

紫芝中三萜类化学成分研究

杜琳¹,刘玉容¹,叶峻¹,傅小红¹,杜伟^{2*}¹成都师范学院化学与生命科学学院,成都 611130;²郑州大学第一附属医院神经外科,郑州 450052

摘要:采用色谱法从紫芝(*Ganoderma sinense*)95%乙醇溶液中分离得到7个三萜类化合物,利用波谱学方法鉴定了它们的结构,分别鉴定为紫芝烯酸C(1)、赤芝酸A(2)、赤芝酮B(3)、灵芝烯酸B(4)、灵芝烯酸E(5)、灵芝酸H(6)和灵芝酸I(7),其中化合物1为新化合物。采用MTT法检测不同浓度化合物1对DU145细胞株、CEM细胞株及Hela细胞株细胞活力的影响,其半数抑制浓度为 $28.8 \pm 1.5 \mu\text{Mol/L}$ (Hela细胞株),说明化合物1对Hela细胞具有抑制效果。

关键词:灵芝;紫芝;紫芝烯酸C;三萜类化合物;化学成分;细胞毒活性

中图分类号:R93;Q946

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.10.002

Studies on Chemical Constituents of Triterpenoids from *Ganoderma sinense*DU Lin¹, LIU Yu-rong¹, YE Jun¹, FU Xiao-hong¹, DU Wei^{2*}¹College of Chemistry and Life Science, Chengdu Normal University, Chengdu 611130, China;²Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Abstract: Seven compounds were isolated from the 95% ethanol extract of *Ganoderma sinense*. Their structures were characterized as Ganosinensic acid C (1), Lucidenic acid A (2), Lucidone B (3), Ganoderenic acid B (4), Ganoderenic acid E (5), Ganoderic acid H (6) and Ganoderic acid I (7). Compound 1 was a new natural product by means of 2D-NMR and HR-ESI-MS experiments. MTT assays were performed to detect the viability of DU145, CEM and Hela cells by different concentrations of 1. Compound 1 showed cytotoxic activities with IC_{50} values of $28.8 \pm 1.5 \mu\text{Mol/L}$ against Hela cells.

Key words: *Ganoderma lucidum*; *ganoderma sinense*; ganosinensic acid C; triterpenoids; chemical constituents; cytotoxicity

灵芝为多孔菌科真菌赤芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. exFr.) Karst. 或紫芝 (*Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang) 的干燥子实体^[1], 是我国的大宗药材之一, 具有悠久的历史, 作为药物始载于《神农本草经》, 列为上品, 根据颜色不同, 将其分为“赤芝、黑芝、青芝、白芝、黄芝、紫芝”。

在本草考证方面, 有文献从植物的基源、功效、地理分布、形态特点方面对紫芝进行了本草考证研究, 认为紫芝 (*Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang) 又名木芝, 进一步验证紫芝与史料记载相一致, 为紫芝物种资源的鉴定提供了研究依据^[2]。国内外学者对紫芝化学成分做了大量研究, 从中分离得到的化合物 164 个, 包括三萜类、多糖类、甾体类、生物碱类、脂肪酸类、环肽及芳香族类化合物等^[3-6], 2015

年版《中国药典》灵芝项下新增了三萜和甾醇总物质含量测定^[1]。

紫芝作为传统中药, 属于六芝之一, 具有“主耳聋, 利关节, 保神益精, 坚筋骨, 好颜色。久服轻身不老延年”的功效。现代药理研究表明, 紫芝多糖作为紫芝发挥抗肿瘤与增强免疫药效的主要物质基础之一, 具有镇静、强心以及促进体内核酸与蛋白质的代谢的作用; 三萜类成分具有抑菌的作用, 但是其其他药理活性和机理尚不清楚^[2,7-9]。

本课题组为了进一步研究紫芝 (*G. sinense*) 的药用物质基础, 对 95% 乙醇提取部分的化学成分进行了系统研究, 从中分离鉴定了 7 个三萜类化合物, 包括紫芝烯酸 C(1)、赤芝酸 A(2)、赤芝酮 B(3)、灵芝烯酸 B(4)、灵芝烯酸 E(5)、灵芝酸 H(6)、灵芝酸 I(7)。其中化合物 1 为新的三萜类化合物, 命名为紫芝烯酸 C, 以及 6 个已知化合物。

收稿日期:2018-02-02 接受日期:2018-07-26

基金项目:四川省科技厅应用基础研究(面上)(2017JY0192)

* 通信作者 E-mail:duwei306@126.com

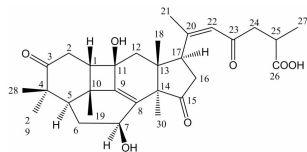


图1 化合物1 结构式

Fig. 1 Chemical structure of compound 1

1 实验材料

1.1 材料

实验所用紫芝 (*Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang) 采购于成都荷花池药材市场, 经成都中医药大学药学院吕光华研究员鉴定为紫芝 (*G. sinense*) 的子实体, 标本保存于成都师范学院化学与生命科学学院标本室。

1.2 主要仪器与试剂

Waters Vion[®] IMS QTof 型高分辨质谱仪 (waters 公司, 美国), Bruker AV 600 型核磁共振波谱仪 (TMS 为内标) (Bruker 公司, 德国), 中压制备色谱仪 (MPLC) FS-9200T (天津博纳艾杰尔科技有限公司, 中国), 检测波长 λ 为 210 nm, 半制备型高效液相色谱仪 waters 2545, 2487 检测器 (Waters 公司, 美国), 酶标仪及培养箱 (Thermo 公司, 美国), 红外光谱仪 IR200 (Thermo 公司, 美国) 细胞株 (DU145、CEM、Hela, ATCC 公司, 美国), 柱色谱硅胶、薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工), 乙腈、甲醇 (色谱纯), 其余试剂为国产分析纯。

2 提取与分离

紫芝 (*G. sinense*) 干燥子实体 2 kg, 粉碎成粗粉, 加 8 倍量 95% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次提取 2 h, 过滤后合并滤液, 减压浓缩得浸膏 160 g。取 150 g 浸膏经硅胶柱色谱, 用石油醚-乙酸乙酯体系梯度洗脱 (20:1 ~ 1:1)。通过薄层色谱合并相同部分, 得到 8 个部分 F1 ~ 8。Fr. 2 (5.3 g) 用少量乙酸乙酯溶解后, 上中压制备, 洗脱体系为石油醚-乙酸乙酯 (8:1), 流速 60 mL · min⁻¹, 检测波长 254 nm, 收集明显的色谱峰, 减压浓缩得 Fr. 2.4 (1.2 g), 取 Fr. 2.4 (1.1 g) 上半制备 HPLC, 甲醇-0.2% 甲酸水 (76:24) 为流动相, 检测波长 254 nm, 收集明显色谱峰, 减压浓缩得化合物 3 (13 mg, $t_R = 22.5$ min); Fr. 4 (15.6 g) 用少量乙酸乙酯溶解后, 上中压制备, 洗脱体系为石油醚-乙酸乙酯 (6:1), 流速 60 mL ·

min⁻¹, 检测波长 210 nm, 收集出现的两个比较明显色谱峰, Fr. 4.1 和 Fr. 4.2, 分别浓缩至干, 用少量甲醇完全溶解, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 上半制备 HPLC, 流动相甲醇-0.2% 甲酸水 (70:30), 检测波长 210 nm, 得到化合物 2 (40 mg, $t_R = 18.5$ min), 化合物 4 (20 mg, $t_R = 35.2$ min); Fr. 5 (4.0 g) 用少量乙酸乙酯溶解后上中压制备, 洗脱体系为石油醚-乙酸乙酯 (4:1), 流速 60 mL · min⁻¹, 检测波长 210 nm, 收集得到一个比较明显的色谱峰, Fr. 5.1 浓缩至干, 用少量甲醇完全溶解, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 上半制备 HPLC, 甲醇-0.2% 甲酸水 (68:32) 为流动相, 检测波长采用 210 nm, 得到化合物 1 (12 mg, $t_R = 27.3$ min); Fr. 6 (8.0 g) 用少量乙酸乙酯溶解后, 上中压制备, 洗脱体系为石油醚-乙酸乙酯 (3:1), 流速 60 mL · min⁻¹, 检测波长 210 nm, 收集明显的色谱峰得 Fr. 6.1, 将 Fr. 6.1 浓缩至干, 用少量甲醇完全溶解, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 上半制备 HPLC, 流动相流动相甲醇-0.2% 甲酸水 (32:68), 检测波长采用 210 nm, 得到化合物 5 (35 mg, $t_R = 24.5$ min), 化合物 6 (30 mg, $t_R = 30.0$ min); Fr. 6 (8.0 g) 用少量乙酸乙酯溶解后, 上中压制备, 洗脱体系为石油醚-乙酸乙酯 (2:1), 流速 60 mL · min⁻¹, 检测波长 210 nm, 收集得到一个比较明显的色谱峰, Fr. 6.1 浓缩至干, 用少量甲醇完全溶解, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 上半制备 HPLC, 流动相流动相甲醇-0.2% 甲酸水 (60:44), 检测波长采用 210 nm, 得到化合物 7 (20 mg, $t_R = 30.0$ min)。

3 结构鉴定

化合物 1 白色粉末, ESI-MS: m/z 511 [M-H]⁻, HR-ESI-MS: m/z 535.266 51 [M + Na]⁺ (计算值为 535.266 61 [M + Na]⁺), 分子式为 C₃₀H₄₀O₇。UV (MeOH) 光谱在 215 nm 处有最大吸收; $[\alpha]_D^{20} + 135.6$ (c 0.1, MeOH); IR (KBr) ν_{max} : 3346 (OH), 2987, 1715 (C=O), 1615 (共轭 C=C), 1391, 1182, 1048, 提示有羟基及共轭双键存在。喷 10% 硫酸乙醇显色剂 105 °C 加热显色, 呈紫红色, 提示该其可能为三萜类型化合物。

在 ¹H NMR (Py-d₅) 低场部分有一个烯氢信号 δ 6.38 (1H, s), 高场部分显示有 7 个甲基信号 δ 2.28 (3H, s), 1.68 (3H, s), 1.38 (3H, s), 1.36 (3H, d, $J = 7.2$ Hz), 1.34 (3H, s), 1.13 (3H, s), 1.03 (3H, s) (表 1)。¹³C NMR 显示有 30 个碳信号, 结合

DEPT 135°, 低场部分有三个酮羰基碳信号 δ 216.1, 213.1, 198.6 以及一个羧基碳信号 δ 178.2; 两个烯烃碳信号 δ 154.9, 154.6, 136.2, 125.3, 说明该化合物含有两个双键的结构单元; 一个 sp^3 杂化的连氧碳信号 δ 83.0 和一个 sp^2 杂化的次甲基碳信号 δ 67.8; 高场部分还有 5 个亚甲基碳信号、4 个次甲基碳信号、4 个季碳信号和 7 个甲基碳信号。综合该化合物的核磁数据, 发现与文献报道的 Ganosinensic acid B 相类似^[10], 变化比较大的是 C-20 (δ_c 32.6, d) 和 C-22 (δ_c 48.9, t) 向低场移动 δ_c 154.6 (s), 125.3 (d), 同时 C-23 受到双键影响向高场移动了 10.3 ppm, C-17 则向低场移动了 3.8 ppm, 其余位置核磁数据没有明显区别, 说明化合物 **1** 为 Ganosinensic acid B 的脱氢产物。在 HMBC 中 (图 3), H-1 (δ_H 2.80) 与 C-2 (δ_c 36.2), C-10 (δ_c 48.6), C-11 (δ_c 83.0), C-9 (δ_c 154.9) 具有远程相关; H-7 (δ_H 5.20) 与 C-8 (δ_c 136.2), C-9 相关; H-30 (δ_H 1.38) 与 C-8, C-13 (δ_c 47.3), C-14 (δ_c 61.5), C-15 (δ_c 213.1) 远程相关; H-21 (δ_H 2.28) 与 C-17 (δ_c 50.4), C-20 (δ_c 154.6), C-22 (δ_c 125.3) 相关; H-27 (δ_H 1.36) 与 C-25 (δ_c 35.5), C-26 (δ_c 178.2) 具有远程相关。化合物的远程相关数据进一步证明了分子结构中的四元环结构单元, 同时具有与 Ganosinensic acid B 相同的母核结构。

化合物的相对构型由 NOESY 相关数据确定 (图 2), H-1 (δ_H 2.80) 与 H₃-19 (δ_H 1.68) 相关, 而与 H-5 (δ_H 2.01)/H-7 (δ_H 5.20) 无相关, 说明 1-H, 19-H₃ 和 7-OH 为 (构型), 5-H 和 7-H 为 (构型); H-7/H₃-30 (δ_H 1.38)/H-17 (δ_H 3.25) 相关, 说明 17-H 为 (构型)。C-11 (δ_c 83.0) 及相邻位置的核磁数据与文献比较无明显差异, 提示其构型与文献报道的 Ganosinensic acid B 一致, 11-OH 为 (构型)。综上所述该化合物鉴定为紫芝烯酸 C, 经 SciFinder 系统文献检索, 未有该化合物的相关报道。

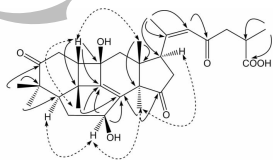


图 2 化合物 **1** 关键 HMBC (——) 和 NOESY (---) 相关

Fig. 2 Key HMBC (——) and NOESY (---) correlations of **1**

化合物 1 白色针状晶体 (甲醇-水), 易溶于甲醇、氯仿; mp. 214 ~ 216 °C; $[\alpha]_D^{20} + 135.6$ (*c* 0.1,

MeOH); IR (KBr) ν_{max} : 3 346, 2 987, 1 715, 1 615, 1 391, 1 182, 1 048; 1H NMR (C_5D_5N , 600 MHz) δ : 2.80 (1H, m, H-1), 2.48 (1H, m, H-2a), 3.03 (1H, m, H-2b), 2.01 (1H, m, H-5), 2.04 (1H, m, H-6a), 2.37 (1H, m, H-6b), 5.20 (1H, dd, *J* = 8.4, 3.8 Hz, H-7), 2.03 (1H, m, H-12a), 2.34 (1H, m, H-12b), 2.68 (1H, m, H-16a), 2.82 (1H, m, H-16b), 3.25 (1H, m, H-17), 1.34 (3H, s, H-18), 1.68 (3H, s, H-19), 2.28 (3H, s, H-21), 6.38 (1H, s, H-22), 2.64 (1H, m, H-24a), 3.20 (1H, m, H-24b), 3.31 (1H, m, H-25), 1.36 (3H, s, H-28), 1.13 (3H, s, H-29), 1.38 (3H, s, H-30); ^{13}C NMR (C_5D_5N , 150 MHz) δ : 56.9 (d, C-1), 36.2 (t, C-2), 216.1 (s, C-3), 46.6 (s, C-4), 55.3 (d, C-5), 29.6 (t, C-6), 67.8 (d, C-7), 136.2 (s, C-8), 154.9 (s, C-9), 48.6 (s, C-10), 83.0 (s, C-11), 36.5 (t, C-12), 47.3 (s, C-13), 61.5 (s, C-14), 213.1 (s, C-15), 37.1 (t, C-16), 50.4 (d, C-17), 19.1 (q, C-18), 18.4 (q, C-19), 154.6 (s, C-20), 21.8 (d, C-21), 125.3 (d, C-22), 198.6 (s, C-23), 48.2 (t, C-24), 35.5 (d, C-25), 178.2 (s, C-26), 17.6 (q, C-27), 26.9 (q, C-28), 20.4 (q, C-18); ESI-MS: *m/z* 511 [M-H]⁻, HR-ESI-MS *m/z* 535.26651 [M + Na]⁺ (计算值为 535.26661 [M + Na]⁺).

化合物 2 白色针状晶体 (甲醇-水), 易溶于甲醇、氯仿; ESI-MS: *m/z* 481 [M + Na]⁺, 457 [M-H]⁻; 1H NMR (C_5D_5N , 600 MHz) δ : 5.10 (1H, dd, *J* = 9.0, 7.2 Hz, H-7), 1.22 (3H, s, H-18), 0.97 (3H, s, H-19), 0.94 (3H, d, *J* = 8.4 Hz, H-21), 1.10 (3H, s, H-25), 1.16 (3H, s, H-26), 1.33 (3H, s, H-27); ^{13}C NMR (C_5D_5N , 150 MHz) δ : 31.6 (C-1), 34.5 (C-2), 215.7 (C-3), 46.8 (C-4), 49.0 (C-5), 28.8 (C-6), 66.2 (C-7), 159.5 (C-8), 140.8 (C-9), 38.4 (C-10), 198.2 (C-11), 50.9 (C-12), 45.2 (C-13), 59.0 (C-14), 216.7 (C-15), 41.6 (C-16), 45.4 (C-17), 18.0 (C-18), 18.2 (C-19), 36.0 (C-20), 18.0 (C-21), 31.3 (C-22), 38.4 (C-23), 176.0 (C-24), 27.0 (C-25), 20.8 (C-26), 25.0 (C-27)。以上波谱数据与文献^[9]对比基本一致, 故鉴定该化合物为赤芝酸 A。

化合物 3 白色针状晶体 (甲醇-水), 易溶于甲醇、氯仿; ESI-MS: *m/z* 423 [M + Na]⁺, 399 [M-H]⁻; 1H NMR (C_5D_5N , 600 MHz) δ : 5.22 (1H, dd, *J*

= 8.4, 6.6 Hz, H-7), 1.34 (3H, s, H-18), 1.12 (3H, s, H-19), 2.20 (3H, s, H-21), 1.15 (3H, s, H-22), 1.11 (3H, s, H-23), 1.47 (3H, s, H-24); ¹³C NMR (C₅D₅N, 150 MHz) δ: 36.0 (C-1), 34.6 (C-2), 215.8 (C-3), 45.0 (C-4), 48.9 (C-5), 31.0 (C-6), 65.8 (C-7), 159.3 (C-8), 141.2 (C-9), 38.6 (C-10), 197.3 (C-11), 49.4 (C-12), 46.7 (C-13), 58.4 (C-14), 215.7 (C-15), 36.0 (C-16), 54.4 (C-17), 18.3 (C-18), 20.8 (C-19), 206.2 (C-20), 31.0 (C-21), 27.0 (C-22), 20.0 (C-23), 25.6 (C-24)。以上波谱数据与文献^[11]对比基本一致,故鉴定化合物为赤芝酮 B。

化合物 4 白色无定型粉末 (甲醇-水); ESI-MS: *m/z* 515 [M + H]⁺, 513 [M-H]⁻; ¹H NMR (C₅D₅N, 600 MHz) δ: 1.07 (3H, s, H-18), 1.41 (3H, s, H-19), 2.26 (3H, s, H-21), 6.34 (1H, s, H-22), 1.39 (1H, d, *J* = 6.6, H-27), 1.26 (3H, s, H-28), 1.09 (3H, s, H-29), 1.47 (3H, s, H-30); ¹³C NMR (C₅D₅N, 150 MHz) δ: 35.0 (C-1), 27.8 (C-2), 76.6 (C-3), 38.5 (C-4), 49.3 (C-5), 27.4 (C-6), 65.8 (C-7), 158.2 (C-8), 141.9 (C-9), 38.4 (C-10), 198.1 (C-11), 49.1 (C-12), 45.7 (C-13), 57.4 (C-14), 214.3 (C-15), 37.8 (C-16), 48.9 (C-17), 17.8 (C-18), 18.4 (C-19), 153.5 (C-20), 20.1 (C-21), 124.5 (C-22), 197.0 (C-23), 47.5 (C-24), 34.7 (C-25), 177.4 (C-26), 16.8 (C-27), 28.0 (C-27), 15.6 (C-28), 24.3 (C-29)。以上数据与文献^[12]对比基本一致,故鉴定化合物 4 为灵芝烯酸 B。

化合物 5 白色无定型粉末 (甲醇-水); ESI-MS: *m/z* 529 [M + H]⁺, 527 [M - H]⁻; ¹H NMR (C₅D₅N, 600 MHz) δ: 5.22 (1H, dd, *J* = 8.4, 6.6 Hz, H-7), 1.10 (3H, s, H-18), 1.46 (3H, s, H-19), 2.71 (3H, s, H-21), 1.38 (1H, d, *J* = 7.8, H-27), 1.26 (3H, s, H-28), 1.17 (3H, s, H-29), 1.47 (3H, s, H-30); ¹³C NMR (C₅D₅N, 150 MHz) δ: 25.4 (C-1), 29.0 (C-2), 215.3 (C-3), 48.5 (C-4), 50.6 (C-5), 35.8 (C-6), 65.7 (C-7), 155.6 (C-8), 141.3 (C-9), 40.4 (C-10), 200.9 (C-11), 78.9 (C-12), 59.6 (C-13), 52.7 (C-14), 215.7 (C-15), 38.3 (C-16), 49.3 (C-17), 18.3 (C-18), 17.7 (C-19), 160.0 (C-20), 22.1 (C-21), 125.8 (C-22), 199.1 (C-23), 46.9 (C-24), 35.4 (C-25), 178.3

(C-26), 13.7 (C-27), 24.1 (C-28), 18.3 (C-29), 26.6 (C-30)。以上数据与文献^[13]对比基本一致,故鉴定化合物 5 为灵芝烯酸 E。

化合物 6 白色针状晶体 (甲醇-水); ESI-MS: *m/z* 573 [M + H]⁺, 571 [M-H]⁻; ¹H NMR (C₅D₅N, 600 MHz) δ: 3.40 (1H, dd, *J* = 11.2, 4.8 Hz, H-3), 1.77 (1H, dd, *J* = 13.2, 2.4 Hz, H-5), 6.07 (1H, s, H-12), 1.03 (3H, s, H-18), 1.42 (3H, s, H-19), 1.35 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-27), 1.17 (3H, s, H-28), 1.06 (1H, s, H-29), 1.95 (3H, s, H-30), 2.30 (3H, s, 12-OAc); ¹³C NMR (C₅D₅N, 150 MHz) δ: 33.6 (C-1), 28.2 (C-2), 76.7 (C-3), 39.7 (C-4), 52.0 (C-5), 37.4 (C-6), 199.3 (C-7), 152.2 (C-8), 146.4 (C-9), 41.0 (C-10), 194.8 (C-11), 79.9 (C-12), 48.4 (C-13), 59.1 (C-14), 206.3 (C-15), 38.2 (C-16), 45.2 (C-17), 12.5 (C-18), 18.2 (C-19), 29.9 (C-20), 21.3 (C-21), 48.8 (C-22), 208.6 (C-23), 47.2 (C-24), 35.7 (C-25), 178.4 (C-26), 17.7 (C-27), 20.8 (C-28), 28.3 (C-29), 16.2 (C-30), 170.3, 20.8 (12-AC)。以上数据与文献^[14]对比基本一致,故鉴定化合物 6 为灵芝酸 H。

化合物 7 白色无定型粉末 (甲醇-水); ESI-MS: *m/z* 555 [M + Na]⁺, 531 [M-H]⁻; ¹H NMR (C₅D₅N, 600 MHz) δ: 3.47 (1H, dd, *J* = 11.2, 4.8 Hz, H-3), 5.17 (1H, t, *J* = 8.4 Hz, H-7), 1.26 (3H, s, H-18), 1.46 (3H, s, H-18), 1.45 (3H, s, H-28), 1.56 (1H, s, H-21), 1.33 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-27), 1.10 (3H, s, H-29), 1.71 (3H, s, H-30); ¹³C NMR (C₅D₅N, 150 MHz) δ: 35.6 (C-1), 28.6 (C-2), 77.5 (C-3), 39.3 (C-4), 48.6 (C-5), 28.0 (C-6), 67.1 (C-7), 158.3 (C-8), 142.7 (C-9), 39.3 (C-10), 198.8 (C-11), 51.3 (C-12), 46.3 (C-13), 59.9 (C-14), 217.5 (C-15), 37.2 (C-16), 49.7 (C-17), 19.6 (C-18), 18.8 (C-19), 72.8 (C-20), 27.4 (C-21), 55.8 (C-22), 209.3 (C-23), 48.4 (C-24), 35.5 (C-25), 178.5 (C-26), 17.6 (C-27), 28.7 (C-28), 16.4 (C-29), 25.3 (C-30)。以上数据与文献^[15]对比基本一致,故鉴定化合物 7 为灵芝酸 I。

4 活性测定

采用 MTT 法评价化合物 1 在不同浓度下对 DU145 细胞株、CEM 细胞株和 HeLa 细胞株的细胞

毒活性。化合物 **1** 和对照依托泊苷 (VP-16, sigma 公司) 分别以 5 个浓度梯度 (5、10、30、50、100 $\mu\text{Mol/L}$) 加入到细胞中。37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中放置 72 h 后, 570 nm 波长测定吸光度值。采用 GraphPad Prism 软件中非线性分析计算半数抑制浓度值, 结果见表 1。

表 1 化合物 **1** 和 VP-16 的细胞毒活性

Table 1 Cytotoxicities of compound **1** and VP-16

| 化合物 Compounds | IC ₅₀ ($\mu\text{Mol/L}$) | | |
|------------------|--|----------------|----------------|
| | DU145 | CEM | Hela |
| 1 | 85.6 \pm 2.1 | 65.2 \pm 4.8 | 28.8 \pm 1.5 |
| VP-16 | 4.5 \pm 1.2 | 9.5 \pm 1.6 | 3.1 \pm 1.3 |

由表 2 可以看出, 化合物 **1** 对 DU145, CEM 和 Hela 细胞株均有一定的细胞毒活性, 其中对 Hela 细胞株的抑制率最好, 其半数抑制浓度值为 28.8 \pm 1.5 $\mu\text{Mol/L}$ 。化合物 **1** 具有新颖的结构构架, 具有一定的细胞毒活性, 为进一步阐明紫芝的药理活性和作用机理, 提供了物质基础。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol. I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 188.
- 2 Wang XY (王欣宇). Study on textual research, function of curing fractured bone and chemical composition of *Ganoderma sinense* [D]. Changchun: Jilin Agricultural University (吉林农业大学), 2016.
- 3 Bao HY (包海鹰), Wang XY (王欣宇). Studies on chemical constituents of *Ganoderma sinense* [J]. *J Fun Res* (菌物研究), 2014, 12: 187-202.
- 4 Yue W (乐巍), Wu YL (吴玉兰), et al. Chemotaxonomy of medicinal mushrooms of "Zhi" by HPLC chromatograms [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2017, 28: 374-376.

- 5 Paterson RRM. *Ganoderma* - a therapeutic fungal biofactory [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67: 1985-2001.
- 6 Chen RY (陈若芸), Yu DQ (于德泉). Progress of studies on the constituents of *Ganoderma triterpene* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1990, 25: 940-953.
- 7 Liu LY (刘莉莹). Studies on the chemical constituents and Bioactivities of the fruitingbodies of *Ganoderma theaeecolum*, *Ganoderma sessile* and *Ganoderma mastoporum* [D]. Beijing: Peking Union Medical College (中国医学科学院北京协和医学院), 2017.
- 8 Toth JO, Luu B, Guy O. Les acides ganoderiques Táz: triterpenes cytotoxiques de *Ganoderma lucidum* (Polyporacée) [J]. *Tetrahedron let*, 1983, 24: 1081-1084.
- 9 Chen XP, Chen YL, Shui B, et al. Free radical scavenging of *Ganoderma lucidum* polysaccharides and its effect on antioxidant enzymes and immunity activities in cervical carcinoma rats [J]. *Carbohydr Polym*, 2009, 77: 389-393.
- 10 Zhou FJ, Nian Y, Yan YM, et al. Two new classes of T-type-calcium channel inhibitors with new chemical scaffolds from *Ganoderma cochlear* [J]. *Org Lett*, 2015, 17: 3082-3085.
- 11 Wang CF, Liu CQ, Yan YX, et al. Three new triterpenoids containing four-membered ring from the fruiting body of *Ganoderma sinense* [J]. *Org Lett*, 2010, 12: 1656-1659.
- 12 Nishitoba T, Sato H, Kasai T, et al. New bitter C₂₇ and C₃₀ terpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum* (Reishi) [J]. *Agric Biol Chem*, 1985, 49: 1793-1798.
- 13 Nishitoba T, Sato H, Sakamura S. New Terpenoids from *Ganoderma lucidum* and their bitterness [J]. *Agric Biol Chem*, 1985, 49: 1547-1550.
- 14 Xia Q, Zhang HH, Sun XF, et al. A comprehensive review of the structure elucidation and biological activity of triterpenoids from *Ganoderma* spp. [J]. *Molecules*, 2014, 19: 17478-17535.
- 15 Komoda Y, Nakamura H, Ishihara S, et al. Structures of new terpenoid constituents of *Ganoderma lucidum* (Fr). KARST (Polyporaceae) [J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33: 4829-4835.

(上接第 1786 页)

- 11 Grothey A. Oxaliplatin-safety profile; neurotoxicity [J]. *Semin Oncol*, 2003, 30: 5-13.
- 12 Minnone G, De Benedetti F, Bracci-Laudiero L. NGF and Its receptors in the regulation of inflammatory response [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: 1028.
- 13 Richner M, Ulrichsen M, Elmegaard SL, et al. Peripheral nerve injury modulates neurotrophin signaling in the peripheral and central nervous system [J]. *Mol Neurobiol*, 2014,

50: 945-970.

- 14 ALLain P, Heudi O, CaiLLeux A, et al. Early biotransformations of oxaliplatin after its intravenous administration to cancer patients [J]. *Drug Metab Dispos*, 2000, 28: 1379-1384.
- 15 Li L (李露), Fan HY (范红艳), Dai T (戴婷), et al. Advances in pharmacological effects of Gypenosides [J]. *J Jilin Med College* (吉林医药学院学报), 2015, 36: 147-150.