

# 赤芝孢子化学成分研究\*

陈若芸 王雅泓\*\* 于德泉

(中国医学科学院药物研究所, 北京 100050)

## 摘 要

从赤芝 (*Ganoderma lucidum*) 孢子脂溶部分分到六个甾体化合物, 根据化学及光谱解析等方法鉴定为麦角甾-7,22-二烯-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -三醇 (I), 麦角甾-7,22-二烯-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -三醇 (II), 麦角甾-7,9,22-三烯-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -三醇 (III), 麦角甾醇棕榈酸酯 (IV), 麦角甾-4,6,8(14),22-四烯-(3) 酮 (V), 以及麦角甾醇 (VI)。

**关键词** 赤芝; 孢子粉; 麦角甾-7,22-二烯-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$  三醇

## STUDIES ON THE CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE SPORES FROM *GANODERMA LUCIDUM*

Chen Ruo-yun, Wang Ya-hong and Yu De-quan

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050)

### Abstract

Six steroid compounds were isolated from the ethereal soluble fraction of the spores of *Ganoderma lucidum*.

Based on their chemical properties and MS, UV, IR, <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR spectral analysis, they were identified as ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol; ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -triol; ergosta-7,9,22-trien-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -triol; ergosterol palmitate; ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one and ergosterol respectively.

**Key words** *Ganoderma lucidum*; Spores; Ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol

赤芝孢子粉是灵芝属真菌赤芝 (*Ganoderma lucidum*) 成熟后的孢子体, 制成针剂治疗多种疑难病症<sup>[1,3]</sup>。曾报道从赤芝孢子粉中分离出胆碱、甜菜碱、麦角甾-7,22-二烯-3 $\beta$ -醇等成分<sup>[2]</sup>。我们对赤芝孢子粉的化学成分进行了研究。从中分到6个甾体化合物, 其中 (I), (II), (III) 是首次从灵芝属真菌中分离得到, (IV) 和 (V) 系首次从赤芝孢

本文于1988年9月收到, 1989年5月收到修改稿。

\* 本实验光谱及 X-衍射均由本所仪器分析室代测, 特此致谢。

\*\* 河南中医学院进修生。

子粉中分离得到。

**晶 I** 白色针状结晶, mp. 255—256°C, MS  $m/z$ : 430 ( $M^+$ ) 分子式  $C_{28}H_{46}O_3$ 。红外光谱表明为多羟基化合物 ( $3440, 1050\text{ cm}^{-1}$ ),  $^1\text{H}$  核磁共振谱在  $\delta$  5.26 (2H, t),  $\delta$  5.44 (1H, m) 存在三个烯质子信号,  $^{13}\text{C}$  核磁共振谱表明存在四个烯碳, 三个连氧碳, 提示该化合物有两个双键, 三个羟基。晶 I 乙酰化物的  $^1\text{H}$  核磁共振谱表示存在两个乙酰基, 红外光谱仍有羟基吸收, 表明存在二个仲羟基和一个叔羟基。对照文献 mp. 254—256°C<sup>[6,8]</sup>, 晶 I 定为麦角甾-7,22-二烯-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -三醇。**晶 II** 白色棱形结晶, mp. 235—236°C, MS  $m/z$ : 412 ( $M^+ - \text{H}_2\text{O}$ ) 分子式  $C_{28}H_{46}O_3$ 。晶 II 和晶 I 的几种光谱和化学反应都很相似。两者  $^1\text{H}$  核磁共振谱的区别仅在于晶 I  $\text{C}_6\text{-H}$  在  $\delta$  4.10,  $\text{C}_7\text{-H}$  在  $\delta$  5.44, 而晶 II  $\text{C}_6\text{-H}$  在  $\delta$  3.98,  $\text{C}_7\text{-H}$  在  $\delta$  5.0, 说明晶 II 与晶 I  $\text{C}_6$  位羟基的构型不同, 影响了  $\text{C}_6$  和  $\text{C}_7$  位 H 的化学位移。同样, 两者  $^{13}\text{C}$  核磁共振谱化学位移值也只是  $\text{C}_6$  位不同, 晶 I 在  $\delta$  74.1, 而晶 II 在  $\delta$  70.4。晶 I  $\text{C}_6$  位羟基定为  $\beta$  位, 晶 II 应为  $\alpha$  位。X-衍射证明晶 II 三个羟基的构型分别为 3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\alpha$ , 由此晶 II 定为麦角甾-7, 22-二烯-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\alpha$ -三醇<sup>[9]</sup>。**晶 III** 白色针状结晶, mp. 219—221°C,  $[\alpha]_D^{25} + 50^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ )。MS  $m/z$ : 428, 3299,  $C_{28}H_{44}O_3$  (计算值: 428.3290)。晶 III 比晶 II 少了 2 个质量数,  $^1\text{H}$  核磁共振谱在  $\delta$  5.78 多了 1 个烯 H, 而紫外吸收波长符合双烯共轭体系, 表明一个双键位置与晶 II 相同在  $\Delta^{(8)}$  位, 而另一个在  $\Delta^{(11)}$  位或  $\Delta^{14}$  位, 而文献<sup>[6]</sup>  $\Delta^{(11)}$  位 mp. 210—211°C,  $[\alpha]_D^{25} + 63^\circ$ ,  $\Delta^{14}$  位 mp. 175°C,  $[\alpha]_D^{25} - 119^\circ$ , 与之对照晶 III 应为  $\Delta^{(11)}$  位, 所以晶 III 定为麦角甾-7, 9, 22-三烯-3 $\beta$ -, 5 $\alpha$ , 6 $\alpha$ -三醇。**晶 IV** 白色片状结晶, mp. 97—98°C。MS  $m/z$ : 634 ( $M^+$ ), 分子式  $C_{44}H_{74}O_2$ 。红外光谱和质谱与文献 [4] 报道的麦角甾醇棕榈酸酯相同, 鉴定为麦角甾醇棕榈酸酯。**晶 V** 浅黄色针晶, mp. 108—109°C, MS  $m/z$ : 392 ( $M^+$ ), 分子式  $C_{28}H_{40}O$ 。紫外光谱在 270, 347 nm 有最大吸收, 说明晶 V 具有高度共轭体系。红外光谱有  $\alpha$ 、 $\beta$  不饱和羰基吸收 ( $1670, 1635\text{ cm}^{-1}$ ), 其 2, 4-二硝基苯腈衍生物与文献 [7] mp. 236—237°C 报道相一致, 确定晶 V 为麦角甾-4, 6, 8(14), 22-四烯-3 酮。**晶 VI** 白色针晶, mp. 155—158°C, 与麦角甾醇标准晶熔点相同; 红外光谱一致。

## 实 验 部 分

熔点用 Kofler 熔点仪测定, 未校正。紫外光谱用岛津 UV 240 测定。红外光谱用 Perkin-Elmer 399 仪测定, 溴化钾压片。核磁共振用 FX-90Q 仪测定, TMS 为内标,  $\text{CDCl}_3$  为溶剂。质谱用 JMS-02SB 测定。柱层析及薄层层析用硅胶系青岛海洋化工厂产品。本所实验药厂提供赤芝孢子粉脂溶部分。

### (一) 提取分离

赤芝孢子粉脂溶部分 1 kg, 以 4% KOH 水溶液 2.5 升溶解, 乙醚萃取 7 次, 合并乙醚液, 水洗至中性, 浓缩后得 152 g 为中性部分, 从中析出结晶 VI 3.2 g。碱溶液加 HCl 调 pH 至 2, 乙醚萃取 5 次, 合并醚溶液, 水洗至中性, 浓缩后得 245 g 为酸性部分。酸性部分 200 g 以 250 g 硅胶拌样, 在改良沙氏提取器中加 500 g 硅胶垫底, 上样后以石油醚、乙醚、丙酮、甲醇依次洗脱乙醚部分, 经反复硅胶柱层析及薄层制备得结晶 I 24 mg, 晶 II 17 mg, 晶 III 22 mg、中性部分 120 g 以 170 g 硅胶拌样, 在改良沙氏提取器中以

500 g 硅胶垫底, 上样后以不同溶剂依次洗脱。从石油醚洗脱部分得到晶 IV 25 mg, 石油醚-乙醚 7:3 洗脱部分经再次硅胶层析得晶 V 40 mg。

## (二) 鉴定

晶 I mp. 255—256°C,  $[\alpha]_D^{25} - 60.4^\circ$  (MeOH)。元素分析  $C_{28}H_{46}O_3 \cdot 3H_2O$ , 实验值(%): C, 72.6; H, 10.1, 计算值(%): C, 72.1; H, 10.7。MS m/z: 430 ( $M^+$ , 13), 412 ( $M^+ - H_2O$ , 61), 394 ( $M^+ - 2H_2O$ , 48), 376 ( $M^+ - 3H_2O$ , 14), 337(5), 287(5), 269(22), 251(39)。IR  $cm^{-1}$ : 3400, 1660, 1460, 1050。UV  $\lambda_{max}^{EtOH}$ : 210 nm ( $\log \epsilon$  3.79)。 $^1H$  NMR  $\delta$ : 0.6(3H, s, 18- $CH_3$ ), 0.82(3H, d, 26- $CH_3$ ), 0.88(3H, d, 27- $CH_3$ ), 0.98(3H, d, 28- $CH_3$ ), 1.10(3H, d, 21- $CH_3$ ), 1.28(3H, s, 19- $CH_3$ ), 3.7(1H, m, 3-H), 4.10(1H, m, 6-H), 5.26(2H, t,  $J = 9$  Hz, 22, 23-H), 5.44(1H, m, 7-H)。 $^{13}C$  NMR  $\delta$ : 39.9(C-1), 33.8(C-2), 67.5(C-3), 32.7(C-4), 76.0(C-5), 74.1(C-6), 120.4(C-7), 141.5(C-8), 33.3(C-9), 38.0(C-10), 22.4(C-11), 41.7(C-12), 43.7(C-13), 55.2(C-14), 23.5(C-15), 28.5(C-16), 56.2(C-17), 12.5(C-18), 17.8(C-19), 43.1(C-20), 18.7(C-21), 136.2(C-22), 132.2(C-23), 43.7(C-24), 40.8(C-25), 21.4(C-26), 20.2(C-27), 19.9(C-28)。晶 I 乙酰化, 醋酐吡啶法, 甲醇重结晶, mp. 155—156°C,  $[\alpha]_D^{25} - 118^\circ$  ( $CHCl_3$ )。MS m/z: 454 ( $M^+ - AcOH$ , 5), 436(33), 394(64), 376(100), 361(8), 251(45)。IR  $cm^{-1}$ : 3440, 1730, 1705, 1460, 1250, 1050。 $^1H$  NMR ( $CHCl_3$ ),  $\delta$ : 2.60(3H, s,  $CH_3CO$ ), 2.10(3H, s,  $CH_3CO$ ), 4.88(1H, m, 6-H), 5.1(1H, s, 3-H), 5.24(2H, m, 22, 23-H), 5.32(1H, m, 7-H)。晶 I 氧化, 铬酐-吡啶氧化法, 薄层制备纯化, 甲醇重结晶, mp. 204—205°C。MS m/z: 428 ( $M^+$ , 11), 410(26), 392(27), 377(8), 271(4), 251(4)。UV  $\lambda_{max}^{EtOH}$  nm ( $\log \epsilon$ ): 250(4.5)。IR  $cm^{-1}$ : 3440, 2950, 1670, 1620, 1240, 1050。 $^1H$  NMR  $\delta$ : 4.0(1H, m, 6-H), 5.16(2H, t,  $J = 9$  Hz, 22, 23-H), 5.6(1H, m, 7-H)。晶 I 氧化乙酰化, 晶 I 氧化物 5 mg, 以醋酐-吡啶法乙酰化。mp. 220—221°C。

晶 II mp. 235—236°C,  $[\alpha]_D^{25} + 8.4^\circ$  ( $CHCl_3$ )。元素分析  $C_{28}H_{46}O_3 \cdot \frac{1}{2} H_2O$ , 实验值(%): C, 76.8; H, 10.6。计算值(%): C, 76.5; H, 10.7。MS m/z: 412 ( $M^+ - H_2O$ , 57), 397(10), 379(22), 361(15), 341(4), 269(10), 251(30)。IR  $cm^{-1}$ : 3400, 1650, 1250, 1170, 1040。 $^1H$  NMR  $\delta$ : 0.56(3H, s, 18- $CH_3$ ), 0.82(3H, d, 26- $CH_3$ ), 0.88(3H, d, 27- $CH_3$ ), 0.96(3H, d, 28- $CH_3$ ), 1.06(3H, s, 19- $CH_3$ ), 1.28(3H, d, 21- $CH_3$ ), 3.98(2H, m, 3-H, 6-H), 5.0(1H, m, 7-H), 5.18(2H, t,  $J = 9$  Hz, 22, 23-H)。 $^{13}C$  NMR  $\delta$ : 39.6(C-1), 32.2(C-2), 66.9(C-3), 32.4(C-4), 75.7(C-5), 70.4(C-6), 121.4(C-7), 140.8(C-8), 33.2(C-9), 39.0(C-10), 21.4(C-11), 40.9(C-12), 43.6(C-13), 55.0(C-14), 23.0(C-15), 28.4(C-16), 55.9(C-17), 12.3(C-18), 17.7(C-19), 43.1(C-20), 17.8(C-21), 136.2(C-22), 132.0(C-23), 42.9(C-24), 40.7(C-25), 21.3(C-26), 20.0(C-27), 19.7(C-28)。

晶 II 乙酰化, 醋酐吡啶法进行乙酰化, mp. 178—180°C,  $[\alpha]_D^{25} + 37^\circ$  ( $CHCl_3$ )。MS m/z: 496 ( $M^+ - H_2O$ , 10), 454 ( $M^+ - AcOH$ , 26), 436 ( $M^+ - AcOH - H_2O$ , 16), 394 ( $M^+ - 2AcOH$ , 35)。 $^1H$  NMR  $\delta$ : 2.00(3H, s), 2.10(3H, s)。

晶 III mp. 219—221°C [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> + 50° (CHCl<sub>3</sub>)。由高分辨质谱确定分子式为 C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub>, MS m/z: 428.3299 (计算值 428.3290), 410(M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O, 19), 382(26)。IR cm<sup>-1</sup>: 3350, 1640, 1050。UV  $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 244(4.3), 237(4.28), 252(4.13)。<sup>1</sup>H NMR  $\delta$ : 0.57 (3H, s, 18-CH<sub>3</sub>), 0.82(3H, d, 26-CH<sub>3</sub>), 0.90(3H, d, 27-CH<sub>3</sub>) 0.98(3H, d, 28-CH<sub>3</sub>), 1.08(3H, s, 19-CH<sub>3</sub>), 1.14(3H, s, 21-CH<sub>3</sub>), 4.08(2H, m, 3-H, 6-H), 5.24 (1H, m, 7-H), 5.30(2H, d, 22, 23-H), 5.78(1H, m, 11-H)。

晶 III 乙酰化, 醋酐吡啶法进行乙酰化, mp. 170—172°C。MS m/z: 512 (M<sup>+</sup>5), 452(M<sup>+</sup> - AcOH, 10), 434(M<sup>+</sup> - AcOH - H<sub>2</sub>O, 30), 392(M<sup>+</sup> - 2AcOH, 26)。<sup>1</sup>H NMR  $\delta$ : 2.16(3H, s), 2.0(3H, s)。IR cm<sup>-1</sup>: 3450, 1725, 1705, 1650, 1250, 1025。

晶 IV mp. 97—98°C。元素分析 C<sub>44</sub>H<sub>74</sub>O<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, 实验值(%): C, 81.55; H, 11.76, 计算值(%): C, 80.96; H, 11.65。MS m/z: 634(M<sup>+</sup>, 4), 509(26), 378(100), 255(36), 241(7), 229(14)。IR cm<sup>-1</sup>: 2960, 1740, 1650, 1200, 1180。晶 IV 水解: 样品 13 mg, 加入 0.2 g KOH, 再加入 10 ml 甲醇, 加热 2 小时, 薄层上原样品点消失, 水解后的薄层斑点与麦角甾醇 Rf 值相同。晶 IV 定为麦角甾醇棕榈酸酯。

晶 V mp. 108—109, [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> + 465.5° (CHCl<sub>3</sub>)。分子式 C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>O, 实验值(%): C, 85.4; H, 10.4, 计算值(%): C, 85.7, H, 10.2。MS m/z: 392(M<sup>+</sup>, 36), 268(91), 253 (25), 240(7), 214(17), 181(7), 155(8), 128(8), 105(2)。IR cm<sup>-1</sup>: 2980, 1670, 1590, 1270, 1225, 1200。UV  $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 202(4.05), 238(3.7), 270(3.7), 280(3.8), 347 (4.3)。<sup>1</sup>H NMR  $\delta$ : 5.26(2H, t, J = 9Hz, 6-H, 7-H), 5.80 (1H, s, 4-H), 6.06 (1H, d, J = 22.5Hz, 23-H), 6.66(1H, d, J = 22.5Hz, 22-H)。

晶 V 2,4-二硝基苯腈衍生物 mp. 235—237°C。晶 V 20 mg 溶于 5 ml 甲醇; 12 mg 2,4-二硝基苯腈溶于 7 ml 甲醇, 加 2 mol/l HCl 调 pH 至 3; 将晶 V 甲醇溶液滴加于 2,4-二硝基苯腈溶液中, 有紫色沉淀出现, 过滤后甲醇-氯仿混合溶液重结晶。

晶 VI mp. 155—158°C, [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> - 101.7° (CHCl<sub>3</sub>)。元素分析 C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O ·  $\frac{1}{2}$  H<sub>2</sub>O, 实验值(%): C, 82.88; H, 11.28, 计算值(%): C, 82.96; H, 11.11。MS m/z: 396(M<sup>+</sup>)。IR 和 <sup>1</sup>H NMR 与标准麦角甾醇光谱一致, 与标准品混熔, 熔点不下降。

### 参 考 文 献

- [1] 北京友谊医院神经科, 1978: 应用灵芝制剂治疗多发性硬化 5 例。新医学副刊, 神经系统疾病, 4(2): 97。
- [2] 侯翠英、孙义廷, 1988: 灵芝(赤芝孢子粉)化学成分的研究再报。植物学报, 30: 66—70。
- [3] 富慧谔、王芷沅, 1981: 应用赤芝孢子粉制剂治疗 10 例萎缩性肌强直的临床观察。中医杂志, 22(6): 22—23。
- [4] Amolak, C. J. and S. K. Gupta, 1984: The isolation lanosta-7, 9(11), 24-trien- $\beta$ , 21-diol from the fungus *Ganoderma australe*. *Phytochemistry*, 23: 686。
- [5] Anastasia, M., A. Fiecchi and A. Scala, 1979: Permanganate oxidation of ergosterol. *J. Org. Chem.*, 44: 3657。
- [6] Francesco, C. and E. Fattorusso, 1985: 3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ , -trihydroxysterols from the mediterranean Bryozoan *Myriapora truncata*. *J. Natural Products*, 48: 944。
- [7] Schulte, K. E., G. Rücker and H. Fachmann, 1968: Ergosta- 4,6,8(14), 22-tetraenon-(3) als inhaltsstoff des Lärchenschwammes. *Tetrahedron Letter*, 46: 4763。
- [8] Valisolalao, J., B. Luu and G. Ourisson, 1983: Steroides cytotoxiques de *Polyporus versicolor*. *Tetrahedron*, 39: 2779。