

吸收峰为吡喃糖环 C-O-C 的对称振动峰。

4 种多糖的紫外光谱结果分析: 多糖 PPQ50-1、PPQ50-2、PPQ70-1 和 PPQ70-2 水溶液在 260 nm 和 280 nm 处均无紫外吸收, 表明 4 种多糖中均不含蛋白及核酸, 即它们均非糖蛋白复合物。

PPQ50-2 的 NaIO_4 氧化反应: 由于每含 1 mol (1 \rightarrow 4) 糖苷键, 在 NaIO_4 氧化中消耗 1 mol NaIO_4 , 而每 1 mol (1 \rightarrow 6) 糖苷键, 在 NaIO_4 氧化中消耗 2 mol NaIO_4 , 1 mol PPQ50-2 单糖残基消耗 1.22 mol NaIO_4 , 证明在 PPQ50-2 中既含有 (1 \rightarrow 4) 糖苷键, 又含有 (1 \rightarrow 6) 糖苷键。此外, 甲酸测定实验表明, 1 mol 单糖残基生成 0.12 mol 甲酸。

在 PPQ50-2 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱中, δ 5.02, 5.16, 5.21, 5.30 显示该多糖有 4 个异头碳上的氢质子信号, δ 3.6~4.8 则为糖基上的其他氢质子信号。

在 PPQ50-2 的 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中, δ 98.57、99.04、99.63、99.98 表示该多糖有 4 个异头碳信号, 根据文献报道^[15]可知: α -D-葡聚糖的异头碳化学位移小于 103, β -D-葡聚糖的异头碳化学位移大于 103, 故 PPQ50-2 的葡萄糖应为 α -构型。 δ 77.55、73.25、72.35 处化学位移表明葡萄糖中有未发生取代的 C-2、C-3 和 C-4, 而 δ 78~85 内有很弱的可见峰, 则表明该多糖中也存在少数在 C-2、C-3 和 C-4 位发生取代的葡萄糖残基。 δ 69 附近的化学位移表明有发生取代的 C-6, δ 58.61 和 61.03 的化学位移表明还存在未取代的 C-6, 因此可能还具有 α 分支结构。

综合以上各项分析可知, PPQ50-2 糖链的主链结构应为 α -吡喃型 D-葡聚糖。

References:

[1] Wang Y H, Liu Z S, Guan F, et al. Studies on the effect of immunization of *Panax quinquefolium* and its pharmaceutics [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中医学药刊), 2004, 22 (3): 566-567.

- [2] Wang H M, Ma L. Research progress on the effects of immunization of *Panax quinquefolium* [J]. *Chin J Food Hyg* (中国食品卫生杂志), 2002, 14(5): 43-45.
- [3] Li Y, Qu S C, Sun W J, et al. Comparison studies on the effects of rising leucocytes for the crude polysaccharides of *Panax quinquefolium* at different ethanol concentration [J]. *J Changchun Coll Tradit Chin Med* (长春中医学院学报), 1996, 12(2): 57.
- [4] Li Y, Ma X L, Qu S C, et al. Effects of CPPQ on immunologic function of immunosuppressive mice induced with cyclophosphamide [J]. *J Bethune Univ Med Sci* (白求恩医科大学学报), 1996, 22(2): 137-139.
- [5] Xie J T, Wu J A, Mehendale S, et al. Anti-hyperglycemic effect of the polysaccharides fraction from American ginseng berry extract in ob/ob mice [J]. *World Phytomed* (国外医药·植物药分册), 2004, 11: 182-187.
- [6] Yu R M, Jin Q X, Sun H, et al. The growth characteristics and ginsenosides isolation of suspension-cultured crown gall of *Panax quinquefolium* [J]. *Chin J Biotechnol* (生物工程学报), 2005, 21(5): 754-758.
- [7] Yu R M, Song Y B, Zhang H, et al. Study on the culture of crown gall from *Panax quinquefolium* and the production of its secondary metabolites - ginsenosides Re and Rg1 [J]. *Chin J Biotechnol* (生物工程学报), 2003, 19(3): 372-375.
- [8] Yu R M, Song Y B, Li X, et al. Study on effects of culture conditions of crown gall tissue from *Panax quinquefolium* on the ginsenoside Rb1 content [J]. *Pharm Biotechnol* (药物生物技术), 2002, 9(4): 216-219.
- [9] Song Y B, Xu Z X, Jin Q X, et al. Cultures of transgenic crown gall from *Panax quinquefolium* and its total ginsenosides content [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2005, 28 (3): 165-167.
- [10] Yu R M, Jin Q X, Zhao Y. Study on suspension culture and quantitative determination of total ginsenosides from the crown gall of *Panax quinquefolium* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2006, 29(7): 650-652.
- [11] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [12] Wang L, Yu R M, Zhang H, et al. Hairy-root culture of *Polygonum multiflorum* Thunb. and the production of its active constituents-anthraquinones [J]. *Chin J Biotechnol* (生物工程学报), 2002, 18(1): 69-73.
- [13] Zhang W J. *Research Techniques of Biochemistry for Saccharides Complex* (糖复合物生化研究技术) [M]. Hangzhou: Zhejiang University Press, 1994.
- [14] Fang J N. Isolation, purification, identification of purity and determination of molecular weight [J]. *Chin Pharm Bull* (药学通报), 1984, 19(10): 46-49.
- [15] Yao X S. *Natural Medicinal Chemistry* (天然药物化学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001.

松杉灵芝的化学成分研究(II)

刘超¹, 普琼惠², 王洪庆¹, 陈若芸^{1*}

(1. 中国医学科学院 中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050; 2. 武警总队医院药局, 云南 昆明 650111)

摘要:目的 研究松杉灵芝子实体的化学成分。方法 采用硅胶-凝胶色谱法进行分离纯化, 波谱法进行结构鉴定。结果 从乙醇提取物的醋酸乙酯部分分离得到 8 个三萜类化合物。结构鉴定为: 灵芝醇 A (ganoderiol A, I)、灵芝酮三醇 (ganodermanontriol, II)、灵芝三醇 (ganoderatriol, III)、灵芝酸 C (ganoderic acid C, IV)、灵芝酸 A (ganoderic acid A, V)、赤芝酮 A (lucidone A, VI)、赤芝酸 C (lucidenic acid C, VII)、赤芝酸 LM₁ (lucidenic acid LM₁,

收稿日期: 2007-02-18

作者简介: 刘超 (1979-), 理学学士, 中国医学科学院药物研究所天然产物化学研究室研究实习员。

* 通讯作者 陈若芸 Tel: (010)83161622 E-mail: ruoyunchen@hotmail.com

Ⅷ)。结论 化合物 I ~Ⅷ均为首次从松杉灵芝中分离得到。

关键词:松杉灵芝;灵芝醇 A;灵芝酮三醇;灵芝三醇;灵芝酸 C;灵芝酸 A;赤芝酮 A;赤芝酸 C;赤芝酸 LM₁

中图分类号:R284.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2007)11-1610-03

Chemical constituents from fruiting bodies of *Ganoderma tsugae* (Ⅱ)

LIU Chao¹, PU Qiong-hui², WANG Hong-qing¹, CHEN Ruo-yun¹

(1. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 2. Chinese People Armed Police General Hospital Pharmacies, Kunming 650111, China)

Abstract; Objective To study the chemical constituents from the fruiting bodies of *Ganoderma tsugae*. **Methods** To isolate the compounds by silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography and to elucidate their structures by means of spectral analyses. **Results** Eight triterpenoids were obtained from EtOAc fraction of EtOH extract and identified as ganoderiol A (I), ganodermanontriol (II), ganodermatrionol (III), ganoderic acid C (IV), ganoderic acid A (V), lucidone A (VI), lucidenic acid C (VII), and lucidenic acid LM₁(VIII). **Conclusion** Compounds I - VIII are all isolated from *G. tsugae* for the first time.

Key words: *Ganoderma tsugae* Murr.; ganoderiol A; ganodermanontriol; ganodermatrionol; ganoderic acid C; ganoderic acid A; lucidone A; lucidenic acid C; lucidenic acid LM₁

松杉灵芝 *Ganoderma tsugae* Murr. 为担子菌纲多孔菌科灵芝属真菌,分布于黑龙江、吉林、甘肃等省,民间多当灵芝入药,具有扶正固本,滋补强壮等功效。近年来有具有增强脾脏 NK 细胞活性、促血浆 IFN 因子生成及保肝、抗肿瘤和增强细胞免疫效应的相关报道^[1]。笔者已报道从松杉灵芝子实体乙醇提取物的醋酸乙酯部分分离得到的 6 个三萜类化合物^[2],分别为灵芝酸 B(ganoderic acid B)、灵芝酸 B 甲酯(methyl ganoderate B)、赤芝酸 C 甲酯(methyl lucidenate C)、赤芝酸 A(lucidenic acid A)、赤芝酸 A 甲酯(methyl lucidenate A)和灵芝酮二醇(ganodermanondiol)。现在又从该部分分离得到 8 个三萜化合物,结构鉴定为:灵芝醇 A(ganoderiol A, I)、灵芝酮三醇(ganodermanontriol, II)、灵芝三醇(ganodermatrionol, III)、灵芝酸 C(ganoderic acid C, IV)、灵芝酸 A(ganoderic acid A, V)、赤芝酮 A(lucidone A, VI)、赤芝酸 C(lucidenic acid C, VII)、赤芝酸 LM₁(lucidenic acid LM₁, VIII)。化合物 I ~Ⅷ均为首次从该真菌中分离得到。

1 仪器与材料

XT₄-100 显微熔点测定仪;IMPACT-400 傅立叶变换红外光谱仪;Autospec Ultima ETOF 质谱仪;Mercury-500 型核磁共振仪测定各相关数据。实验用硅胶为青岛海洋化工厂产品;Sephadex LH-20 为 Pharmacia 进口分装;各种溶剂均为北京化工厂产品。松杉灵芝子实体为人工栽培品种,产于福建,经中国科学院微生物研究所张小青研究员鉴定。

2 提取与分离

10 kg 松杉灵芝子实体粉碎后,用 95%乙醇回流提取 3 次,合并提取液,减压浓缩至干,得浸膏 632.3 g。混悬于水后,依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取。其中醋酸乙酯部分共 282.1 g(100~200 目硅胶 400 g 拌样,2 650 g 填柱),以氯仿-甲醇梯度洗脱,共分成 7 个部分,Ⅰ:氯仿部分 25.48 g;Ⅱ:氯仿-甲醇(95:5)162.24 g;Ⅲ:氯仿-甲醇(9:1)33.25 g;Ⅳ:氯仿-甲醇(8:2)26.70 g;Ⅴ:氯仿-甲醇(7:3)6.32 g;Ⅵ:氯仿-甲醇(1:1)1.82 g;Ⅶ:甲醇部分 3.58 g。Ⅰ和Ⅱ部分经反复硅胶和凝胶柱色谱分离,从中分离得到化合物 I ~Ⅷ。

3 结构鉴定

化合物 I:白色针晶,mp 232~234 °C。Liebermann-Burchard 反应阳性。IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 384, 2 918, 2 848, 1 622, 1 468, 1 373, 1 036。EI-MS m/z (%): 474[M⁺](30), 456[M-H₂O]⁺(5), 441[M-H₂O-Me]⁺(10), 398(95), 380(28), 311(42), 271(100), 253(82), 225(43)。¹H-NMR(C₅D₅N, 400 MHz) δ_{H} : 5.56(1H, m, H-11), 5.40(1H, d, $J=6.5$ Hz, H-7), 4.31, 4.12(各 1H, d, $J=13.5$ Hz, H-26), 4.17(1H, d, $J=12.5$ Hz, H-24), 3.47(1H, t, $J=10.0$ Hz, H-3), 1.64(3H, s, CH₃-27), 1.21(3H, s, CH₃-19), 1.13(3H, s, CH₃-31), 1.10(3H, s, CH₃-32), 0.94(3H, s, CH₃-30), 0.90(3H, d, $J=6.5$ Hz, CH₃-21), 0.66(3H, s, CH₃-18)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献报道的 lanosta-7,9(11)-diene-

3 β ,24,25,26-tetrol(即灵芝醇 A)一致^[3],因此确定化合物 I 为灵芝醇 A。

化合物 II:白色结晶,mp 168~170 °C。Liebermann-Burchard 反应阳性。¹³C-NMR数据见表 1。以上数据与文献报道的 24(S)-25,26-trihydroxy-5 α -lanosta-7,9(11)-dien-3-one(即灵芝酮三醇)一致^[4],因此确定化合物 II 为灵芝酮三醇。

化合物 III:白色结晶,mp 189~191 °C。Liebermann-Burchard 反应阳性。¹³C-NMR数据见表 1。经对比 5 α -lanosta-7,9(11),24-triene-3 β ,26,27-triol,¹³C-NMR和 DEPT 数据^[5],确定化合物 III 为灵芝三醇。

化合物 IV:白色针晶,mp 125~127 °C。Liebermann-Burchard 反应阳性。¹³C-NMR数据见表 1。IR、EI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR数据与文献报道的 7 β -hydroxy-3,11,15,23-tetraoxo-5 α -lanosta-8-en-

表 1 化合物 I~VIII的¹³C-NMR数据(CDCl₃, 100 MHz)

Table 1 ¹³C-NMR Data of compounds I - VIII (in CDCl₃, 100 MHz)

| 碳位 | I ^a | II | III | IV ^{a,b} | V ^{a,b} | VI | VI ^b | VII |
|----|----------------|-------|-------|-------------------|------------------|-------|-----------------|-------|
| 1 | 35.7 | 36.5 | 36.4 | 36.0 | 36.0 | 34.8 | 34.5 | 35.1 |
| 2 | 28.1 | 34.8 | 27.7 | 34.6 | 34.6 | 27.7 | 28.1 | 28.1 |
| 3 | 79.0 | 216.8 | 78.1 | 215.8 | 216.1 | 78.2 | 78.1 | 77.4 |
| 4 | 38.7 | 47.5 | 39.4 | 47.1 | 47.1 | 38.9 | 38.2 | 38.6 |
| 5 | 49.1 | 50.3 | 48.8 | 48.8 | 49.0 | 49.1 | 49.1 | 49.1 |
| 6 | 23.0 | 23.7 | 23.5 | 29.0 | 29.7 | 26.6 | 28.1 | 27.6 |
| 7 | 120.3 | 119.9 | 121.0 | 66.0 | 68.7 | 66.7 | 66.3 | 66.9 |
| 8 | 142.5 | 142.8 | 142.9 | 159.8 | 161.5 | 156.4 | 157.4 | 156.8 |
| 9 | 145.9 | 144.5 | 146.6 | 141.0 | 139.9 | 142.8 | 141.9 | 142.7 |
| 10 | 37.8 | 37.8 | 37.8 | 38.5 | 38.3 | 38.6 | 37.6 | 38.8 |
| 11 | 116.2 | 117.2 | 116.5 | 198.1 | 199.7 | 196.5 | 199.5 | 198.0 |
| 12 | 37.4 | 37.2 | 38.0 | 50.8 | 52.4 | 49.1 | 78.3 | 50.3 |
| 13 | 43.8 | 43.8 | 44.1 | 45.2 | 46.7 | 44.9 | 51.9 | 45.3 |
| 14 | 50.3 | 50.7 | 50.6 | 59.0 | 54.7 | 58.8 | 60.2 | 59.4 |
| 15 | 27.8 | 27.9 | 28.1 | 216.4 | 72.2 | 216.1 | 217.2 | 217.9 |
| 16 | 31.9 | 33.5 | 31.9 | 41.6 | 36.9 | 35.8 | 38.6 | 41.0 |
| 17 | 51.0 | 51.0 | 51.2 | 46.3 | 48.6 | 54.0 | 46.6 | 46.1 |
| 18 | 15.7 | 15.7 | 16.0 | 18.1 | 17.6 | 31.3 | 11.9 | 17.4 |
| 19 | 22.7 | 22.5 | 23.1 | 18.3 | 19.7 | 18.4 | 18.7 | 18.4 |
| 20 | 36.5 | 36.6 | 36.4 | 32.3 | 33.1 | 205.0 | 31.6 | 34.8 |
| 21 | 18.6 | 18.6 | 18.6 | 19.6 | 20.3 | 19.1 | 20.5 | 18.0 |
| 22 | 31.5 | 31.4 | 36.8 | 49.5 | 49.9 | | 30.4 | 30.4 |
| 23 | 28.9 | 28.9 | 24.6 | 208.6 | 208.9 | | 29.5 | 30.7 |
| 24 | 79.4 | 79.3 | 127.6 | 46.8 | 47.1 | | 177.6 | 178.1 |
| 25 | 73.8 | 73.3 | 140.8 | 35.6 | 35.6 | | | |
| 26 | 67.7 | 67.7 | 65.5 | 178.3 | 178.2 | | | |
| 27 | 21.0 | 22.0 | 58.6 | 17.6 | 17.6 | | | |
| 30 | 27.9 | 25.4 | 28.7 | 27.0 | 27.2 | 28.2 | 27.5 | 28.1 |
| 31 | 15.8 | 21.0 | 16.6 | 20.8 | 20.8 | 15.4 | 15.4 | 15.4 |
| 32 | 25.6 | 25.3 | 25.8 | 25.2 | 19.6 | 24.7 | 23.1 | 24.4 |

a) in C₅D₅N b) in 125 MHz

26-oic acid(即灵芝酸 C)一致^[6],因此确定化合物 IV

为灵芝酸 C。

化合物 V:白色针晶,mp 233~235 °C。Liebermann-Burchard 反应阳性。¹³C-NMR数据见表 1。IR、EI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR数据与文献报道的 7 β ,15 α -dihydroxy-3,11,23-trioxo-5 α -lanosta-8-en-26-oic acid(即灵芝酸 A)一致^[7],因此确定化合物 V 为灵芝酸 A。

化合物 VI:白色结晶,mp 280~281 °C。Liebermann-Burchard 反应阳性。¹³C-NMR数据见表 1。IR、EI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR数据与文献报道的 3 β ,7 β -dihydroxy-4,4,14 α -trimethyl-11,15,20-trioxo-5 α -pregn-8-en(即赤芝酮 A)一致^[8],因此确定化合物 VI 为赤芝酮 A。

化合物 VII:白色针晶,mp 199~200 °C。Liebermann-Burchard 反应阳性。¹³C-NMR数据见表 1。IR、EI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR数据与文献报道的 7 β -hydroxy-3,11,15,23-tetroxo-5 α -lanosta-8-en-26-oic acid(即赤芝酸 C)一致^[9],因此确定化合物 VII 为赤芝酸 C。

化合物 VIII:白色针晶,mp 130~131 °C。Liebermann-Burchard 反应阳性。¹³C-NMR数据见表 1。IR、EI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR数据与文献报道的 3 β ,7 β -dihydroxy-4,4,14 α -trimethyl-11,15-dioxo-5 α -chol-8-en-24-oic(即赤芝酸 LM₁)一致^[9],因此确定化合物 VIII 为赤芝酸 LM₁。

References:

- [1] Lin Z B. *Modern Research of Ganoderma* (灵芝的现代研究) [M]. Beijing: Beijing Medical University Publishing House, 2001.
- [2] Pu Q H, Chen H, Chen R Y. Study on chemical constituents from the fruit bodies of *Ganoderma tsugue* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(4): 502-504.
- [3] Wang F S, Cai H, Yang J S, et al. Studies on the triterpenoids constituents from the fruiting body of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1996, 31(3): 200-204.
- [4] Akio F, Munehisa A, Mamabu S, et al. Two new lanostanoids from *Ganoderma lucidum* [J]. *J Nat Prod*, 1986, 49(6): 1122-1125.
- [5] Munehisa A, Akio F, Manabu S, et al. Three new lanostanoids from *Ganoderma lucidum* [J]. *J Nat Prod*, 1986, 49(4): 1621-1625.
- [6] Chen R Y, Yu D Q. Studies on the triterpenoid constituents of the spores from *Ganoderma lucidum* Karst [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1991, 26(4): 267-273.
- [7] Hiroshi K, Wakako T, Kiyoe S, et al. The biologically active constituents of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. histamine release-inhibitory triterpenes [J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33(4): 1367-1374.
- [8] Tsuyoshi N, Hiroji S, Sadao S. New terpenoids from *Ganoderma lucidum* and their bitterness [J]. *Agric Biol Chem*, 1985, 49(5): 1547-1549.
- [9] Luo J, Lin Z B. A new triterpene from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2001, 36(8): 595-598.