黄海葵附生真菌 *Penicillium thomii* 的化学成分

蒋 亭[1] , 田 黎[2] , 郭爱华[1] , 付宏征[1] , 裴月湖[3] , 林文翰[1*]

(1 . 北京大学天然药物及仿生药物国家重点实验室 , 北京 100083 ; 2 . 国家海洋局第一海洋研究所生物活性物质重点实验室 , 山东 青岛 266003 ; 3 . 沈阳药科大学天然药物化学教研室 , 辽宁 沈阳 110015)

摘要 : 目的 研究黄海葵(*anemone*) 附生真菌 *Penicillium thomii* 的化学成分 。方法 用各种色谱技术进行分离纯化 ,根据理化性质和波谱数据进行结构鉴定 。结果 从黄海葵附生真菌 *Penicillium thomii* 菌丝体中分离得到 5 个化合物 ,分别为青霉𫓧酮 A(**I**) ,对甲基苯甲酸(**II**) ,1- *O*-十六碳烷酰-2- *O*-(9-十八碳烯酰)-3- *O*-(9 ,12-十八碳二烯酰) 甘油酯(**III**) ,5α ,8α-环二氧-24ζ-甲基胆甾-6 ,22-二烯-3β-醇(**IV**) 和大黄素(**V**) 。结论 青霉𫓧酮 A(**I**) 为新化合物 ,化合物 **II** ,**III** ,**IV** 和 **V** 系首次从该属中分离得到 。

关键词 : 真菌 ; 青霉属 ; 青霉𫓧酮 A

中图分类号 : R284 .1 ; R284 .2 文献标识码 : A 文章编号 : 0513 - 4870(2002) 04 - 0271 - 04

从黄海葵(*Anthopleura xanthogrammica*) 附体中分离纯化得到一株真菌 ,鉴定为 *Penicillium thomii* 。前文[1]已报道了从其上清液中分离并已鉴定 4 个已知化合物 。我们以抗真菌活性筛选为导向 ,从菌丝体中又分离得到 5 个有机化合物 :青霉𫓧酮 A(**I**) ,对甲基苯甲酸(**II**) ,1- *O*-十六碳烷酰-2- *O*-(9-十八碳烯酰)-3- *O*-(9 ,12-十八碳二烯酰) 甘油酯(**III**) ,5α ,8α-环二氧-24ζ-甲基胆甾-6 ,22-二烯-3β-醇(**IV**) 和大黄素(**V**) 。本文报道其中的新化合物青霉𫓧酮 A(**I**) 的分离和结构解析 。

化合物 **I** 黄色固体 , mp 235 ~ 237 ℃ ,$[\alpha]_D^{25}$ - 2.201(c 0.25 , Me_2CO) , $FeCl_3$ 反应阳性 ,提示分子中含有酚羟基 。由 HRESI-MS 确定分子式为 $C_{32}H_{30}O_{14}$[m/z :639.1711 ,(M^+ +1) ,计算值 :639.1708] ,不饱和度为 18 。^{1}H 和 ^{13}CNMR 谱中出现的信号峰皆为积分值和丰度相近的对峰 ,推断该化合物为两结构相近片断的偶联 。^{1}HNMR 谱中存在两对活泼氢信号 δ:13.76(s ,1 H) ,13.71 (s ,1 H) ,11.65 (s ,1 H) 和 11.39(s ,1 H) ;两对 AB 偶合芳环质子 δ:7.81 (d ,J = 8.7 Hz ,1 H) ,6.63(d ,J = 8.7 Hz ,1 H) 和 δ:7.50 (d ,J = 8.7 Hz ,1 H) ,6.61 (d ,J = 8.7 Hz ,1 H) ;1 对甲氧基信号 δ:3.73(s ,3 H) 和 3.68 (s ,3 H) ;1 对甲基信号 δ: 1.19(d ,J = 6.6 Hz ,3 H) 和 δ:1.12(d ,J = 6.0 Hz ,3 H) ; 1 对羟次甲基信号 δ:3.94(d ,J = 10.8 Hz ,1 H) 和 3.84 (d ,J = 10.8 Hz ,1 H) 。此外 ,高场区含 6 个脂肪质子信号 δ:2.28 ~ 2.75(m ,6 H) 。^{13}CNMR 和 DEPT 谱提示该化合物有 18 个季碳信号 ,分别为 δ:187.18(s) , 187.11(s) ,177.66(s) ,177.29(s) ,170.30(s) ,170.12 (s) ,161.71 (s) ,159.33 (s) ,158.26 (s) ,155.25 (s) , 115.42(s) ,118.01 (s) ,107.47(s) ,106.95(s) ,101.65 (s) ,101.47(s) ,84.90(s) ,84.83(s) ;8 个叔碳信号 δ: 140.69(d) ,140.65(d) ,110.41 (d) ,107.37(d) ,76.81 (d) ,76.61(d) ,29.28(d) 和 29.06(d) ;2 个仲碳信号 δ:36.24(t) 和 36.20(t) ;4 个甲基信号 δ:53.29(q) , 53.21(q) ,18.01 (q) 和 17.92(q) 。HMQC 谱进一步归属了上述质子和与质子相连接碳信号的化学位移 (表 1) 。

HMQC 谱归属芳香质子 δ:7.81 (d ,J = 8.7 Hz ,3-H) 与 δ:6.63(d ,J = 8.7 Hz ,4-H) 对应碳的化学位移信号为 δ:140.69(d ,C-3) 和 107.37(d ,C-4) 。HMBC 谱表明 ,3-H 分别与季碳 δ:158.26(s ,C-4a) 和 159.33 (s ,C-1) 远程相关 ;4-H 与 δ:158.26(s ,C-4a) ,106.95 (s ,C-9a) ,118.01 (s ,C-2) 以及与不饱和酮羰基 δ: 187.18(s ,C-9) 信号偶合相关 ,推定芳环的 C-1 ,C-2 , C-4a ,C-9a 位被基团取代 ;活泼质子 δ:11.65(s ,1 H) 与 δ:159.33(s ,C-1) ,106.95(s ,C-9a) ,118.01 (s ,C-2) 碳信号相关 ,表明一酚羟基取代在该芳环的 C-1 位 。

^{1}H-^{1}H COSY 谱中 ,质子 δ:2.43(m ,6-H) 分别与质子 δ:3.94(d ,J = 10 Hz ,5-H) ,偕二质子 δ:2.28 (dd ,J = 18.6 ,6.0 Hz ,7a-H) 和 2.75(dd ,18.6 ,10.2 ,

收稿日期 : 2001-09-17 .

基金项目 : 国家自然科学基金资助项目(40176038 ,29932030) .

作者简介 : 蒋 亭(1974 -) ,男 ,博士生 ;

林文翰(1960 -) ,男 ,博士 ,教授 ,博士生导师 .

* 通讯作者 Tel :(010) 62062210 , Fax :(010) 62092724 ,

E-mail :whlin @mail .bjmu .edu .cn

7b- H) 以及仲甲基 δ:1.19(d ,J = 6.6 Hz ,11- H) 偶合相关 ;HMQC 谱归属了该结构片断的对应碳信号分别为 δ:76.61(d ,C-5) ,29.28(d ,C-6) ,36.24(t ,C-7) 和 18.01(q ,C-11) 。HMBC 谱中 ,活泼质子 δ:13.76(s ,8- OH) 与烯碳 δ:177.66(s ,C-8) 和 101.65(s ,C-8a) ,并与 δ:36.24(t ,C-7) 远程相关 ,与 δ:187.18(s ,9- C = O) 有很弱的相关信号 ;5- H 分别与 δ:84.90(s ,C-10a) ,170.30(s ,12- C = O) ,C-6 ,C-7 ,C-11 偶合相关 。甲氧基 δ:3.73(s ,13- OCH_3) 与 δ:170.30(s ,12- C = O) 相关表明结构中含羧甲酯基团 。根据上述波谱分析推断 **I** 含结构片断 A(图 1) 。该结构片断与已知化合物 terahydroxanthone A- A[2] 中的结构片断及其波谱数据相似 。综合 ^{1}H-^{1}H COSY ,HMQC 和 HMBC 谱的分析推断 ,**I** 的另一结构片断 B 与 A 类同 。HMBC 谱提示 ,片断 B 的芳香质子 δ:7.50(d ,J = 8.7 Hz ,3′- H) 与 δ:161.71(s ,C-1′) ,δ:118.01(s ,C-2) 和 δ:155.25(s ,C-4a′) 偶合相关 ,但酚羟基 δ:11.39(s ,OH-1′) 与 δ:110.41(d ,C-2′) ,161.71(s ,C-1′) 和 δ:107.47(s ,C-9a′) 偶合相关 ,提示该酚羟基取代于 C-1′ 位 。故推断结构 B 如图 1 所示 。进一步分析 HMBC 谱发现 ,3- H 与 C-4′ ,3′- H 与 C-2 间存在偶合相关点 ,表明片断 A 和 B 通过 C-4′ 和 C-2 的碳-碳相连接 。因此 ,确定 **I** 的化学结构如图 2 所示 。

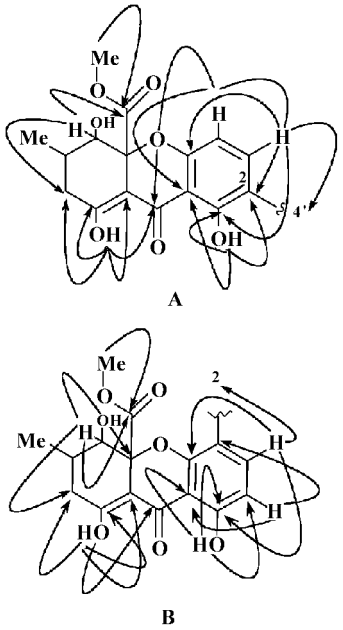

Figure 1 The key HMBC correlation of moieties A and B

化合物 **I** 的立体构型通过 NOSEY 谱以及与已知化合物 terahydroxanthone A- A[2] 进行碳谱数据比较确定 。NOSEY 谱中 ,5- H (δ 3.94) 与甲基 11- H (δ1.19) 有 NOE 相关 ,但与甲氧基 13- H 无 NOE 偶合相关 ,提示 5- H 和 6- CH_3 为 β- 构型 ,羧甲基基团为 α- 构型 。同样 ,NOESY 谱出现 5′- H 与甲基 11′- H 的偶合相关峰 ,未出现 5′- H 与羧甲基 13′- H 的相关峰 ,判断 5′- H 和 11′- H 为 β- 构型 ,羧甲基基团为 α- 构型 。此外 ,**I** 的 C-10a ,C-10a′ ,C-5 ,C-5′ 和 C-6 ,C-6′ 位碳的化学位移与化合物 terahydroxanthone A- A 对应结构片断的波谱数据差距甚微 ,且 terahydroxanthone A- A 的构型经 X- ray 方法确定 ,进一步确证了 **I** 的立体结构如图 2 所示 。^{1}H 和 ^{13}CNMR 数据归属见表 1 。

Table 1 NMR spectral data of compound I (acetone- d_6)

No.	C δ_C	H δ_H	H long range correlated C	H correlated H
1	159.33(s)		1- OH ,3- H	
2	118.01(s)		1- OH ,4- H ,3′- H	
3	140.69(d)	7.81(d ,8.7)		4- H
4	107.37(d)	6.63(d ,8.7)		3- H
5	76.61(d)	3.94(d ,10.8)	6- H ,7- H ,11- H	6- H
6	29.28(d)	2.43(m)	5- H ,7- H ,11- H	5- H ,7- H ,11- H
7a	36.24(t)	2.28(m)	8- OH ,11- H	6- H
7b		2.75(m)		
8	177.66(s)		8- OH ,7- H ,11- H	
9	187.18(s)		8- OH ,4- H	
11	18.01(q)	1.19(d ,6.6)	5- H ,6- H	6- H
12	170.30(s)		5- H ,13- H	
13	53.29(q)	3.73(s)		
4a	158.26(s)		3- H ,4- H	
8a	101.65(s)		8- OH ,7- H	
9a	106.95(s)		1- OH ,4- H	
10a	84.90(s)		5- H	
1- OH		11.65(s)		
8- OH		13.76(s)		
1′	161.71(s)		1′- OH ,2- H ,3- H	3′- H
2′	110.41(d)	6.61(d ,8.7)	1′- OH	2′- H
3′	140.65(d)	7.50(d ,8.7)		
4′	115.42(s)		3- H ,2′- H	6′- H
5′	76.81(d)	3.84(d ,10.8)	6′- H ,7′- H ,11′- H	5′- H ,7′- H ,11′- H
6′	29.06(d)	2.42(m)	5′- H ,7′- H ,11′- H	6′- H
7a′	36.20(t)	2.33(m)	8′- OH ,11′- H	
7b′		2.71(m)		
8′	177.29(s)		8′- OH ,7′- H ,11′- H	
9′	187.11(s)		8′- OH	6′- H
11′	17.92(q)	1.12(d ,6.0)	5′- H ,6′- H	
12′	170.12(s)		5′- H ,13′- H	
13′	53.21(q)	3.68(s)		
4′a	155.25(s)		3′- H	
8′a	101.47(s)		8′- OH ,7′- H	
9′a	107.47(s)		1′- OH ,2′- H	
10′a	84.83(s)		5′- H	
1′- OH		11.39(s)		
8′- OH		13.71(s)		

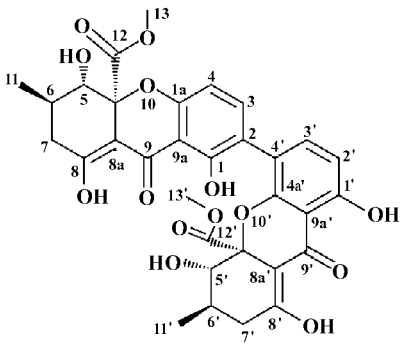

Figure 2 Structure of the compound **I**

实 验 部 分

熔点用 XT4A 型显微熔点测定仪测定,温度未校正;比旋光用 WZZ-15 自动旋光仪测定;质谱用 ZAB-HS 型质谱仪测定;核磁共振用 Varian-500 MHz 及 Varian-300 MHz 型核磁共振仪测定,TMS 为内标,Acetone-d_6, DMSO-d_6 及 $CDCl_3$ 为溶剂;红外光谱用 Perking-Elmer-559B 型测定(KBr 压片)。色谱用硅胶系青岛海洋化工厂产品,所用溶剂均为分析纯,由北京化工厂生产。真菌菌株由国家海洋局第一海洋研究所生物活性物质重点实验室提供,菌种由国家海洋局第一海洋研究所田黎教授鉴定,并保留在国家海洋局第一海洋研究所生物活性物质重点实验室。其宿主为黄海葵(*Anthopleura xanthogrammica*),菌种培养发酵采用人工海水 PDA 培养液,置转速 150 $r\cdot min^{-1}$ 震荡器 25 ℃培养 6 d。

1 提取与分离

菌种(*Penicillium thomii*)菌丝体(湿重 42 g)用 Me_2CO 2.5 L 动态提取 3 次(24 h/次),合并 Me_2CO 萃取液减压回收 Me_2CO 得浸膏 13.6 g,经 VLC 硅胶柱色谱(200 ~ 300 目),$CHCl_3$-MeOH 梯度洗脱得 Fr 1 ~ 10,其中 Fr 1(5.66 g)经多次常压硅胶柱色谱(100 ~ 200 目)得化合物 **III**(3.30 g), **IV**(14.5 g);Fr 9 (313 mg)经常压硅胶柱色谱(100 ~ 200 目),C_6H_{14}-Me_2CO(8∶1)洗脱得 Fr 1, Fr 2,Fr 1(30 mg)经常压硅胶柱色谱(100 ~ 200 目),石油醚-Me_2CO(8∶1)洗脱最后经石油迷-Me_2CO 重结晶得化合物 **V**(6.7 mg);Fr 2(280 mg)经多次常压硅胶柱色谱(100 ~ 200 目)得化合物 **I**(5.5 mg)及 **II**(5.0 mg)。

2 结构鉴定

化合物 **I** 黄色固体,mp 235 ~ 237 ℃,$[\alpha]_D^{25}$ - 2.201(c 0.25, Me_2CO),$FeCl_3$ 反应阳性,FAB-MS (positive):639$(M+H)^+$,579,288,151;NMR 数据见表 1。

化合物 **II** 无色晶体,溴甲酚绿反应阳性。mp 180 ~ 183 ℃,^{1}HNMR(DMSO-d_6) δ:7.87(2H,d,J = 8.7 Hz),7.67(2H,d,J = 8.7 Hz),2.08(3H,s),10.25(1H,br s),^{13}CNMR(DMSO-d_6) δ:143.25(s),130.36(d),128.01(s),18.00(d),168.85(s),24.00(q)。

化合物 **III** 白色固体,^{1}HNMR($CDCl_3$) δ:4.14 (dd,J = 11.4,5.4 Hz,1b,3b-H),4.29(dd,J = 11.4,4.5 Hz,1a,3a-H),5.30(m,2-H),2.78(m,11‴-H),2.30(t,J = 7.5 Hz,2′,2″,2‴-H),2.03(m,8″,11″,8‴,14‴-H),1.61(m,3′,3″,3‴-H),0.89(m,16′,18″,18‴-H);^{13}CNMR($CDCl_3$) δ:61.97(C-1,3),68.82(C-2),173.02(C-1′,1″),172.60(C-2′),130.04(C-9″),129.85(C-10″),129.85(C-9‴),129.56(C-10‴),127.97(C-12‴),127.82(C-13‴),34.05(C-2′,2″,2‴),31.83(C-14′,16″,16‴),27.11(C-8″,11″,8‴,14‴),22.57(C-15′,17″,17‴),13.97(C-16′,18″,18‴);EI-MS:856(M^+),601,577,394,265,239,263,149,95,81,69。以上理化性质与及波谱数据与文献[3]基本一致。

化合物 **IV** 白色固体,Liebermann-burchard 反应阳性,mp 177 ~ 180 ℃。^{1}HNMR($CDCl_3$) δ:3.96(m,3-H),6.23(d,J = 8.7 Hz,6-H),6.50(d,J = 8.7 Hz,7-H),0.80(3H,s,18-H),0.88(3H,s,19-H),1.00(d,J = 6.6 Hz,21-H),5.22(dd,J = 15.3,8.4 Hz,22-H),5.14(dd,J = 15.3,8.4 Hz,23-H),0.83(6H,d,J = 6.6 Hz,26,27-H),0.90(3H,d,J = 6.6 Hz,28-H);^{13}CNMR($CDCl_3$) δ:135.39,135.17,132.29,130.67,82.11,79.38,66.34,56.20,51.66,51.82,44.52,42.74,39.63,39.32,36.91,34.69,33.01,31.39,30.06,28.56,23.36,20.82,20.57,19.87,19.59,18.13,17.49,12.83;EI-MS:428(M^+),411,396(基峰),379,365,337,251,221,107,91,69,55,42。以上理化性质与及波谱数据与文献[4]基本一致。

化合物 **V** 橙黄色针状结晶,$FeCl_3$ 反应阳性。mp 253 ~ 256 ℃,^{1}HNMR(Acetone-d_6) δ:7.50(1H,br s,5-H),7.08(1H,br s,7-H),7.20(1H,d,J = 2.1 Hz,4-H),6.6(1H,d,J = 2.1 Hz,2-H);^{13}CNMR(Acetone-d_6) δ:165.91(C-1),108.64(C-2),165.91(C-3),109.69(C-4),121.42(C-5),149.45(C-6),124.80(C-7),162.90(C-8),191.54(C-9),182.25(C-10),134.12(C-11),114.35(C-12),110.12(C-13),136.45(C-14),

21.10(C-15) 。以上理化性质与及波谱数据与文献[5]基本一致。

REFERENCES:

[1] Jiang T, Tian L, Lin WH, *et al*. Chemical constituents from *Anemona* associated marine fungus *Penicillium sp* [J]. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物), 2001 ,**3** :40 - 42 .

[2] Ituso K, Lo CV. Biosynthetic relations among the secalonic acids isolations of emidin, endocroin and secalonic acids from *Pyrenochaeta terrestris* and *Asperigillus aculeatus* [J]. *J Antibiot*, 1979 ,**32**(11) :1256 - 1260 .

[3] Fu HZ, Zhang LH, Lin WH. Chemical constituents from Chinese *Anthopleura xanthogrammica* Berkly (2) [J]. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物), 1998 ,**18**(3) :13 - 16 .

[4] Chun NL, Shih HK, Shen JW. Steriods of formosan *Ganoderm amboinense* [J]. *Phytochemistry*, 1993 ,**32** (6) : 1549 .

[5] Jiang JW, Xiao QS. *The Handbook of Bioactive Medicinal Plants* (植物药有效成分手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House. 1986 .384 - 385 .

CHEMICAL CONSTITUENTS FROM MARINE FUNGUS *PENICILLIUM THOMII*

JIANG Ting[1], TIAN Li[2], GUO Ai-hua[1], FU Hong-zheng[1], PEI Yue-hu[3], LIN Wen-han[1]

(1. *National Research Laboratories of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University, Beijing 100083, China*;
2. *First Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Qingdao 266061, China*;
3. *Department of Phytochemistry, Shenyang Pharmaceutical Univerity, Shenyang 110015, China*)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the bioactive constituents from the mycelium of *Penicillium thomii*. Which isolated from *Anemone* collected in Qingdao beach. **METHODS** The constituents were separated by using various chromatography and the structures were identified on the basis of extensive spectral analysis. **RESULTS** Five compounds, namely penicillixanthone A (**I**), *p*-methylbenzolic acid (**II**), 1-*O*-hexadecanoyl-2-*O*-(9-octadecenoyl)-3-*O*-(9,12-octadecadienoyl) glycerol (**III**), 5α,8α-epidioxy-24ζ-methylcholesta-6,22-dien-3β-ol (**IV**) and 1,6,8-trihydroxyl-3-methyl-9,10-anthracenedione (**V**), were isolated from the mycelium of *Penicillium thomii*. **CONCLUSION** Penicillixanthone A is a new compound, while the others are isolated from *Penicillium thomii* for the first time.

KEY WORDS: fungus; *Penicillium thomii*; penicillixanthone A