

南海红树林内生真菌 ZZF79 中吡喃酮类代谢产物的研究*

黄忠京, 邵长伦, 陈意光, 佘志刚, 林永成

(中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘要: 从南海红树林内生真菌 ZZF79 代谢产物中分离到 4 个 γ 吡喃酮类化合物, 它们的结构通过 MS、NMR 等波谱分析推导确定。其中 2-benzyl-4H-pyran-4-one 为首次从自然界中分离得到, 而 rubrofusarin B、5-hydroxy-6,8-dimethoxy-2,3-dimethyl-4H-naphtho[2,3-b]-pyran-4-one 和 aurasperone A 为首次从海洋微生物中分离得到。

关键词: 内生真菌; γ 吡喃酮; 代谢产物

中图分类号: O626 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2007) 04-0113-03

红树林为自然分布于热带亚热带潮间带的木本植物群落, 是海洋环境中特有的森林类型。生长于这类特殊植物体内的内生真菌在物种分布、代谢途径或代谢产物多样性方面都有其特性。这类真菌具有产生结构新颖、生物活性多样的化合物的能力, 是潜在的微生物药物开发资源, 但国内外对红树林内生真菌代谢产物研究的报道极少。近年来, 本研究所小组率先开展红树林内生真菌活性物质的研究, 已分离出一批骨架新颖、生物活性较好的化合物^[1-3]。

真菌 ZZF79 是从南海红树林 *Kandelia candel* 中获得的一株内生真菌, 以 GYT 为培养基, 在实验室发酵培养 80 L。目前, 从菌体中分到 4 个 γ 吡喃酮类化合物。其中 2-benzyl-4H-pyran-4-one (**1**) 是首次从自然界中分离得到; 化合物 rubrofusarin B (**2**), 5-hydroxy-6,8-dimethoxy-2,3-dimethyl-4H-naphtho[2,3-b]-pyran-4-one (**3**) 和 aurasperone A (**4**) 均为首次从海洋微生物中分离得到。据报道, 化合物 **2** 和 **3** 均具有细胞毒作用和对植物生长有抑制作用^[6]; 化合物 **4** 具有细胞毒作用和抑制 Taq DNA 聚合酶作用^[7]。

1 结果与讨论

化合物 **1** LC-MS 表明分子离子峰是 187 [M+1], 结合 ^1H 和 ^{13}C NMR (分子中含有 12 个 C 其中 1 个 CH_2 , 8 个 sp^3 的 CH, 3 个 sp^2 的 C), 推定分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_2$ (不饱和度为 8)。 $\delta_{\text{H}} 7.13 \sim 7.28$ (m, 5H), 说明有一单取代苯环 (不饱和度为 $\Omega=4$); 有一个与双键共轭的 $\text{C}=\text{O}$ ($\delta_{\text{C}} 179.02$),

两个 $\text{C}=\text{O}$; 还余下不饱和度为 1, 可能是一个环; 因此推断 **1** 可能是吡喃酮类化合物。 $\delta_{\text{H}} 6.17$ (dd, $J=5.7, 2.4 \text{ Hz}$, 1H), $\delta_{\text{H}} 6.06$ (d, $J=2.4 \text{ Hz}$, 1H), $\delta_{\text{H}} 7.58$ (1H, d, $J=5.7 \text{ Hz}$), 显示这 3 个 H 之间存在间位偶合和邻位偶合。因此推断化合物 **1** 是一个 β -取代- γ 吡喃酮类: 即 2-benzyl-4H-pyran-4-one。其波谱数据与文献 [8] 报道一致。

化合物 **2** LC-MS 表明分子离子峰是 287 [M+1], 结合 ^1H 和 ^{13}C NMR (分子中含有 16 个 C 即 1 个 $-\text{CH}_2$, 2 个 $-\text{OCH}_2$, 4 个 sp^3 的 CH, 9 个 sp^2 的 C), 由此推定分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_3$ (不饱和度 $\Omega=10$)。 $\delta_{\text{H}} 6.38$ (d, $J=2.4 \text{ Hz}$, 1H) 和 $\delta_{\text{H}} 6.57$ (d, $J=2.4 \text{ Hz}$, 1H), 说明苯环上有间位偶合的两个 H。 $\delta_{\text{C}} 182.6$ 为与双键共轭的 $\text{C}=\text{O}$, $\delta_{\text{C}} 166.4, 155.6$ 的两个 C 与氧相连 (与化合物 **1** 相似), 说明含有 γ 吡喃酮类的结构。极强的去屏蔽效应 $-\text{OH}$ ($\delta_{\text{H}} 13.25$), 说明 $-\text{OH}$ 与邻近的 $\text{C}=\text{O}$ 形成氢键。与文献 [9] 波谱数据对照一致, 确定化合物 **2** 为 rubrofusarin B。

化合物 **3** LC-MS 表明分子离子峰是 301 [M+1], 根据 ^1H 和 ^{13}C NMR (分子中含有 17 个 C 即 2 个 $-\text{CH}_2$, 2 个 $-\text{OCH}_2$, 3 个 sp^3 的 CH, 10 个 sp^2 的 C), 可以推定分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_3$ (不饱和度 $\Omega=10$)。化合物 **3** 与化合物 **2** 相比, 少一个 H ($\delta_{\text{H}} 6.26$), 多 1 个 $-\text{CH}_2$ ($\delta_{\text{H}} 2.03$), 说明一个 $-\text{CH}_2$ 取代了化合物 **2** 的一个 H, 所以断定化合物

* 收稿日期: 2006-11-20

基金项目: 国家“863”计划资助项目 (2001 AA624010); 国家自然科学基金资助项目 (20072058, 20572136)

作者简介: 黄忠京 (1963 年生), 男, 在职博士研究生, 广西民族大学任教; 通讯联系人: 林永成; E-mail: cesyc@mail.sysu.edu.cn

3 为 5-hydroxy-6,8-dimethoxy-2,3-dimethyl-4H-naphtho[2,3-b]pyran-4-one, 其波谱数据与文献 [6] 报道一致。

化合物 4 IC-MS 表明分子离子峰是 571 [M+1], 结合 ^1H 和 ^{13}C NMR (分子中含有 32 个 C 即 2 个 $-\text{CH}_3$, 4 个 $-\text{OCH}_3$, 6 个 sp^3CH , 20 个 sp^2C), 推定分子式为 $\text{C}_{32}\text{H}_{26}\text{O}_6$ (不饱和度 $\Omega=20$)。根据 $\delta_{\text{H}} 2.13$ (s, 3H, 2'- CH_3), $\delta_{\text{H}} 5.98$ (s, 1H, H-3), $\delta 184.4$ (与双键共轭的 $\text{C}=\text{O}$), $\delta 167.3, 150.7$ (与氧相连的两个 C), 芳环间位偶合的 2 个 H ($\delta_{\text{H}} 6.20, 6.41$, d, $J=2.1\text{ Hz}$) 和 2 个 $-\text{OCH}_3$ ($\delta_{\text{H}} 4.03, 3.62$), 极强的去屏蔽效应 $-\text{OH}$ ($\delta_{\text{H}} 13.25$), 可断定化合物 2 是化合物 4 的部分结构单元。根据质谱和明显重复的 NMR 数据, 可知化合物 4 是由两个分子化合物 2 组成的二聚物。与化合物 2 相比较, C(10) 上没有 H ($\delta_{\text{H}} 6.86$), C(7) 没有 H ($\delta_{\text{H}} 6.38$, d, $J=2.4\text{ Hz}$), 所以二聚物是通过这两个碳相连的。再与文献 [7] 波谱数据对照一致, 确定化合物 4 为 aurasperone A。

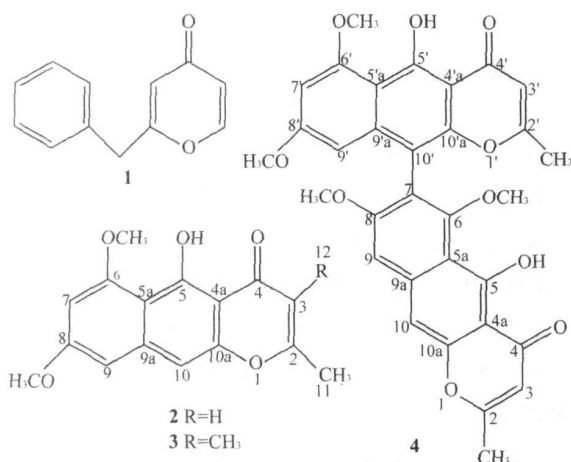


图 1 化合物 1, 2, 3, 4 的结构

Fig. 1 The structures of compounds 1, 2, 3 and 4

2 实验部分

2.1 试剂和仪器 所用试剂均为市售 AR 试剂, 所用仪器为 LCQ XP 质谱仪, NOVA-300 核磁共振仪, 北京 X4 型显微熔点仪。

2.2 菌种和菌种培养

(1) 菌种: ZZ79 号菌株是采自中国南海红树林 Kandelia candel 的内生真菌, 由中山大学生命科学院周世宁教授提供, 菌种保存在中山大学内。

(2) 菌种培养: 菌种以 PDA 为培养基, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。发酵培养基为葡萄糖 ($\rho=0.5\%$), 蛋白胨 ($\rho=0.1\%$), 酵母膏 ($\rho=0.05\%$), 粗海盐 ($\rho=0.2\%$), $\text{pH} 7.0$, 500 mL 三角瓶, 内装培养液 300

mL, 8 P 灭菌 15 min 后接种。共接种 80 L, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 静置培养 30 d 过滤, 收集菌体。

2.3 提取和分离 菌体风干后, 用甲醇浸泡。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。收集各组分再经反复柱层析, 制备薄层层析, 重结晶纯化。从菌体中分离得到化合物 (1) 10 mg, (2) 14 mg, (3) 10 mg 和 (4) 15 mg。

2.4 主要实验数据

化合物 1 淡黄色油状物。IC-MS (m/z : 187 [M+1]). ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz, TMS) δ 7.58 (d, $J=5.7\text{ Hz}$, 1H), 7.13~7.28 (m, 5H), 6.17 (dd, $J=5.7, 2.4\text{ Hz}$, 1H), 6.06 (d, $J=2.4\text{ Hz}$, 1H), 3.72 (s, 2H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz, TMS) δ 179.0 (C), 167.9 (CH), 154.9 (CH), 134.3 (C), 128.9 (2CH), 128.7 (2CH), 127.4 (CH), 116.5 (CH), 115.4 (CH), 39.9 (CH₃).

化合物 2 橙黄色固体, $\theta_{\text{mp}} 211\sim 213\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。IC-MS (m/z : 287 [M+1]). ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz, TMS) δ 12.79 (s, 1H, OH-5), 6.86 (s, 1H, H-10), 6.57 (d, $J=2.4\text{ Hz}$, 1H, H-9), 6.38 (d, $J=2.4\text{ Hz}$, 1H, H-7), 6.26 (s, 1H, H-3), 3.96 (s, 3H, OCH₃-6), 3.91 (s, 3H, OCH₃-8), 2.50 (s, 3H, CH₃-11). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz, TMS) δ 182.6 (C-4), 166.4 (C-2), 161.2 (C-8), 158.8 (C-6), 156.4 (C-5), 155.6 (C-10a), 141.0 (C-9a), 110.20 (C-3), 108.7 (C-5a), 105.7 (C-4a), 104.8 (C-10), 97.8 (C-9), 96.9 (C-7), 55.9 (OCH₃-6), 55.5 (OCH₃-8), 20.6 (CH₃-11).

化合物 3 淡黄色针状固体, $\theta_{\text{mp}} 195\sim 197\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。IC-MS (m/z : 301 [M+1]). ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz, TMS) δ 13.25 (s, 1H, OH-5), 6.90 (s, 1H, H-10), 6.54 (d, $J=2.4\text{ Hz}$, 1H, H-9), 6.33 (d, $J=2.4\text{ Hz}$, 1H, H-7), 3.97 (s, 3H, OCH₃-6), 3.89 (s, 3H, OCH₃-8), 2.36 (s, 3H, CH₃-11), 2.03 (s, 3H, CH₃-12). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz, TMS) δ 184.1 (C-4), 167.4 (C-2), 162.6 (C-8), 161.5 (C-6), 160.6 (C-5), 153.3 (C-10a), 141.1 (C-9a), 119.2 (C-3), 108.4 (C-5a), 104.2 (C-4a), 101.0 (C-10), 97.8 (C-9), 97.2 (C-7), 56.1 (OCH₃-6), 55.4 (OCH₃-8), 23.1 (CH₃-11), 20.7 (CH₃-12).

化合物 4 黄色颗粒固体, $\theta_{\text{mp}} 203\sim 206\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。IC-MS (m/z : 571 [M+1]). ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz, TMS) δ 13.10 (s, 1H, OH-5), 7.15 (s, 1H, H-10), 6.97 (s, 1H, H-9), 6.06 (s, 1H, H-3), 3.79

(δ 3H OCH₃—8), 3.47(δ 3H OCH₃—6), 2.42(δ 3H CH₃—2), 13.12(δ 1H OH—5), 6.41(δ J=2.1 Hz 1H H—7), 6.20(δ J=2.1 Hz 1H H—9), 5.98(δ 1H H—3), 4.03(δ 3H OCH₃—6), 3.62(δ 3H OCH₃—8), 2.13(δ 3H CH₃—2). ¹³C NMR(CDCl₃, 75 MHz, TMS) δ : 182.2(C—4), 167.4(C—2), 161.8(C—5), 160.0(C—8), 158.4(C—6), 153.2(C—10^a), 140.6(C—9^a), 117.5(C—7), 107.3(C—3), 111.4(C—5^a), 104.6(C—4^a), 101.2(C—10), 101.3(C—9), 62.0(OCH₃—6), 55.9(OCH₃—8), 20.8(CH₃—2), 184.4(C—4), 167.3(C—2), 162.5(C—5), 161.2(C—8), 160.9(C—6), 150.7(C—10^a), 140.4(C—9^a), 117.5(C—7), 107.3(C—3), 108.5(C—5^a), 104.2(C—4^a), 105.1(C—10), 96.5(C—9), 56.2(OCH₃—6), 55.1(OCH₃—8), 20.7(CH₃—2).

参考文献:

[1] L N Y C, S H A O Z Y, J I A N G G C et al. Penicillazine, a unique quinolone derivative with 4H-5,6-dihydro-1,2-oxazine ring system from the marine fungus *Penicillium* sp. (#386) from the South China Sea [J]. *Tetrahedron* 2000, 56 (49): 9607

[2] L N Y C, W U X Y, F E N G S et al. A novel N-cinnamoylcyclopeptide containing an allenic ether from the fungus *Xylaria* sp. (#2508) from the South China Sea

[J]. *Tetrahedron Lett* 2001, 42: 449

[3] L N Y C, W U X Y, D E N G Z J et al. The metabolites of the mangrove fungus *Verruculina enallia* No. 2606 from a salt lake in the Bahamas [J]. *Phytochemistry* 2002, 59: 469

[4] C H E N G Y, L N Y C, W E N L. Two new metabolites of a marine endophytic fungus (No. 1893) from an estuarine mangrove on the South China Sea coast [J]. *Tetrahedron* 2003, 59 (26): 4907—4909

[5] Y A N G R Y, L I C Y, L N Y C et al. Lactones from a brown alga endophytic fungus (No. ZZP36) from the South China Sea and their antimicrobial activities [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2006, 16 (16): 4205—4208

[6] M A C I A S M, U L L O A M, G A M B O A A et al. Phyto-toxic compounds from the new coprophilous fungus *Guanomyces polythrux* [J]. *J Nat Prod* 2000, 63: 757—761

[7] A K I Y A M A K, T E R A G U C H I S, H A M A S A K I Y et al. New dimeric naphthopyrones from *Aspergillus niger* [J]. *J Nat Prod* 2003, 66: 136—139

[8] F R A N K J, M I C H A E L T. A Convenient synthesis of unsymmetrical substituted γ -pyrones from Meldrum's acid [J]. *Tetrahedron Letters* 1996, 37: 6449—6502

[9] F R I E S T A P H A. New naphthopyrones from *Aspergillus fonsecaus* [J]. *Tetrahedron* 1984, 40: 3617—3624

Pyrones in Metabolites of Marine Mangrove
Endophytic Fungus (No. ZZP79) from the South China Sea

HUANG Zhong-jing, SHAO Chang-lun, CHEN Yi-guang, LN Yong-cheng

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

Abstract: Four γ -pyrones were isolated from the metabolites of marine mangrove Endophytic fungus (No. ZZP79) in the South Sea of China. Their structures were characterized by MS, NMR. 2-Benzyl-4H-pyran-4-one was first isolated from nature. Rubrofusarin B, 5-hydroxy-6,8-dimethoxy-2,3-dimethyl-4H-naphtho[2,3-b]-pyran-4-one and aurasperone A were first isolated from the marine microorganism.

Key words: endophytic fungus, γ -pyrones, metabolites