

紫芝中的一个新甾醇

刘超,陈若芸* (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)

摘要:目的 研究紫芝 *Ganoderma sinense* 子实体的化学成分。方法 通过反复硅胶柱色谱进行分离纯化,利用多种波谱技术鉴定化合物的结构。结果 分离鉴定了 5 个化合物,分别为:麦角甾-7,22-二烯-2,4-二醇(ergosta-7,22-dien-2,4-diol,1)、麦角甾-7,22-二烯-2,3,9-三醇(ergosta-7,22-dien-2,3,9-triol,2)、麦角甾-7,22-二烯-3,5,6,9-四醇(ergosta-7,22-dien-3,5,6,9-tetraol,3)、麦角甾-7,22-二烯-3-棕榈酸酯(ergosta-7,22-dien-3-yl palmitate,4)、5-羧基糠醛(5-formylfuran-2-carboxylic acid,5)。**结论** 化合物 1 为新化合物,其余化合物均为首次从紫芝中分离得到。

关键词:紫芝;甾醇;麦角甾-7,22-二烯-2,4-二醇

中图分类号:R284 文献标识码:A 文章编号:1001-2494(2010)06-0413-03

A New Sterol from the Fruiting Bodies of *Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang

LIU Chao, CHEN Ruo-yun* (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)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the chemical constituents from the fruiting bodies of *Ganoderma sinense*. **METHODS** Individual constituents were isolated and repeatedly purified on silica gel column chromatography, identified by physicochemical constants and structurally elucidated by spectral methods. **RESULTS** Five compounds were isolated and identified as: ergosta-7,22-dien-2,4-diol (1), ergosta-7,22-dien-2,3,9-triol (2), ergosta-7,22-dien-3,5,6,9-tetraol (3), ergosta-7,22-dien-3-yl palmitate (4) and 5-formylfuran-2-carboxylic acid (5). **CONCLUSION** Compound 1 is a new compound, the others are isolated from *G. sinense* for the first time.

KEY WORDS: *Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang; sterols; ergosta-7,22-dien-2,4-diol

紫芝 (*Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang) 为层菌纲非褶菌目灵芝科灵芝属真菌,其甘、温、无毒,具有滋补强壮、增强机体免疫力的作用^[1]。2005年版《中国药典》将紫芝和赤芝 (*Ganoderma lucidum*) 的干燥子实体共同定为灵芝的药用正品^[2]。之前我们报道了从紫芝子实体乙醇提取物的氯仿部分分离得到的 8 个化合物^[3]。本实验继续报道从氯仿和乙酸乙酯部分得到的 5 个化合物,其中包括 1 个新甾醇类化合物,3 个已知甾醇类化合物和 1 个糠醛类化合物。

1 仪器与材料

XT4-100 显微熔点测定仪(未校正);Autospec Ultima ETOF 质谱仪;MERCURY 300、400、NOVA 500 型核磁共振仪(TMS 内标)。

紫芝子实体为栽培品种(广东粤微食用菌技术

有限公司),产于安徽大别山,经广东省微生物分析检测中心于舒宁工程师鉴定为紫芝 (*Ganoderma sinense* Zhao, Xu et Zhang);硅胶(青岛海洋化工厂),Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司),实验用试剂均为 AR 级。

2 提取与分离

10 kg 紫芝子实体粉碎后,用体积分数 95% 乙醇加热回流提取 3 次,合并提取液,减压回收溶剂,得浸膏 420 g。将其混悬于水后,依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取。氯仿部分共 80 g,经硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇系统梯度洗脱,得到氯仿、氯仿-甲醇(95:5,9:1,8:2,7:3,6:4,1:1)共 7 个部分,其中氯仿-甲醇(8:2)部分(11.8 g)再经反复硅胶柱色谱(石油醚-丙酮系统或氯仿-丙酮系统洗脱),分别得到化合物 1(4 mg)、2(6 mg)和 4(36

基金项目:科技部基金资助项目(2007Fy130100)

作者简介:刘超,男,硕士,助理研究员 研究方向:天然产物化学研究
Tel: (010) 83161622 E-mail: ryeh@imm.ac.cn

*通讯作者:陈若芸,女,研究员,教授 研究方向:天然产物化

mg)。乙酸乙酯部分共 25 g,经硅胶柱色谱分离,石油醚-丙酮系统梯度洗脱,得到 5, 1, 4, 1, 3, 1, 2, 1, 1, 1 共 5 个部分,其中石油醚-丙酮 (4:1) 部分 (3.1 g),石油醚-丙酮 (3:1) 部分 (1.9 g) 和石油醚-丙酮 (2:1) 部分 (1.8 g),再经反复硅胶柱色谱(氯仿-丙酮系统或氯仿-甲醇系统洗脱),分别得到化合物 3 (5 mg) 和 5 (42 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末(丙酮), mp 245 ~ 247 °C, $[\alpha]_D^{20} - 23.4$ (CHCl₃, c = 0.06)。IR 显示羟基 (3 329 cm⁻¹) 和烯键 (1 657 cm⁻¹) 的存在。UV 只显示有末端吸收 (λ_{max} 207.9 nm), 说明无共轭基团存在。HREMS 给出分子离子峰 $[M]^+ m/z$: 414.347 1 (计算值为 414.349 8), 结合 ¹H-, ¹³C-NMR 确定分子式为 C₂₈H₄₆O₂, 不饱和度为 6。

¹H-NMR 谱 (C₅D₅N, 500 MHz) 显示了 6 个甲基的氢信号: 1.07 (3H, d, J = 6.5 Hz), 0.97 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.92 (3H, s), 0.87 (3H, d, J = 6.5 Hz), 0.87 (3H, d, J = 6.5 Hz), 0.60 (3H, s); 2 个连氧碳上的偕氢信号: 3.82 (1H, m), 3.75 (1H, m) 和 3 个烯氢信号: 5.35 (1H, m), 5.28 (1H, dd, J = 15.5, 7.0 Hz), 5.27 (1H, dd, J = 15.5, 8.5 Hz)。¹³C-NMR 共给出 28 个碳信号, 包括 6 个甲基碳信号: 21.4, 20.1, 19.8, 17.8, 14.9, 12.3; 4 个烯碳信号: 139.3, 136.2, 132.1, 118.2 以及 2 个连氧碳信号: 76.8, 76.3。上述数据特征与我们曾得到的麦角甾-7, 22-二烯-3-醇 (ergosta-7, 22-dien-3-ol)^[3] 较为接近, 尤其是侧链和 C、D 环上的碳原子的化学位移完全一致, 说明化合物 1 也是麦角甾类的甾体化合物。两者不同之处在于化合物 1 多了一个连氧碳信号, 而且 19 位的甲基碳信号也向低场位移了近 2。

仔细比对文献^[3-5], 结合 CH₃-19 发生的位移和 HSQC 和 HMBC 谱, 推断与 76.8 相连的碳上的偕氢信号 3.75 (1H, m) 为 4 位质子, 与 76.3 相连的碳上的偕氢信号 3.82 (1H, m) 为 2 位质子, 即化合物 1 在 2 位和 4 位上有两个羟基取代。以上推断从 HMBC 中 H-1 (1.79 ~ 1.77) 和 C-2 (76.3), C-5 (47.7), C-10 (36.3); H-2 (3.82) 和 C-4 (76.8); H-3 (2.10) 和 C-4; H-3 (1.79 ~ 1.77) 和 C-2, C-5; H-4 和 C-2, C-5, C-6 (26.2); H-5 (1.61) 和 C-4, C-6, C-9 (50.1), C-10, CH₃-19 (14.9); CH₃-19 (0.92) 和 C-1 (37.2), C-5, C-9, C-10 的远程相关得到了证实。

通过 NOESY (1D) 实验确定了 2, 4 位羟基的相对构型。当照射 CH₃-19 时, H-4, CH₃-18 有增益, H-2 没有增益; 当照射 H-4 时, CH₃-19 有增益, 说明 H-4 与 CH₃-19 在空间上接近, 故 4-OH 应为 α 构型。当照射 H-2 时, H-5 有增益, CH₃-19 没有增益, 说明 H-2 与 H-5 在空间上接近, 因此 2-OH 为 β 构型。

至此, 确定化合物 1 的结构见图 1, 结合 DEPT, HSQC 和 HMBC 谱对各碳氢信号进行了归属, 鉴定为麦角甾-7, 22-二烯-2, 4-二醇 (ergosta-7, 22-dien-2, 4-diol), 为一新化合物。

UV λ_{max} 207.9 nm (MeOH)。IR (显微镜透射法) λ_{max} cm⁻¹: 3 549, 3 329, 2 951, 2 872, 1 657, 1 458, 1 068, 1 049, 968。HREMS m/z : 414.347 1 ($[M]^+$, 计算值为 414.349 8), 确定分子式为 C₂₈H₄₆O₂。¹H-NMR (C₅D₅N, 500 MHz): 5.35 (1H, m, H-7), 5.28 (1H, dd, J = 15.5, 7.0 Hz, H-23), 5.27 (1H, dd, J = 15.5, 8.5 Hz, H-22), 3.82 (1H, m, H-2), 3.75 (1H, m, H-4), 1.07 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-21), 0.97 (3H, d, J = 7.0 Hz, H-28), 0.92 (3H, s, H-19), 0.87 (6H, d, J = 6.5 Hz, H-26, 27), 0.60 (3H, s, H-18)。¹³C-NMR (C₅D₅N, 125 MHz): 139.3 (C-8), 136.2 (C-22), 132.1 (C-23), 118.2 (C-7), 76.8 (C-4), 76.3 (C-2), 56.1 (C-17), 50.1 (C-9), 47.7 (C-5), 43.5 (C-13), 43.1 (C-24), 40.9 (C-20), 39.6 (C-12), 37.2 (C-1), 36.3 (C-10), 33.3 (C-25), 29.8 (C-3), 28.6 (C-16), 26.2 (C-2), 23.3 (C-15), 21.6 (C-11), 21.4 (C-21), 20.1 (C-26), 19.8 (C-27), 17.8 (C-28), 14.9 (C-19), 12.4 (C-21), 12.3 (C-18)。

化合物 2: 白色针状晶体(丙酮), mp 198 ~ 199 °C。ES/MS (+) m/z : 509 $[M + Na]^+$ 。¹H-NMR (C₅D₅N, 300 MHz): 5.75 ~ 5.73 (1H, m, H-7), 5.28 ~ 5.13 (2H, m, H-22, 23), 4.83 ~ 4.82 (1H, m, H-3), 4.32 (1H, m, H-2), 1.53 (3H, s, H-19), 1.05

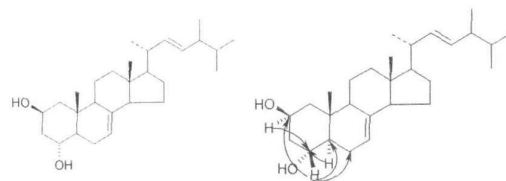


图 1 化合物 1 结构图和 HMBC 相关图

Fig. 1 Structures and partial key collections compound 1

(3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-24), 0.94 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 0.85 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-26), 0.84 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-27), 0.65 (3H, s, H-18)。 $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) : 141.6 (C-8), 136.2 (C-22), 132.1 (C-23), 120.5 (C-7), 76.1 (C-9), 74.3 (C-2), 67.6 (C-3), 56.1 (C-17), 55.3 (C-14), 43.8 (C-1), 43.8 (C-13), 43.1 (C-24), 42.0 (C-5), 40.0 (C-20), 39.9 (C-12), 38.1 (C-10), 33.8 (C-25), 33.3 (C-4), 32.7 (C-6), 28.5 (C-16), 23.5 (C-11), 22.4 (C-15), 21.4 (C-26), 20.4 (C-27), 19.8 (C-21), 18.8 (C-19), 17.8 (C-28), 12.5 (C-18)。以上数据与文献^[6]报道的麦角甾-7, 22-二烯-2, 3, 9-三醇 (ergosta-7, 22-dien-2, 3, 9-triol)一致。

化合物 3: 白色粉末 (丙酮)。mp 221 ~ 222。ESIMS(+) m/z 469 [M + Na]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 MHz) : 5.82 (1H, dd, $J = 5.1, 2.4$ Hz, H-7), 5.28 ~ 5.13 (2H, m, H-22, 23), 4.82 (1H, m, H-3), 4.44 (1H, m, H-6), 1.60 (3H, s, H-19), 1.06 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-21), 0.94 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-28), 0.85 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-27), 0.84 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-26), 0.70 (3H, s, H-18)。 $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) : 143.0 (C-8), 136.2 (C-22), 132.1 (C-23), 121.3 (C-7), 78.7 (C-9), 75.0 (C-5), 73.8 (C-6), 67.4 (C-3), 56.2 (C-17), 51.3 (C-14), 44.2 (C-13), 43.1 (C-24), 42.1 (C-4), 41.3 (C-10), 40.9 (C-20), 35.9 (C-12), 33.3 (C-25), 32.5 (C-2), 29.1 (C-1), 28.6 (C-11), 28.3 (C-16), 23.5 (C-15), 22.5 (C-19), 21.4 (C-26), 20.4 (C-27), 19.8 (C-21), 17.9 (C-28), 12.1 (C-18)。以上数据与文献^[7]报道的麦角甾-7, 22-二烯-3, 5, 6, 9-四醇 (ergosta-7, 22-dien-3, 5, 6, 9-tetraol)一致。

化合物 4: 白色粉末 (丙酮)。mp 92 ~ 94。ESIMS(+) m/z 659 [M + Na]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) : 5.24 ~ 5.17 (3H, m, H-7, 22, 23), 4.73 ~ 4.69 (1H, m, H-3), 1.29 ~ 1.25 (brs, 棕榈酸的多个 CH_2), 1.02 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-21), 0.91 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-28), 0.88 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, 棕榈酸的 CH_3), 0.84 (3H, s, H-19), 0.82 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-27), 0.85 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-26), 0.54 (3H, s, H-18)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 ,

100 MHz) : 139.5 (C-8), 135.7 (C-22), 131.9 (C-23), 117.3 (C-7), 75.1 (C-3), 55.9 (C-17), 55.1 (C-14), 49.3 (C-9), 42.8 (C-13), 42.8 (C-24), 40.5 (C-20), 40.1 (C-5), 39.4 (C-12), 36.9 (C-1), 34.8 (C-4), 34.2 (C-10), 33.1 (C-25), 29.5 (C-6), 28.1 (C-16), 27.5 (C-2), 22.9 (C-15), 21.5 (C-11), 21.1 (C-26), 20.0 (C-27), 19.6 (C-21), 17.6 (C-28), 13.0 (C-19), 12.1 (C-18)。棕榈酸上的碳信号 : 173.5, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.1, 25.1, 22.7, 14.1。以上数据与文献^[8]报道的麦角甾-7, 22-二烯-3-棕榈酸酯 (ergosta-7, 22-dien-3-yl palmitate)一致。

化合物 5: 棕色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 MHz) : 11.84 (1H, brs, COOH), 8.71 (1H, s, CHO), 7.50 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-3), 6.90 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-4)。以上数据与文献^[9]报道的 5-羧基糠醛 (5-formylfuran-2-carboxylic acid)相同。

REFERENCES

- [1] LN ZB. *The Modern Research of Ganoderma* (灵芝的现代研究) [M]. 3rd ed Beijing: Peking University Medical Press, 2007: 3-8.
- [2] *Ch. P* (2005) Vol (中国药典 2005年版 . 一部) [S]. 2005: 130.
- [3] LU C, WANG H Q, LIB M, *et al.* Studies on chemical constituents from the fruit bodies of *Ganoderma sinense* Zhao, Xu, et Zhang [J]. *J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2007, 32 (3): 235-237.
- [4] LN CN, TOMEW P. Novel cytotoxic principles of *Fomesan Ganoderma lucidum* [J]. *J Nat Prod*, 1991, 54 (4): 998-1002.
- [5] VAN-ANTWERP CL, EGGERT H, MEAKNSD, *et al.* Additivity relationships in carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of dihydroxy steroids [J]. *J Org Chem*, 1977, 42(5): 789-793.
- [6] LN CN, KUO SH, WON SJ. Steroids of fomesan *Ganoderma an boinense* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 32 (6): 1549-1551.
- [7] YUE JM, CHEN SN, LN ZW, *et al.* Sterols from the fungus *Lactarium volen us* [J]. *Phytochemistry*, 2001, 56 (3): 801-806.
- [8] LN CN, TOMEW P, WON SJ. A lanostanoid of fomesan *Ganoderma lucidum* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29 (2): 673-675.
- [9] ANDREW J C, DEREK J C. Chemoselective protection of heteroaromatic aldehydes as imidazolidine derivatives preparation of 5-substituted furan and thiophene-2-carboxaldehydes via metallo-imidazolidine intermediates [J]. *Tetrahedron*, 1985, 41(18): 3803-3812.

(收稿日期: 2009-09-01)