

忍冬木层孔菌子实体的化学成分

金镭¹, 张晨晨¹, 黄泽豪^{2*}

(1. 解放军第 105 医院, 合肥 230031; 2. 福建中医药大学药学院, 福州 350122)

[摘要] 目的:对忍冬木层孔菌 *Phellinus lonicerinus* 子实体进行提取、分离、结构鉴定。方法:通过正向硅胶,RP-18 及凝胶 Sephadex LH-20 等材料从忍冬木层孔菌乙酸乙酯部位进行分离纯化,通过波谱分析确定了化合物的结构。结果:分离纯化得到 10 个化合物,它们分别为亚油酸甲酯(1),麦角甾-4, 6, 8 (14), 22-四烯-3-酮(2),过氧麦角甾醇(3),麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 β -醇(4),对羟基苯乙醇(5),2,5-咪喃二甲醇(6),邻羟基苯乙酸(7),环(亮-缬)二肽(8),麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α , 6 β -三醇(9),脑苷脂 D(10)。结论:除化合物 3,4 外其余 8 个化合物均为首次从该种真菌中分离得到。

[关键词] 忍冬木层孔菌; 提取; 分离; 结构鉴定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)24-0055-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016240055

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160929.0910.010.html>

[网络出版时间] 2016-09-29 9:10

Chemical Constituents from Sporophore of *Phellinus lonicerinus*

JIN Lei¹, ZHANG Chen-chen¹, HUANG Ze-hao^{2*}

(1. PLA No. 105 Hospital, Anhui, Hefei, 230031, China; 2. School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

[Abstract] **Objective:** To extract and isolate the chemical constituents from the sporophore of *Phellinus lonicerinus* and identify their structures. **Method:** The ethyl acetate extracts of the sporophore of *P. lonicerinus* were separated and purified by silica gel, RP-18, and Sephadex LH-20 column chromatography. Their structures were identified by spectroscopic analysis. **Result:** Ten compounds were isolated and identified as methyl linoleate (1), (22*E*, 24*R*)-ergosta-4, 6, 8 (14), 22-tetraen-3-one (2), (22*E*, 24*R*)-5 α , 8 α -epidiory-ergosta-6, 22-dien-3 β -ol (3), (22*E*, 24*R*)-ergosta-5, 7, 22-trien-3 β -ol (4), 4-hydroxyphenethyl alcohol (5), furan-2, 5-diylidimethanol (6), *O*-hydroxyphenylacetic acid (7), cyclo-(Leu-Val) (8), (22*E*, 24*R*)-ergosta-7, 22-dien-3 β , 5 α , 6 β -triol (9), and cerebroside D (10). **Conclusion:** All the compounds except compounds 3 and 4 were isolated from *P. lonicerinus* for the first time.

[Key words] *Phellinus lonicerinus*; isolation; structure; structure identification

忍冬木层孔菌 *Phellinus lonicerinus* 为木层孔菌属真菌,其干燥子实体是药用真菌桑黄的品种之一,也是土家族的常用药材。收载于《湖北省中药材质量标准》2009 年版^[1]。桑黄是目前国际上公认的抗癌效果最好的药用菌之一,作为桑黄使用的鲍氏木

层孔菌 *P. baumii*, 裂蹄针层孔菌 *P. linteus* 等忍冬木层孔菌近缘品种的抗癌活性均有报导。2013 年,罗友成等^[2]报道了忍冬木层孔菌对乳腺癌癌前病变大鼠的保护作用。发现该菌的乙醇提取物能有效的阻止乳腺癌癌前病变的发生和发展。此前关于忍冬

[收稿日期] 20160229(007)

[基金项目] 国家公益性行业科研专项(201407002)

[第一作者] 金镭,硕士,从事中药质量标准及代谢组学研究,Tel: 0551-65966184, E-mail: jinlei105yiyuan@126.com

[通讯作者] * 黄泽豪,博士,副教授,从事中草药品种鉴定及中药资源学研究, E-mail: huangzehao@fudan.edu.cn

木层孔菌化学成分方面的研究较少^[3-4],故本次研究主要为更充分的了解忍冬木层孔菌中的化学成分,为阐明其活性提供支持。

从忍冬木层孔菌三氯甲烷-甲醇(1:1)提取物中分离得到 10 个化合物,经波谱解析分别鉴定为亚油酸甲酯(1),麦角甾-4,6,8(14),22-四烯-3-酮(2),过氧麦角甾醇(3),麦角甾-5,7,22-三烯-3 β -醇(4),对羟基苯乙醇(5),2,5-咪喃二甲醇(6),邻羟基苯乙酸(7),环(亮-缬)二肽(8),麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇(9),脑苷脂 D(10)。除化合物 3 和 4 外,其余 8 个化合物均首次在该真菌中发现。

1 材料

AutoSpec Premier P776 Xevo TQ-S 型质谱仪(美国 Waters 公司),AV-400 Avance III-600 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司),1100 和 1200 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),GF₂₅₄ 正相柱色谱硅胶以及预制硅胶板(青岛海洋化工厂),Rp-18 型反相硅胶(40~75 μ m,日本 Fuji silysia 化学公司),LH-20 型羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex, Amersham Biosciences 公司)。

供试药材采自湖北宜昌,由福建中医药大学黄泽豪副教授鉴定为木层孔菌属真菌忍冬木层孔菌 *Phellinus lonicerinus* 的干燥子实体。

2 提取与分离

忍冬木层孔菌子实体(干重 5 kg),以三氯甲烷-甲醇(1:1)混合溶剂提取 3 次。浓缩提取液得到浸膏 190 g,浸膏水分散,乙酸乙酯萃取 3 次。得到乙酸乙酯部位浸膏 80 g。取乙酸乙酯部位 60 g 经正相硅胶柱色谱分离,以三氯甲烷-甲醇(100:0~0:100)梯度洗脱得 5 个组分(A~E)。组分 A(三氯甲烷-甲醇 50:1)共 8.7 g 经硅胶柱色谱以石油醚-乙酸乙酯(50:1)洗脱得到化合物 1(20 mg)。组分 B(三氯甲烷-甲醇 20:1)共 12.5 g 经硅胶柱色谱以石油醚-丙酮(20:1~5:1)进行梯度洗脱,后经过重结晶和凝胶柱色谱,得到化合物 2(12 mg),3(23 mg),4(18 mg),5(5 mg),6(4 mg),7(4 mg)和 8(4 mg)。组分 D(三氯甲烷-甲醇 5:1)共 13.1 g 经硅胶柱色谱以三氯甲烷-丙酮(6:1)洗脱,重结晶得到单体化合物 9(9 mg),10(12 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 亚油酸甲酯, C₁₉H₃₄O₂, 淡黄色油状物; EI-MS m/z 294 [M]⁺。¹H-NMR(CDCl₃, 600 MHz) δ : 5.34(4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13),

3.65(3H, s, -OCH₃), 2.74(2H, t, J = 6.8 Hz, H-11), 2.30(2H, t, J = 7.2 Hz, H-2), 2.03(2H, m, H-8 and H-14), 1.60(2H, m, H-3), 1.24~1.38(m, H-4~H-7 and H-15~H-17), 0.87(3H, t, J = 6.8 Hz, H-18)。¹³C-NMR(CDCl₃, 150 MHz) δ : 174.2(s, C-1), 130.1(d, C-9), 130.0(d, C-10), 128.1(d, C-12), 127.7(d, C-13), 51.3(q, -OCH₃), 34.0(t, C-2), 31.8(t, C-8), 31.4(t, C-14), 29.6~22.5(t, C-3~C-7 and C-15~C-17), 14.1(q, C-18)。以上数据与文献[5]数据报道一致,确定该化合物为亚油酸甲酯。

化合物 2 麦角甾-4,6,8(14),22-四烯-3-酮, C₂₈H₄₀O, 浅黄色晶体; EI-MS m/z 392 [M]⁺。¹H-NMR(CDCl₃, 600 MHz) δ : 6.57(1H, d, J = 9.4 Hz, H-7), 6.01(1H, d, J = 9.4 Hz, H-6), 5.71(1H, s, H-4), 5.24(1H, dd, J = 15.2, 7.2 Hz, H-23), 5.18(1H, dd, J = 15.2, 7.2 Hz, H-22), 1.21~2.53(18H, m, 甾体母核), 1.04(3H, d, J = 6.8 Hz, H-21), 0.95(3H, s, H-19), 0.92(3H, s, H-18), 0.91(3H, d, J = 6.8 Hz, H-28), 0.81(3H, d, J = 6.8 Hz, H-27), 0.77(3H, d, J = 6.8 Hz, H-26)。¹³C-NMR(CDCl₃, 150 MHz) δ : 199.2(s, C-3), 164.4(s, C-5), 156.2(s, C-14), 135.1(d, C-22), 133.7(d, C-7), 132.6(d, C-23), 124.4(d, C-6), 124.2(s, C-8), 123.0(d, C-4), 55.7(d, C-17), 44.1(d, C-9), 44.0(s, C-13), 42.8(d, C-24), 39.2(d, C-20), 36.7(s, C-10), 35.7(t, C-15), 34.2(t, C-12), 34.1(t, C-1), 33.0(d, C-25), 27.6(t, C-16), 25.3(t, C-11), 21.1(q, C-21), 20.0(q, C-27), 19.6(q, C-26), 19.1(t, C-2), 18.9(q, C-19), 17.6(q, C-28), 16.6(q, C-18)。以上波谱数据与文献[6]数据报道一致,确定该化合物为麦角甾-4,6,8(14),22-四烯-3-酮。

化合物 3 过氧麦角甾醇, C₂₈H₄₄O₃, 无色针晶; EI-MS m/z 428 [M]⁺。¹H-NMR(CDCl₃, 600 MHz) δ : 6.51(1H, d, J = 8.4 Hz, H-7), 6.23(1H, d, J = 8.4 Hz, H-6), 5.23(1H, dd, J = 15.2, 7.4 Hz, H-22), 5.13(1H, dd, J = 15.2, 7.4 Hz, H-23), 3.96(1H, m, H-3), 0.98(3H, d, J = 6.8 Hz, H-21), 0.91(3H, d, J = 6.8 Hz, H-28), 0.87(3H, s, H-19), 0.83(3H, d, J = 6.8 Hz, H-27), 0.81(3H, s, H-18), 0.80(3H, d, J = 6.8 Hz, H-26)。¹³C-NMR(CDCl₃, 150 MHz) δ : 135.3(d, C-

6), 135.1 (d, C-22), 132.2 (d, C-23), 130.6 (d, C-7), 82.0 (s, C-5), 79.3 (s, C-8), 66.3 (d, C-3), 56.1 (d, C-17), 51.5 (d, C-14), 51.1 (d, C-9), 44.3 (s, C-13), 42.8 (d, C-24), 39.6 (d, C-20), 39.2 (t, C-12), 36.9 (t, C-4), 36.9 (s, C-10), 34.6 (t, C-1), 33.1 (d, C-25), 30.0 (t, C-2), 28.5 (t, C-15), 23.3 (t, C-11), 20.7 (q, C-21), 20.6 (t, C-16), 19.8 (q, C-27), 19.5 (q, C-26), 18.2 (q, C-19), 17.4 (q, C-28), 12.7 (q, C-18)。以上波谱数据与文献[7]数据报道一致,确定该化合物为过氧麦角甾醇。

化合物 4 麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 β -醇, C₂₈H₄₄O, 白色晶体; EI-MS m/z 396 [M]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ : 5.57 (1H, m, H-6), 5.39 (1H, m, H-7), 5.13 ~ 5.26 (2H, m, H-22, H-23), 3.61 (1H, m, H-3), 1.02 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-21), 0.94 (3H, s, H-19), 0.95 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-28), 0.84 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-27), 0.83 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-26), 0.60 (3H, s, H-18)。¹³C-NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ : 141.2 (s, C-8), 139.7 (s, C-5), 135.7 (d, C-22), 132.2 (d, C-23), 119.7 (d, C-6), 116.5 (d, C-7), 70.6 (d, C-3), 55.9 (d, C-17), 54.7 (d, C-14), 46.4 (d, C-9), 42.8 (s, C-13), 40.7 (d, C-24), 40.8 (t, C-4), 40.3 (d, C-20), 39.3 (t, C-12), 38.5 (t, C-1), 37.2 (s, C-10), 33.2 (d, C-25), 32.2 (t, C-2), 28.4 (t, C-16), 23.1 (t, C-15), 21.3 (t, C-11), 21.2 (q, C-21), 19.8 (q, C-26), 19.7 (q, C-27), 17.5 (q, C-28), 16.2 (q, C-19), 12.1 (q, C-18)。以上波谱数据与文献[8]数据报道一致,确定该化合物为麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 β -醇。

化合物 5 对羟基苯乙醇, C₈H₁₀O₂, 无色结晶, ESI-MS m/z 139 [M + H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ : 7.10 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-2, H-6), 6.78 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-3, H-5), 3.83 (2H, t, J = 7.2 Hz, H-8), 2.81 (2H, t, J = 7.2 Hz, H-7)。以上波谱数据与文献[9]报道一致,确定该化合物为对羟基苯乙醇。

化合物 6 2,5-呋喃二甲醇, C₆H₈O₃, 棕黄色粉末, ESI-MS m/z 129 [M + H]⁺。¹H-NMR (CD₃OD, 600 MHz) δ : 6.24 (2H, s, H-3, H-4), 4.49 (4H, s, H-1, H-6)。¹³C-NMR (CD₃OD, 150 MHz) δ : 155.8 (s, C-2, C-5), 109.2 (d, C-3, C-4), 57.6

(t, C-1, C-6)。以上波谱数据与文献[10]报道一致,确定该化合物为2,5-呋喃二甲醇。

化合物 7 邻羟基苯乙酸, C₈H₈O₃, 白色粉末, ESI-MS m/z 153 [M + H]⁺; ¹H-NMR (CD₃OD, 600 MHz) δ : 7.12 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-6), 7.08 (1H, td, J = 7.6, 1.6 Hz, H-4), 6.79 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-5), 6.76 (1H, td, J = 7.6, 1.6 Hz, H-3), 3.58 (s, 2H, H-7)。以上波谱数据与文献[11]报道一致,确定该化合物为邻羟基苯乙酸。

化合物 8 环(亮-缬)二肽, C₁₁H₂₀N₂O₂, 无色结晶, ESI-MS m/z 213 [M + H]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ : 3.97 (1H, m, L-2), 3.85 (1H, m, V-2), 2.38 (1H, m, V-3), 1.85 (1H, m, L-4), 1.73 (1H, m, L-3b), 1.55 (1H, m, L-3a), 0.99 (3H, d, J = 7.1 Hz, V-5), 0.92 (3H, d, J = 6.6 Hz, L-6), 0.88 (3H, d, J = 6.7 Hz, V-4), 0.88 (3H, d, J = 6.7 Hz, L-5)。¹³C-NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ : 168.6 (s, L-1), 167.1 (s, V-1), 60.3 (d, V-2), 53.1 (d, L-2), 43.7 (t, L-3), 31.5 (d, V-3), 24.4 (d, L-4), 23.4 (q, L-6), 21.0 (q, L-5), 19.0 (q, V-5), 16.4 (q, V-4)。以上波谱数据与文献[12]报道一致,确定该化合物为环(亮-缬)二肽。

化合物 9 麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇, C₂₈H₄₆O₃, 白色粉末, EI-MS m/z 430 [M]⁺。¹H-NMR (C₅D₅N, 600 MHz) δ : 5.73 (1H, br s, H-7), 5.23 (1H, dd, J = 15.2, 7.4 Hz, H-23), 5.15 (1H, dd, J = 15.2, 7.4 Hz, H-22), 4.83 (1H, m, H-3), 4.31 (1H, br s, J = 4.8 Hz, H-6), 1.52 (3H, s, H-19), 1.06 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-21), 0.94 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-28), 0.85 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-27), 0.84 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-26), 0.66 (3H, s, H-18)。¹³C-NMR (C₅D₅N, 150 MHz) δ : 141.5 (s, C-8), 136.1 (d, C-22), 132.4 (d, C-23), 120.3 (d, C-7), 76.4 (s, C-5), 74.2 (d, C-6), 67.5 (d, C-3), 56.4 (d, C-17), 55.2 (d, C-14), 43.9 (s, C-13), 43.8 (d, C-9), 43.1 (d, C-24), 42.1 (t, C-4), 40.6 (d, C-20), 40.2 (t, C-12), 38.2 (s, C-10), 33.7 (t, C-2), 33.1 (d, C-25), 32.5 (t, C-1), 28.1 (t, C-16), 23.4 (t, C-15), 22.3 (t, C-11), 21.3 (q, C-21), 20.0 (q, C-27), 19.8 (q, C-26), 18.8 (q, C-19), 17.5 (q, C-28), 12.2 (q, C-18)。以上波谱数据与文献[13]报道一致,确定该化合物为麦角甾-7,22-二烯-

3β,5α,6β-三醇。

化合物 10 脑苷脂 D, C₄₃H₈₁NO₉, 白色粉末, ESI-MS *m/z* 754 [M - H]⁻。¹H-NMR (CD₃OD, 600 MHz) δ: 5.72 (1H, d, *J* = 15.6, 5.6 Hz, H-5), 5.48 (1H, dd, *J* = 15.6, 7.2 Hz, H-4), 5.11 (1H, t, *J* = 5.6 Hz, H-8), 4.27 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1"), 1.95 (2H, t, *J* = 7.2 Hz, H-10), 1.58 (3H, s, H-19), 0.88 (6H, t, *J* = 6.4 Hz, H-18, H-18')。 ¹³C-NMR (CD₃OD, 150 MHz) δ: 176.3 (s, C-1'), 136.2 (s, C-9), 134.4 (d, C-5), 129.5 (d, C-4), 123.7 (d, C-8), 103.5 (d, C-1"), 78.2 (d, C-3"), 78.0 (d, C-5"), 73.8 (d, C-2"), 72.4 (d, C-3), 72.2 (d, C-2'), 70.4 (d, C-4"), 68.7 (t, C-1), 61.8 (t, C-6"), 53.7 (d, C-2), 40.1 (t, C-10), 35.0 (t, C-3'), 33.0 (t, C-6), 32.3 (t, C-16, 16'), 30.0 ~ 30.2 (t, C-12 ~ 15, 5' ~ 15'), 29.7 (t, C-11), 28.4 (t, C-4'), 25.5 (t, C-7), 23.0 (t, C-17, 17'), 16.0 (q, C-19), 14.2 (q, C-18, 18')。以上波谱数据与文献[14]报道一致, 确定该化合物为脑苷脂 D。

[参考文献]

[1] 湖北省药品监督管理局. 湖北省中药材质量标准[S]. 武汉:湖北科学技术出版社, 2009:113-114.
[2] 罗友成, 汪黎植, 吴方方, 等. 忍冬木层孔菌对乳腺癌前病变大鼠的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(1): 93-97.
[3] 王晓梅, 罗友成, 郭志勇, 等. 忍冬木层孔菌化学成分研究[J]. 中药材, 2011, 34(6): 891-893.
[4] 王晓梅. 忍冬木层孔菌化学成分分析及质量控制研

究[D]. 宜昌:三峡大学, 2011.

[5] 朱珠, 马琳, 朱海燕, 等. 民族药珠芽艾麻化学成分研究[J]. 中药材, 2011, 34(2): 223-225.
[6] Gao J M, Hu L, Liu J K. A novel sterol from Chinese truffles *Tuber indicum* [J]. Steroids, 2001, 66: 773-774.
[7] Rosecke J, König W A. Constituents of the fungi *Daedalea quercina* and *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor* [J]. Phytochemistry, 2000, 54(8): 757-762.
[8] 杜子伟, 刘吉开, 项晨, 等. 虎皮小牛肝菌的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(5): 618-621.
[9] 李军, 张淑霞, 郭华强, 等. 紫丁香树皮中羟基苯乙醇类化合物的提取方法及含量研究[J]. 化学与黏合, 2008, 3(1): 37-39.
[10] Iida T, Nakano M, Ito K. Hydroperoxysesquiterpene and lignan constituents of *Magnolia kobus* [J]. Phytochemistry, 1982, 21(3): 673-675.
[11] Xue Y, Xu X M, Yan J F, et al. Chemical constituents from *Astilbe chinensis* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2011, 13(2): 188-191.
[12] 高昊, 唐金山, 洪葵, 等. 红树林真菌泡盛酒曲霉中的环二肽和核苷类成分[J]. 中草药, 2008, 39(4): 502-504.
[13] 何其伟, 刘吉开, 杜子伟, 等. 齿贝栓菌的化学成分[J]. 安徽中医学院学报, 2011, 30(2): 73-75.
[14] 张梅, 徐良雄, 薛璟花, 等. 一株茄病镰刀菌的代谢产物研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2012, 20(6): 585-590.

[责任编辑 邹晓翠]