

南海红树林内生真菌 B60 中的一个新原儿茶酸衍生物*

邵长伦^{1,2}, 胡谷平², 张秀丽¹, 王长云¹, 余志刚², 林永成²

(1. 中国海洋大学医药学院, 山东 青岛 266003;

2. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘要: 对红树林内生真菌 B60 进行次级代谢产物研究, 从其培养液中分离得到一个新的原儿茶酸衍生物, 3-羟基-4-异戊烯氧基苯甲酸甲酯 (1)。该化合物的结构通过广泛的波谱方法得到确证, 尤其是 2D NMR (HMQC, HMBC)。

关键词: 内生真菌; 新原儿茶酸衍生物; 结构鉴定

中图分类号: O656 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2008) 05-0133-02

近年来海洋微生物已经被证实是除海绵、腔肠动物外的另一海洋活性天然产物的重要来源^[1], 而红树林由于其独特的生理生态特点, 红树林区具有丰富的内生微生物, 构成海洋真菌第二大的生态学亚类。本研究组已经对中国南海红树林内生真菌进行了较系统的研究, 并从中得到了一系列结构新颖的或药理活性良好的化合物^[2-3]。本文在以前的工作基础上^[4], 继续研究内生真菌 B60 的次级代谢产物, 从其培养液中分离得到一个新的原儿茶酸衍生物, 3-羟基-4-异戊烯氧基苯甲酸甲酯 (1)。该化合物的结构通过广泛的波谱方法得到确证, 尤其是 2D NMR (HMQC, HMBC), 同时归属了所有碳和氢 (见表 1 及图 1)。

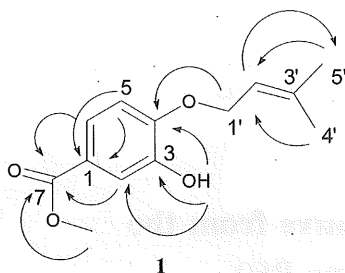


图 1 化合物 1 的结构式及主要 HMBC 相互关系

Fig. 1 The structure and the key HMBC correlations of compound 1

1 结果与讨论

化合物 1 为无色片状晶体。EI MS 表明该化合

物的相对分子质量为 236, 结合该化合物的氢谱和碳谱可以确定其分子式为 $C_{13}H_{16}O_4$, 不饱和度为 6。IR 谱中显示分子中含有羟基 ($3\ 398.6\ cm^{-1}$) 和羰基 ($1\ 700.7\ cm^{-1}$) 官能团。碳谱中共显示 13 个碳信号, 结合 DEPT 谱, 可以确定含有 4 个 CH ($110.9, 115.5, 118.6, 122.6$), 1 个 OCH_2 (65.7), 2 个 CH_3 ($18.2, 25.7$), 1 个 OCH_3 (51.9), 5 个季碳 ($166.8, 149.7, 145.5, 139.4, 123.1$), 其中 $\delta\ 166.8$ 处为羰基信号。氢谱中, 7.57 (1H, dd, $J=9.0, 1.8\ Hz$), 6.85 (1H, d, $J=9.0\ Hz$), 7.58 (1H, d, $J=1.8\ Hz$) 的 3 个氢构成苯环 1, 3, 4 三取代 ABX 自旋系统; $\delta\ 5.81$ 处为可交换的氢信号, 表明含有一个自由酚羟基; 此外氢谱中还有如下信号: 4.61 处的 OCH_2 , 5.46 处的 CH, 3.86 处的 OCH_3 , 1.79 和 1.74 处的 2 个 CH_3 。

根据 HMQC 谱确定碳直接相连的氢的情况 (见表 1), 因为 5.81 处的质子不直接与碳相连, 进一步说明该氢为一活泼氢。通过 HMBC 谱确定了分子中的各个官能团在苯环中的连接位置, 从而确定整个分子的结构。在 HMBC 谱中, H-1 分别与 C-2 和 C-3 相关, H-2 分别与 C-4 和 C-5 相关, 由此可以推导出分子中存在这一个异戊烯基团; 而 H-1 与 C-4 的三键相关可以确定该异戊烯片段通过氧原子连在 C-4; 5.81 处的 -OH 与 C-2', C-3' 和 C-4' 的相关, 可知该 -OH 与 C-3' 相连; H-2' 和 H-6' 分别与 166.8 处的羰基相关,

* 收稿日期: 2008-05-06

基金项目: 国家“863”科技攻关计划资助项目 (2006AA09Z422, 2006AA09Z419); 国家自然科学基金资助项目 (40776073, 20572136); 国家教育部科技创新工程重大项目培养基金资助项目 (706038); 中国海洋大学博士启动基金资助项目 (1404-82421036)

作者简介: 邵长伦 (1979 年生), 男, 博士; 通讯联系人: 余志刚; E-mail: cesshzhg@mail.sysu.edu.cn

说明羰基连在 C-1', 3.86 处的 OCH₃ 与该羰基相关, 说明存在一个羧酸甲酯。至此, 化合物 1 的结构得到完全确认。

2 实验部分

2.1 试剂与实验仪器 日本电子株式会社 (JEOL) ECP 600NB 超导核磁共振仪; VG ZAB-HS 质谱仪; Bruker EQUINOX55-A590P3E 红外光谱仪; 北京泰克仪器公司的 X-4 数字显示显微熔点测试仪。

所用试剂均为广州化学试剂厂生产, 化学纯, 溶剂经重蒸后使用。柱层析硅胶为青岛海洋化工厂生产的 200~300 目硅胶, 硅胶 H, 薄层硅胶 GF254。

2.2 菌种及其发酵培养 海洋真菌 B60 从湛江红树林植物分离得到, 菌种由中山大学生命科学院提供, 保存在 4℃ 下的玉米海水琼脂培养基中。菌种培养发酵条件见文献^[4]。

2.3 提取分离 发酵液用纱布过滤, 菌体和培养液分别收集, 培养液浓缩, 130 L 浓缩至 5 L, 乙酸乙酯提取。提取浓缩物分别拌硅胶过柱, 以石油醚—乙酸乙酯—甲醇梯度淋洗。φ = 10% 乙酸乙酯/石油醚组分再经反复柱层析, 制备薄层层析和重结晶纯化后得到化合物 1 (10.5 mg)。

2.4 化合物 1 的物理和波谱数据 化合物 1, C₁₃H₁₆O₄, 无色片状晶体。θ_{mp}: 56℃, IR spectrum (KBr, ν/cm⁻¹): 3 398.6 (OH), 2 924.5, 1 700.7 (C=O), 1 598.63, 1 511.3 (Ph), 1 438.8, 1 378.6。EI: m/z 236 [M]⁺ 205, 168。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) 和 ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) 见表 1。

表 1 化合物 1 的 NMR 数据

Tab. 1 NMR Data of 1 (600 MHz, CDCl₃, δ, J/Hz)

编号	δ _c (DEPT)	δ _H	HMBC
1	123.1 C		
2	115.5 CH	7.58(d, 1.8)	C-3, 4, 6, 7
3	145.5 C		
4	149.7 C		
5	110.9 CH	6.85(d, 9.0)	C-1, 3, 4
6	122.6 CH	7.57(dd, 9.0, 1.8)	C-2, 4, 7
7	166.8 C		
7-OCH ₃	51.9	3.86(s)	C-7
1'	65.7CH ₂	4.61(d, 7.2)	C-4, 2', 3'
2'	118.6 CH	5.46(m)	C-4', 5'
3'	139.4 C		
4'	18.2 CH ₃	1.74(s)	C-2', 3', 5'
5'	25.7 CH ₃	1.79(s)	C-2', 3', 4'
3-OH	5.81(s)		C-2, C-3, C-4

致谢: 菌株 B60 由中山大学生命科学院周世宁教授提供, 在此表示感谢。

参考文献:

- [1] BLUNT J W, COPP B R, HU W P, et al. Marine natural products [J]. Nat Prod Rep, 2008, 25:35.
- [2] LIN Y C, WU X Y, FENG S, et al. Five unique compounds: xyloketal from mangrove fungus Xylaria sp. from the south China sea coast [J]. J Org Chem, 2001, 66: 6252.
- [3] SHAO C L, SHE Z G, GUO Z Y, et al. ¹H and ¹³C NMR assignments for two anthraquinones and two xanthones from the mangrove fungus (ZSUH-36) [J]. Magn Reson Chem, 2007, 45: 434.
- [4] SHAO C L, GUO Z Y, SHE Z G, et al. A new isoprenyl phenyl ether compound from mangrove fungus [J]. Chem Nat Comp, 2007, 43: 377.

A New Protocatechuic Acid Derivative from the Mangrove Endophytic Fungus B60

SHAO Chang-lun^{1,2}, HU Gu-ping², ZHANG Xiu-li¹, WANG Chang-yun¹, SHE Zhi-gang², LIN Yong-cheng²

(1. School of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: A new protocatechuic acid derivative, namely 3-hydroxy-4-O-isoprenyl benzoic acid methyl ester (1), was isolated from the mangrove endophytic fungus B60. Its structure was determined by comprehensive spectroscopic methods, especially 2D NMR (HMQC, HMBC).

Key words: endophytic fungus; new protocatechuic acid derivative; structure elucidation