

粉红粘帚霉化学成分的研究*

王春兰 张集慧** 郭顺星*** 杨峻山 肖培根

(中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所 北京 100094)

摘要: 粉红粘帚霉对名贵药用植物金线莲有明显的促生作用, 为了从物质角度探讨其可能的促生机理, 对该菌的化学成分进行了初步研究。从该菌的菌丝体中共分离到5个化合物, 通过结构解析, 确定它们是: 化合物1, 6, 22-二烯-3-羟基-5, 8-过氧麦角甾; 2, 麦角甾醇; 3, 阿拉伯糖醇; 4, 甘露醇; 另外一个化合物的结构正在鉴定中。

关键词: 粉红粘帚霉, 金线莲, 6, 22-二烯-3-羟基-5, 8-过氧麦角甾, 阿拉伯糖醇

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2001) 04-0024-04

THE STUDY ON THE CHEMICAL CONSTITUENTES FROM *GLIOCLADIUM ROSEUM*

WANG Chun-Lan ZHANG Ji-Hui GUO Shun-Xing YANG Jun-Shan XIAO Pei-Gen

(Institute of Medicinal Plants, Chinese Academy of medical science & PUMC, Beijing 100094)

Abstracts: The chemical constituents of *gliocladium roseum* (called Y) accelerating the growth of famous medicinal plant *Anoectochilus roxburghii* was studied. Five compounds were separated by silica gel column chromatograph from this fungal mycelia and their structures were elucidated by the data of IR, NMR, UV and MS. Compound 1 was 6, 22-diene-3-hydroxy-5, 8-epidioxy ergosta, compound 2 is ergosterol, compound 3 is D-arabitol and compound 4 is mannitol.

Key words: *Gliocladium roseum*, *Anoectochilus roxburghii*, 6, 22-diene-3-hydroxy-5, 8-epidioxy ergosta, D-arabitol

真菌同植物的生长之间有着密切的关系。长期以来, 人们关注真菌对植物造成的病害, 尤其是一些病原真菌对植物的致病机理研究较多, 主要集中在真菌侵入植物后的形态学以及这些病原菌产生毒素物质等方面的研究。事实上, 有些真菌对植物还起着更为重要的有益作用, 例如抵抗病虫害、促进植物生长发育等, 对这些真菌进行深入的研究将具有十分重要的理论价值和现实意义。研究其化学成分则是首要的前提和基础。我们通过对多种植物内生真菌进行筛选, 获得了对珍稀药用植物金线莲 (*Anoectochilus roxburghii*) 生长有显著促进作用的粉红粘帚霉 (*Gliocladium roseum*) 真菌 (简称 Y 菌), 并利用分离、纯化手段及现代光谱技术对该菌的化学成分进行了研究。

* 高等学校全国优秀博士学位论文作者专项资金资助项目 (No. 199950)

Project Granted by Nationwide Excellent Doctor Thesis Special Fund (No. 199950)

** 现在中国科学院微生物研究所工作

*** 通讯联系人

收稿日期: 2000-03-14; 修回日期: 2000-05-30

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种：粉红粘帚霉（Y菌），由本室分离得到。

1.1.2 仪器：红外光谱用 Pekin-Elmer 983G 型红外光谱仪测定，KBr 压片；核磁共振光谱采用 Bruker ARX400 型核磁共振光谱仪测定；MS 采用 AEI MS-50 型质谱仪测定；FAB-MS 由 FAB-MS NBA 型质谱仪及 P-SIMS-NBA 型质谱仪测定；熔点用 X-4 型显微熔点仪（温度计未校正）测定。层析用硅胶为青岛海洋化工厂出品。

1.2 方法

采用摇瓶发酵，获得 Y 菌的发酵液，过滤后得其菌丝体，经干燥并粉碎（干菌丝体共 1074g），用甲醇热回流提取，提取液经减压浓缩，残渣以甲醇和氯仿溶解，可溶物经浓缩后，得稠膏状物 74g。经多次硅胶柱层析，得到化合物 1：5mg；2：7mg；3：450mg；5：70mg；不溶物经甲醇和水重结晶，得到化合物为 4：10.94g。

2 结果与讨论

2.1 化合物 1

白色针状结晶（MeOH），易溶于氯仿，热甲醇等有机溶剂，m.p. 168℃ ~ 170℃，Liebermann-burchard 反应和过氧化物显色反应呈阳性，IR (KBr) cm^{-1} 显示 3400 cm^{-1} ，2960 cm^{-1} ，2880 cm^{-1} 等吸收峰。高分辨质谱显示分子量 428.3280（计算值为 428.3290），分子组成为 $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$ ， $\Omega = 7$ 。由氢谱和碳谱的概貌推测为甾醇类化合物。对照麦角甾醇的氢谱和碳谱，推测其基本架与麦角甾醇相同，如图 1。

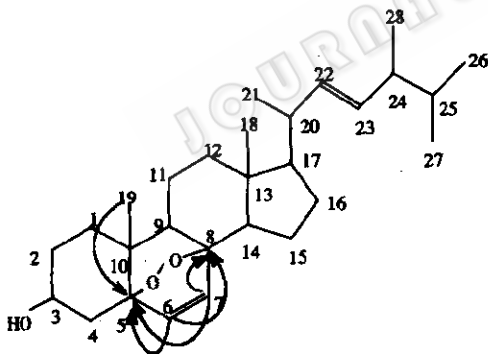


图 1 化合物 1 的结构式

⤵ HMBC 显示的碳氢远程相关关系 H→C

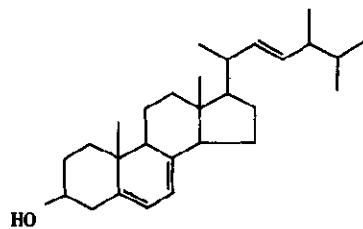


图 2 化合物 2 的结构式

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3 , δ ppm): 0, 81, 0.82, 0.84, 0.90, 0.91, 1.00ppm 处共有 6 个甲基信号峰，其中 δ 为 0.82ppm 为 C-18 位甲基质子单峰，0.89ppm 为 C-19 的甲基质子单峰，0.80, 0.84, 0.91, 1.00 分别为 C_{26} , C_{27} , C_{28} , C_{21} 位的甲基峰， δ 3.98ppm 的质子表明为连氧碳质子。具有侧链双键 C_{22} 、 C_{23} 位上的两个烯氢信号 5.14, 5.22ppm，且为 dd 峰， $J_{15.2\text{Hz}}$, 8.1Hz，以及 15.2Hz, 7.4Hz； δ 6.25ppm (1H, d, $J = 8.6\text{Hz}$) 和 δ 6.51ppm (1H, d, $J = 8.6\text{Hz}$)，为 AB 系统，H-HC_{osy} 表明，这两个质子不与任何质子偶合。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100MHz, CDCl_3 , δ ppm): 共有四个烯碳信号峰，135.4,

132.3 分别为侧链 C_{22} 、 C_{23} 位的碳信号, 130.8, 135.2 为另一组双键, 位于环上。从上述分析, 该化合物的结构中已经确定了四个环以及 2 个双键, 而分子式所确定的不饱和度为 7, 所以分子中应存在有另外一个环。扣除上面所确定的结构部分, 还剩余 2 个氧原子, 这两个氧原子参与了环的形成。碳谱表明, 与氧相连的碳有 3 个, 其中 1 个为 3 位连羟基的碳, 因此推断两个氧原子形成过氧桥, 连接于环上, 所连接的碳化学位移分别为 79.4 和 82.2ppm。质谱也给出了过氧化物的特征裂解, 碎片峰 396 ($M-O_2$)。HMQC 显示与氧桥相连的两个碳没有与任何质子相关, 为两个季碳。HMBC 上反映出环上烯氢与这两个碳之间有相关点, 同时 82.2ppm 的碳与 19 位角甲基之间有远程偶合。综上所述, 确定过氧桥连接在 B 环的 C_5 , C_8 位间, 同时环上双键位于 C_6 , C_7 位。该化合物的结构定为 6, 22-二烯-3-羟基-5, 8-过氧麦角甾, 与文献^[1,4]对照一致。

化合物 1 的其它实验数据如下: EI-MS: m/z : 428 (M^+), 410 (M^+-H_2O), 396 (M^+-O_2), 253 ($M^+-O_2-SC-H_2O$)。分子式 $C_{28}H_{44}O_3$ 。 ^1H-NMR (400MHz, $CDCl_3$, δ ppm), 6.51 (1H, d, $J=8.6Hz$, 7-H), 6.25 (1H, d, $J=8.6Hz$, 6-H), 5.22 (1H, dd, $J=15.2, 7.4Hz$, 23-H), 5.14 (1Hdd, $J=15.2, 8.1Hz$, 22-H), 3.98 (1H, m, 3-H), 1.00 (3H, d, $J=5.2Hz$, 21-H), 0.91 (3H, d, $J=6.8Hz$, 28-H), 0.90 (3H, s, 19-H), 0.84 (3H, d, $J=6.7Hz$, 27-H), 0.82 (3H, s, 18-H), 0.81 (3H, d, $J=6.7Hz$, 26-H), 其 $^{13}C-NMR$ 的数据归属如表 1 所示。

表 1 化合物 1, 2 的 $^{13}C-NMR$ 数据

C	δ ppm		C	δ ppm		C	δ ppm		C	δ ppm	
	化合物 1	化合物 2		化合物 1	化合物 2		化合物 1	化合物 2		化合物 1	化合物 2
1	34.7	38.3	8	79.4	141.4	15	23.4	23.0	22	135.2	135.5
2	30.1	32.0	9	51.1	46.2	16	28.7	28.3	23	132.3	131.9
3	66.5	70.4	10	36.9	37.0	17	56.2	55.7	24	42.8	42.9
4	37.0	40.8	11	20.6	21.2	18	12.9	12.0	25	33.1	33.0
5	82.2	139.7	12	39.3	39.0	19	18.2	17.6	26	19.6	19.6
6	135.4	119.5	13	44.6	42.8	20	39.7	40.4	27	20.0	19.9
7	130.7	116.2	14	51.7	54.5	21	20.9	21.1	28	17.6	16.2

2.2 化合物 2

白色片状结晶, 易溶于氯仿, 分子式 $C_{28}H_{44}O$ 。mp.: 155°C-157°C, EI-MS: m/z : 396 (M^+), 378 (M^+-H_2O), 363 ($M^+-H_2O-CH_3$, 基峰), 337 ($M^+-H_2O-CH_3-C_2H_5$), 271 ($M-SC$), 253 (M^+-SC-H_2O), 239 ($M^+-H_2O-SC-CH_3$), 此外还有碎片峰 227、211、171、157、143。 ^1H-NMR (400MHz, $CDCl_3$, δ ppm): 5.58 (1H, m, 7-H), 5.39 (1H, m, 6-H), 5.21 (1H, dd, $J=15.2, 7.0Hz$, 23-H), 5.20 (1H, d, $J=15.2, 7.6Hz$, 22-H), 3.64 (1H, m, 3-H), 1.04 (3H, d, $J=6.6Hz$, 21- CH_3), 0.95 (3H, s, 19- CH_3), 0.92 (3H, d, $J=6.6Hz$, 28- CH_3), 0.85 (3H, d, $J=6.4Hz$, 27- CH_3), 0.83 (3H, d, $J=6.5Hz$, 26- CH_3), 0.63 (3H, s, 18- CH_3)。与文献报道的麦角甾醇数据一致^[3,6]。

其¹³C-NMR的数据归属如表1所示。其结构式如图2所示。

2.3 化合物3

白色针状结晶 (MeOH), 易溶于水、热甲醇, mp: 102℃ ~ 103℃, $[\alpha]_D^{20}$ -5.4。IR (KBr) cm^{-1} : 3330, 2950, 1450, 1320, 1090, 1040, 1005, 860, 700cm^{-1} 等峰。FAB表明: 151的 (M-1) 峰, 303为二聚体 (2M-1), 结合¹H-NMR, ¹³C-NMR推断该化合物分子量为152, 分子式为 $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}_5$, 为多元醇类化合物。¹³C-NMR (100 MHz, D_2O , δppm) 上有五个碳信号, 化学位移为73.4, 72.9, 72.8以及65.5, 65.4 (DEPT谱显示这两个峰为倒峰), 表明为 $-\text{CH}_2-$, ¹H-NMR (400MHz, D_2O , δppm) 表明化学位移为3.5 ~ 3.9ppm, 确定该化合物为阿拉伯糖醇, 以上数据与文献报道的D-阿拉伯糖醇的数据一致^[2,4]。

2.4 化合物4

白色针晶, 易溶于 H_2O , 热 MeOH。mp: 166℃ ~ 168℃, PFAB: 183 (M + 1)⁺, M.W 为 182, EI-MS: 165 (M + 1- H_2O)⁺, 133, 115。其分子式为 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 。¹H-NMR: (400MHz, D_2O , δppm): 3.85 (1H, dd, J = 11.7Hz, 2.6Hz), 3.72 (2H, m), 3.65 (1H, dd, J = 11.7Hz, 6.0Hz), ¹³C-NMR: (100MHz, D_2O , δppm): 73.4, 71.8, 65.7。与文献报道的D-甘露醇数据一致^[4,5]。

参 考 文 献

- [1] Leslie Gunatilaka A A, Gopichand Y, Schmitz F J, *et al.* J. org chem 1981, 46: 3860-3866.
- [2] Jeanette G G, William R. Atlas of spectral data and physical constants for organic compounds. Vol. II, 2nd. CRC Press, 1975, 185.
- [3] 姜宏哲, 何蛟青. Chemistry. 1990, 48 (4): 253-258.
- [4] 肖永庆, 刘黎明, 廖唯唯. 中药通报, 1983, 8 (2): 32-33.
- [5] 于德泉, 杨峻山, 谢晶曦编. 分析化学手册, 第五分册, 核磁共振波谱, 北京: 化学工业出版社, 1989, 823
- [6] 余克光, 陈若云, 姚志熙. 中草药, 1983, 14 (10): 438-439, 437.