

中药灵芝降羊毛甾烷三萜类成分研究

梁旭博^{1,2},王妍^{1,2},司盈盈^{1,2},赵琪璐¹,赵晨光^{1,2},杜锟^{1,2},冯卫生^{1,2*},赵珍珠^{1,2*}¹河南中医药大学药学院;²河南省中药开发工程技术研究中心,郑州 450046

摘要:研究灵芝 *Ganoderma lingzhi* 子实体的化学成分。采用正相硅胶、ODS、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱和 prep-HPLC 等方法分离与纯化,运用 NMR、MS 等波谱技术鉴定化合物结构。从灵芝 95% 乙醇提取物中分离得到 5 个降羊毛甾烷三萜类化合物,分别是 ethyl 20(21)-dehydrocucurbitate A(1)、lingzhi-20(21)-en-24-oic acid A(2)、20(21)-dehydrocucurbitic acid A(3)、赤芝酮 A(4)、lucidone H(5)。化合物 1 和 2 是两个新的降羊毛甾烷三萜化合物;化合物 3~5 为首次从该属真菌中分离得到。化合物 1 和 2 在白血病 (HL-60)、肺癌 (A549)、肝癌 (SMMC-7721)、乳腺癌 (MCF-7)、结肠癌 (SW480) 五种不同的癌细胞株上进行细胞毒活性筛选,结果显示化合物 1~5 在 40 μ M 时无明显的细胞毒活性。

关键词:灵芝;化学成分;降羊毛甾烷三萜

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)1-0001-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.1.001

Study on lanostane-type nortriterpenoids from *Ganoderma lingzhi*LIANG Xu-bo^{1,2}, WANG Yan^{1,2}, SI Ying-ying^{1,2}, ZHAO Qi-lu¹,
ZHAO Chen-guang^{1,2}, DU Kun^{1,2}, FENG Wei-sheng^{1,2*}, ZHAO Zhen-zhu^{1,2*}¹School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine;²The Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China

Abstract: To study the chemical constituents from the fruiting bodies of *Ganoderma lingzhi*, all compounds were isolated and purified by various column chromatographies, including silica gel, ODS, Sephadex LH-20 and prep-HPLC, and their structures were identified by NMR, MS and other spectroscopic techniques. Five lanostane-type nortriterpenoids were isolated from 95% ethanol extract of *G. lingzhi*, which were identified as ethyl 20(21)-dehydrocucurbitate A (1), lingzhi-20(21)-en-24-oic acid A (2), 20(21)-dehydrocucurbitic acid A (3), lucidone A (4), and lucidone H (5). Compounds 1 and 2 have not been described before, and compounds 3-5 are isolated from this fungus for the first time. Cytotoxic effects of compounds 1-5 were investigated against five regular cancer cell lines, and the results showed that none of them showed significant activity.

Key words: *Ganoderma lingzhi*; chemical constituent; lanostane-type nortriterpenoids

目前被报道的真菌约有 100 000 种,但是据估计仍有更多的真菌还未被具体鉴定种类^[1]。许多大型真菌(俗称蘑菇)是许多结构新颖和(或)活性显著的天然产物的来源,多孔菌科的灵芝便是其中一种^[2-5]。

灵芝为担子菌门多孔菌科灵芝属多种灵芝的干

燥子实体,是我国常见的药食两用的真菌,作为药物使用最早见于《神农本草经》,迄今已有上千年的用药历史^[9-11]。自 20 世纪 50 年代以来,灵芝子实体已实现了人工栽培,随着灵芝菌丝体深层发酵培养技术的发展,灵芝的研究和开发日益广泛^[11]。灵芝中的化学成分十分丰富,包含多糖、蛋白质、有机酸、小分子生物碱、倍半萜、三萜、甾体,这些化合物均表现出多种药理活性,如抗炎、抗肿瘤、抗氧化等^[6-8]。其中三萜是灵芝子实体中的主要活性次生代谢产物,具有广泛药理活性,逐步引起人们的重视^[11,12]。目前从灵芝中分离得到的三萜多为 6/6/6/5 联合的四环羊毛甾烷类,数量已超过 200 个^[5,11-13]。前期,

收稿日期:2021-08-02 接受日期:2021-11-26

基金项目:国家自然科学基金(82003607);河南中医药大学科研苗圃工程项目(MP2020-24);河南省中医药科学研究专项(20-21ZY1039);河南省高等学校重点科研项目(21A360002)

*通信作者 Tel:86-371-65801686;E-mail:fwsh@hactcm.edu.cn, zzhenzhu0921@163.com

我们从不同种类的灵芝中发现了大量新颖三萜、少量生物碱和倍半萜^[14-16]。为了进一步了解中药灵芝的药效物质基础,提高其资源综合利用效率,本文对灵芝子实体的95%乙醇部位的化学成分进行了分离纯化和结构鉴定,并测试了分离化合物的体外抗肿瘤活性,以期发现具有进一步研究价值的活性分子。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

白血病(HL-60)、肺癌(A549)、肝癌(SMMC-7721)、乳腺癌(MCF-7)、结肠癌(SW480)细胞均由中国科学院昆明植物研究所天然药物活性筛选中心提供。

柱色谱为正相硅胶(青岛海洋化工有限公司)和Sephadex LH-20凝胶(40~70 μm, Amersham Pharmacia Biotech AB, Uppsala, 瑞士);预制硅胶薄层G板(10~40 μm 青岛海洋化工厂);ODS(40~60 μm, YMC);中压制备色谱系统Sepacore X10(德国Büchi公司);1260高压制备液相色谱仪(美国安捷伦公司);AVANCE 600核磁共振仪(TMS为内标)(德国布鲁克公司);Maxis HD型飞行时间质谱仪(德国布鲁克公司);Agilent Zorbax SB-C₁₈液相色谱柱(粒径5 μm,规格9.4 mm × 150 mm);SCIEX Qtrap 5500质谱仪(美国应用生物系统公司),所用分析纯和色谱纯试剂为天津恒兴和天津四友精细化学有限公司生产。显色剂:10%浓硫酸乙醇,同时结合紫外灯(254 nm)观察。

灵芝2015年买自云南省昆明市螺蛳湾中药材市场,经北京林业大学戴玉成教授鉴定为*G. lingzhi*,标本(NO. HFC 20150518)收藏于河南中医药大学天然产物研究室。

1.2 实验方法

1.2.1 提取分离

灵芝子实体*G. lingzhi*自然晾干并称重(10.0 kg),粉碎后,95%的工业乙醇提取三次(每次浸泡3天,每次50 L)。将三次收集的乙醇液合并得含有灵芝成分的提取液,随后减压浓缩至10 L的水浓缩液。浓缩液用等体积乙酸乙酯萃取四次得到总乙酸乙酯层,减压浓缩得粗浸膏400 g。粗浸膏拌样后过正相硅胶柱,石油醚和丙酮梯度洗脱(体积比10:1洗脱10 L;5:1洗脱10 L;2:1洗脱10 L;1:1洗脱10 L),每500 mL接一瓶,减压浓缩至溶剂挥干;根据硅胶薄层层析结果合并成5个组分(A~E)。

组分C(27 g)和D(34 g)经中压色谱制备系统分别制备得到22个组分(C1~C22)和10个组分(D1~D10),洗脱剂为甲醇/水(V/V,20:80、40:60、60:40、80:20、100:0),每个梯度各冲5 000 mL,流速为35 mL/min)。

组分C17(44 mg)过甲醇凝胶柱,结合硅胶薄层层析结果合并后减压浓缩得到6个组分C17a~C17f。组分C17a经丙酮凝胶(型号LH-20)分成5个部位(C17a1~C17a5),最后化合物1(8.5 mg, $t_R = 15.0$ min)经高压制备液相色谱分离纯化得到(条件为梯度洗脱, MeCN/H₂O(V/V):45:55→65:35, 25 min, 7 mL/min)。组分D9经甲醇凝胶色谱分为6部分(D9a~D9f),接着各组分分别经丙酮凝胶处理。经高压制备液相色谱纯化,化合物2(1.3 mg, $t_R = 20.2$ min)从D9d8组分获得(条件为梯度洗脱, MeCN/H₂O(V/V):60:40→80:20, 25 min, 7 mL/min)。组分D8经甲醇凝胶得D8a~D8i组分,接着D8d经丙酮凝胶分离得6个组分(D8d1~D8d6),然后D8d2过正相色谱(洗脱剂为石油醚/丙酮,体积比为2:1,等度洗脱)得到8个组分,而化合物3(4.4 mg, $t_R = 8.8$ min)从组分D8d28制备(条件为梯度洗脱, MeCN/H₂O(V/V):28:72→53:47, 25 min, 7 mL/min)获得。组分D4经甲醇凝胶色谱分为10个组分(D4a~D4J),组分D4b经高压制备液相色谱(条件为梯度洗脱, MeCN/H₂O(V/V):25:75→50:50, 25 min, 7 mL/min)纯化获得化合物4(12.3 mg, $t_R = 11.0$ min)和化合物5(14.6 mg, $t_R = 19.0$ min)。

1.2.2 细胞毒活性筛选

MTS法检测细胞活性原理:MTS为一种全新的MTT类似物,全称为3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulphophenyl)-2H-tetrazolium,是一种黄颜色的染料。活细胞线粒体中琥珀酸脱氢酶能够代谢还原MTS,生成可溶性的甲臞(formazan)化合物,甲臞的含量可以用酶标仪在490 nm处进行测定。在通常情况下,甲臞生成量与活细胞数成正比,因此可根据光密度OD值推测出活细胞的数目。具体实验方法为:

接种细胞:用含10%胎牛血清的培养液(DMEM或者RPMI1640)配成单个细胞悬液(白血病(HL-60)、肺癌(A549)、肝癌(SMMC-7721)、乳腺癌(MCF-7)、结肠癌(SW480)),以每孔3 000~15 000个细胞接种到96孔板,每孔体积100 μL,细胞

提前 12 ~ 24 h 接种培养。加入待测化合物溶液:化合物用 DMSO 溶解,化合物以 40 μM 浓度初筛,每孔终体积 200 μL ,每种处理均设 3 个复孔。显色:37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h 后,贴壁细胞弃孔内培养液,每孔加 MTS 溶液 20 μL 和培养液 100 μL ;悬浮细胞弃 100 μL 培养上清液,每孔加 20 μL 的 MTS 溶液;设 3 个空白复孔(MTS 溶液 20 μL 和培养液 100 μL 的混合液),继续孵育 2 ~ 4 h,使反应充分进行后测定光吸

收值。比色:选择 492 nm 波长,多功能酶标仪(MULTISKAN FC)读取各孔光吸收值,记录结果,数据处理后以化合物编号为横坐标,细胞抑制率为纵坐标绘制 5 株细胞的抑制率图。

抑制率的计算公式为:

$$\text{抑制率} = (1 - OD_{\text{加药}} / OD_{\text{对照}}) \times 100\%$$

2 结果

2.1 结构鉴定

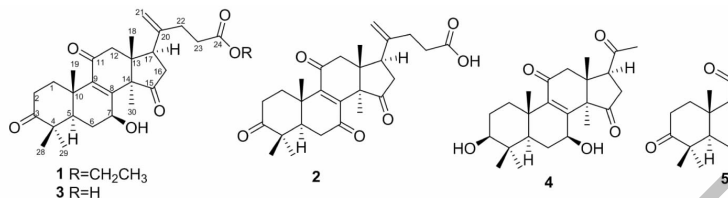


图 1 化合物 1~5 的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1-5

化合物 1 黄色油状,易溶于甲醇、氯仿; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} + 101.2$ (c 0.15, MeOH)。HR-ESI-MS 测定其准分子离子峰为 m/z 523.245 7 $[\text{M} + \text{K}]^+$ (计算值为 523.245 6),结合 ^{13}C NMR 谱图分析,确定其分子式为 $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{O}_6$,不饱和度为 10。 ^1H NMR 图谱可以明显看到 1 个乙氧基氢信号 δ_{H} 4.13 (2H, q) 和 1.26 (3H, t); 5 个甲基单峰信号 δ_{H} 0.89、1.10、1.12、1.25、1.38,一个连氧碳上的氢 δ_{H} 4.86 (1H, ddd) 以及一组烯氢信号 δ_{H} 5.00 (1H, s) 和 4.87 (1H, s) (表 1)。 ^{13}C NMR 和 DEPT 图谱显示其含有 29 个碳信号,分别归属为 6 个甲基信号 (δ_{C} 14.4、18.3、18.9、20.9、24.7、27.2), 9 个 sp^3 杂化亚甲基信号 (δ_{C} 24.7、27.8、31.7、32.9、34.4、35.7、38.8、49.2、60.8), 1 个端烯碳信号 (δ_{C} 112.3), 3 个 sp^3 杂化次甲基信号 (δ_{C} 46.3、49.0、66.4), 4 个 sp^3 杂化季碳信号 (δ_{C} 38.4、45.4、46.9、58.9), 3 个季烯碳 (δ_{C}

141.2、144.2、157.8), 以及 4 个羰基 (δ_{C} 218.0、216.8, 1 个共轭羰基 δ_{C} 197.6, 和 1 个酯羰基 δ_{C} 172.8) (表 1)。该化合物核磁数据和同时分到的已知化合物 3 (20(21)-dehydrolucidenic acid A) 的数据极其相似^[17],推断化合物 1 也是一个 C-24 降羊毛甾烷三萜(见图 1)。进一步分析 1 和 3 的核磁数据及质谱表明化合物 1 是化合物 3 的 24-COOH 的乙酯化产物,这一改变和 HMBC 相关一致(见图 2)。根据 H-5 和 H-7 的 NOE 相关(见图 2)和 H-7 的偶合裂分情况可以确定 7-OH 是 β 构型,与 20(21)-dehydrolucidenic acid A (3) 一致。因此,最终确定化合物 1 结构为 ethyl 24-nor-7 β -hydroxy-3,11,15-tri-oxo-lanosta-8,20(21)-dien-24-oate,并命名为 ethyl 20(21)-dehydrolucidenate A。化合物 1 和 2 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载 (www.trcw.ac.cn)。

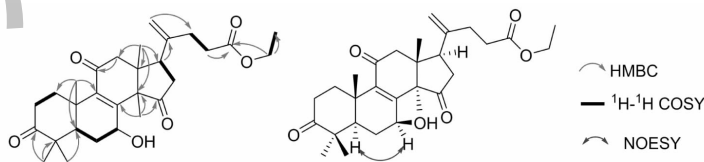


图 2 化合物 1 的结构及关键 2D NMR 相关信号

Fig. 2 The structure and key 2D NMR correlations of compound 1

化合物 2 黄色油状; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} + 54.4$ (c 0.13, MeOH)。HR-ESI-MS 测定其准分子离子峰为 m/z 477.225 0 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (计算值为 477.224 8),可知该化合物的分子式是 $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_6$,比化合物 3 少了两

个氢,说明化合物 2 可能是化合物 3 的氧化物。同时,初步分析其氢谱和碳谱数据发现,和 1、3 的骨架一样,化合物 2 也是含有 20(21) 端烯的 24 降羊毛甾烷三萜:5 个甲基单峰,8 个亚甲基(7 个 sp^3 杂化

亚甲基峰和1个端烯碳),2个 sp^3 杂化次甲基峰,12个季碳(4个 sp^3 杂化季碳,3个季烯碳,2个非共轭羰基碳,2个共轭羰基碳,和1个羧基)。结合HMBC相关分析(见图3),发现化合物**3**中的7-OH在化合物**2**中氧化成了羰基,这一改变引起了C-7/C-8/C-9化学位移值的明显改变。因此,确定化合物**2**为24-nor-3,7,11,15-tetraoxo-lanosta-8,20(21)-dien-24-oic acid,并命名为lingzhi-20(21)-en-24-oic acid A。

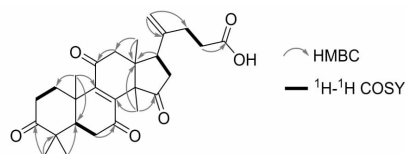


图3 化合物**2**的结构及关键2D NMR相关信号

Fig. 3 The structure and key 2D NMR correlations of compound **2**

表1 化合物**1**和**2**的 ^1H 和 ^{13}C NMR数据(600和150 MHz)

Table 1 ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data for compounds **1** and **2** (600 and 150 MHz)

Position	1 ^a		2 ^b	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	35.7, t	2.93, ddd(14.0, 7.5, 5.5); 1.48, ddd(14.0, 8.5, 8.5)	35.7, t	2.83, m; 1.85, m
2	34.4, t	2.51, overlapped; 2.49, overlapped	34.8, t	2.7, m; 2.44, overlapped
3	216.8, s	-	218.5, s	-
4	46.9, s	-	48.1, s	-
5	49.0, d	1.57, dd(8.0, 7.0)	51.7, d	2.43, overlapped
6	27.8, t	2.11, m; 1.67, m	38.1, t	2.76, overlapped; 2.39, overlapped
7	66.4, d	4.86, ddd(9.6, 7.8, 4.7)	201.4, s	-
8	157.8, s	-	148.0, s	-
9	141.2, s	-	151.5, s	-
10	38.4, s	-	40.6, s	-
11	197.6, s	-	200.8, s	-
12	49.2, t	2.81, d(16.8); 2.65, d(16.8)	48.7, t	3.12, d(15.5); 2.61, d(15.5)
13	45.4, s	-	45.6, s	-
14	58.9, s	-	58.2, s	-
15	218.0, s	-	210.1, s	-
16	38.8, t	2.60, d(9.0)	38.0, t	2.73, overlapped; 2.43, overlapped
17	46.3, d	3.01, m	45.6, d	3.28, overlapped
18	18.9, q	0.89, s	18.1, q	0.75, s
19	18.3, q	1.25, s	18.9, q	1.27, s
20	144.2, s	-	146.7, s	-
21	112.3, t	5.00, s; 4.87, s	112.4, t	5.08, s; 4.94, s
22	31.7, t	2.40, m; 2.29, m	33.7, t	2.39, overlapped; 2.28, m
23	32.9, t	2.52, overlapped	34.5, t	2.49, overlapped; 2.43, overlapped
24	172.8, s	-	178.1, s	-
28	20.9, q	1.10, s	20.6, q	1.12, s
29	27.2, q	1.12, s	27.7, q	1.14, s
30	24.7, t	1.38, s	21.2, q	1.70, s

续表 1 (Continued Tab. 1)

Position	1^a		2^b	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
24-CH ₂ CH ₃	60.8, t	4.13, q(7.0)	-	-
24-CH ₂ CH ₃	14.4, q	1.26, t(7.0)	-	-
6-OH		4.02, d(4.7)	-	-

注:^a 溶剂为 CDCl₃; ^b 溶剂为 CD₃OD。

Note: ^a Measured in CDCl₃; ^b Measured in CD₃OD.

化合物 3 白色粉末; ESI-MS: m/z 456.5, 结合¹³C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 C₂₇H₃₆O₆。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 2.87 (1H, m, H-1), 1.59 (1H, m, H-1), 2.54 (1H, m, H-2), 2.49 (1H, m, H-2), 1.75 (1H, dd, $J = 13.6, 1.1$ Hz, H-5), 2.12 (1H, dd, $J = 12.3, 8.4$ Hz, H-6), 1.61 (1H, m, H-6), 4.93 (1H, d, $J = 5.8$ Hz, H-7), 3.02 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-12), 2.57 (1H, m, H-12), 2.69 (1H, m, H-16), 2.59 (1H, m, H-16), 3.15 (1H, m, H-17), 0.90 (3H, s, H-18), 1.23 (3H, s, H-19), 5.08 (1H, s, H-21), 4.94 (1H, s, H-21), 2.43 (1H, m, H-22), 2.31 (1H, m, H-22), 2.50 (1H, m, H-23), 1.13 (3H, s, H-28), 1.09 (3H, s, H-29), 1.43 (3H, s, H-30); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 36.7 (C-1), 35.1 (C-2), 219.7 (C-3), 47.8 (C-4), 49.5 (C-5), 29.0 (C-6), 67.1 (C-7), 160.0 (C-8), 142.2 (C-9), 39.3 (C-10), 200.0 (C-11), 50.2 (C-12), 46.4 (C-13), 59.7 (C-14), 218.1 (C-15), 39.8 (C-16), 47.1 (C-17), 19.5 (C-18), 18.6 (C-19), 146.9 (C-20), 112.2 (C-21), 33.4 (C-22), 34.7 (C-23), 178.1 (C-24), 27.5 (C-28), 21.1 (C-29), 25.3 (C-30)。由 EI-MS、¹H NMR、¹³C NMR、DEPT 及 2D NMR 数据确定化合物 3 的结构, 并且数据与文献报道的 20(21)-dehydrolicudenic acid A^[17]一致。

化合物 4 针状结晶(甲醇); mp. 280 ~ 281 °C, ESI-MS: m/z 402.2, 结合¹³C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 C₂₄H₃₄O₅。¹³C NMR (150 MHz, C₅D₆N) δ : 37.1 (C-1), 29.0 (C-2), 77.9 (C-3), 39.7 (C-4), 50.0 (C-5), 28.6 (C-6), 66.9 (C-7), 158.8 (C-8), 143.2 (C-9), 39.7 (C-10), 197.8 (C-11), 50.0 (C-12), 45.7 (C-13), 58.9 (C-14), 215.2 (C-15), 35.8 (C-16), 54.6 (C-17), 19.0 (C-18), 20.0 (C-19), 206.5 (C-20), 31.4 (C-21), 29.1 (C-28), 16.8 (C-29), 25.6 (C-30)。经与文献^[18,19]对照, 鉴定化合物 4 为赤芝酮 A。

化合物 5 无色油状; ESI-MS: m/z 398.2, 结

合¹³C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 C₂₄H₃₀O₅。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 2.90 (1H, m, H-1), 1.75 (1H, m, H-1), 2.63 (1H, m, H-2), 2.48 (1H, m, H-2), 2.32 (1H, dd, $J = 15.0, 2.2$ Hz, H-5), 2.70 (1H, dd, $J = 15.0, 13.9$ Hz, H-6), 2.49 (1H, dd, $J = 13.9, 2.2$ Hz, H-6), 3.06 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-12), 2.84 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-12), 2.85 (1H, overlapped, H-16), 2.62 (1H, overlapped, H-16), 3.37 (1H, dd, $J = 8.7, 8.7$ Hz, H-17), 0.77 (3H, s, H-18), 1.27 (3H, s, H-19), 2.20 (3H, s, H-21), 1.14 (3H, s, H-28), 1.11 (3H, s, H-29), 1.69 (3H, s, H-30)。经与文献^[20]对照, 鉴定化合物 5 为 4,4,14 α -trimethyl-3,7,11,15,20-pentaoxo-5 α -pregn-8-en (即 lucidone H)。同时结合 lucidone D^[21] 和 lucidone H^[22] 的碳谱数据, 首次归属了化合物 5 的碳谱数据。¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 34.5 (C-1), 33.9 (C-2), 215.3 (C-3), 43.8 (C-4), 51.0 (C-5), 37.4 (C-6), 199.1 (C-7), 146.3 (C-8), 150.1 (C-9), 39.6 (C-10), 198.3 (C-11), 47.7 (C-12), 47.1 (C-13), 56.8 (C-14), 205.5 (C-15), 34.7 (C-16), 52.5 (C-17), 18.8 (C-18), 20.4 (C-19), 205.2 (C-20), 31.5 (C-21), 27.8 (C-28), 17.9 (C-29), 21.2 (C-30)。

2.2 体外细胞毒性筛选

对分离得到化合物 1 ~ 5 在五株常规肿瘤细胞株进行活性筛选。结果显示在 40 μ M 时, 化合物 1 ~ 5 均未表现出明显的细胞毒性。

3 结论

灵芝三萜类化合物相对分子质量一般为 400 ~ 600, 母核上常见含氧官能团, 如羟基、羧基、酮基、甲氧基、乙酰氧基等。根据骨架上碳原子数灵芝三萜可分为 C30、C27 和 C24; 依据所连接官能团和侧链结构不同, 又可分为灵芝酸类、醇类、醛类、内酯类等几大类^[11,12]。通过对灵芝 (*G. lingzhi*) 子实体进行提取分离, 共得到 5 个高氧化度的降羊毛甾烷三萜, 其中化合物 1 和 2 为新的 24-降羊毛甾烷三萜类化合物, 和化合物 3 同属于 C27 类; 化合物 4 和 5 属于

C24 类羊毛甾烷三萜。灵芝中的三萜结构复杂多样,表现出生物活性也十分丰富,尤其是抗肿瘤活性^[11,12]。因此,对化合物 **1** ~ **5** 进行了体外抗肿瘤活性筛选 (HL-60、A549、SMMC-7721、MCF-7、SW480),但均未表现出明显细胞毒活性。*G. lingzhi* 是 2012 年首次被戴玉成教授提出的灵芝新种^[23],后来被认为和 *G. sichuanense* 是同一个品种^[24],对其化学成分的报道较少^[16,25]。本文的研究为更好地开发利用灵芝属的灵芝、丰富该菌化学成分的种类和探究其有效活性成分奠定了一定的理论基础。

参考文献

- Liermann JC, Schüffler A, Wollinsky B, et al. Hirsutane-type sesquiterpenes with uncommon modifications from three basidiomycetes [J]. *J Org Chem*, 2010, 75:2955-2961.
- Zjawiony JK. Biologically active compounds from Aphyllophorales (polypore) fungi [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67:300-310.
- Yang TK, Lee YH, Paudel U, et al. Davallialactone from mushroom reduced premature senescence and inflammation on glucose oxidative stress in human diploid fibroblast cells [J]. *J Agr Food Chem*, 2013, 61:7089-7095.
- Chen HP, Zhao ZZ, Li ZH, et al. Anti-proliferative and anti-inflammatory lanostane triterpenoids from the Polish edible mushroom *Macrolepiota procera* [J]. *J Agr Food Chem*, 2018, 66:3146-3154.
- Paterson RRM. *Ganoderma*-a therapeutic fungal biofactory [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67:1985-2001.
- Jin X, Xiong C, Li P, et al. Identification, polysaccharide composition and antioxidant activity of three wild *Ganoderma* strains in Hainan Island [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2020, 32:190-199.
- Liu JQ, Wang CF, Li Y, et al. Isolation and bioactivity evaluation of terpenoids from the medicinal fungus *Ganoderma sinense* [J]. *Planta Med*, 2012, 78:368-376.
- Peng X, Qiu M. Meroterpenoids from *Ganoderma* species: a review of last five years [J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2018, 8:137-149.
- Luo Q, Yang ZL, Yan YM, et al. Ganotheaecolin A, a neurotrophic conjugated ergosterol with a naphtho 1,8-ef azulene scaffold from *Ganoderma theaecolum* [J]. *Org Lett*, 2017, 19:718-721.
- Liu JQ, Lian CL, Hu TY, et al. Two new farnesyl phenolic compounds with anti-inflammatory activities from *Ganoderma duripora* [J]. *Food Chem*, 2018, 263:155-162.
- Li GH, Li Y, Mei XL, et al. Study progress on triterpenoids in *Ganoderma lucidum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2015, 46:1858-1861.
- Rios JL, Andujar I, Recio MC, et al. Lanostanoids from fungi: a group of potential anticancer compounds [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75:2016-2044.
- Isaka M, Chinthanom P, Vichai V, et al. Ganoweberianones A and B, antimalarial lanostane dimers from cultivated fruiting bodies of the Basidiomycete *Ganoderma weberianum* [J]. *J Nat Prod*, 2020, 83:3404-3412.
- Zhao ZZ, Chen HP, Li ZH, et al. Leucocontextins A-R, lanostane-type triterpenoids from *Ganoderma leucocontextum* [J]. *Fitoterapia*, 2016, 109:91-98.
- Zhao ZZ, Chen HP, Feng T, et al. Lucidimine A-D, four new alkaloids from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2015, 17:1160-1165.
- Zhao ZZ, Liang XB, Feng WS, et al. Unusual constituents from the medicinal mushroom *Ganoderma lingzhi* [J]. *RSC Adv*, 2019, 9:36931-36939.
- Li P, Deng YP, Wei XX, et al. Triterpenoids from *Ganoderma lucidum* and their cytotoxic activities [J]. *Nat Prod Res*, 2013, 27:17-22.
- Hu LL, Ma QY, Huang SZ, et al. Study on the chemical constituents from *Ganoderma tropicum* [J]. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 2013, 23:115-119.
- Liu C, Pu QH, Wang H, et al. Chemical constituents from fruiting bodies of *Ganoderma tsugae* (II) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2007, 38:1610-1612.
- Nishitoba T, Sato H, Sakamura S. Triterpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum* [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26:1777-1784.
- Hua L, Ma Q, Huang S, et al. A new nortriterpenoid from the fruiting bodies of *Ganoderma tropicum* [J]. *Phytochemistry Lett*, 2014, 7:11-13.
- Shi, QQ, Huang YJ, Su HG, et al. Structurally diverse lanostane triterpenoids from medicinal and edible mushroom *Ganoderma resinaceum* Boud [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 100:103871.
- Cao Y, Wu SH, Dai YC. Species clarification of the prize medicinal *Ganoderma* mushroom "Lingzhi" [J]. *Fungal Divers*, 2012, 56:49-62.
- Yang ZL, Feng B. What is the Chinese "Lingzhi"? - a taxonomic mini-review [J]. *Mycology*, 2013, 4:1-4.
- Yan YM, Wang XL, Luo QL, et al. Metabolites from the mushroom *Ganoderma lingzhi* as stimulators of neural stem cell proliferation [J]. *Phytochemistry*, 2015, 114:155-162.