2015-04-25 DOI: 10.3724/SP.J.1145.2014.08017 http://www.cibj.com/
应用与环境生物学报 *Chin J Appl Environ Biol* 2015, **21** (2): 268-273

南方灵芝子实体的化学成分*

张春杰[1] 杨 婷[1] 李国友[2] 袁小红[1**] 马泽刚[1]
[1]西南科技大学生命科学与工程学院 绵阳 621000
[2]中国科学院成都生物研究所 成都 610041

摘 要 南方灵芝[*Ganoderma australe* (Fr.) Pat., Bull.]为一种常见的生长在阔叶树枯立木、倒木和伐桩上的灵芝属真菌, 具有很好的药用和保健价值. 采用硅胶、凝胶柱色谱、反相ODS柱和高效液相色谱等方法从野生南方灵芝子实体的乙醇提取物中分离到14个化合物, 结合核磁共振(¹H-NMR, ¹³C-NMR)、质谱(MS)、红外(IR)、紫外(UV)等波谱技术将其分别鉴定为灵芝烯酸G甲酯(Methyl ganoderenate G, **1**)、灵芝烯酸G(Ganoderenic acid G, **2**)、灵芝烯酸A(Ganoderenic acid A, **3**)、灵芝烯酸A甲酯(Methyl ganoderenate A, **4**)、灵芝烯酸D(Ganoderenic acid D, **5**)、灵芝烯酸F(Ganoderenic acid F, **6**)、灵芝酸AP(Ganoderic acid AP, **7**)、7β,23α-dihydroxy-3,11,15-trioxolanosta-8,20*E*(22)-dien-26-oic acid(**8**)、Elfvingic acid A(**9**)、3β,5α-dihydroxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-6-one(**10**)、对羟基苯甲酸(*p*-hydroxybenzoic acid, **11**)、3-羟基-4-甲氧基苯甲酸(3-hydroxy-4-methoxybenzoic acid, **12**)、油酸-α-单甘油酯(9-octadecenoic acid-2,3-dihydroxypropyl ester, **13**)及谷甾醇(β-sitosterol, **14**). 其中, 化合物**1**为新化合物, 化合物**1-9**为从南方灵芝中首次分离得到的羊毛甾烷型三萜化合物. 图1 表1 参34

关键词 南方灵芝; 子实体; 化学成分; 三萜; 甾醇; 灵芝烯酸G甲酯
CLC Q949.329.706

Chemical constituents of the fruiting bodies of *Ganoderma australe**

ZHANG Chunjie[1], YANG Ting[1], LI Guoyou[2], YUAN Xiaohong[1**] & MA Zegang[1]
[1]*College of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology*, Mianyang 621000, China
[2]*Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences*, Chengdu 610041, China

Abstract This research aimed to study the chemical constituents of fruiting bodies of wild *Ganoderma australe* (Fr.) Pat., Bull. of the *Ganoderma* P. Karst. genus. Compounds **1-14** were isolated by the combination of repeated silica gel chromatography, Sephadex LH-20, reversed-phase ODS column, and high performance liquid chromatography. The structures of the compounds were elucidated on the basis of nuclear magnetic resonance spectroscopy, mass spectrometry, IR, and UV spectra. As a result, fourteen compounds, including a new compound (**1**), were isolated and elucidated as Methyl ganoderenate G (**1**), Ganoderenic acid G (**2**), Ganoderenic acid A (**3**), Methyl ganoderenate A (**4**), Ganoderenic acid D (**5**), Ganoderenic acid F (**6**), Ganoderic acid AP (**7**), 7β,23α-dihydroxy-3,11,15-trioxolanosta-8,20*E*(22)-dien-26-oic acid (**8**), Elfvingic acid A(**9**), 3β,5α-dihydroxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-6-one(**10**), *p*-hydroxybenzoic acid (**11**), 3-hydroxy-4- methoxybenzoic acid (**12**), 9-octadecenoic acid,2,3-dihydroxypropyl ester (**13**), and β-sitosterol (**14**). This research isolated nine lanostane-type triterpenoids (Compounds **1-9)** from *G. australe* for the first time.

Keywords *Ganoderma australe*; fruiting body; chemical constituents; triterpenoids; sterols; Methyl ganoderenate G

南方灵芝(*Ganoderma australe* (Fr.) Pat., Bull.)属于菌物界担子菌门伞菌亚门伞菌纲多孔菌目灵芝科灵芝属真菌[1]. 目前, 灵芝属中共鉴定了近250个种[2], 其中赤芝(*G. lucidum*)又称灵芝, 是一种大规模种植且营养丰富的食药用真菌, 受到了科研工作者的广泛关注. 大量的科研表明, 灵芝属真菌的主要化学成分包括灵芝多糖、三萜类和甾体类化合物等, 其中灵芝多糖具有提高免疫、抗病毒、抗氧化等诸多生物活性[3-5]. 目前灵芝多糖已经成为市场化的保健产品[6]. 灵芝属真菌的小分子次级代谢产物的研究表明其特征性化学成分为四环三萜和五环三萜, 四环三萜类化合物属于高度氧化的羊毛甾烷衍生物. 迄今为止, 仅在赤芝中已发现了100多个三萜类[7], 部分化合物具备较好的抗肿瘤、保肝和抑制组胺释放等活性[8-10], 具有很高的药用和保健价值. 南方灵芝子实体大, 单生, 多年生且无柄, 生长可达10余年, 菌盖为长椭圆形, 表面呈扁半球形, 显黑色, 菌肉为深褐色. 南方灵芝在世界上许多国家都有分布, 尤其广泛分布于东非地区、亚洲地区及欧洲地区等, 在中国主要分布于河北、安徽、浙江、福建、湖南、江西、四川等地[1], 主要生长在阔叶树枯

收稿日期 Received: 2014-08-18 接受日期 Accepted: 2014-10-23
*国家自然科学基金项目(21272189)和四川省生物质资源利用与改性工程技术研究中心开放基金项目(12zxsk03)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (21272189), and the Open Fund of Engineering Research Center for Biomass Resource Utilization and Modification of Sichuan Province (12zxsk03)
**通讯作者 Corresponding author (E-mail: ymhpz@126.com)

立木、倒木和伐桩上，该菌能够分泌一些与木质素降解相关的酶，如漆酶Lac、锰过氧化物酶MnP、木质素过氧化物酶LiP等，对硬木树的木质素具有选择性降解作用，故又被称为“palo podrido”[11-13]，同时该菌具有对林丹污染土壤进行选择性生物修复[14-15]、对工厂水污染部分解毒[16]及脱色[17]等作用. 目前，科研工作者对南方灵芝化学成分的研究较少，仅报道了几个树舌环氧酸（Applanoxidic acids）、甾醇（Sterols）、austrolactone和australic acid [18-21]，未见其化学成分的系统研究. 本研究中我们采用硅胶、凝胶柱色谱、反相ODS柱和高效液相色谱等方法对野生南方灵芝子实体的化学成分进行了分析，从乙醇提取物中分离鉴定了14个化合物，含1个新的三萜化合物（**1**），它们分别是灵芝烯酸G甲酯（Methyl ganoderenate G，**1**）、灵芝烯酸G（Ganoderenic acid G，**2**）、灵芝烯酸A（Ganoderenic acid A，**3**）、灵芝烯酸A甲酯（Methyl ganoderenate A，**4**）、灵芝烯酸D（Ganoderenic acid D，**5**）、灵芝烯酸F（Ganoderenic acid F，**6**）、灵芝酸AP（Ganoderic acid AP，**7**）、7*β*,23*α*-dihydroxy-3,11,15-trioxolanosta-8,20*E*(22)-dien-26-oic acid（**8**）、Elfvingic acid A（**9**）、3*β*,5*α*-dihydroxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-6-one（**10**）、对羟基苯甲酸（*p*-hydroxybenzoic acid，**11**）、3-羟基-4-甲氧基苯甲酸（3-hydroxy-4-methoxybenzoic acid，**12**）、油酸-*α*-单甘油酯（9-octadecenoic acid,2,3-dihydroxypropyl ester，**13**）及谷甾醇（*β*-sitosterol，**14**）. 在此，我们对这些化合物的分离及结构鉴定进行报道.

1 仪器、试剂与材料

1.1 仪器和试剂

Bruker Avance 400及Bruker Avance 600核磁共振仪（TMS为内标）；Bruker Daltonics BioTOF-Q质谱仪；Perkin-Elmer Spectrum One FT-IR光谱仪（KBr压片）；Perkin-Elmer S2 Lambda 35 UV/VIS 光谱仪（*λ*单位为nm）；上海伍丰科学仪器有限公司产品（LC-100）高效液相色谱仪（HPLC）；薄层层析硅胶（TCL）和柱层析硅胶均为青岛海洋化工厂产品；葡聚糖凝胶Sephadex LH-20为GE Healthcare Bio-Sciences AB产品；甲醇、三氯甲烷、乙酸乙酯、石油醚、丙酮等均为工业级，重蒸后使用. 254 nm和365 nm荧光、10%硫酸乙醇溶液加热显色及碘蒸气显色.

1.2 材 料

南方灵芝子实体于2012年7月20日采自四川省广元市青川县唐家河自然保护区的各种倒木枯木上，由西南科技大学贺新生教授鉴定为南方灵芝*G. australe* (Fr.) Pat., Bull.，标本保存于西南科技大学生命科学与工程学院菌物标本室，标本编号为HE21040.

2 提取与分离

南方灵芝子实体粗粉（干品）1 kg，用5倍量95%乙醇60 ℃回流提取，共提3次，每次4 h. 提取液浓缩得浸膏（41.8 g），浸膏加500 mL水溶解 ，依次用乙酸乙酯、正丁醇等体积萃取4次，相同溶剂的萃取液合并，回收溶剂，得乙酸乙酯萃取部分浸膏（I）（20.6 g），正丁醇萃取部分浸膏（II）（15.8 g）. I部分经硅胶（300-400目，300 g）柱层析，以石油醚–丙酮体系（100:0，100:1，70:1，50:1，20:1，10:1，5:1，1:1，0:1）梯度洗脱，经TLC检测合并，分为A、B、C、D、E、F、H七个部分，其中F部分（6.0 g）经Sephadex LH-20，甲醇为洗脱剂，TLC检测后合并，分F1、F2、F3、F4、F5、F6六段. F3段（2.5 g）经硅胶（300-400目，60 g）柱层析，以氯仿–甲醇体系（30:1，20:1，10:1，3:1，1:1）梯度洗脱，分为F31、F32、F33、F34、F35五部分. F31（1.0 g）用68%甲醇做流动相进行HPLC分段制备（HPLC制备时的洗脱体系均采用甲醇–水或乙腈–水），分为F311、F312、F313、F314、F315、F316六个部分，其中，F312（65 mg）用55%乙腈进行HPLC制备得到化合物**7**（14 mg）和**9**（5 mg）；F313（120 mg）用60%乙腈制备，得到化合物**3**（8 mg）；F314（150 mg）用60%乙腈制备，得到化合物**4**（5 mg）、**5**（7 mg）、**6**（15 mg）和**8**（19 mg）；F316（100 mg）用78%甲醇制备，得到化合物**1**（10 mg）和**2**（18 mg）. F5段（400 mg）用60%甲醇做流动相进行HPLC分段，其中，F51（80 mg）用30%甲醇制备，得到化合物**11**（12 mg）和**12**（15 mg）. E部分（900 mg）过Sephadex LH-20，洗脱剂为氯仿:甲醇（1:1），TCL分析后合并，分为E1、E2、E3、E4、E5五部分，其中E2（310 mg）88%甲醇进行HPLC制备时得到化合物**13**（7 mg）；E3（385 mg）89%甲醇制备时，从最后的纯甲醇冲柱中得到化合物**10**（8 mg）. C部分通过反复结晶得到化合物**14**（700 mg）.

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物**1**：由高分辨质谱HR-ESI-MS的准分子离子峰 *m/z* 525.3（$[M-H]^{-1}$），确定其分子式为$C_{31}H_{42}O_7$，推出其不饱和度为11. 在^{1}H-NMR谱图中，高场区有7个甲基氢信号：*δ* 0.79（3H，s）、1.13（3H，s）、1.16（3H，s）、1.29（3H，s）、1.30（3H，s）、2.10（3H，s）和3.67（3H，s），其中*δ* 3.67（3H，s）为甲氧基的信号. 同时，由低场区*δ* 4.49（1H，dd，*J* = 9.8，5.8 Hz）的信号可推知化合物**1**含有羟基取代的次甲基，*δ* 6.27（1H，s）提示含有三取代双键. 在化合物**1**的^{13}C-NMR谱图中显示31个碳信号，由DEPT135°实验确定其含有8个甲基（其中有一个甲氧基）、6个亚甲基、6个次甲基和11个季碳，其中在低场区含有4个羰基碳信号（*δ* 218.4、*δ* 206.5、*δ* 202.1、*δ* 200.8）及一个羧基碳信号（*δ* 178.4），另外位于*δ* 157.9、*δ* 154.2、*δ* 151.7、*δ* 125.8的4个碳信号提示该化合物含有两对双键. 根据化合物**1**的不饱和度可知，除去以上由羰基、羧基及双键的贡献外，还剩4个不饱和度，表明该化合物**1**的结构中含有4个环，根据灵芝属化学成分的特征可推知其为典型的羊毛甾烷型四环三萜化合物. 进一步分析^{13}C-NMR谱图，位于高场区的信号确证化合物**1**含有一个羟基取代的次甲基（*δ* 74.0）和一个甲氧基（*δ* 52.5）. 比较发现，化合物**1**的^{1}H-NMR和^{13}C-NMR谱图与灵芝烯酸G十分相似，其最显著的差异为化合物**1**多了一个甲氧基信号[δ_H 3.67（3H，s）和δ_C 52.5]，这与高分辨质谱推出的分子式相符，通过波谱数据分析，并与文献灵芝烯酸G（Ganoderenic acid G）核磁数据[22]对照，将该化合物鉴定为灵芝烯酸G甲酯（Methyl ganoderenate G）.

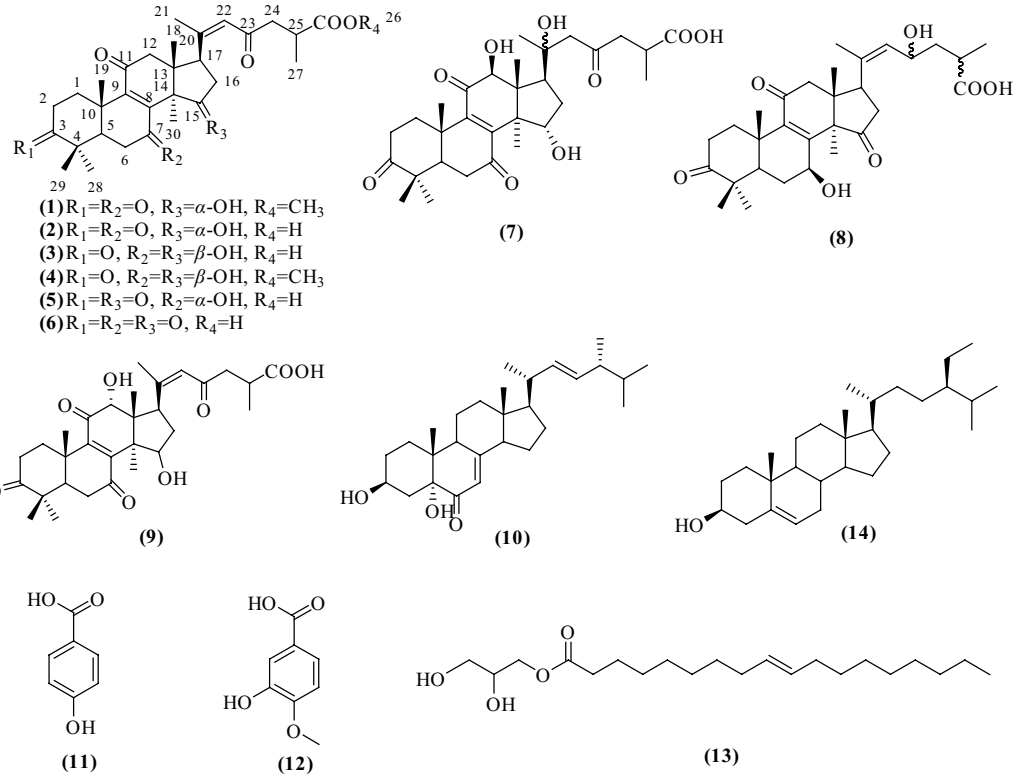

图1 南方灵芝子实体分离的化合物1-14.

Fig. 1 Compounds 1-14 from the fruiting body of *Ganoderma australe*.

3.2 理化数据

化合物**1**：黄色晶体（甲醇）. HR-ESI-MS：*m/z* 525.3（[M-H]$^{-1}$）$C_{31}H_{41}O_7$. ^{1}H-NMR（400 MHz, CD_3OD）δ：0.79（3H, s, H-18）, 1.13（3H, s, H-29）, 1.16（3H, s, H-28）, 1.29（3H, s, H-19）, 1.30（3H, s, H-30）, 2.10（3H, s, H-21）, 3.67（3H, s, COOMe）, 2.70（1H, ddd, *J* = 15.4, 9.3, 5.9 Hz, H-1α）, 2.90（1H, ddd, *J* = 14.8, 8.3, 5.9 Hz, H-1β）, 1.87（1H, ddd, *J* = 14.3, 9.3, 6.5 Hz, H-2α）, 2.50（1H, ddd, *J* = 14.3, 7.7, 6.9 Hz, H-2β）, 4.49（1H, dd, *J* = 9.8, 5.8 Hz, H-15β）, 1.77（1H, ddd, *J* = 14.7, 10.0, 6.2 Hz, H-16）, 2.54（1H, ddd, *J* = 15.7, 9.8, 9.3 Hz, H-16）, 6.27（1H, s, H-22）, 2.81（1H, s, H-24）, 2.40（1H, dd, *J* = 16.8, 8.2 Hz, H-24）, 1.18（3H, d, *J* = 6.9 Hz, H-27）. 其具体^{13}C-NMR数据归属见表1.

化合物**2**：黄色晶体（甲醇）. UV λ_{max} 246 nm. HR-ESI-MS：*m/z* 511.3（[M-H]$^{-1}$）$C_{30}H_{39}O_7$. ^{1}H-NMR（400 MHz, CD_3OD）δ：0.78（3H, s, H-18）, 1.12（3H, s, H-29）, 1.14（3H, s, H-28）, 1.28（3H, s, H-19）, 1.34（3H, s, H-30）, 2.10（3H, s, H-21）, 2.69（1H, ddd, *J* = 15.3, 9.4, 6.0 Hz, H-1α）, 2.89（1H, ddd, *J* = 14.8, 8.3, 5.9 Hz, H-1β）, 1.87（1H, ddd, *J* = 14.2, 9.3, 6.6 Hz, H-2α）, 2.50（1H, ddd, *J* = 14.3, 7.7, 6.9 Hz, H-2β）, 4.47（1H, dd, *J* = 9.7, 5.8 Hz, H-15β）, 1.76（1H, ddd, *J* = 15.2, 10.1, 5.9 Hz, H-16）, 2.54（1H, ddd, *J* = 15.7, 9.8, 9.3 Hz, H-16）, 6.27（1H, s, H-22）, 2.81（1H, s, H-24）, 2.40（1H, dd, *J* = 16.8, 8.2 Hz, H-24）, 1.18（3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-27）. 通过波谱数据分析, 并与文献数据[22]对照, 将该化合物鉴定为灵芝烯酸G（Ganoderenic acid G）. 其具体^{13}C-NMR数据归属见表1.

化合物**3**：白色粉末（甲醇）. UV λ_{max} 248 nm. HR-ESI-MS：*m/z* 513.3（[M-H]$^{-1}$）$C_{30}H_{41}O_7$. ^{1}H-NMR（600 MHz, CD_3OD）δ：0.89（3H, s, H-18）, 1.17（3H, s, H-29）, 1.20（3H, s, H-28）, 1.25（3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-27）, 1.31（3H, s, H-19）, 1.42（3H, s, H-30）, 2.17（3H, s, H-21）, 4.71（1H, dd, *J* = 10.1, 6.9 Hz, H-7）, 4.99（1H, dd, *J* = 9.3, 8.0 Hz, H-15）, 6.34（1H, s, H-22）. 通过波谱数据分析, 并与文献数据[23]对照, 将该化合物鉴定为灵芝烯酸A（Ganoderenic acid A）. 其具体^{13}C -NMR数据归属见表1.

化合物**4**：白色粉末（甲醇）. HR-ESI-MS：*m/z* 551.3（[M+Na]$^+$）$C_{31}H_{44}NaO_7$. ^{1}H-NMR（600 MHz, CD_3OD）δ：0.87（3H, s, H-18）, 1.15（3H, s, H-29）, 1.18（3H, s, H-28）, 1.22（3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-27）, 1.30（3H, s, H-19）, 1.40（3H, s, H-30）, 2.14（3H, s, H-21）, 3.71（3H, s, COOMe）, 4.69（1H, dd, *J* = 10.1, 6.8 Hz, H-7）, 4.97（1H, dd, *J* = 9.4, 7.4 Hz, H-15）, 6.32（1H, s, H-22）. 可以看出, 化合物**4**仅比化合物**3**多一个甲氧基信号, 其它信号基本一样. 通过波谱数据分析, 并与文献中Ganoderenic acid A的数据[23]对照, 将该化合物鉴定为灵芝烯酸A甲酯（Methyl ganoderenate A）. 其具体^{13}C-NMR数据归属见表1.

化合物**5**：无色针状（甲醇）. UV λ_{max} 245 nm. HR-ESI-MS：*m/z* 535.3（[M+Na]$^+$）$C_{30}H_{40}NaO_7$. ^{1}H-NMR（600 MHz, CD_3OD）δ：0.95（3H, s, H-18）, 1.16（3H, s, H-29）, 1.20

（3H, s, H-28），1.25（3H, d, J = 4.6 Hz, H-27），1.28（3H, s, H-19），1.49（3H, s, H-30），2.21（3H, s, H-21），5.0（1H, dd, J = 8.9, 7.9 Hz, H-7），6.31（1H, s, H-22）. 通过波谱数据分析，并与文献数据[23]对照，将该化合物鉴定为灵芝烯酸D（Ganoderenic acid D）. 其具体^{13}C-NMR数据归属见表1.

化合物**6**：白色粉末（甲醇）. UV λ_{max} 244 nm. HR-ESI-MS：m/z 533.3（[M+Na]$^+$）$C_{30}H_{38}NaO_7$. ^{1}H-NMR（400 MHz, CD_3OD）δ：0.71（3H, s, H-18），1.09 （3H, s, H-29），1.11（3H, s, H-28），1.16（3H, d, J = 6.8 Hz, H-27），1.24（3H, s, H-19），1.68（3H, s, H-30），2.11（3H, s, H-21），6.24（1H, s, H-22）. 通过波谱数据分析，并与文献数据[22]对照，将该化合物鉴定为灵芝烯酸F（Ganoderenic acid F）. 其具体^{13}C-NMR数据归属见表1.

化合物**7**：白色粉末（甲醇）. UV λ_{max} 261 nm. HR-ESI-MS：m/z 569.3（[M+Na]$^+$）$C_{30}H_{42}NaO_9$. ^{1}H-NMR（400 MHz, CD_3OD）δ：0.88（3H, s, H-18），1.11（3H, s, H-29），1.12（3H, s, H-28），1.25（3H, d, J = 6.8 Hz, H-27），1.16（3H, s, H-19），1.25（3H, s, H-30），1.44（3H, s, H-21），4.39（1H, dd, J = 9.7, 5.2 Hz, H-15），4.58（1H, s, H-12）. 通过波谱数据分析，并与文献灵芝酸AP甲酯（Methyl ganoderate AP）数据[22]对照，仅少了一个甲氧基信号，其它基本一样. 将该化合物鉴定为灵芝酸AP（Ganoderenic acid AP）. 其具体^{13}C-NMR数据归属见表1.

化合物**8**：白色粉末（甲醇）. UV λ_{max} 254 nm. HR-ESI-MS：m/z 513.3（[M-H]$^{-1}$）$C_{30}H_{41}O_7$. ^{1}H-NMR（400 MHz, CD_3OD）δ：1.04（3H, s, H-18），1.07（3H, s, H-29），1.11（3H, s, H-28），1.17（3H, d, J = 6.8 Hz, H-27），1.25（3H, s, H-30），1.20（3H, s, H-19），1.58（3H, s, H-21），4.59（1H, dd, J = 10.2, 6.7 Hz, H-7），5.47（1H, s, H-22）. 通过波谱数据分析，并与文献数据[24]对照，将该化合物鉴定为7β,23α-dihydroxy-3,11,15-trioxolanosta-8,20E(22)-dien-26-oic acid. 其具体^{13}C-NMR数据归属见表1.

化合物**9**：白色粉末（甲醇）. UV λ_{max} 250 nm. HR-ESI-MS：m/z 551.3（[M+Na]$^+$）$C_{30}H_{42}NaO_8$. ^{1}H-NMR（400 MHz, CD_3OD）δ：0.72（3H, s, H-18），1.09（3H, s, H-29），1.10（3H, s, H-28），1.12（3H, d, J = 6.9 Hz, H-27），1.28（3H, s, H-19），1.38（3H, s, H-30），2.18（3H, s, H-21），4.45（1H, dd, J = 9.4, 5.5 Hz, H-12），4.52（1H, dd, J = 9.7, 5.9 Hz, H-15），6.30（1H, s, H-22）. 通过波谱数据分析，并与文献数据[25]对照，将该化合物鉴定为Elfvingic acid A. 其具体

表1 化合物1-10的^{13}C-NMR数据

Table 1 ^{13}C-NMR data of compounds 1-10

化合物 Compound	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C-1	36.4	36.3	36.8	36.8	36.8	35.8	35.7	36.2	35.7	22.6
C-2	35.2	35.1	35.3	35.3	35.3	35.0	35.2	35.1	35.2	31.4
C-3	218.4	218.2	220.3	220.3	219.9	218.5	211.8	210.0	217.9	67.4
C-4	47.9	47.8	47.9	47.9	47.9	48.2	47.8	48.5	47.8	39.8
C-5	50.3	50.3	50.0	49.8	50.3	50.0	50.3	51.4	50.3	77.9
C-6	37.8	37.7	30.0	30.0	29.2	37.3	37.9	30.0	37.8	199.0
C-7	206.5	206.5	69.7	69.7	67.2	201.3	205.5	69.9	204.0	120.6
C-8	151.7	151.6	162.1	162.0	160.0	148.0	151.3	162.4	154.9	164.0
C-9	154.2	154.1	141.4	141.4	142.4	151.7	154.9	141.3	151.7	43.8
C-10	40.6	40.5	39.3	39.3	39.5	40.8	40.4	39.2	40.4	44.8
C-11	202.1	202.0	201.5	201.5	201.1	201.0	201.8	201.8	206.1	30.5
C-12	51.5	51.5	51.8	51.8	50.0	48.8	79.7	51.7	80.5	34.3
C-13	50.2	50.0	49.8	49.6	47.3	46.5	55.6	46.7	55.1	45.3
C-14	53.7	53.6	55.0	55.0	59.6	58.2	56.1	54.2	53.5	56.3
C-15	74.0	73.9	73.7	73.7	217.2	209.2	73.1	220.3	73.8	21.6
C-16	32.9	32.8	32.8	32.8	39.1	38.1	33.7	37.4	36.4	28.8
C-17	53.1	53.0	53.4	52.5	50.9	51.9	56.6	49.8	48.9	56.9
C-18	17.5	17.7	19.7	19.7	19.7	18.3	13.7	22.0	20.0	13.0
C-19	19.4	19.4	20.5	20.5	18.7	19.0	18.1	21.5	18.1	20.1
C-20	157.9	157.5	158.4	158.6	155.7	155.3	74.1	141.2	160.0	41.2
C-21	21.5	21.5	21.6	21.7	21.3	21.7	27.1	21.1	21.2	20.4
C-22	125.8	125.9	125.7	125.5	126.1	126.4	51.0	121.9	126.2	136.5
C-23	200.8	200.9	201.1	200.8	199.8	200.6	206.1	72.1	201.2	133.1
C-24	50.0	48.7	48.8	48.7	49.7	48.2	50.0	36.8	49.4	41.4
C-25	36.4	36.3	36.5	36.5	36.4	36.4	36.1	35.3	35.8	34.0
C-26	178.4	179.7	179.9	178.4	179.8	179.8	179.9	179.6	179.6	18.1
C-27	18.2	18.3	17.7	17.5	17.7	17.7	17.6	17.7	17.7	16.7
C-28	27.7	27.7	27.9	28.0	27.7	27.8	28.1	30.0	27.2	14.4
C-29	20.8	20.5	21.2	21.2	21.2	20.8	19.6	23.3	20.9	
C-30	20.9	20.9	20.0	20.0	25.6	21.6	21.3	27.9	27.8	
OCH_3	52.5			53.4						

（1）除化合物**13**是用氘代氯仿溶解测试外，其它化合物均用氘代甲醇溶解测定，TMS为内标.（2）化合物**3**、**4**、**5**、**6**、**7**、**8**和**10**的^{13}C-NMR数据是在100 MHz测得，其它化合物在150 MHz测得.

(1) The spectra were taken in CD_3OD except for that of **13**, which was taken in $CDCl_3$. The values are in ppm downfield from TMS. (2) The spectra were measured in 100 MHz except for that of **3**, **4**, **5**, **6**, **7**, **8** and **10**, which were measured in 150 MHz.

^{13}C-NMR数据归属见表1.

化合物**10**：无色晶体（甲醇）. UV λ_{max} 248 nm. HR-ESI-MS：*m/z* 427.3（[M-H]$^{-1}$）$C_{28}H_{43}O_3$. ^{1}H-NMR（600 MHz, CD_3OD）δ：0.65（3H, s, H-18），0.84（3H, d, *J* = 10.0 Hz, H-26），0.86（3H, d, *J* = 10.0 Hz, H-27），0.92（3H, s, H-19），0.94（3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-28），1.07（3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21），5.24（1H, dd, *J* = 15.2, 8.2 Hz, H-22），5.30（1H, dd, *J* = 15.4, 7.5 Hz, H-23），5.47（1H, s, H-7），3.95（1H, m, H-3）. 通过波谱数据分析，并与文献数据[26]对照，将该化合物鉴定为3*β*,5*α*-dihydroxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-dien-6-one. 其具体^{13}C-NMR数据归属见表1.

化合物**11**：针状结晶（甲醇）. HR-ESI-MS：*m/z* 137.3（[M-H]$^{-1}$）$C_7H_5O_3$. ^{1}H-NMR（400 MHz, CD_3OD）δ：7.86（2H, dd, *J* = 8.7 Hz, H-2, H-6），6.80（2H, dd, *J* = 8.8 Hz, H-3, H-5）. ^{13}C-NMR（100 MHz, CD_3OD）δ：170.2（COOH），163.5（C-4），133.1（C-2, C-6），122.8（C-1），116.2（C-3, C-5）. 通过波谱数据分析，并与文献报道的数据[27]对比，将该化合物鉴定为对羟基苯甲酸（*p*-hydroxybenzoic acid）.

化合物**12**：白色晶体（甲醇）. HR-ESI-MS：*m/z* 167.3（[M-H]$^{-1}$）$C_8H_7O_4$. IR（cm^{-1}）：3 486.2, 2 954.4, 2 652.6, 1 523.9, 1 435.0, 1 299.3, 1 282.9, 1 239.6, 1 113.4, 1 030.0, 918.9, 882.9, 765.6, 637.0. ^{1}H-NMR（400 MHz, CD_3OD）δ：7.53-7.55（2H, m, H-2, H-6），6.82（1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-5），3.88（3H, s, CH_3）. ^{13}C-NMR（100 MHz, CD_3OD）δ：56.5（OCH_3），112.8（C-2），116.0（C-6），123.2（C-1），125.4（C-5），δ 148.8为羟基碳信号，δ 152.8为苯环上连有甲氧基的碳信号，δ 170.2为羧基碳信号. 其波谱数据与文献报道[28]基本一致，故确定其结构为3-羟基-4-甲氧基苯甲酸（3-hydroxy-4-methoxybenzoic acid）.

化合物**13**：白色油状物（氯仿）. HR-ESI-MS：*m/z* 379.3（[M+Na]$^+$）$C_{21}H_{40}NaO_4$. ^{1}H-NMR（400 MHz, CD_3Cl_3）δ：0.88（3H, t, *J* = 6.4 Hz, CH_3），1.29-1.33（20H, -CH_2-），1.60（2H, m, H-3），2.04（4H, m, H-8, H-11），2.31（2H, t, *J* = 7.4 Hz, H-2），3.53（1H, dd, *J* = 11.1, 5.7 Hz, H-3′），3.57（1H, dd, *J* = 11.2, 3.0 Hz, H-3′），3.82（1H, m, H-2′），4.05（1H, dd, *J* = 11.2, 6.2 Hz, H-1′），4.12（1H, dd, *J* = 11.2, 4.7 Hz, H-1′），5.35（2H, m, H-9, H-10）. ^{13}C-NMR（100 MHz, CD_3Cl_3）δ：174.2（C-1），130.9（C-9），130.8（C-10），71.2（C-1′），66.5（C-2′），64.3（C-3′），34.9（C-2），33.0（C-16），26.0（C-3），23.7（C-17），14.8（C-18）. 其波谱数据与文献报道[29]对照基本一致，故确定化合物**13**为油酸-*α*-单甘油酯（9-octadecenoic acid,2,3-dihydroxypropyl ester）.

化合物**14**：白色针晶，其R_f值、显色情况（10%硫酸乙醇）与*β*-谷甾醇标准品一致，鉴定为谷甾醇（*β*-sitosterol）.

4 讨论与结论

灵芝属真菌在我国有近80种，其中化学成分研究最多的为赤芝（*G. lucidum*）和树舌灵芝（*G. applanatum*）. 灵芝属真菌的化学成分主要包括多糖、三萜、甾体化合物、核苷、生物碱、氨基酸、多肽、蛋白质及微量元素等，其中三萜和多糖是灵芝属真菌最主要的两大活性成分. 目前在灵芝属中发现的三萜成分主要为高度氧化的羊毛甾烷衍生物，已从赤芝和树舌灵芝中分别得到100多个该类化合物[7, 30]. 灵芝三萜类化合物具有广泛的药理活性，如灵芝酸A和赤芝酸A对四氯化碳、氨基半乳糖苷和卡介苗加脂多糖所致的3种肝损伤模型小鼠有较好的保肝作用，灵芝烯酸A（Ganoderenic acid A）对*β*-葡萄糖苷酸酶有较好的抑制活性，并具有很好的保肝作用；灵芝酸A、H、I和F具有抑制乳癌细胞生长的作用和作为癌症治疗辅助剂的功能，Ganoderic U、V、W、X、Y和Z能明显抑制小鼠肉瘤（HTC）细胞的增值，灵芝酸T和Me也具有抗肿瘤活性；灵芝酸A、B、H和C1具有抗HIV-1活性，赤芝酸D和赤芝内酯也可抑制HIV-1逆转入酶的活性；灵芝酸C和灵芝酸D在体外对ConA诱导的大鼠肥大细胞释放组胺有抑制作用；灵芝酸K、F和S具有抑制血管紧张素转换酶的活性；灵芝酸B和灵芝酸B、C的衍生物具有降低血胆甾醇的作用[8-10, 31-32]. 自1982年科研工作者首次从灵芝子实体中分离得到两个羊毛甾烷型三萜类化合物灵芝酸A（Ganoderic acid A）和灵芝酸B（Ganoderic acid B）[33]，各国科研工作者先后在灵芝属真菌中分离鉴定出200多个灵芝三萜类化合物[30]，其中灵芝酸A、灵芝酸B、灵芝酸G、灵芝酸E、灵芝烯酸D和灵芝酸D等为主要的三萜成分[34]. 四川地处我国西南地区，其独特的地理环境和盆地气候十分适合灵芝属真菌的生长. 南方灵芝在四川也有比较多的分布，然而其化学成分与生物活性研究较少，且仅报道几个羊毛甾烷型三萜类代谢产物. 本研究通过对南方灵芝化学成分的系统分析，共分离鉴定了14个次级代谢产物，其中包含8个已知的羊毛甾烷型三萜和1个新的三萜. 化合物**1-9**为首次从南方灵芝中分离得到，其中含量相对较高的为7*β*,23*α*-dihydroxy-3,11,15-trioxolanosta-8,20*E*(22)-dien-26-oic acid、灵芝烯酸G、灵芝烯酸F和灵芝烯酸AP. 本研究表明，南方灵芝的三萜类化合物基本都属于灵芝酸（Ganoderic acids）及灵芝烯酸（Ganoderenic acids），与赤芝和树舌灵芝的化学成分相似，可作为灵芝酸和灵芝烯酸类活性化合物的新来源. 本研究进一步丰富了对南方灵芝化学成分的研究，可为南方灵芝资源的合理深度开发利用提供一定的科学依据.

参考文献 [References]

1 贺新生. 四川盆地覃菌图志[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 3-4

2 Elzade-Fatima AS, Franco DM, Rosendo AY, Roberta P, Artur SJ. Antimicrobial activity of methyl australate from *Ganoderma australe* [J]. *Rev Bras Farmacogn*, 2007, **17** (1): 14-16

3 周国亮, 宋翼升, 辛艳飞, 宣尧仙. 灵芝多糖抗氧化和抗肿瘤活性的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2014, **32** (5): 1002-1005 [Zhou GL, Song YS, Xin YF, Xuan RX. Progress in research on anti-oxidation and anti-tumor effect of *Ganoderma Lucidum* polysaccharide [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2014, **32** (5): 1002-1005]

4 Sliva D. Cellular and physiological effects of *Ganoderma lucidum* (Reishi) [J]. *Mini-Rev Med Chem*, 2004, **4** (8): 873-879

5 Zhou XW, Lin Juan, Yin YZ, Zhao JY, Sun XF, Tang KX. Ganodermataceae: natural products and their related pharmacological functions [J]. *Am J Chin Med*, 2007, **35** (4): 559-574

6 Zhou XW, Su KQ, Zhang YM. Applied modern biotechnology for cultivation of *Ganoderma* and development of their products [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, **93**: 941-963

7 Ma J, Ye Q, Hua Y, Zhang D, Cooper R, Chang MN, Chang JY, Sun HH. New lanostanoids from the mushroom *Ganoderma lucidum* [J]. *J Nat Prod*, 2002, **65**: 72-75

8 刘锋, 李鹏, 黄秀旺, 许建华. 灵芝三萜组分GLE 的体内外抗肿瘤作用[J]. 中国新药杂志, 2012, **21** (23): 2790-2793 [Liu F, Li P, Huang XW, Xu JH. Anti-tumor effect of triterpene GLE from *Ganoderma Lucidum in vivo* and *in vitro* [J]. *Chin J New Drugs*, 2012, **21** (23): 2790-2793]

9 Lin SB, Li CH, Lee SS, Kan LS. Triterpene-enriched extracts from *Ganoderma lucidum* inhibit growth of hepatoma cells via suppressing protein kinase C, activating mitogen-activated protein kinases and G2-phase cell cycle arrest [J]. *Life Sci*, 2003, **72** (21): 2381-2390

10 Kohda H, Tokumoto W, Sakamoto K, Fujii M, Hirai Y, Yamasaki K, Komoda Y, Nakamura H, Ishihara S, Uchida M. The biologically active constituents of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. Histamine release-inhibitory triterpenes [J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, **33** (4): 1367-1374

11 Zhou XW, Cong WR, Su KQ, Zhang YM. Ligninolytic Enzymes from *Ganoderma* spp.-Current status and potential applications [J]. *Crit Rev Microbiol*, 2013, **39** (4): 416-426

12 Schwarze FWMR, Jauss F, Spencer C, Hallam C, Schubert M. Evaluation of an antagonistic *Trichoderma* strain for reducing the rate of wood decomposition by the white rot fungus *Phellinus oxius* [J]. *Biol Contr*, 2012, **61**: 160-168

13 Ortiz R, Navarrete J, Oviedo C, Pa´rraga M, Carrasco I, Vega E, Ortiz M, Blanchette RA. White rot Basidiomycetes isolated from Chiloe´ National Park in Los Lagos region, Chile [J]. *Anton Leeuw*, 2013, **104**: 1193-1203

14 Rigas F, Papadopoulou K, Dritsa V, Doulia D. Bioremediation of a soil contaminated by lindane utilizing the fungus *Ganoderma australe* via response surface methodology [J]. *J Hazard Mater*, 2007, **140**: 325-332

15 Dritsa V, Rigas F, Doulia D, Avramides EJ, Hatzianestis I. Optimization of culture conditions for the biodegradation of Lindane by the polypore fungus *Ganoderma australe* [J]. *Water Air Soil Pollut*, 2009, **204**: 19-27

16 Spyridon N, Petr B, Constantinos E, Frantisek N, Theodoros A, Vera M, Georgios IZ. Biodegradation and detoxification of olive mill wastewater by selected strains of the mushroom genera *Ganoderma* and *Pleurotus* [J]. *Chemosphere*, 2012, **88**: 620-626

17 Rigas F, Dritsa V. Decolourisation of a polymeric dye by selected fungal strains in liquid cultures [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2006, **39**: 120-124

18 Gerber AL, Junior AS, Monache FD, Junior NB, Albino Smânia EF. Triterpenes and sterols from *Ganoderma australe* (Fr.) pat. (aphyllophoromycetideae) [J]. *Int J Med Mushrooms*, 2000, **2** (4): 303-311

19 Jain AC, Gupta SK. The isolation of lanosta-7,9(11),24-trien-3*β*,21-diol from the fungus *Ganoderma australe* [J]. *Phytochemistry*, 1984, **23** (3): 686-687

20 Nieto IJ, Valencia MA. Fatty acids, sterols and hydrocarbons from fruit bodies of the fungus *Ganoderma australe* [J]. *Bol Soc Chil Quim*, 2002, **47** (4): 511-516

21 Francisco L, Meiser V, Augusto R, Ivonne N, José Q, Francisco E, Jaime B. Novel cytostatic lanostanoid triterpenes from *Ganoderma australe* [J]. *Helv Chim Acta*, 2003, **86**: 3088-3095

22 Nishtoba T, Goto S, Sato H, Sadao S. Bitter triterpenoids from the fungus *Ganoderma applanatum* [J]. *Phytochemistry*, 1989, **28** (1): 193-197

23 Komoda Y, Nakamura H, Ishihara S, Uchida M, Kohda H, Yamasaki K. Structures of new terpenoid constituents of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst (Polyporaceae) [J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, **33** (11): 4829-4835

24 Shim SH, Ryu J, Kim JS, Kang SS, Xu Y, Jung SH, LeeYS, Lee S, Shin KH. New lanostane-type triterpenoids from *Ganoderma applanatum* [J]. *J Nat Prod*, 2004, **67**: 1110-1113

25 Yoshikawa K, Nishimura N, Bando S, Arihara S, Matsumura E, Katayama S. New lanostanoids, elfvingic acids A-H, from the fruit body of *Elfvingia applanata* [J]. *J Nat Prod,* 2002, **65**: 548-552

26 Ishizuka T, Yaoita Y, Kikuchi M. Sterol constituents from the fruit bodies of *Grifola frondosa* (FR.) S.F.GRAY [J]. *Chem Pharm Bull*, 1997, **45** (11): 1756-1760

27 杨涛, 刘红娟, 程雪梅, 于富生, 俞桂新, 王长虹. 王峥涛. 刺山柑茎和叶的化学成分研究[J]. 西北药学杂志, 2011, **26** (1): 16-18 [Yang T, Liu HJ , Cheng XM, Yu FS, Chou GX, Wang CH , Wang ZT. The chemical constituents from stems and leaves of *Capparis spinosa* L. [J]. *Northwest Pharm J*, 2011, **26** (1): 16-18]

28 尚小雅, 李帅, 王映红, 王素娟, 杨永春, 石建功. 红绒毛羊蹄甲的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2006, **31** (23): 953-955 [Shang XY, Li S, Wang YH, Wang SJ, Yang YC, Shi J. Chemical constitutents of *Bauhinia aurea* [J]. *China J Chin Materia Med*, 2006, **31** (23): 953-955]

29 卢立明, 宋少江, 武勇, 张林林, 徐绥绪. 哈士蟆卵油化学成分研究(II) [J]. 沈阳药科大学学报, 2002, **19** (1): 25-26 [Lu LM, Song SJ, Wu Y, Zhang LL, Xu SX. Study on the chemical constituents of the ovum oil of *Rana temporaria chensinensis* David(II) [J]. *J Shenyang Pharm Univ*, 2002, **19** (1): 25-26]

30 李晔, 朱忠敏, 姚渭溪, 陈若芸. 灵芝三萜类化合物的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, **37** (2): 165-171 [Li Y, Zhu ZM, Yao WX, Chen RY. Study progress on triterpenoids from *Ganoderma Lucidum* [J]. *China J Chin Mat Med*, 2012, **37** (2): 165-171]

31 Keypour S, Rafati H, Riahi H, Mirzajani F, Moradali MF. Qualitative analysis of ganoderic acids in *Ganoderma lucidum* from Iran and China by RP-HPLC and electrospray ionisation-mass spectrometry (ESI-MS) [J]. *Food Chem*, 2010, **119**: 1704-1708

32 Kim DH, Shim SB, Kim NJ, Jang IS. *β*-Glucuronidase-inhibitory activity and hepatoprotective effect of *Ganoderma lucidum* [J]. *Biol Pharm Bull,* 1999, **22** (2): 162-164

33 Kubota T, Asaka Y, Miura I, Mori H. Structures of ganoderic acid A and B, two lanostane type bitter triterpenes from *Ganoderma lucidum*(Fr.) Karst [J]. *Helv Chim Acta*, 1982, **65** (2): 611-619

34 Cheng CR, Li YF, Xu PP, Feng RH, Yang M, Guan SH, Guo DA. Preparative isolation of triterpenoids from *Ganoderma lucidum* by counter-current chromatography combined with pH-zone-refining [J]. *Food Chem*, 2012, **130**: 1010-1016