

链霉菌 702 所产抗细菌组分 S2 的化学结构鉴定

钟 敏¹, 童孝田², 孙宇辉¹, 涂国全^{1*}, 吴厚铭²

(1 江西农业大学生物科学与工程学院, 江西 南昌 330045; 2 中国科学院
有机化学研究所生命有机化学国家重点实验室, 上海 200032)

摘要: 为了鉴定链霉菌 702 所产抗细菌物质的化学结构, 对纯度为 99.47% 的抗细菌组分 S2 组分进行质谱、核磁共振、红外、紫外等波谱学分析, 结果表明, 链霉菌 702 所产抗细菌组分 S2 与放线菌素 X2 同质, 暂命名为红谷霉素。

关键词: 链霉菌 702; 分离; 纯化; 红谷霉素

中图分类号: Q939.92 文献标识码: A 文章编号: 1671-5470(2007)03-0307-05

Identification of chemical structure of antibacterial fraction S2 produced by *Streptomyces* 702

ZHONG Min¹, TONG Xiaotian², SUN Yuhui¹, TU Guoquan¹, WU Houming²

(1. The Bioscience and Engineering College Jiangxi Agriculture University Nanchang Jiangxi 330045 China

2. State Key Laboratory of Bioorganic & Natural Products Chemistry Shanghai Institute of Organic
Chemistry Chinese Academy of Sciences Shanghai 200032 China)

Abstract The structure of the antibacterial component (S2) isolated from *Streptomyces* 702 was identified as Actinomycin X2 on the basis of the spectroscopic analysis mainly including MS, NMR, IR and UV. We named it honggunycin.

Key words *Streptomyces* 702; isolation; purification; honggunycin

放线菌素类物质包括放线菌素 C、放线菌素 D、放线菌素 X2 等一系列化合物, 其化学结构都含有 1 个平面性的吩恶嗪环及 2 个环肽, 不同之处在于 2 个环肽所含氨基酸不同。放线菌素具有抗肿瘤活性, 其机理在于吩恶嗪环可插入到 DNA 的分子中, 并可选择性抑制以 DNA 为模板的 RNA 的合成^[1]。在医学上应用较广的为放线菌素 D。江西农业大学生物科学与工程学院应用微生物实验室在开展新的杀菌剂产生菌的分离筛选研究中, 从土壤中筛选到一株链霉菌, 编号为 702。该菌所产生物活性物质中含有多个抗菌活性组分^[2-4]。其中抗真菌活性物质对 12 种植物病原菌有强抑制作用, 而抗细菌物质对革兰氏阳性及阴性菌都有抑制作用。经硅胶柱层析初步分离到此抑菌物质粗品, 再经液相色谱分离纯化得到链霉菌 702 发酵液所含抗细菌组分 S2 含量为 99.47%^[5]。本文通过光谱法对此组分 S2 进行化学结构鉴定, 为链霉菌 702 菌株的应用开发提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

链霉菌 702 所产抗细菌组分 S2 单体化合物 (以下简称为单体组分 S2) 由江西农业大学生工学院应用微生物实验室提供。

试剂为乙腈 (色谱纯), 甲醇 (色谱纯), 氘代嘧啶。

1.2 仪器

Nicolet 750 型红外光谱仪, Cary 300 Bio 型紫外光谱仪, Inova 600 型核磁共振仪, LCQ DECA 型质谱仪。

1.3 试验方法

通过紫外光谱、质谱、核磁共振谱及红外光谱对单体组分 S2 进行波谱学分析, 对其化学结构进行鉴定。

收稿日期: 2006-06-26 修回日期: 2006-12-28

基金项目: 国家教育部科学研究重点项目 (03072); 江西省自然科学基金资助项目 (0530010)。

作者简介: 钟敏 (1980-), 女, 硕士, 助教, 研究方向: 农用抗生素。

* 通讯作者: 涂国全, 教授, Email: tuguquan@263.net

2 结果与分析

2.1 紫外光谱

单体组分 S2 甲醇溶解液的紫外可见光谱显示, 该化合物含有一发色官能团, 单体组分 S2 可见光最大吸收波长为 444 nm, 而紫外区最大吸收波长为 241 nm (图 1).

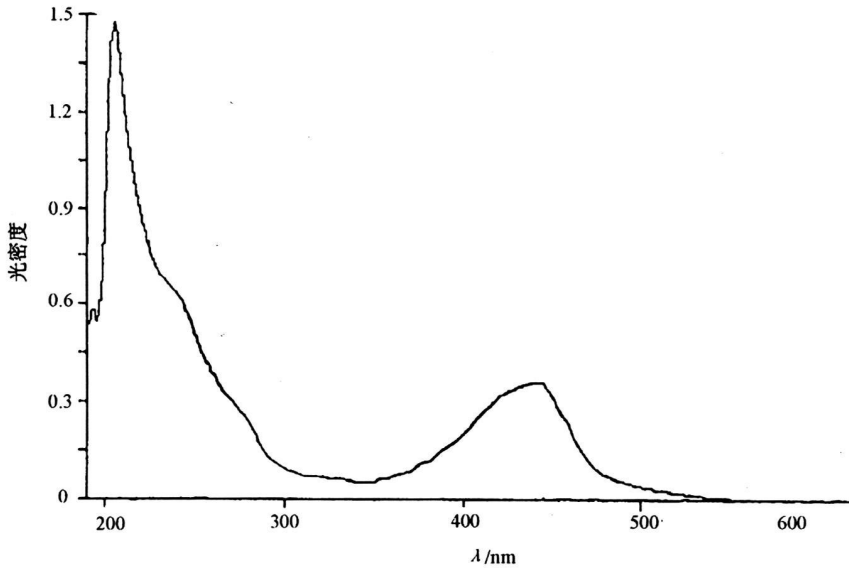


图 1 组分 S2 的紫外吸收曲线

Fig 1 Absorption curve of UV of fraction S2

2.2 质谱

高分辨质谱分析表明, 此单体组分 S2 有一分子离子峰 1269.65 给出分子式为 $C_{62}H_{84}N_{12}O_{17}$ (图 2).

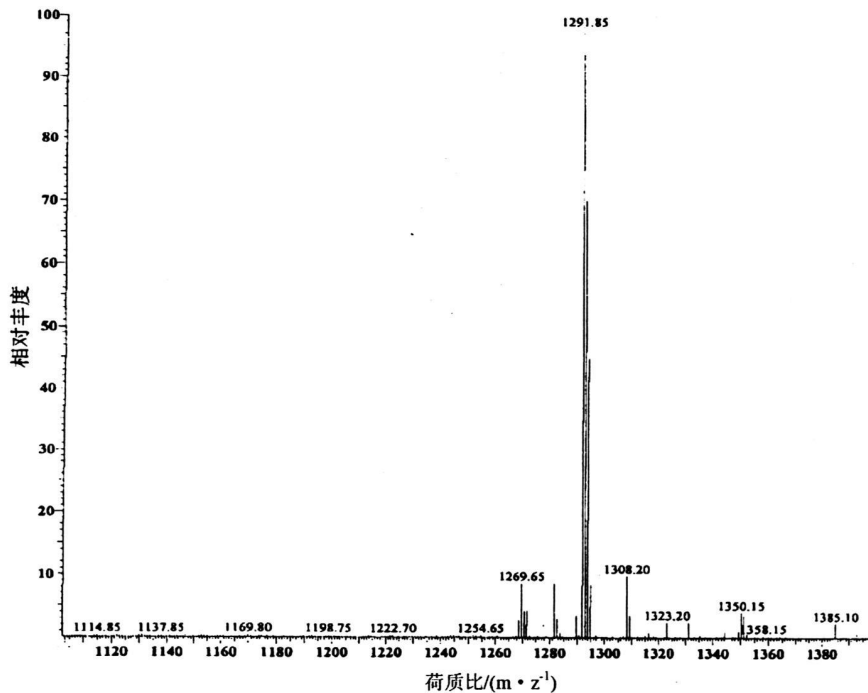


图 2 组分 S2 的质谱图

Fig 2 The MS of the fraction S2

2.3 红外光谱

红外图谱显示有胺基 (NH , 3274 cm^{-1}), 羰基 (1749 cm^{-1}) 和芳环 (1661 , 1583 和 1512 cm^{-1}) 的吸收峰

(图 3).

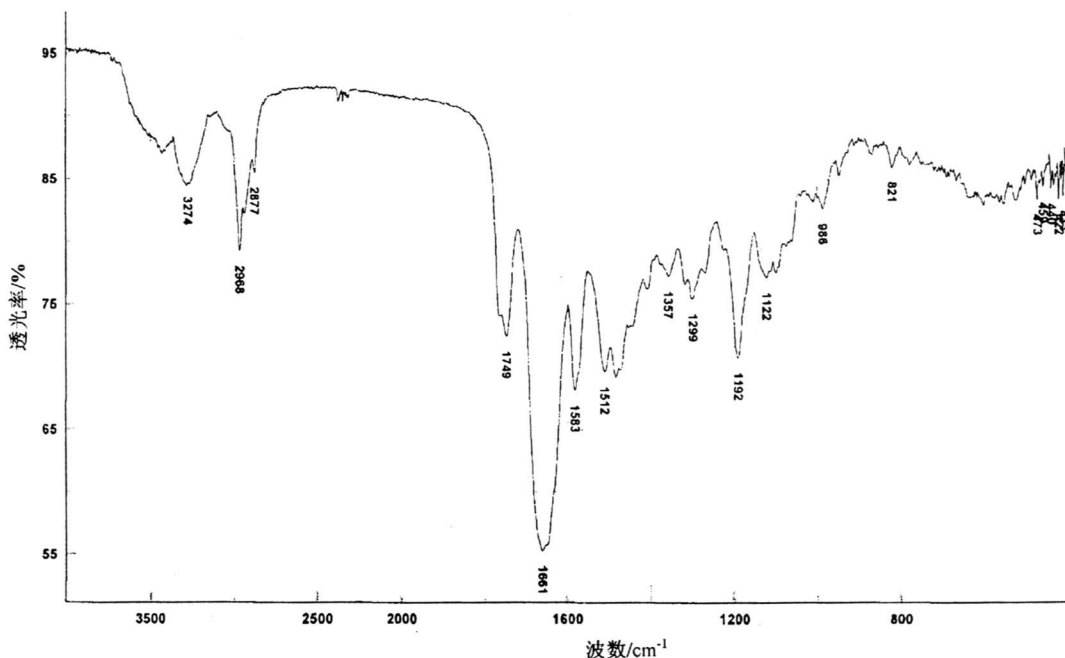


图 3 组分 S2 的红外光谱

Fig 3 The infrared spectra of the fraction S2

2.4 核磁共振谱

单体组分 S2 的核磁共振谱 (图略) 氢谱数据 (表 1) 显示有 16 个甲基, 4 个 N-Me 和 2 个连双键甲基, 在芳香区域还显示一组 AB 体系的芳香质子信号 [δ 7.66 d (7.8), 7.28 d (7.8)]; 除此之外, 再结合二维图谱 TOCSY, DQ-COSY (图略), 可确定该化合物中含有 4 组缬氨酸自旋体系, 2 组苏氨酸自旋体系, 2 组甘氨酸自旋体系, 1 组脯氨酸自旋体系及 1 组 γ 羧基脯氨酸自旋体系. 表 2、3 显示该化合物含有 62 个碳信号, 再根据该化合物的二维图谱 NOESY, HMQC 及 HMBC 分析出异核多量子关系与总相关图 (图 4), 可确定该化合物的碳氢各信号连接方式如图 5 所示. 再通过与文献 [6] 的谱学数据进行对照, 进而确定该化合物与 Actinomycin X₂ 同质. 经文献检索得此化合物在国内首次发现并解析, 因此暂命名为红谷霉素.

表 1 单体组分 S2 氢谱数据¹⁾Table 1 Proton NMR (600 MHz) data for fraction S2 (in pyridine-*d*₅)^a

位置	H	(化学位移) δ _H		位置	H	(化学位移) δ _H	
		α 环	β 环			α 环	β 环
1	2	5.18 dd(7.2 2.8)	5.13 dd(6.0 2.7)	4	2	4.94 d(18.0)	4.88 d(18.0)
	3	5.73 m	5.80 m			4.02 d(18.0)	3.94 d(18.0)
	4	1.47 d(6.6)	1.63 d(6.6)		N-Me	3.02 s	3.02 s
	NH	8.42 d(7.2)	8.49 d(6.0)	5	2	3.22 d(9.6)	3.13 d(9.0)
2	2	4.22 dd(9.6 6.0)	4.39 dd(9.6 6.0)		3	2.90 m	2.84 m
	3	2.64 m	2.73 m		3-Me	0.76 d(7.2)	0.73 d(7.2)
	3-Me	1.28 d(7.2)	1.23 d(7.2)			1.06 d(7.2)	1.01 d(7.2)
	NH	8.34 d(6.0)	8.81 d(6.0)		N-Me	2.72 s	2.81 s
3	2	6.62 d(9.0)	7.26 d(10.8)	发色团	4-Me	2.15 s	—
	3	3.18 m	4.47 dd(18.0 10.8)		6-Me	2.33 s	—
		2.05 m	2.78 br d(18.0)		7	7.66 d(7.8)	—
	4	2.42 m	—		8	7.28 d(7.8)	—
		2.10 m	—		NH ₂	8.00 - 8.60	—
	5	4.35 m	5.07 d(19.2)				
	3.98 m	4.42 d(19.2)					

¹⁾ 化学位移以氘代吡啶 (δ _H 7.19 \times 10⁻⁶) 作为对照.

表 2 单体组分 S2 碳谱数据¹⁾

Table 2 ¹³C assignments (150 MHz) for fraction S2 (in pyridine-*d*₅)^b

位置	C	(化学位移) δ_c		位置	C	(化学位移) δ_c	
		α -环	β -环			α -环	β -环
1	1	169.81 s	169.37 s	4	1	167.17 s	167.40 s
	2	55.66 d	55.61 d		2	51.64 d	51.65 d
	3	75.12 d	75.22 d		N-Me	34.69 q	34.87 q
	4	17.47 q	18.02 q				
2	1	174.15 s	174.69 s	5	1	168.73 s	168.78 s
	2	59.04 d	57.51 d		2	71.14 d	70.77 d
	3	38.77 d	39.04 d		3	27.66 d	27.66 d
	3-Me	19.51 q	19.35 q		3-Me	19.08 q	19.08 q
		19.82 q	19.82 q		N-Me	21.67 q	21.58 q
3	1	173.39 s	173.75 s		N-Me	38.75 q	39.03 q
	2	57.50 d	55.30 d				
	3	31.25 d	42.45 d				
	4	23.41 d	209.19 s				
	5	48.03 d	53.68 d				

¹⁾化学位移以氘代吡啶 (δ_c 1273.5 \times 10⁻⁶) 作为对照.

表 3 单体组分 S2 发色团的碳谱数据

Table 3 Chromophoric ¹³C assignments for fraction S2 (in pyridine-*d*₅)

C 位置	化学位移 δ_c	C 位置	化学位移 δ_c
1	102.40 s	8	126.02 d
2	148.39 s	9	132.65 s
3	179.29 s	9a	130.04 s
4	112.88 s	10a	146.32 s
4a	144.82 s	4-Me	7.52 q
5a	140.37 s	6-Me	14.58 q
6	127.65 s	1-CO	167.34 s
7	130.04 d	9-CO	167.34 s

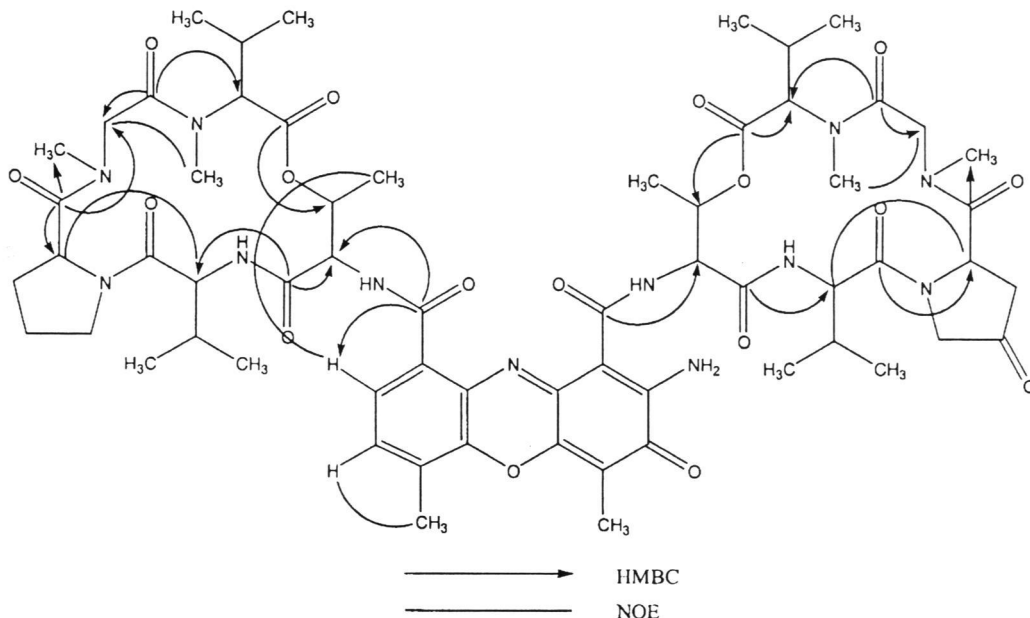


图 4 组分 S2 的异核多量子关系与总相关图

Fig 4 Selected HMBC and NOE correlations in fraction S2

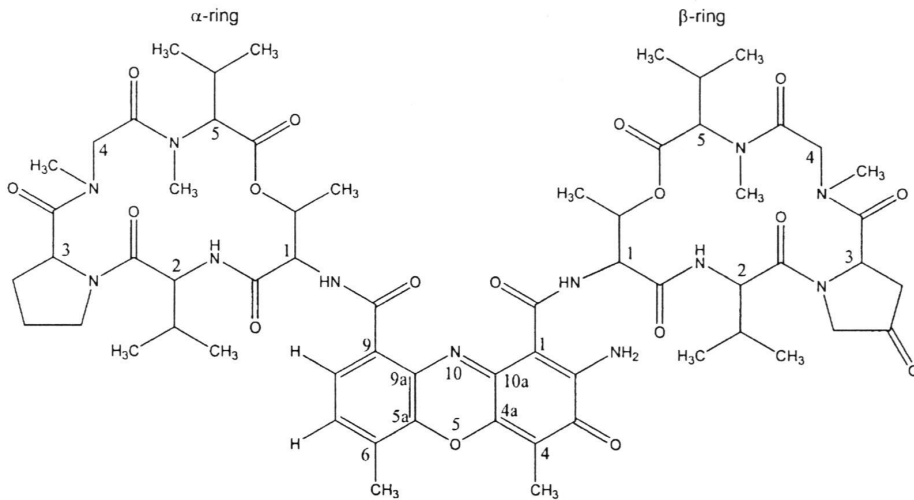


图 5 单体组分 S2 的化学结构

Fig 5 The structure of fraction S2

3 小结

使用硅胶柱层析可使链霉菌 702 发酵液中抗菌组分 S2 得到较好分离, 得到淡黄色的结晶, 而结合制备型 HPLC 能得到纯度为 99.47% 的单体化合物. 对此组分 S2 进行光谱分析初步鉴定其分子结构, 并暂命名为红谷霉素, 此活性物质为链霉菌 702 所产的主要抗菌物质.

参考文献

- [1] GOLDBERY JH, FRIEDMAN P A. Antibiotics and nucleic acids [J]. Annu Rev Biochem, 1970, 40: 755 - 810.
- [2] 李昆太, 黎循航, 涂国全, 等. 702 生物防腐剂对细菌、霉菌和酵母菌类抑菌效果的初步测定 [J]. 江西农业大学学报, 2002, 24(5): 599 - 601.
- [3] 黎循航, 刘姝, 涂国全, 等. 链霉菌 702 所产生物活性物质抑菌活性的初步研究 [J]. 江西农业大学学报, 2002, 24(6): 829 - 832.
- [4] 蔡华静, 文英, 涂国全. 链霉菌 702 所产活性物质稳定性测定研究 [J]. 江西农业大学学报, 2003, 25(6): 929 - 933.
- [5] 魏赛金, 钟敏, 黄林, 等. 链霉菌 702 所产抗菌组分 S2 的分离纯化 [J]. 江西农业大学学报, 2006, 28(3): 453 - 457.
- [6] MIRAUPA, SHAFER RH. High resolution proton nuclear magnetic resonance analysis of conformational properties of biosynthetic Actinomycin Analogues [J]. Biochemistry, 1982, 21: 2622 - 2626.

(责任编辑: 陈幼玉)