

## 硬孔灵芝的化学成分研究

赵芬<sup>1</sup> 李晔<sup>2</sup> 刘超<sup>1</sup> 李保明<sup>1</sup> 陈若芸<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>中国医学科学院 北京协和医学院 药物研究所 中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室 北京 100050

<sup>2</sup>福建仙芝楼生物科技有限公司 福州 350002

**摘要:** 采用硅胶柱层析法进行分离纯化, 从硬孔灵芝 *Ganoderma duropora* 的氯仿萃取物中分离得到甾类化合物 8 种。根据波谱数据, 化合物 1-8 结构分别被鉴定为: 麦角甾醇、麦角甾-7, 22-二烯-3 $\beta$ -醇、麦角甾-7, 22-二烯-3-酮、6, 9-环氧麦角甾-7, 22-二烯-3 $\beta$ -醇、过氧麦角甾醇、3, 5-二羟基麦角甾-7, 22-二烯-6-酮、 $\beta$ -谷甾醇和胡萝卜苷。

**关键词:** 硅胶柱层析, 甾类化合物, 灵芝

## Chemical components from the fruiting bodies of *Ganoderma duropora*

ZHAO Fen<sup>1</sup> LI Ye<sup>2</sup> LIU Chao<sup>1</sup> LI Bao-Ming<sup>1</sup> CHEN Ruo-Yun<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Beijing 100050, China

<sup>2</sup>Fujian Xianzhilou Biological Science and Technology Co. LTD., Fuzhou 350002, China

**Abstract:** Compounds were isolated from *Ganoderma duropora* fruit-body by silica gel column chromatography. Eight sterols were obtained from CHCl<sub>3</sub> fraction of EtOH extract. Eight sterols were identified as ergosterol; ergosta-7, 22-dien-3 $\beta$ -ol; ergosta-7, 22-dien-3-one; 6, 9-epidioxyergosta-7, 22-dien-3 $\beta$ -ol; 5, 8-epidioxyergosta-6, 22-dien-3 $\beta$ -ol; 3, 5-dihydroxy-ergosta-7, 22-dien-6-one;  $\beta$ -sitosterol; daucosterol by analyses of their Electro spray ionization-mass spectrometry, Electro ionization-mass spectrometry and Neonatal mortality rate data.

**Key words:** silica gel column chromatography, sterols, *Ganoderma*

硬孔灵芝 *Ganoderma duropora* Lloyd 属于灵芝科灵芝属紫芝组真菌, 分布于我国广东、海南、广西、贵州等地区。灵芝在我国已有二千余年的药用

历史, 始载于《神农本草经》, 用其子实体, 被列为上药。古代医药学家通过临床实践认识到灵芝具有“扶正固本”作用, 能“补五脏之气”, 可用于

基金项目: 科技部基础性工作专项 (No. 2007FY130100)

\*Corresponding author. E-mail: ruoyunchen@hotmail.com

收稿日期: 2008-05-07, 接受日期: 2008-07-18

防治多种疾病。近代研究表明灵芝对治疗慢性支气管炎、哮喘、冠心病、高脂血症、神经衰弱、肝炎、白细胞减少症和辅助治疗肿瘤等有较好的疗效(林志彬 2007)。硬孔灵芝作为灵芝替代品被福建、广东等地广泛使用,经查阅文献发现除了该真菌的氨基酸成分的含量有学者分析过(陈体强等 2004),其它成分未见报道。现将人工栽培硬孔灵芝的化学成分研究报告如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

硬孔灵芝子实体为人工栽培品种,以壳斗科 Fagaceae 等灵芝适生树种的边材和棱材为栽培原材料,截段后装入菌袋,进行灭菌。将硬孔灵芝菌种接种于灭菌后的熟料菌袋中,进行菌丝培养,然后移到遮荫大棚进行栽培,栽培管理按照原木灵芝仿野生栽培法。材料产于福建,经中国科学院微生物研究所张小青副研究员鉴定,标本储存于中国科学院菌物标本馆保存。

### 1.2 试剂与仪器

熔点用 XT<sub>4</sub>-100 显微熔点测定仪(未校正)测定;质谱用 Autospec Ultima ETOF 质谱仪测定;核磁共振谱用 Mercury 500 型核磁共振仪测定;薄层色谱及柱色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品,层析所用试剂均为分析纯,均为北京化工厂生产。

### 1.3 提取分离

10kg 硬孔灵芝子实体粉碎后,用 95%乙醇加热回流提取 3 次,合并提取液,减压浓缩至干,得浸膏 356g。将其混悬于水后,依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯和正丁醇萃取。萃取液减压浓缩,得到氯仿部分 61.5g。

## 2 结果与分 析

### 2.1 提取与分离

将氯仿部位用硅胶柱分离,氯仿-甲醇梯度洗脱,得到氯仿,氯仿-甲醇 99:1, 97:3, 95:5, 9:1, 8:2, 其中前 4 个部位经反复硅胶(石油醚-丙酮、石油醚-乙酸乙酯、氯仿-甲醇、氯仿-丙酮洗脱系统)柱层析,分别得到化合物 1—8。

### 2.2 结构鉴定

化合物 1 和 2 为麦角甾-7,22-二烯-3 $\beta$ -醇(ergosta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol, 1)和麦角甾醇(ergosterol, 2)。白色针状晶体(丙酮),分子式为 C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>O (1)和 C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O (2)。mp 136—141 $^{\circ}$ C。EI-MS 显示两个

分子离子峰 398[M<sup>+</sup>, 1]和 396[M<sup>+</sup>, 2], <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) 显示 12 个甲基峰,同时 <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz) 显示两组甾醇的信号,由此推断此晶体为两种甾醇的混合物,以上数据分别与文献(刘超等 2007a)报道的一致。

化合物 3 为麦角甾-7, 22-二烯-3-酮(ergosta-7, 22-dien-3-one)。白色片状晶体(氯仿),分子式为 C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O。mp 178—180 $^{\circ}$ C。EI-MS *m/z* (%): 396[M<sup>+</sup>](60), 381[M-Me]<sup>+</sup>(12), 353[M-Me-CO]<sup>+</sup>(12), 298(30), 271(49), 269(100), 257(12), 229(13)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz)  $\delta$ : 5.19 (3H, m, H-7, 22, 23), 1.02 (3H, d, *J*=6.0Hz, CH<sub>3</sub>-21), 1.01 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 0.92 (3H, d, *J*=6.9Hz, CH<sub>3</sub>-28), 0.84 (3H, d, *J*=4.5Hz, CH<sub>3</sub>-27), 0.82 (3H, d, *J*=4.8Hz, CH<sub>3</sub>-26), 0.57 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125MHz)  $\delta$ : 212.0 (C-3), 139.5 (C-8), 135.6 (C-22), 132.0 (C-23), 117.0 (C-7), 55.9 (C-17), 55.0 (C-14), 48.9 (C-9), 44.3 (C-4), 43.3 (C-13), 42.9 (C-2), 42.8 (C-24), 40.5 (C-20), 39.3 (C-12), 38.8 (C-5), 38.1 (C-1), 34.4 (C-10), 33.1 (C-25), 30.0 (C-6), 28.1 (C-16), 22.9 (C-15), 21.7 (C-11), 21.1 (C-26), 19.9 (C-27), 19.6 (C-21), 17.6 (C-28), 12.5 (C-19), 12.1 (C-18)。以上数据与文献(刘超等 2007a)报道的一致。

化合物 4 为 6,9-环氧麦角甾-7,22-二烯-3 $\beta$ -醇(6,9-epidioxyergosta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol)。白色针状晶体(丙酮),分子式为 C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O<sub>2</sub>。mp 229—230 $^{\circ}$ C。ESI-MS (+): 413[M+H]<sup>+</sup>, 395[M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 377[M+H-2H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 400MHz)  $\delta$ : 5.73 (1H, d, *J*=4.8Hz, H-7), 5.24 (1H, dd, *J*=15.2, 7.6Hz, H-23), 5.17 (1H, dd, *J*=15.2, 7.6Hz, H-22), 4.82 (1H, m, H-6), 4.31 (1H, d, 4.4Hz, H-3), 1.53 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 1.06 (3H, d, *J*=6.4Hz, CH<sub>3</sub>-21), 0.95 (3H, d, *J*=6.8Hz, CH<sub>3</sub>-28), 0.86 (3H, d, *J*=6.4Hz, CH<sub>3</sub>-27), 0.84 (3H, d, *J*=6.4Hz, CH<sub>3</sub>-26), 0.66 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18)。<sup>13</sup>C-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 100MHz)  $\delta$ : 141.5 (C-8), 136.2 (C-22), 132.1 (C-23), 120.5 (C-7), 76.1 (C-9), 74.2 (C-6), 67.6 (C-3), 56.1 (C-17), 55.2 (C-14), 43.7 (C-13), 43.7 (C-10), 43.0 (C-24), 42.0 (C-20), 40.9 (C-12), 39.9 (C-4), 38.1 (C-5), 33.8 (C-25), 33.3 (C-1), 32.6 (C-2), 28.5 (C-16), 23.5 (C-11), 22.4 (C-15), 21.4 (C-21), 20.1 (C-26), 19.8 (C-27), 18.8 (C-19), 17.8 (C-28), 12.5 (C-18)。以上数据与文献(刘

超等 2007a) 报道的一致。

化合物 5 为过氧麦角甾醇 (5,8-epidioxiergosta-6,22-dien-3 $\beta$ -ol)。白色针状晶体 (丙酮), 分子式为 C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub>。mp 186—187°C。EI-MS *m/z*(%): 428[M<sup>+</sup>] (3), 410[M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>(6), 396[M-O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>(100), 363(51), 337(21), 253(18), 251(20)。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz)  $\delta$ : 6.50 (1H, d, *J*=8.7Hz, H-7), 6.24 (1H, d, *J*=8.4Hz, H-6), 5.22 (1H, dd, *J*=15.3, 7.5 Hz, H-22), 5.13 (1H, dd, *J*=15.3, 7.5Hz, H-23), 3.97 (1H, m, H-3), 0.99 (3H, d, *J*=6.6Hz, CH<sub>3</sub>-21), 0.90 (3H, d, *J*=6.9Hz, CH<sub>3</sub>-28), 0.88 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 0.83 (3H, d, 5.1Hz, CH<sub>3</sub>-27, 27), 0.82 (3H, d, 3.0Hz, CH<sub>3</sub>-26), 0.80 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75MHz)  $\delta$ : 135.4 (C-22), 135.2 (C-7), 132.3 (C-23), 130.7 (C-6), 82.1 (C-8), 79.4 (C-5), 66.4 (C-3), 56.2 (C-17), 51.6 (C-9), 51.0 (C-4), 44.5 (C-13), 42.7 (C-24), 39.7 (C-20), 39.3 (C-12), 36.9 (C-1), 36.9 (C-14), 34.7 (C-10), 33.0 (C-25), 30.1 (C-2), 28.6 (C-16), 23.4 (C-15), 20.8 (C-11), 20.6 (C-26), 19.9 (C-27), 19.6 (C-21), 18.1 (C-19), 17.5 (C-28), 12.8 (C-18)。以上数据与文献 (刘超等 2007a) 报道的一致。

化合物 6 为 3,5-二羟基麦角甾-7,22-二烯-6-酮 (3,5-dihydroxyergosta-7,22-dien-6-one)。无定形粉末, 分子式为 C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600MHz)  $\delta$ : 5.65 (1H, s, H-7), 5.24 (1H, dd, H-23), 5.16 (1H, dd, H-22), 4.03 (1H, m, H-3), 1.04 (3H, d, *J*=6.6Hz, CH<sub>3</sub>-21), 0.95 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 0.92 (3H, d, *J*=6.6Hz, CH<sub>3</sub>-28), 0.84 (3H, d, *J*=7.2Hz, CH<sub>3</sub>-27), 0.82 (3H, d, *J*=6.6Hz, CH<sub>3</sub>-26), 0.61 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125MHz)  $\delta$ : 198.2 (C-6), 165.2 (C-7), 135.0 (C-22), 132.5 (C-23), 119.7 (C-8), 77.8 (C-5), 67.5 (C-3), 56.0 (C-17), 55.8 (C-14), 44.8 (C-9), 43.9 (C-13), 42.8 (C-24), 40.4 (C-20), 40.3 (C-12), 38.8 (C-4), 36.5 (C-10), 33.1 (C-25), 30.4 (C-1), 30.2 (C-2), 27.8 (C-16), 22.5 (C-15), 22.0 (C-11), 21.1 (C-21), 19.9 (C-26), 19.6 (C-27), 17.6 (C-28), 16.4 (C-19)。以上数据与文献 (刘超等 2007a) 报道的一致。

化合物 7 为  $\beta$ -谷甾醇。白色片晶 (氯仿), 分子式为 C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O。mp 136—137°C。薄层检识在不同的溶剂系统下展开, 再经磷钼酸显色, 与  $\beta$ -谷甾醇对照品在相同位置出现相同斑点。另外混合熔点不下降, 故确定此化合物为  $\beta$ -谷甾醇。

化合物 8 为胡萝卜苷。白色无定形粉末, 分子式为 C<sub>35</sub>H<sub>60</sub>O<sub>6</sub>。mp 295—297°C, 与胡萝卜苷对照品混合熔点不下降, TLC 的 R<sub>f</sub> 值与对照品一致。

### 3 讨论

本实验发现硬孔灵芝的化学成分以甾醇类为主, 紫芝 *Ganoderma sinense* 的主要化学成分也是甾醇类 (刘超等 2007b), 而灵芝 *Ganoderma lucidum* 的主要化学成分除了甾醇外, 更多的是三萜类化合物。与灵芝同属于灵芝组的松杉灵芝 *Ganoderma tsugae* (刘超等 2007a) 也报道存在甾醇和三萜类化合物, 所以硬孔灵芝与紫芝的化学成分类似而与赤芝和松杉灵芝的化学成分有很大的差别, 这在分类学上有很大的意义。

另外, 我们还发现紫芝和硬孔灵芝都存在着相似的其他化学成分 (另文发表), 这使得我们对该真菌有了更加系统的认识, 对于药用灵芝的进一步开发和利用也有重要的意义。

### [REFERENCES]

- Chen TQ, Xu J, Wu JZ, 2004. Analysis and comparison of amino acids in the fruitbody of wild and log-cultivated linzhi in Fujian. *Strait Pharmaceutical Journal*, **16**(5): 1-4 (in Chinese)
- Ishizuka T, Yaoita Y, Kikuchi M, 1997. Sterol constituents from the fruit bodies of *Grifola frondosa* (Fr.) S.F. Gray. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **45**(11): 1756-1760
- Lin ZB, 2007. Modern research of *Ganoderma*. The third edition. Peking University Medical Press, Beijing. 315-316 (in Chinese)
- Liu C, Pu QH, Wang HQ, Chen RY, 2007a. Chemical constituents from fruiting bodies of *Ganoderma tsugae* (II). *Chinese Traditional and Herbal Drug*, **38**(11): 1610-1612 (in Chinese)
- Liu C, Wang HQ, Li BM, Chen RY, 2007b. Studies on chemical constituents from the fruiting bodies of *Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang. *China Journal of Chinese Materia Medica*, **32**(3): 235-237 (in Chinese)

### [附中文参考文献]

- 陈体强, 徐洁, 吴锦忠, 2004. 福建省常见灵芝的氨基酸分析比较. *海峡药学*, **16**(5): 1-4
- 林志彬, 2007. 灵芝的现代研究. 第三版. 北京: 北京大学医学出版社. 315-316
- 刘超, 王洪庆, 李保明, 陈若芸, 2007a. 紫芝的化学成分研究. *中国中药杂志*, **32**(3): 235-237
- 刘超, 普琼惠, 王洪庆, 陈若芸, 2007b. 松杉灵芝的化学成分研究. *中草药*, **38**(11): 1610-1612