

# 来自海南红树林内生真菌 ZSU-H85 (L. K) 的新蒽醌\*

王 军<sup>1</sup>, 马文哲<sup>1</sup>, 汪夕芳<sup>1</sup>, 周少耿<sup>1</sup>, 陈文礼<sup>1</sup>,  
何锦华<sup>1</sup>, 赖小敏<sup>2</sup>, 林永成<sup>3</sup>

(1. 中山大学药学院, 广东 广州 510080;  
2. 中山大学中山医学院, 广东 广州 510080;  
3. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

**摘 要:** 红树林内生真菌是一种新的天然产物资源。采用色谱技术对分自海南半生红树林植物蕨类的内生镰刀菌 *Fusarium* sp. ZSU-H85 (L. K) 菌体进行了分离, 得到3个化合物, 通过光谱和波谱分析, 分别鉴定为新的蒽醌 ZSU-H85A (A), 安息香酸异戊烯酯 (B) 和壬二酸 (C)。

**关键词:** 红树林内生真菌; 蒽醌; 化学结构

**中图分类号:** O624.99 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2010) 04-0150-03

## A New Anthraquinone from Mangrove Entophytic Fungus ZSU-H85 (L. K) from Hainan Province

WANG Jun<sup>1</sup>, MA Wenzhe<sup>1</sup>, WANG Xifang<sup>1</sup>, ZHOU Shaogeng<sup>1</sup>, CHEN Wenli<sup>1</sup>,  
HE Jinhua<sup>1</sup>, LAI Xiaomin<sup>2</sup>, LIN Yongcheng<sup>3</sup>

(1. School of Pharmaceutical Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China;  
2. Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China;  
3. School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

**Abstract:** Mangrove endophytic fungus is a new resource for drug discovery. ZSU-H85A, a new anthraquinone, with azelaic acid and isopentenyl benzoate were isolated from mycelium of the Mangrove Entophytic *Fusarium* sp. ZSU-H85 (L. K) from Hainan Province by silica gel column chromatography and sephadex LH-20 chromatogram. Their structure were elucidated using spectroscopic methods, primarily 2D NMR techniques.

**Key words:** mangrove endophytic fungus; anthraquinone; structure

据报告我国有近半人口感染了结核菌, 明显高于全球 1/3 人口的感染水平; 结核病及其它传染性疾病的耐药性情况也日益严重<sup>[1-2]</sup>, 因此, 急需寻找新型有抗菌活性的先导化合物。红树林内生真菌是一种新的天然产物资源, 近年开展的南海红树林内生真菌活性次级代谢产物研究, 取得了丰硕的研究成果<sup>[3-9]</sup>。红树林内生真菌 ZSU-H85 (L. K) 是从海南尖峰岭伴生红树植物蕨类植物中分离得到,

属镰刀菌属 (*Fusarium* sp.) 真菌, 初筛结果显示对白色念珠菌、酵母菌、芽孢杆菌及大肠杆菌有强烈抑制作用, 从其菌体中分离出一些有意义的化合物, 其中蒽醌 ZSU-H85A (化合物 A) 是新化合物, 未见文献报道。

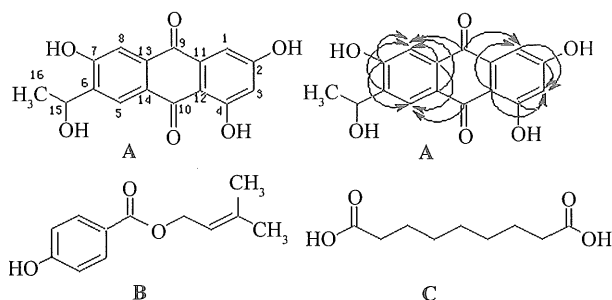
## 1 结果与讨论

化合物 A 的 HREI-MS 分子离子峰是

\* 收稿日期: 2009-09-01

基金项目: 国家 863 计划资助项目 (2007AA09Z414)

作者简介: 王军 (1962 年生), 女, 副教授; 通讯作者: 赖小敏; E-mail: laixm@mail.sysu.edu.cn



300.0621, 计算出分子式为  $C_{16}H_{12}O_6$ , 不饱和度为 11, 显示可能含有芳香环; 红外光谱羰基吸收在  $1638\text{ cm}^{-1}$ , 碳谱中最低场信号位于  $\delta\ 187.4$ 、 $183.7$ , 证明分子中有对苯醌结构<sup>[10]</sup>;  $^1\text{H NMR}$  谱显示  $\delta\ 8.31$ 、 $7.48$  两单峰信号, 推出萜醌环上有两个处于对位质子, 另有  $\delta\ 7.13$ 、 $6.53$  这两个偶合常数  $J=2.5\text{ Hz}$  的双峰信号, 可推出萜醌环上另两个质子互为间位取代; DEPT 在  $\delta\ 65.8$  (CH)、 $23.7$  ( $\text{CH}_3$ ) 有信号,  $^1\text{H NMR}$  谱显示这两组信号相互偶合  $J=6.5\text{ Hz}$ , 推出分子中有羟乙基; 红外光谱显示有多个羟基吸收信号  $3413\text{ cm}^{-1}$ ,  $3235\text{ cm}^{-1}$ ; 在 HMBC 谱中, 根据 C-9 与 H-8 和 H-1 相关, C-10 与 H-5 相关, 表明羟乙基位于 6 位, 可确定整个分子结构。初步药理实验表明该化合物有较强抗菌活性, 其抗结核菌活性将进一步研究。

## 2 实验部分

### 2.1 实验试剂与仪器

实验试剂: 石油醚、乙酸乙酯、甲醇、氯仿为分析纯试剂, 葡萄糖 CR, 蛋白胨 BR, 酵母膏 BR, 天然海水; 硅胶 GF<sub>254</sub> 和柱层析硅胶 (200~300 目) 为青岛海洋化工厂生产。PDA 培养基 ( $w$ ): 马铃薯 20%, 葡萄糖 2%, 琼脂 2%; PD 培养基 ( $w$ ): 马铃薯 20%, 葡萄糖 2%。

实验仪器: Varian Inova 500NB 型傅里叶变换超导核磁共振仪, LCQ DECA XP 型液相色谱-质谱联用仪, VG-2ABB-HS 质谱仪, MAT95XP 高分辨质谱仪; EQU INOX55-A590/3F (Bruker) 红外仪; UV-2501PC 紫外和可见吸收光谱仪; JY98-III 超声波细胞破碎仪。

### 2.2 菌种培养

红树林内生真菌 ZSU-H85 (L. K) 分自海南尖峰岭伴生红树林植物蕨类的健康组织, 由中山大学生命科学学院周世宁教授提供; 经鉴定为镰刀菌属真菌 *Fusarium* sp., 菌种在  $4\text{ }^\circ\text{C}$  下保存在 PDA 培养基中, 保存在中山大学药学院。

菌种发酵培养基为 PD 培养基, 添加  $w=20\%$  天然海水, pH 7.0, 经  $121\text{ }^\circ\text{C}$  ( $0.1\text{ mPa}$ ) 高温灭菌 15 min 后接种, 每 500 mL 三角瓶装培养液 300 mL, 共 100 L,  $25\text{ }^\circ\text{C}$  静置培养 30 d, 过滤, 收集菌体和发酵液。

### 2.3 提取和分离

菌体干燥, 加一定量甲醇, 超声提取 3 次, 合并提取液, 在  $50\text{ }^\circ\text{C}$  下减压浓缩至干, 得到浸膏 (50 g); 提取物装硅胶柱, 以石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱, 在石油醚/乙酸乙酯体积比为 80/20 的洗脱液中得到组分  $F_{AB3}$ , 再经硅胶柱层析得化合物 B (10 mg); 在石油醚/乙酸乙酯体积比为 70/30 的洗脱液中得到组分  $F_{AB4}$ , 经制备薄层层析, 重结晶, 得化合物 A (15 mg); 在石油醚/乙酸乙酯体积比为 40/60 的洗脱液中得到组分  $F_{AB6}$ , 再经硅胶柱层析得化合物 C (5 mg)。

### 2.4 物理常数与波谱数据

ZSU-H85 A (A), 黄色结晶, 易溶于甲醇,  $\theta_{\text{mp}}\ 241\text{ }^\circ\text{C}$  (分解);  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -144$  (MeOH); HREIMS  $m/z$ : 300.0628; EIMS  $m/z$ : 300 (15), 282 (100), 283 (11), 254 (8), 236 (11), 237 (5); UV  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$  ( $\epsilon$ ) (MeOH): 237 (110696), 296 (104035), 468 (151359); IR  $\nu/\text{cm}^{-1}$  (KBr): 3553, 3413, 3235, 1638, 1617, 617;  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz  $\text{CD}_3\text{OD TMS}$ )  $\delta$ : 7.13 (d,  $J=2.5\text{ Hz}$ ), 6.53 (d,  $J=2.5\text{ Hz}$ ), 8.31 (s), 7.48 (s), 5.20 (q,  $J=6.5\text{ Hz}$ ), 1.47 (3H, d,  $J=6.5\text{ Hz}$ );  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz  $\text{CD}_3\text{OD TMS}$ )  $\delta$ : 109.1 (CH), 166.3 (C), 108.8 (CH), 166.0 (C), 126.3 (CH), 141.0 (C), 160.8 (C), 113.3 (CH), 183.7 (C), 187.4 (C), 136.6 (C), 110.9 (C), 135.4 (C), 127.0 (C), 65.8 (CH), 23.7 ( $\text{CH}_3$ )。

安息香异戊烯酯 (B), 无色结晶, 易溶于乙醚; EI-MS  $m/z$ : 206 (6), 207 (1), 138 (63), 139 (6), 140 (1), 121 (18), 122 (1.5), 69 (100), 70 (5.5);  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 Hz TMS)  $\delta$ : 1.81 (s, 3H), 1.76 (s, 3H), 4.58 (d,  $J=6.8\text{ Hz}$ , 2H), 5.49 (t,  $J=6.8\text{ Hz}$ , 1H), 6.94 (d,  $J=8.8\text{ Hz}$ , 2H), 8.05 (d,  $J=8.8\text{ Hz}$ , 2H)。

壬二酸 (C), 白色固体, 易溶于氯仿,  $\theta_{\text{mp}}\ 105\sim 106\text{ }^\circ\text{C}$ ; EI-MS  $m/z$ : 171 (5), 152 (42), 124 (40), 111 (31), 98 (20);  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz  $\text{CDCl}_3$ , TMS)  $\delta$ : 1.37 (m, 6H), 1.64 (m, 4H), 2.35 (t,  $J=7.3\text{ Hz}$ , 4H)。

## 参考文献:

- [1] 刘宇红,姜广路,赵立平,等. 第四次全国结核病流调-结核分枝杆菌耐药性分析与评价[J]. 中华结核和呼吸杂志,2002,25(4):224.
- [2] 王魁民,刘宇红,姜广路,等. 世界卫生组织中国结核病耐药监测的结果评价[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(8):863.
- [3] WEN Lu, CAI Xiaoling, SHE Zhigang, et al. Three metabolites from the mangrove endophytic fungus *Sporothrix* sp. (#4335) from the South China Sea[J]. Journal of Organic Chemistry, 2009, 74(3): 1093-1098.
- [4] HUANG Zhongjing, CAI Xiaoling, SHAO Changlun, et al. Chemistry and weak antimicrobial activities of phomopsins produced by mangrove endophytic fungus *Phomopsis* sp. ZSU-H76[J]. Phytochemistry, 2008, 69: 1604-1608.
- [5] XU Fang, ZHANG Yi, WANG Jiajun, et al. Xyloketal from mangrove fungus *Xylaria* sp. 2508[J]. Journal of Natural Products, 2008, 71(7): 1251-1253.
- [6] CHENG Zhongshan, TANG Wencheng, SU Zhijian, et al. Identification of mangrove endophytic fungus 1403 (*Fusarium proliferatum*) based on morphological and molecular evidence[J]. Journal of Forestry Research, 2008, 19(3): 219-224.
- [7] CHEN Yiguang, SHAO Changlun, HUANG Zhongjing, et al. Structure elucidation and NMR assignments for two amide alkaloids from a mangrove endophytic fungus (No. ZZF-22) [J]. Magnetic Resonance of Chemistry, 2009, 47(1): 92-95.
- [8] LI Jun, LU Yuanyuan, SU Xiaojian, et al. A norsesquiterpene lactone, a benzoic acid derivative from leaves of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk and their activities inhibiting glucosidase and glycogen phosphorylase [J]. Planta Medica, 2008, 74: 287-289.
- [9] 魏美燕,胡谷平,郑彩娟,等. 中国南海红树内生真菌 *Microsphaeropsis* sp. 二氢异香豆素类化合物研究[J]. 中山大学学报:自然科学版,2010,49(2):68-71.
- [10] 龚运淮,丁立生. 天然产物核磁共振碳谱分析[M]. 昆明:云南科学技术出版社,2005.

(上接第149页)

## 参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编写委员会. 中国植物志(第72卷)[M]. 北京:科学出版社,2004:47-61.
- [2] 广东省食品药品监督管理局. 广东中药材标准(第一册)[M]. 广州:广东科技出版社,2004:12-14.
- [3] HAYASHI T, SMITH F T, LEE K H. Antitumor agents. 89. Psychorubrin, a new cytotoxic naphthoquinone from *Psychotria rubra* and its structure-activity relationships [J]. J Med Chem, 1987, 30(11): 2005-2008.
- [4] KUO Y C, CHEN C C, TSAI W J, et al. Regulation of herpes simplex virus type 1 replication in Vero cells by *Psychotria serpens*: relationship to gene expression, DNA replication, and protein synthesis [J]. Antiviral Res, 2001, 51(2): 95-109.
- [5] JIA Z H, MITSUNAGA K, KOIKE K, et al. New bergenin derivatives from *Ardisia crenata* [J]. Nat Med, 1995, 49(2): 187-189.
- [6] 韩力,倪慕云. 中药朱砂根化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(12): 737-739.
- [7] FENG W S, GAO L, ZHENG X K, et al. Polyphenols of *Euphorbia helioscopia* [J]. Chin J Nat Med, 2009, 7(1): 37-39.
- [8] 王继良,何瑾,邹澄,等. 岩白菜素的研究进展[J]. 中国民族民间医药杂志, 2006, 83: 321-325.
- [9] 郑民实,陈楚城,段文军. 没食子酸抗HBsAg/HBeAg的实验研究[J]. 实用中医药杂志,1998, 14: 5-7.
- [10] 毕良武,吴在蒿,陈笏鸿,等. 单宁在抗艾滋病研究中的应用[J]. 林产化工通讯, 1998(2): 11-15.
- [11] KOIDE T, NOSE M, INOUE M, et al. Trypanocidal effects of gallic acid and related compounds [J]. Planta Med, 1998, 64(1): 27-30.
- [12] KANE C J, MENNA J H, SUNG C S, et al. Methyl-3,4,5-trihydroxybenzoic acid is a potent and highly specific inhibitor of herpes simplex virus *in vitro*. II. Antiviral activity of methyl gallate and its derivatives [J]. Biosci Rep, 1988, 8(1): 85-94; 95-102.