

竹菌中松胞菌素D的分离和鉴定

王 钧 王世林 刘学系 万象义 陈远腾

(云南省植物研究所生理室,昆明)

在筛选抗癌药的过程中,从肉球菌属 (*Engleromyces*) 的竹菌 (*Engleromyces goetzii* Henn.) 中分离到一种对皮肤癌有一定疗效的化合物。经紫外光谱、红外光谱、核磁共振谱及质谱的鉴定,证实与已知的松胞菌素 D (Cytochalasin D) 是同一种物质。讨论了松胞菌素的分布及其在细胞生物学等方面的应用。

竹菌 (*Engleromyces goetzii* Henn.) 又名肉球菌,是子囊菌纲、肉座菌科、肉球菌属的一种真菌。分布于滇西北、川西南、藏东南海拔 2,000—3,500 公尺的高山竹林里。寄生在箭竹等竹类中上部茎节间。我们在同多个单位协作进行抗癌药物的筛选中,从它的子座得到一种成份,临床上对皮肤癌有一定疗效。经鉴定与前人从绿僵菌 (*Metarhizium anisopliae*)^[1] 及梅森接柄孢 (*Zygosporium masonii*)^[2,3] 中得到的松胞菌素 D (Cytochalasin D) 结构 (图 1) 一致。松胞菌素是一类真菌代谢产物。从肉球菌属中首次发现松胞菌素。现将结果报道如下:

用乙醇-水、丙酮重结晶数次,即得层析纯产品。得率千分之一左右,子座外壳部分含量低于菌肉。此化合物易溶于氯仿、乙酸乙酯、丙酮、乙醇,不溶于石油醚,微溶于水。结晶呈针状,无色。熔点 256—259°C (分解) (未经校正)。比旋度 $[\alpha]_D^{25} = 40.3^\circ \pm 0.7^\circ$ (氯仿, $C = 0.74$)。分子量 507 (根据质谱分子离子峰)。元素定性鉴别仅含碳、氢、氧、氮。元素定量数据为: C: 71.17%, H: 7.42%, 各种谱图表明只含一个氮原子。分子式: $C_{30}H_{37}NO_6$ (理论值: 分子量 507.26, C: 71.0%, H: 7.35%)。

红外光谱 (图 2) 表明此化合物为 γ -内酰胺。含单取代苯、酯基、酮羰基、不对称双取代烯键、反式二取代烯键、羟基、甲基、次甲基等基团。 γ_{max}^{KBr} : 3600—3200 厘米⁻¹, 3240 厘米⁻¹ (OH 及 NH); 3425 厘米⁻¹ (NH); 1692 厘米⁻¹ (γ -内酰胺羰基); 3030

本文于 1977 年 8 月 9 日收到。

本工作承云南省丽江地区卫生局药检所对竹菌调查给予协助;昆明军区总医院、四川省抗菌素工业研究所、中国医学科学院分院进行药理试验;昆明医学院第一附属医院肿瘤科、个旧市人民医院、云南省第一人民医院、昆明铁路局中心医院皮肤科进行临床工作;中国科学院应用化学研究所制作质谱,云南省药检所测比旋度,本所王德祖、丁靖凯两同志制作红外光谱和核磁共振谱,秦润保同志进行元素分析。

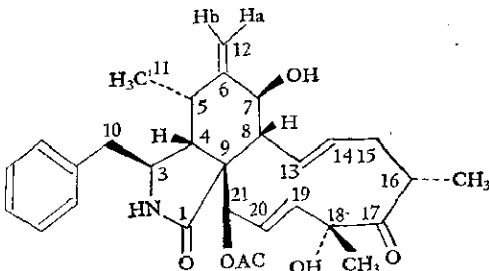


图 1 松胞菌素D的结构式

竹菌子座磨成细粉。先经石油醚脱脂,再用乙醚提取,得粗结晶。用硅胶 G 制板,进行薄层层析。经苯: 95%乙醇 (80:6 V/V) 展层,磷钼酸显色,仅含一个主成份。

厘米⁻¹, 1604 厘米⁻¹, 1496 厘米⁻¹, 746 厘米⁻¹, 702 厘米⁻¹ (单取代苯); 1704 厘米⁻¹ (酮羰基); 1741 厘米⁻¹ (酯羰基); 1230 厘米⁻¹ (C-O-C); 3095 厘米⁻¹, 1644 厘米⁻¹, 906 厘米⁻¹ (不对称双取代烯键); 961 厘米⁻¹ (反式双取代烯键); 2970 厘米⁻¹, 2925 厘米⁻¹, 2860 厘米⁻¹, 1370 厘米⁻¹, 1459—1445 厘米⁻¹ (甲基、次甲基)。

质谱离子质荷比 (m/e): 含分子离子

峰 507(M⁺); 具 489 (M⁺-H₂O), 479(M⁺-CO), 464 (M⁺-CH₃CO), 447 (M⁺-CH₃CO OH), 429 (M⁺-C₆H₆ 苯), 416 (M⁺-C₇H₇ 环庚烷离子), 338 (M⁺-H₂O, CH₃COOH, C₇H₇), 320 (M⁺-2H₂O, CH₃COOH, C₇H₇), 254 (C₁₇H₂₀NO), 174(C₁₁H₁₂NO), 120(C₆H₅CH₂CHNH₂ 苯乙胺), 105(C₈H₉), 91(C₇H₇), 43 (CH₃CO-, 基峰)等碎片。

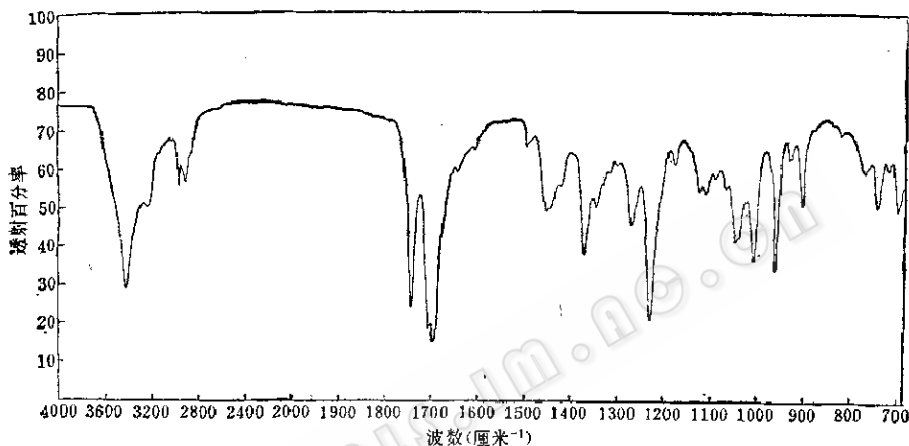


图 2 松胞菌素 D 的红外光谱(KBr 压片)

核磁共振谱(图 3): 90MHz, CDCl₃溶剂, TMS 内标。化学位移 δ 值 (ppm.): 7.23 (多重峰, 5H, 单取代苯), 6.11 (双二重峰, 1H, C₁₉, J_{19,20}=16.0 Hz, J_{19,21}=2.2 Hz), 5.69(双二重峰, 1H, C₁₃, J_{13,8}=10.0 Hz, J_{13,14}=15.2Hz), 5.63 (三重峰, 1H, C₂₁, J_{21,19}=J_{21,20}=2.2Hz), 5.57 (单峰, 1H, NH, D₂O 交换), 5.30 (多重峰, 1H, C₁₄, J_{14,13}=15.2Hz, J_{14,15}=4.6Hz, 9.2Hz), 5.30 (单峰, 1H, C₁₂H_a), 5.11 (双二重峰, 1H, C₂₀, J_{20,19}=16.0Hz, J_{20,21}=2.2Hz), 5.09 (单峰, 1H, C₁₂H_b), 4.64 (单峰, 1H, C₁₈ 的 OH, D₂O 交换), 3.80 (双多重峰, 1H, C₇, J_{7,8}=10.4Hz), 3.20 (多重峰, 1H, C₂), 2.26 (单峰, 3H, C₂₁ 乙酰基上的甲基), 2.12 (四重峰, 1H, C₄, J=3.5Hz, 4.5Hz), 1.97 (双峰, 1H, C₇ 的 OH, D₂O 交换, J<

2Hz), 1.51 (单峰, 3H, C₁₈ 的甲基), 1.19 (双峰, 3H, C₁₆ 的甲基, J=6.5Hz), 0.94 (双峰, 3H, C₁₁, J_{11,5}=7.0Hz)。在 1.77—2.87 间尚有 C₁₅、C₁₆、C₅、C₁₀、C₈ 的七个质子未解析。C₁₃、C₁₄ 的 δ 值是用双照射法确定的。用双照射法还证实了 C₁₉、C₂₀、C₂₁ 间及 C₁₃、C₁₄、C₁₅ 间各质子联系方式与上述结构式相符。核磁共振谱(图 3)上还标出了 CHCl₃ 及 H₂O 的峰值, 它们是测定中的杂质。

紫外光谱具下列峰值, $\lambda_{\text{Max}}^{\text{EtOH}}$: 258 毫微米 ($\epsilon=494$), 261 毫微米 ($\epsilon=414$), 264.4 毫微米 ($\epsilon=393$), 268 毫微米 ($\epsilon=368$), 283.5 毫微米 ($\epsilon=332$)。

以上数据,特别是红外光谱、核磁共振谱和质谱数据表明这个化合物就是松胞菌素 D。

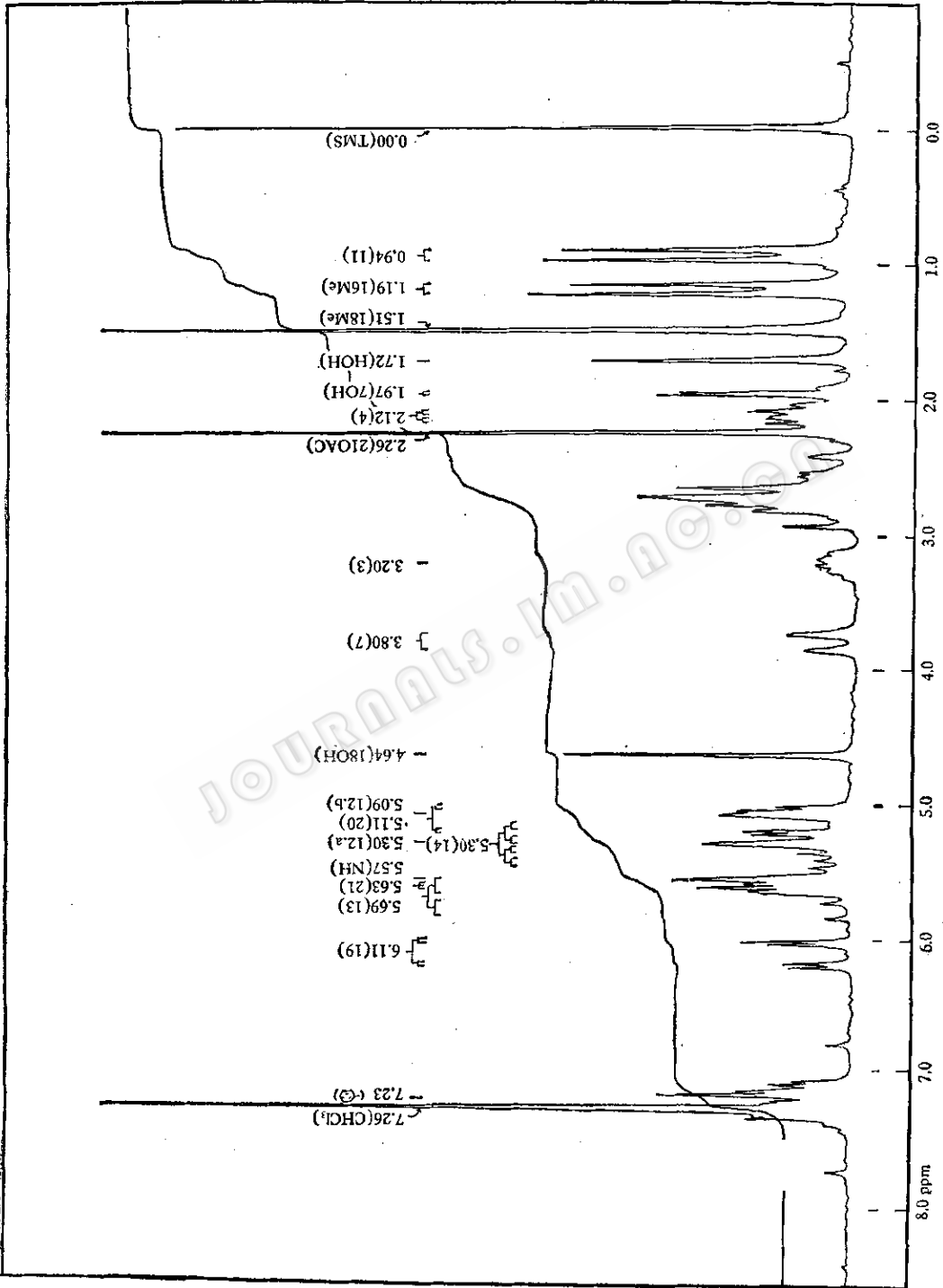


图3 松胞菌素D的核磁共振谱
(90 MHz, CDCl₃ 溶剂, TMS 内标, 化学位移 δ 值)

现在已知有松胞菌素分布的真菌除少数属于子囊菌外, 大多数属于半知菌纲。但是它们中有些属的一些种已发现了产生子囊的有性世代。而肉球菌为分类地位较高的子囊菌。我们推测, 松胞菌素在子囊菌纲中的分布可能是较广泛的。

我们的初步试验表明松胞菌素 D 的抗癌谱不广、毒性较大、化疗指数不高, 与前人结果相似^[8,9]。但有报道, 体外培养的正常细胞株与恶变细胞株对松胞菌素的反应不同^[10-12]。利用这种差异, 找寻适当方法, 选择性地杀灭癌细胞^[13]值得深入研究。

松胞菌素专一性地影响哺乳动物细胞的微丝系统的排列, 产生多种细胞生物学效应^[14-16], 可用于揭示微丝的功能。它们改变质膜上受体的状态, 可用于揭示质膜的调控机制^[17,18]。它们能使细胞同步脱核^[19,20], 形成去核细胞和带一薄层质膜的核, 经融合可产生核质异源的重组细胞^[21,22], 对于揭示细胞核-细胞质的各种相互关系方面很有用。它们影响病毒对动物细胞的感染^[23]、释放^[24], 对研究病毒复制机理也有用^[25]。

在已发现的十余种松胞菌素中, 以松胞菌素 B 对动物细胞的效应研究得最多。其它松胞菌素在效应上与松胞菌素 B 相比, 稍有差异, 但基本方面是一致的。松胞菌素 D 在对六碳糖通过质膜的运输^[26]、对白细胞的吞噬作用^[27]等效应方面与松胞菌素 B 有区别; 但在引起细胞收缩^[28,29]、抑制细胞质分裂^[8]、使细胞脱核^[30]、调节质膜与植物凝集素的反应^[47]、影响病毒对细胞的感染^[23]等效应上, 不仅效用与松胞菌素 B 相似, 而且, 达到相同效果的剂量, 只需后者的五分之一到十分之一。因此, 它也是细胞生物学研究上的有用工具。

此外, 还有松胞菌素 D 杀阴道滴虫^[31]做抗炎剂的报道。

参 考 文 献

- [1] Aldridge, D. C. and Turner, W. B.: *J. Chem. Soc.*, 1969: 923—928.
- [2] Minato, H. and Matsumoto, M.: *J. Chem. Soc.*, 1970: 38—45.
- [3] Lebet, C. and Tamm, Ch.: *Helv. Chem. Acta*, 57: 1785—1801, 1974.
- [4] Binder, M. and Tamm, Ch.: *Angew. Chem. Internat. Edit.*, 12: 370—380, 1973.
- [5] Buchi, G., Kitaura, Y., Yuan, S. S. Wright, H. E., C'ardy, J., Demain, A. L., Ghinsukon, T., Hunt, N. and Wogan, G. N.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 95: 5423—5425, 1973.
- [6] Wells, J. M., Cutler, H. G. and Cole, R. J.: *Can J. Microbiol.*, 22: 1137—1143, 1976.
- [7] Pribela, A.: *Ochr. Rostl.*, 12: 1—9, 1976, Cited in *Biol. Abst.*, 63 22896, 1977.
- [8] Katagiri, K. and Matsuurs, S.: *J. Antibiotics*, 24: 722—723, 1971.
- [9] Minato, H., Katayama, T., Matsumoto, M., Katagiri, K., Matsuurna, S. Sunagawa, N., Hori, K., Harada, M. and Takeucki, M.: *Chem. Pharm. Bull.*, 21: 2268—2277, 1973.
- [10] Hirano, A. and Kurimura, T.: *Exp. Cell Res.*, 89: 111—120, 1974.
- [11] O'Neill, F. J.: *J. Natl. Cancer Inst.*, 49: 1733—1738, 1972.
- [12] Pardee, A. B.: *Proc. Natl. Acad. Sci. US*, 71: 1286—1290, 1974.
- [13] O'Neill, F. J.: *Cancer Res.*, 35: 3111—3115, 1975.
- [14] Spooner, B. S., Yamada, K. M. and Wessells, N. K.: *J. Cell Biol.*, 49: 595—613, 1971.
- [15] Weber, K., Rathke, P. C., Osbon, M. and Franke, W. W.: *Exp. Cell Res.*, 102: 285—297, 1976.
- [16] Carter, S. B.: *Endearour*, 113: 77—82, 1972.
- [17] Greene, W. C., Parker, C. M. and Parker, C. W.: *Exp. Cell Res.*, 103: 109—117, 1976.
- [18] Sundqvist, K. G. and Elrnst, A.: *Nature*, 246: 226—231, 1976.
- [19] Prescott, D. M., Myerson, D. and Wallace, J.: *Exp. Cell Res.*, 71: 480—485, 1972.
- [20] Bossart, W., Loeffler, H. and Bienz, K.: *Exp. Cell Res.*, 96: 360—366, 1975.
- [21] Krondahl, U., Bols, N., Ege, T., Linder, S. and Ringertz, N. R.: *Proc. Natl. Acad.*

- 74: 2461—2464, 1977.
- [22] Shay, J. W.: *Proc. Natl. Acad. Sci. US*, 74: 2461—2464, 1977.
- [23] Farber, F. E. and Eberle, R.: *Exp. Cell Res.*, 103: 15—22, 1976.
- [24] Panem, S.: *Virology*, 76: 146—151, 1977.
- [25] Goldman, R. D. and Pollack, R.: *Methods in Cell Biology*, (Edit. by D. M. Prescott) 8: 123—143, New York Academic Press, 1974.
- [26] Tannenbaum, J., Tanenbaum, S. W. and Godman, G. C.: *J. Cell Physiol.*, 91: 239—248, 1977.
- [27] Nakagawara, A., Shibata, Y., Takeshige, K. and Minakami, S.: *Exp. Cell Res.*, 101: 225—234, 1976.
- [28] Miranda, A. F., Godman, G. C., Deitch, A. D. and Tanenbaum, S. W.: *J. Cell Biol.*, 61: 481—500, 1974.
- [29] Miranda, A. F., Godman, G. C. and Tanenbaum, S. W.: *J. Cell Biol.*, 62: 406—423, 1974.
- [30] Godman, G. C., Miranda, A. F., Deitch, A. D. and Tanenbaum, S. W.: *J. Cell Biol.*, 65: 644—667, 1975.
- [31] Hayakawa, S., Matsushima, T., Kimura, T., Minato, H. and Katagiri, K.: *J. Antibiotics*, 21: 523—524, 1968.
- [32] Hayakawa, S., Matsushima, T., Minato, H., Hirose, K.: *Brit.*: 1160846, 12 pp, 1968, Cited in C. A., 71: 111456 p.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF CYTOCHALASIN D FROM *ENGLEROMYCES GOETZII*

Wang Jun, Wang Shi-lin, Liu Xue-xi, Wan Xiang-yi and Chen Yuan-teng

(Department of Plant Physiology, Yunnan Institute of Botany, Kunming)

In the course of screening antitumor drugs, we isolated a compound from *Engleromyces goetzii*, which has some therapeutic effect for human skin cancer. Through the analyses of UV, IR, NMR and MS spectra, this compound is found

to be identical with cytochalasin D. This is the first report on the distribution of a cytochalasin in *Engleromyces*, a fungus belonging to the Ascomycetes. The uses of cytochalasins, especially for cell biology, are discussed.