

一株产生萘醌类化合物真菌的化学成分研究

沈云修¹, 刘为忠^{1*}, 荣先国¹, 孙贻华²

(1. 滨州医学院 化学教研室, 山东 滨州 256603; 2. 滨州医学院 生化教研室, 山东 滨州 256603)

摘要: 目的 研究菌寄生菌属真菌(*Hypomyces* (Fr.) Tul. sp.) 菌丝体的化学成分。方法 用硅胶柱色谱法进行分离纯化, 根据理化性质和光谱数据进行结构鉴定。结果 从菌丝体中分得两个化合物, 命名为 hypomycin C (I) 和 hypomycin D (II)。结论 I 和 II 均为新化合物。

关键词: 菌寄生菌属真菌; 萘醌类化合物; hypomycin C; hypomycin D; 发酵

中图分类号: R282.71 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2003)11 - 0834 - 04

Studies on the chemical constituents of a fungus producing perylenequinones

SHEN Yun-xiu¹, LIU Wei-zhong^{1*}, RONG Xian-guo¹, SUN Yi-hua²

(1. Department of Chemistry, Binzhou Medical College, Binzhou 256603, China; 2. Department of Biochemistry, Binzhou Medical College, Binzhou 256603, China)

Abstract: **Aim** To study the chemical constituents in the mycelia of *Hypomyces* sp.. **Methods** Silica gel column chromatography was employed for the isolation and purification. Chemical and spectral methods were used to determine the structures of the isolated compounds. **Results** Two compounds were isolated and identified as: hypomycin C (I) and hypomycin D (II). **Conclusion** Compounds I and II are new compounds.

Key words: *Hypomyces* sp.; perylenequinone; hypomycin C; hypomycin D; fermentation

萘醌类化合物在自然界中主要来源于一些真菌的代谢产物, 数目虽然不多, 但是由于其复杂的立体化学特性和诱人的生物活性, 尤其是其光动力活性^[1], 而受到广泛的研究和关注。作者从自然界中采集到一株寄生菌属真菌(Ascomycetes Hypocreaceae *Hypomyces* sp.), 并对其发酵工艺进行了系统研究。目前发酵工艺成熟, 可批量生产菌丝体。前文^[2-5]曾从该菌菌丝体中分离出多种萘醌类化合物。在对其菌丝体化学成分的进一步研究中, 又分得两个化合物。本文报道这两个新的萘醌类化合物的分离和结构鉴定。

化合物 I 橙黄色细针状晶体, 遇碱呈红色, 加酸又变为橙黄色, 有强烈的黄色荧光。¹³CNMR 给出 30 个碳原子信号,¹H NMR 显示 21 个质子信号, EF MS

m/z 548 (M^+)。¹³CNMR 示有 3 个接氧碳 (δ 84.5、81.3 和 δ 79.6), 由 HMBC 可知 δ 81.3 的碳与甲氧基相连, 而¹H NMR 只显示 1 个馒头状的醇羟基 (δ 4.94) 峰, 说明分子中还应有一个醇羟基, 故该化合物的分子式为 $C_{30}H_{22}O_6$ 。UV-vis 光谱与萘醌类化合物相似^[6,7], 但明显紫移, 说明萘醌环的共轭程度降低; 另外, 常见萘醌类化合物的酚羟基氢一般在 δ 15 左右, 萘醌类化合物的醌羰基碳在 δ 181 左右, 而该化合物的 1 个酚羟基氢为 δ 12.72, 1 个醌羰基碳为 δ 197.5, 说明该羰基碳少一共振双键。

在 HMBC 中, δ 3.84 的氢 (H-15) 与 C-1、C-2 和 C-1a 有远程相关, 表明 C-15 (δ 58.0) 与 C-1 相连; δ 3.84 的氢又与 C-16 和 C-12 相关, 结合 δ 1.80 的氢 (17-甲基) 与 C-15、C-16 和 C-12 有相关点, 可确定 C-16 分别与 C-12 和 C-15 相连。由 HMQC 知, δ 2.98 的氢和 δ 1.72 的氢为同碳氢, 在 HMBC 中他们都与

C-12 和 C-12a 相关,确定 C-13 与 C-12 相连。 δ 1.22 的氢(18-甲基)与 C-15, C-14 和 C-13 有相关点,说明 C-14 分别与 C-13 和 C-15 相连,至此可推出 I 的平面结构与前文^[2]报道的 hypomycin A (III) 的平面结构相同。由 NOESY (图 1) 可知, I 的 11-H 与 17-CH₃ 在空间上相近,若 C-11 和 C-16 的构型与 III 中相应碳的构型相反,则由于 11-OCH₃ 在 I 和 III 中与芳环的距离不同,11-OCH₃ 上碳和氢的化学位移在 I 和 III 中将差别较大,而实测数据(表 1)非常接近,故 I 的 C-11 和 C-16 的构型与 III 相同;此外,II 中 11-OCH₃ 上碳和氢的化学位移与 I 和 III 中的差别较大,可进一步确证 I 中 C-11 和 C-16 的构型。I 中 δ 1.22 的氢(18-甲基)与 δ 2.98 的低场氢(13-H_a) 有相关点,而 III 中 δ 0.88 的氢(18-甲基)与 δ 1.84 的高场氢(13-H_a) 相关,可确定在 I 中 C-14 的相对构型与 III 中 C-14 的相对构型相反;另外, I 中 18-甲基的化学位移是 32.3,而 III 中 18-甲基的化学位移为 26.6,说明 18-甲基的空间位置不同;并且 I 中 C-1 (δ 137.8) 和 C-1a (δ 123.6) 的化学位移与 III 中 C-1 (δ 135.9) 和 C-1a (δ 121.8) 的化学位移有较大的差别,

其他碳原子的化学位移则很接近,故可进一步确证 I 的相对立体构型。该化合物为一新化合物,命名为 hypomycin C。

化合物 II 橙红色的片状晶体,遇碱呈红色,加酸又变为橙红色,有强烈的黄色荧光。¹³CNMR 给出 30 个碳原子信号,¹H NMR 有 22 个质子信号,EF MS m/z 548 (M⁺),故该化合物的分子式为 C₃₀H₂₂O₁₀。紫外光谱与 I 和 III 相似;由 HMBC 和 HMQC 推出的平面结构与 III 相同。在 NOESY 中,18-甲基上的氢 (δ 0.96) 与 C-13 上的高场氢 (δ 1.80) 相关,说明 C-14 的相对构型与 III 相同;11-H 与 C-13 上的低场氢 (δ 2.53) 相关,11-甲氧基上的氢与 17-甲基上的氢有相关点,说明 11-甲氧基与 17-甲基在空间上相近,故 C-16 的相对构型与 III 相同,而 C-11 的相对构型与 III 相反。从 II 中 C-10 (δ 195.8)、C-12a (δ 141.6)、C-13 (δ 51.0) 和 11-甲氧基 (δ 55.5) 与 III 中相应碳的化学位移(分别为: δ 197.2、139.6、46.3 和 60.6)相差较大可进一步证明 C-11 的构型是相反的。该化合物为另一新化合物,命名为 hypomycin D。

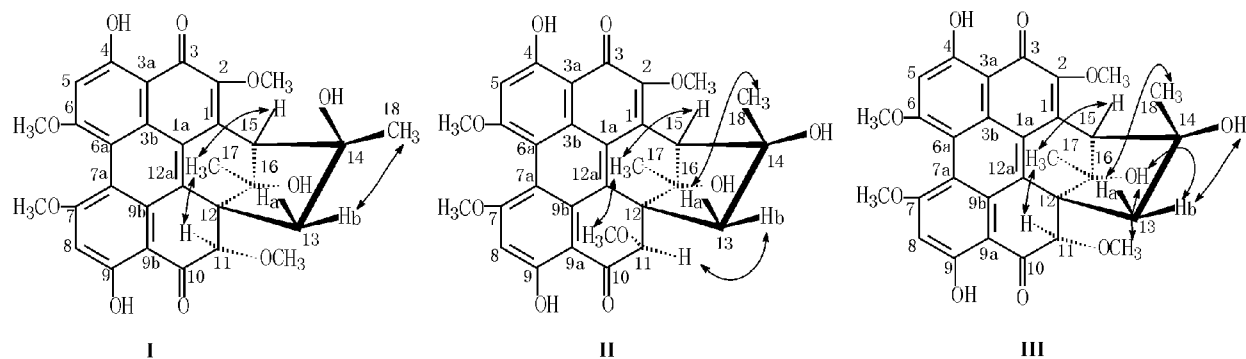


Figure 1 Structures and key NOESY correlations of compounds I, II and hypomycin A (III)

实验部分

XRC-1 型显微熔点测定仪(温度未校正);BioRad FTS-185 型红外光谱仪;岛津 UV-2100 紫外光谱仪;Bruker DRX-500 核磁共振仪;HP-5983A 型质谱仪。薄层色谱和柱色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品。菌寄生菌属真菌(*Hypomyces* sp.)由云南大学生物系杨发蓉教授鉴定。

1 发酵

液体培养基:每 L 马铃薯汁中添加葡萄糖 20 g,蛋白胨 10 g, KH₂PO₄ 1 g, MgSO₄·7H₂O 0.5 g, VB₁ 10 mg。

将菌种接入 PDA 培养基上,在 26 °C 下恒温培养 5 d,备用。在 500 mL 锥形瓶装入液体培养基 150 mL,121 °C 水蒸气灭菌 30 min,冷却后将菌种接入,在旋转式摇床上 26 °C 恒温培养 4 d,转速为 180 r·min⁻¹。

2 提取分离

培养液经纱布过滤,将菌丝体在 60 °C 下烘干,得菌丝体 1.2 kg。以 MeOH 为溶剂避光热提 3 次,减压浓缩得浸膏 220 g。浸膏经硅胶(200~300 目)柱色谱,用 CHCl₃, CHCl₃-MeOH 混和溶剂梯度洗脱。经反复柱色谱,得 I 25 mg, II 30 mg。

Table 1 ¹³CNMR and ¹HNMR data of compounds I ~ III (500 MHz) *

	III		I		II	
	δ _C	δ _H (J in Hz)	δ _C	δ _H (J in Hz)	δ _C	δ _H (J in Hz)
1	135.9		137.8		135.9	
1a	121.8		123.6		121.2	
2	149.6		149.8		148.7	
3	181.2		181.4		180.7	
3a	106.7		106.8		105.8	
3b	124.6		124.9		123.9	
4	169.9		169.9		168.7	
5	99.5	6.77 s	99.5	6.77 s	99.4	6.76 s
6	164.5		164.7		164.9	
6a	112.1		112.4		111.1	
7	164.1		164.1		164.4	
7a	115.4		115.6		114.8	
8	100.3	6.76 s	100.2	6.72 s	100.3	6.75 s
9	165.4		165.4		165.7	
9a	102.4		102.6		101.8	
9b	127.3		127.7		127.8	
10	197.2		197.5		195.8	
11	81.1	4.56 s	81.3	4.50 s	81.5	4.23 s
12	55.4		55.5		55.5	
12a	139.6		139.7		141.6	
13	46.3	H _a 1.84 d(13.5) H _b 2.94 d(13.5)	44.5	H _a 1.72 d(13.1) H _b 2.98 d(13.1)	51.0	H _a 1.80 d(13.2) H _b 2.53 d(13.2)
14	80.5		79.6		79.9	
15	58.2	3.85 s	58.0	3.84 s	60.4	3.78 s
16	85.8		84.5		84.2	
17	20.8	1.26 s	21.8	1.80 s	21.9	1.37 s
18	26.6	0.88 s	32.3	1.22 s	27.4	0.96 s
2-OCH ₃	60.9	4.13 s	61.1	4.09 s	60.5	4.13 s
6-OCH ₃	56.2	4.10 s	56.2	4.06 s	56.7	4.09 s
7-OCH ₃	56.3	4.08 s	56.4	4.05 s	56.8	4.07 s
11-OCH ₃	60.6	3.92 s	60.7	3.88 s	55.5	3.39 s
4-OH		15.19 s		15.17		15.10 s
9-OH		12.71 s		12.72		13.05 s
14-OH		4.83 s				3.48 s
16-OH		5.60 s		4.94		3.84 s

* ¹³CNMR data of compound II were determined in DMSO-d₆, the other data in CDCl₃

3 结构鉴定

化合物 I 橙黄色细针状晶体 (MeOH); mp 245 ~ 248 °C; EI-MS *m/z* (%): 548(10.3), 473(100), 474(30.5), 442(9.5), 427(9.1)。IR (KBr) cm⁻¹: 3 448, 2 931, 1 628, 1 584, 1 437, 1 398, 1 285, 1 213, 1 166, 1 000, 823。UVλ_{max}^{MeOH} nm: 210(4.43), 282(4.48), 395(4.22), 418(4.30), 465(3.82), 498(3.94); ¹HNMR和¹³CNMR数据见表1。

化合物 II 橙红色片状晶体; mp 302 ~ 307 °C; EI-MS *m/z* (%): 548(10.2), 516(100), 485(13.8), 473(58.4), 455(62.6), 441(28.3), 415(29.5), 399(28.6); IR (KBr) cm⁻¹: 3 493, 3 352, 2 934, 1 622,

1 577, 1 483, 1 392, 1 287, 1 205, 1 163, 1 086, 997, 922, 826; UVλ_{max}^{MeOH} nm: 211(4.45), 280(4.51), 396(4.24), 418(4.32), 465(3.83), 497(3.92); ¹HNMR (DMSO-d₃) δ: 15.13 (1H, s, 4-OH), 12.83 (1H, s, 9-OH), 6.98 (1H, s, 5-H), 6.96 (1H, s, 8-H), 4.10 (1H, s, 11-H), 4.10 (3H, s, 2-OCH₃), 4.07 (3H, s, 6-OCH₃), 4.01 (3H, s, 7-OCH₃), 3.60 (1H, s, 15-H), 3.27 (3H, s, 11-OCH₃), 2.41 (1H, d, J = 13.2 Hz, 13-H_a), 1.63 (1H, d, J = 13.2 Hz, 13-H_b), 1.18 (3H, s, 17-H), 0.76 (3H, s, 1-18)。¹³CNMR数据见表1。

化合物 I, II 和 III 以 CHCl₃-MeOH(18:1) 为展开剂时, TLC的 R_f 值分别为: 0.53, 0.36 和 0.76。

References :

- [1] Stefania M, Lucio M, Rosanna M, *et al.* Conformation and tautomerism of hypocrellins. Revised structure of shiraiachrome A [J]. *J Chem Soc Perkin Trans II*, 2001 ,**3**: 409 - 416 .
- [2] Liu WZ, Shen YX, Xie JL, *et al.* A new perylenequinone from *hypomyces* sp. [J]. *Chin Chem Lett*, 2001 ,**12**(5) :431 - 432 .
- [3] Liu WZ, Ma LY, Xie JL, *et al.* Structural elucidation of a new perylenequinone [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2001 ,**36**(4) :313 - 314 .
- [4] Liu WZ, Li WL, Xie JL, *et al.* Studies on the chemical constituents of a fungus producing perylenequinones (I) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2001 ,**31**(9) :771 - 773 .
- [5] Liu WZ, Shen YX, Xie JL, *et al.* Studies on the chemical constituents of a fungus producing perylenequinones (II) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2003 ,**33**(2) : (in press) .
- [6] Lousberg RJJCh, Salemink CA, Weiss U, *et al.* Pigments of *Elsinoe* species. Part II. Structure of elsinochromes A, B, and C [J]. *J Chem Soc (C)*, 1969 ,**7**:1219 - 1277 .
- [7] Kishi T, Tahara S, Taniguchi N, *et al.* New perylenequinones from *Shiraia bambusicola* [J]. *Planta Med*, 1991 ,**57**:376 - 379 .