s)	1.11 (3H,s)	0.89 (3H,overlap)
19	1.35 (3H,s)	1.35 (3H,s)	1.40 (3H,s)
20		2.02 (1H,overlap)	1.45 (1H,overlap)
21	2.15 (3H,s)	1.00 (3H,s)	1.02 (3H,s)
22	5.77 (1H,s)	2.43 (1H,d,11.6) 2.02 (1H,overlap)	1.59 (1H,overlap) 1.19 (1H,overlap)
23			2.26 (1H,m) 2.13 (1H,m)
24			6.77 (1H,t,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,overlap)
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,CD₃OD) δ : 7.23 (1H,d,*J* = 2.9 Hz,H-6),7.01 (1H,dd,*J* = 8.9,2.9 Hz,H-4),6.79 (1H,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 (1H,d,*J* = 8.9 Hz,H-8),7.06 (1H,dd,*J* = 8.9,2.8 Hz,H-7),6.98 (1H,d,*J* = 2.8 Hz,H-5),6.40 (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。

表 2 化合物 1 ~ 3 的碳谱数据 (150 MHz, CD₃OD)
Table 2 ¹³C NMR spectral data of 1-3 (150 MHz, CD₃OD)

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

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, 4(1): 1-4.
- 2 Bishop KS, Kao CHJ, Xu YY, *et al.* From 2000 years of *Ganoderma 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)