

• 化学成分 •

皱盖假芝子实体中 1 个新的降木脂素类化合物

马祖红, 杨桥芬, 胡秋月, 陈彦君, 孙琰奇, 张芮琦, 董淼, 叶艳青*, 周敏*
云南民族大学民族药资源化学国家民委教育部重点实验室, 云南 昆明 650500

摘要:目的 对皱盖假芝 *Amauroderma rude* 子实体的化学成分进行研究, 以期发现新的活性化合物。方法 运用硅胶、凝胶、MCI-gel 树脂及 RP-HPLC 等多种色谱技术进行分离纯化, 并根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构。结果 从皱盖假芝子实体中分离得到了 3 个化合物, 分别鉴定为 4-乙氧基-*E*-3-(3,4-二羟基苯亚甲基)-5-(3,4-二羟基苯基)呋喃-2-酮(1)、七叶内酯(2)、咖啡酸(3)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为皱盖假芝素 A。

关键词: 皱盖假芝; 降木脂素; 皱盖假芝素 A; 七叶内酯; 咖啡酸

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)02-0315-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.02.007

A new norlignan from fruiting bodies of *Amauroderma rude*

MA Zu-hong, YANG Qiao-fen, HU Qiu-yue, CHEN Yan-jun, SUN Yan-qi, ZHANG Rui-qi, DONG Miao, YE Yan-qing, ZHOU Min

Key Laboratory of Chemistry in Ethnic Medicinal Resources, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education, Yunnan Minzu University, Kunming 650500, China

Abstract: Objective For the purpose of finding new bioactive compounds from natural resources, the phytochemical investigation on the fruiting bodies of *Amauroderma rude* was carried out. **Methods** The chemical constituents from *A. rude* were isolated by various technologies, such as silica gel, Sephadex LH-20, MCI-gel resin, and high performance liquid chromatography. The isolated compounds were elucidated by spectroscopic methods, including extensive 1D, 2D NMR, and ESI-MS techniques. **Results** Three compounds (1—3) including a new norlignan, were isolated from this mushroom. Their structures were identified as 4-ethyloxy-*E*-3-(3,4-dihydroxybenzylidene)-5-(3,4-dihydroxyphenyl)furan-2-one (1), esculetin (2), and caffeic acid (3). **Conclusion** Compound 1 is a new compound isolated from this fungus, which is identified as amauroderin A.

Key words: *Amauroderma rude* (Berk.) Pat.; norlignans; amauroderin A; esculetin; caffeic acid

皱盖假芝 *Amauroderma rude* (Berk.) Pat. 属于担子菌灵芝科 (Ganodermataceae) 假芝属 *Amauroderma* Murr. 真菌, 因其子实体受损时会产生血色分泌物, 故又名血芝^[1]。皱盖假芝主要分布于热带和亚热带地区, 在我国分布于云南、贵州、福建、广西、广东等地^[2], 是一味珍稀的食用菌, 具有优良的生物活性和药用价值。查阅相关文献发现, 皱盖假芝在抗肿瘤活性方面明显优于其他药用真菌^[3-4]。目前国内外对于皱盖假芝的研究主要在于液

体发酵和多糖提取工艺方面^[5-8], 为更加全面了解皱盖假芝子实体的化学成分, 并从中寻找具有开发前景的抗肿瘤活性成分, 本实验对产于云南瑞丽的皱盖假芝子实体化学成分进行了研究, 并从中分离到 3 个化合物, 分别鉴定为 4-乙氧基-*E*-3-(3,4-二羟基苯亚甲基)-5-(3,4-二羟基苯基)呋喃-2-酮 [4-ethyloxy-*E*-3-(3,4-dihydroxybenzylidene)-5-(3,4-dihydroxyphenyl)furan-2-one, 1]、七叶内酯 (esculetin, 2)、咖啡酸 (caffeic acid, 3)。其中化合物 1 为新的降木脂素类

收稿日期: 2018-09-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31560099)

作者简介: 马祖红 (1994—), 女, 硕士在读, 主要从事中药及天然药物活性成分研究。

*通信作者 周敏, 男, 副教授, 硕士生导师。Tel: (086)68329045 E-mail: zhoushuminun@163.com

叶艳青, 女, 教授, 硕士生导师。Tel: (086)68329045 E-mail: yey-qing@163.com

化合物, 命名为皱盖假芝素 A。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

UV-2401A 紫外光谱仪 (日本岛津公司); Bio-Rad FTS-185 傅里叶变换红外光谱仪 (美国伯乐 Bio-Rad 公司); DRX-400 型核磁共振仪 (瑞士布鲁克公司); Agilent-1200 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); Venusil XBP-C₁₈ 半制备色谱柱 (250 mm×10 mm, 5 μm, 天津博纳艾尔科技有限公司); YMC-Pack ODS-A 制备色谱柱 (250 mm×20 mm, 5 μm, 日本 YMC 公司); OSB-2100 型旋转蒸发器 (上海爱朗仪器有限公司); DLSB-5 L/25 低温冷却液循环泵 (予华仪器有限责任公司); Bio-Rad SHZ-D (III) 型循环水式真空泵 (予华仪器有限责任公司); VG AutoSPE-3000 光谱仪 (德国斯派克分析仪器公司)。

柱色谱所用硅胶 (80~120、200~300 目, 青岛海洋化工有限公司); GF₂₅₄ 硅胶板 (100 mm×100 mm, 青岛海洋化工有限公司); MCI-gel CHP-20P 树脂 (75~150 μm, 南京元宝峰医药科技有限公司); 98%硫酸 (重庆川东化工有限公司); AR 级乙腈、四氢呋喃、甲醇、丙酮 (天津天泰精细化学品有限公司); 工业级乙醇、二氯甲烷、甲醇、醋酸乙酯 (瑞祥石化教仪研发有限公司); 娃哈哈纯净水 (杭州娃哈哈集团有限公司)。

1.2 材料

皱盖假芝子实体于 2017 年 4 月购于昆明市菊花村药材交易市场, 原产地为云南瑞丽, 由云南民族大学杨青松副教授鉴定为灵芝科假芝属真菌皱盖假芝 *Amauroderma rude* (Berk.) Pat. 子实体。

2 提取与分离

取皱盖假芝子实体 40 kg 晒干, 粉碎到 30 目后分为 3 份, 分别用 95% 的乙醇水溶液加热回流提取 2 次 (每次 60 min), 浓缩除去乙醇, 合并 3 份提取液, 醋酸乙酯萃取, 醋酸乙酯相减压浓缩得浸膏。浸膏 (1.3 kg) 用正相硅胶拌样后进行柱色谱分离, 分别用石油醚-二氯甲烷 (2:1)、二氯甲烷-甲醇 (80:1、20:1、8:1、5:1、2:1) 梯度洗脱, 得到 6 个组分 (Fr. A~F)。Fr. D (110 g) 溶解后用 MCI-gel 树脂分离, 分别用 30%、55%、94% 甲醇水溶液进行洗脱, 得到 3 个组分 (Fr. D-1~D-3)。选取 Fr. D-2 (55% 甲醇水段) 进行 HPLC 分离: 用 YMC-Pack ODS-A (250 mm×20 mm, 5 μm) 制备

色谱柱, 以 68% 甲醇水溶液为流动相, 体积流量为 5 mL/min, 收集 13.2 min 的色谱峰得到化合物 1, 收集 18.5 min 的色谱峰得到化合物 2, 收集 20.4 min 的色谱峰得到化合物 3。所得的 3 个化合物粗分再次用甲醇溶解, 以甲醇水为流动相, 用 Venusil XBP-C₁₈ (250 mm×10 mm, 5 μm) 半制备色谱柱纯化, 分别得到化合物 1 (13.7 mg), 2 (25.0 mg) 和 3 (39.4 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 357 [M-H]⁻, HR-ESI-MS m/z : 357.098 6 [M-H]⁻, 结合 ¹³C-和 ¹H-NMR 谱确定分子式为 C₁₉H₁₈O₇, 不饱和度为 11。化合物的 ¹H-NMR、¹³C-NMR 和 DEPT 数据 (表 1) 显示了 19 个碳信号和 14 个氢信号。其中, 化合物的 ¹H-NMR 中显示了 2 个 1,3,4-三取代的苯环 [δ_{H} 6.73 (d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 6.98 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-6'), 7.55 (brs)] 和 [δ_{H} 6.52 (d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.63 (d, $J = 8.2$ Hz, H-5''), 6.48 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-6'')] 的特征信号。而在 ¹³C-NMR 和 DEPT 谱中显示了 1 个内酯羰基信号 C-2 (δ_{C} 174.2), 1 组双键

表 1 化合物 1 的核磁共振数据 (400 MHz, CD₃OD)
Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data (400 MHz, CD₃OD) of compound 1

碳位	δ_{C}	δ_{H}
2	174.2 s	
3	121.3 s	
4	82.5 d	4.57 (s)
5	85.1 d	5.40 (s)
6	64.6 t	3.59 (m), 3.76 (m)
7	15.7 q	1.18 (t, $J = 7.2$ Hz)
1'	126.8 s	
2'	118.6 d	7.03 (d, $J = 2.0$ Hz)
3'	150.7 s	
4'	146.9 s	
5'	116.6 d	6.73 (d, $J = 8.2$ Hz)
6'	126.5 d	6.98 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz)
7'	146.0 d	7.55 (brs)
1''	131.4 s	
2''	113.3 d	6.52 (d, $J = 2.0$ Hz)
3''	146.8 s	
4''	146.9 s	
5''	116.6 d	6.63 (d, $J = 8.2$ Hz)
6''	118.2 d	6.48 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz)

信号 C-3 和 C-7' (δ_C 121.3 和 146.0) 和 1 个乙氧基片段信号 C-6 和 C-7 (δ_C 64.6 和 15.7)。这些特征信号与文献报道^[9]的化合物 *E*-3-(3,4-二羟基苯亚甲基)-5-(3,4-二羟基苯基) 二氢呋喃-2-酮非常相似。不同之处只是在已知化合物的基础上化合物 **1** 的 C-4 位多了 1 个乙氧基。这一推测通过 HMBC 相关得到确认(图 1)。从 HMBC 谱中观测到 H-6 (δ_H 3.67) 与 C-4 (δ_C 82.5) 和 C-7 (δ_C 15.7); H-4 (δ_H 4.57) 与 C-6 (δ_C 64.6)、C-5 (δ_C 85.1)、C-3 (δ_C 121.3) 和 C-7' (δ_C 146.0) 相关, 从而确定了乙氧基连在 C-4 位。而化合物 **1** 的相对构型是通过 ROESY 谱来确定的。从 ROESY 谱可见 H-5 与 H-6 β 、H-4 与 H-2'' 相关, 从而证实 H-4 与 H-5 在环的不同侧。由于测得化合物 **1** 的旋光数据为 $[\alpha]_D^{25} -2.366$ ° (c 0.001, MeOH) 接近 0, 所以化合物 **1** 是 1 对消旋体。至此化合物 **1** 的结构确定为 4-乙氧基-*E*-3-(3,4-二羟基苯亚甲基)-5-(3,4-二羟基苯基)呋喃-2-酮, 为 1 个新化合物, 命名为皱盖假芝素 A。

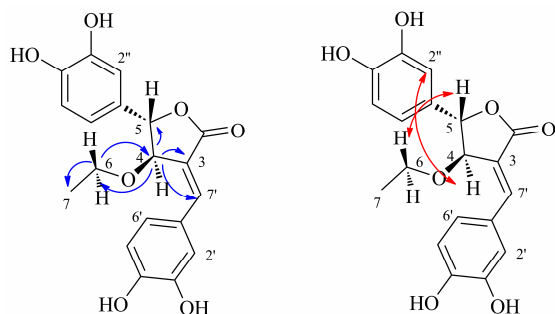


图 1 化合物 **1** 的结构及主要 HMBC (蓝色) 和 ROESY (红色) 相关

Fig. 1 Structure and key HMBC (blue) and ROESY (red) correlations of compound **1**

化合物 **2**: 淡黄色粉末, $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 7.67 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-4), 7.29 (1H, s, H-5), 7.16 (1H, s, H-8), 6.30 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 162.0 (C-2), 152.8 (C-7), 150.3 (C-9), 145.1 (C-4), 144.5 (C-6), 113.4 (C-5), 112.6 (C-3), 112.0 (C-10), 104.1 (C-8)。以上波谱数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **2** 为七叶内酯。

化合物 **3**: 黄色粉末, $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,

CD_3OD) δ : 7.55 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 7.04 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.94 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6), 6.79 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.24 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 171.1 (C-9), 149.4 (C-4), 147.0 (C-7), 146.7 (C-3), 127.8 (C-1), 122.8 (C-6), 116.5 (C-5), 115.6 (C-2), 115.1 (C-8)。以上波谱数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **3** 为咖啡酸。

4 讨论

本实验对皱盖假芝子实体的化学成分进行研究, 运用多种分离纯化技术和鉴定技术, 从皱盖假芝子实体的 95%乙醇提取物中发现 1 个新的降木脂素类化合物, 为深入了解皱盖假芝的化学成分提供了一定的科学依据。

参考文献

- [1] 马海昇, 李海珍, 姚志伟. 血芝液体培养及条件优化的初步研究 [J]. 化学与生物工程, 2010, 27(3): 70-72.
- [2] 吴兴亮, 戴玉成. 中国灵芝图鉴 [M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [3] Jiao C, Xie Y Z, Yang X, *et al.* Anticancer activity of *Amauroderma rude* [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): 66504-66517.
- [4] 李向敏. 皱盖假芝和灵芝孢子中甾醇类化合物抗肿瘤作用机制研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2015.
- [5] 夏 险, 刘健勇, 涂俊铭. 血芝深层液体培养研究初探 [J]. 食用菌, 2012, 34(6): 11-12.
- [6] 黄纪国, 韩园园, 谢意珍, 等. 响应面法优化超声波辅助提取皱盖假芝粗多糖工艺 [J]. 食用菌学报, 2015, 22(2): 62-67.
- [7] 杨丽梅. 血芝的液体发酵及多糖提取工艺研究 [D]. 武汉: 湖北师范大学, 2016.
- [8] 王 谦, 靳发彬, 张俊刚, 等. 皱盖假芝深层发酵液多糖提取工艺优化研究 [J]. 河北大学学报: 自然科学版, 2005, 25(4): 405-407.
- [9] Bader A, De T N, Cotugno R, *et al.* Phenolic compounds from the roots of *Jordanian viper's grass*, *Scorzonera judaica* [J]. *J Nat Prods*, 2011, 74(6): 1421-1426.
- [10] 崔 莹. 寸节七化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(8): 1498-1501.
- [11] Zhou L, Li D, Wang J, *et al.* Antibacterial phenolic compounds from the spines of *Gleditsia sinensis* Lam [J]. *Nat Prod Res*, 2007, 21(4): 283-291.