

一种微生物产物曲霉素 $C_9H_{12}O_4$ 晶体和分子结构*

林新坚 张伟光 陈济琛 谢新东 郑时利

(福建省农科院土壤肥料研究所,福州 350013)

摘 要: 本文从一种微生物代谢产物中分离到一种曲霉素 $C_9H_{12}O_4$, 采用 2 D NMR、IR、MS 和元素分析等手段对此化合物进行了结构表征, 推导出其化学结构, 并通过 X-晶体衍射测定进一步肯定了上述结论。分子式为 $C_9H_{12}O_4$, 分子量 184.21, 为斜方晶系, 空间群为 $P2_12_12_1$ 。晶胞参数: $a=4.422(4)$ 、 $b=14.266(7)$ 、 $c=14.944(6)\text{\AA}$, $V=943(2)\text{\AA}^3$, $Z=4$, $\mu=0.96/\text{cm}$, $D_c=1.31\text{g}/\text{cm}^3$, $F_{(000)}=400$, 最终偏差因子 $R=0.0491$, $R_w=0.059$ 。

关键词: 曲霉素; 微生物代谢产物; 晶体; $C_9H_{12}O_4$

Crystal and Molecular structure of Aspergillin $C_9H_{12}O_4$ from a Metabolite of Microorganism

Lin Xinjian, Chen Jichen, Xie Xindong, Zhen Shili and Liu Zhongzhu

(Institute of soil and Fertilizer, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, 350013)

Abstract: The molecular structure of aspergillin $C_9H_{12}O_4$ from a microorganism metabolite has been determined by NMR, IR, MS, element analysis methods and x-ray diffraction method. The molecular weight was 184.21. The crystal was a monoclinic type. The space group was $P2_12_12_1$. With the parameters of $a=4.422(4)$, $b=14.266(7)$, $c=14.944(6)\text{\AA}$, $V=943(2)\text{\AA}^3$, $Z=4$, $\mu=0.96/\text{cm}$, $D_c=1.31\text{g}/\text{cm}^3$, $F_{(000)}=400$. The final deviate factor was $R=0.0491$, $R_w=0.059$.

Key Word: Aspergillin; Microorganism metabolite; Crystal structure

曲霉素是由某微生物产生的一种弱广谱抗菌素和抗肿瘤的物质^[1~5], 它首先由 Mills 和 Turner 从 *Aspergillus melleus* 菌株的发酵液中分离到^[3], 而后相继从 *A. nidulans*, *A. chraeus wilhelm*^[4]等菌株分离到, 多采用核磁共振仪分析其结构特征, 其中仅 Mary J. Garson 等用 X-晶体衍射证明此结构^[1], 并将天然产物命名为 3-(1', 2'-环氧正丙基-5-6 双氢-5 羟基-6 甲基-吡喃-2-酮[3-(1', 2' eponypropyl)-5-6-dihydro-5-hydroxy-6-methylpyran-2-one]。但国内尚未见过报道, 为此, 本文旨在用 2D NMR (^1H , ^{13}C , C-Hcosy, H-Hcosy, C-H 远程相关 HMBC Dept), IR, MS 和元素分析等手段对该物质进行化学结构归属和表征, 通过 X-晶体衍射测定进一步证明上述结论。

1 材料与方 法

1.1 代谢产物分离 菌株在 28℃ 静止培养 12~14 d, 500 ml 三角瓶装下述培养液 100 ml。培养基: 马铃薯 100 g, 葡萄糖 20 g, 水 1000 ml, pH 自然。培养毕过滤, 上清液浓缩, 乙酸乙

酯萃取，140~200 目硅胶柱层析，获得结晶。

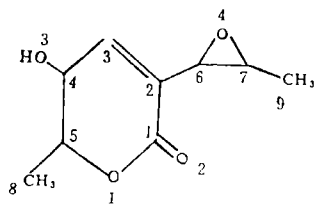


图1 分子结构

Fig. 1 The molecular structure

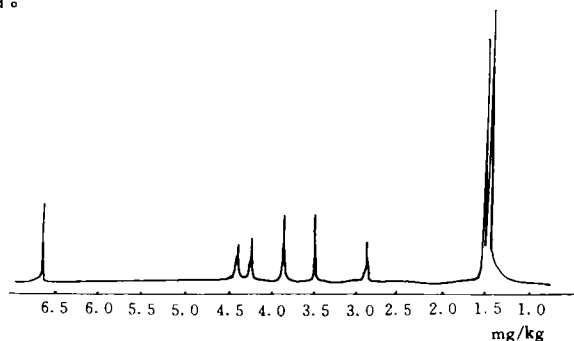


图2 H-NMR 谱

Fig. 2 H-NMR diagram

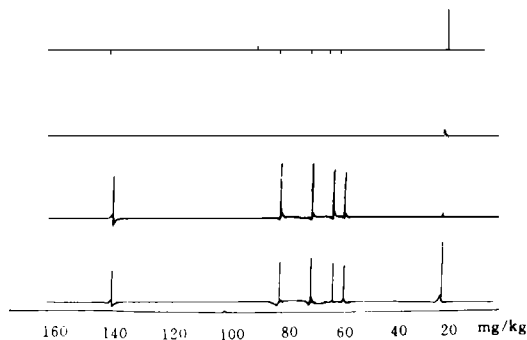


图3 DEPT-135 去偶谱

Fig. 3 DEPT-135 diagram

1.2 仪器 NMR 用 Bruker AM-400 型，TMS 为内标， $CDCl_3$ 作溶剂，温度 $22^\circ C$ ， 1H : 400MHz， ^{13}C : 125Hz，探头 PFG 三共振， 1H { $^{13}C/^{15}N$ } 变温探头，IR 用 Nicolet-170 DXFXT-IR 型测定，KB 压片。EIMS 用 VG7070E 双聚焦仪测定。元素分析用 PE-240 型元素分析仪。

1.3 晶体结构测定 晶体衍射数据用 Enraf-Nonius CAD₄ 单晶四圆衍射仪收集。X-射线管电压 50 KV，20 mA，用经石墨单色器单色化的 $MoK\alpha$ 射线 ($\lambda=0.71073\text{\AA}$) 以

$W/2\theta$ 方式扫描，在 $1 \leq \theta \leq 27$ 范围内收集到 1257 个独立衍射点。结构计算程序：TEXSAN，计算机：Micro VAX-3100。晶体属斜方晶系，空间群为 $P2_12_12_1$ ，晶胞参数为： $a=4.422(4)$ ，

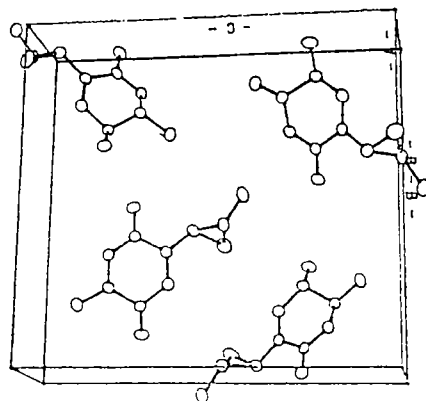


图4 空间构型

Fig. 4 The spatial structure of molecular $C_9H_{12}O_4$

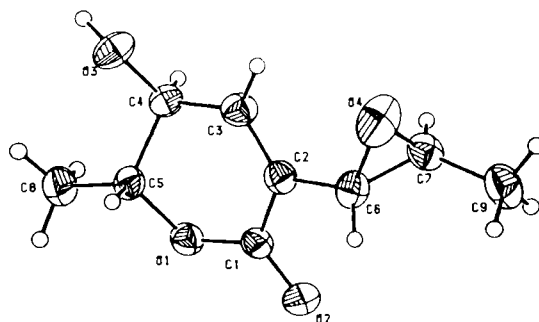


图5 晶胞结构

Fig. 5 The structure of crystal cell

b=14.266(7), c=14.944(6)Å, V=943(2)Å³, Z=4, μ =0.96/cm, D_c=1.31 g/cm³, F₍₀₀₀₎=400, 最终偏差因子 R=0.0491, R_w=0.059, 最大透过率和最小透射率分别为 1.0 和 0.5783。

2 结果与讨论

2.1 从微生物代谢产物中分离到的物质 C₉H₁₂O₄, m.p 为 105~110℃(有的报道 109~112℃)^[4], 溶于水, 易溶于乙酸乙酯。IR 光谱表明, 在 3475/cm 处有很强的-OH 吸收峰, 在 2980/cm、1710/cm 和 1670/cm 处分别为 CH₃(C-H), c=O 和 c=c 特征伸缩振动。EIMS 获得分子离子峰 m/z 184 和元素分析结果一致。采用 2 D NMR 方法推断该物质的化学结构见图 1。

该结构与 Mills 和 Turner 等人报道的结果一致。

2.2 H-NMR 从积分线高度推算出有 12 个质子, 见图 2, 与结构相符, 有 1 个烯质子(δ6.60mg/kg), 接氧原子的质子共有 4 个, 2 个为环氧丙烷质子, 化学位移来的高场些; 其中 1 个质子位于烯丙位, 故 2 个环氧质子的化学位移(表 1)表现出较大的差异, 分别为 δ 3.40 mg/kg 与 δ 2.70 mg/kg, 2 个甲基质子分裂分成双峰, 位于图谱的最高场。¹³C-NMR 在该化合物的¹³C 全去偶谱中, 3 个为季碳, 其余为 CH 或 CH₃ 基团, 均与结构式相符见图 3, 从最低场开始, 位于 δ 163.36 mg/kg 的羰基碳, 由于有电荷离域效应, 故位于羰基共轭区域的较高场 sp² 杂化区有 2 个烯碳, 电荷转移的结果使得 C3 比 C2 来的低场些, 分

表 1 氢和碳谱化学位移归属
Table 1 The chemical shifts of C and H for C₉H₁₂O₄

H	δ(mg/kg)	J(H ₂)	C	δ(mg/kg)
3	6.60(dd)	J _{3,4} =2.70, J _{3,6} =1.57;	1	163.36(s)
4	4.15(dd)	J _{4,5} =8.61, J _{4,3} =2.70;	2	128.43(s)
5	4.35(dq)	J _{5,4} =8.61, J _{5,8} =6.26;	3	142.14(d)
6	3.40(dd)	J _{6,3} =1.57, J _{6,7} =1.57;	4	67.15(d)
7	2.70(dq)	J _{7,9} =5.48, J _{7,6} =1.57;	5	79.27(d)
8	1.30(d)	J _{9,7} =5.48;	6	54.49(d)
9	1.40(d)	J _{8,5} =6.26;	7	58.64(d)
-OH	3.50(s)		8	17.78(q)
			9	17.31(q)

表 2 非氢原子坐标(×10⁴)及各向同性热参数(×10nm²)
Table 2 The coordinate of nonhydrogen atom and the heat parameter B(eq)

原子	x	y	z	热参数 B(eq)
O(1)	0.5606(8)	0.1589(2)	0.7145(2)	4.4(1)
O(2)	0.626(1)	0.0249(2)	0.7851(3)	5.8(2)
O(3)	0.1093(9)	0.3625(2)	0.7815(2)	5.5(2)
O(4)	0.060(1)	0.1006(3)	1.0003(4)	8.6(3)
C(1)	0.503(1)	0.1015(3)	0.7825(3)	4.2(2)
C(2)	0.312(1)	0.1357(3)	0.8572(3)	4.1(2)
C(3)	0.245(1)	0.2252(3)	0.8605(4)	4.7(2)
C(4)	0.335(1)	0.2926(3)	0.7900(3)	4.1(2)
C(5)	0.364(1)	0.2401(3)	0.7022(3)	4.2(2)
C(6)	0.214(1)	0.0649(3)	0.9243(4)	4.9(2)
C(7)	0.349(2)	0.0584(4)	1.0122(4)	5.2(3)
C(8)	0.494(2)	0.2955(4)	0.6264(4)	5.5(3)
C(9)	0.357(2)	-0.0295(4)	1.0649(4)	6.6(3)
H(1)	0.1354	0.1242	0.8214	4.9
H(2)	0.0301	0.2301	0.8644	5.6
H(3)	0.3312	0.2486	0.9147	5.6
H(4)	0.5223	0.3211	0.8056	4.8
H(5)	0.1660	0.2174	0.6836	5.1
H(6)	0.1296	0.0072	0.8970	5.8
H(7)	0.5144	0.0971	1.0240	6.6
H(8)	0.6983	0.3134	0.6440	7.4
H(9)	0.5132	0.2562	0.5748	7.4
H(10)	0.3805	0.3479	0.6145	7.4
H(11)	0.2899	-0.0197	1.1224	8.1

别达 δ 142.14 mg/kg 与 δ 128.43 mg/kg,最高场的 2 条谱线 δ 17.31 mg/kg 与 δ 17.78 mg/kg 为 2 个甲基碳,见碳氢谱化学位移归属表(表 1)。

表 3 非氢原子键长(A)
Table 3 The bond length of nonhydrogen

原子	原子	键长	原子	原子	键长
O(1)	C(1)	1.329(6)	C(2)	C(3)	1.311(7)
O(1)	C(5)	1.460(6)	C(2)	C(6)	1.487(7)
O(2)	C(1)	1.218(5)	C(3)	C(4)	1.480(7)
O(3)	C(4)	1.416(6)	C(4)	C(5)	1.518(7)
O(4)	C(6)	1.421(7)	C(5)	C(8)	1.498(7)
O(4)	C(7)	1.425(8)	C(6)	C(7)	1.446(8)
C(1)	C(2)	1.486(7)	C(7)	C(9)	1.481(8)

表 4 非氢原子键角(°)
Table 4 The bond angles of nonhydrogen

原子	原子	原子	键角	原子	原子	原子	键角
C(1)	O(1)	C(5)	118.0(4)	C(3)	C(4)	C(5)	108.5(4)
C(6)	O(4)	C(7)	61.1(4)	O(1)	C(5)	C(8)	106.4(4)
O(2)	C(1)	O(1)	119.4(5)	O(1)	C(5)	C(4)	109.5(4)
O(2)	C(1)	C(2)	121.6(5)	C(8)	C(5)	C(4)	115.2(4)
O(1)	C(1)	C(2)	118.8(4)	O(4)	C(6)	C(7)	59.6(4)
C(3)	C(2)	C(1)	118.5(4)	O(4)	C(6)	C(2)	115.9(4)
C(3)	C(2)	C(6)	124.7(5)	C(7)	C(6)	C(2)	122.3(4)
C(1)	C(2)	C(6)	116.7(4)	O(4)	C(7)	C(6)	59.3(4)
C(2)	C(3)	C(4)	123.0(5)	O(4)	C(7)	C(9)	116.2(5)
O(3)	C(4)	C(3)	109.4(4)	C(6)	C(7)	C(9)	123.1(5)
O(3)	C(4)	C(5)	109.3(4)				

2.3 标题物质的晶体结构 该物质的非氢原子坐标及热参数列于表 2,其键长、键角分别列于表 3 和表 4,图 4 和图 5 分别为分子结构及晶胞结构图,由于受环氧丙基上 O4 的影响,C6-C7 的键长要比 O4-C6 和 O4-C7 键来得长些,但是它的夹角均在 60° 左右.C1-O2 键长最短,仅 1.218 nm,是由于 p- π 共轭效应的结果,其次是 C2-C3 双键.C4-C5 受羟基,c=c 双键和电子离域效应的影响,它的键长最大,键能较弱.X-晶体衍射分析结果,进一步肯定了该物质的空间构型。

致 谢：NMR 测定和结构解释得到中科院上海药物所宋国强副研和中科院福建物构所陈忠博士的帮助。晶体结构分析和论文得到物构所卢绍芳研究员和吴锵金副研的指正,谨表谢意。

参考文献

[1] Jack H. Moore and Thomas P. Murray et al. 1974. production of 3-(1,2-Epoxypropyl)-5, 6-dihydro-5-hydroxy-6-methylpyran-2-one by *Aspergillus Ochraceus wilhelm*. J. Agr. Food Chem. 22(4): 697~698

[2] Mary J. Garson and James staunton. 1984. New polyketide metabolites from *Aspergillus melleus*: structural and stereochemical studies. J. CHEM. SOC. PERKIN TRANS. (1): 1021~1026

[3] Salman A. Ahmed and Thomas J. Simpson et al. 1985. Biosynthesis of Aspyrone and Asperlactone, pentaketide metabolites of *Aspergillus melleus*. Incorporation studies with [1-¹³C,¹⁸O₂] Acetate and O₂Gas. J. CHEM. SOC. , CHEM. COMMUN. 1685~1687

[4] S. D. Mills and W. B. Turner. 1967. A new metabolite of *Aspergillus melleus*. J. CHEM. SOC. (C). 2242~2244

[5] Wm. Rosenbrook, Jr. and R. E. Carney. 1970. A new metabolite from an unidentified *Aspergillus* species. Tetrahedron Letters (22): 1867~1870