

从南海红树内生真菌 No.2533 分离出新的异香豆素*

王 军¹, 林永成¹, 吴雄宇¹, 周世宁², VRIJMOED L.L.P.³

(1. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275;

2. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275;

3. 香港城市大学生物和化学系, 香港)

关键词: 海洋内生真菌; 异香豆素; 结构

中图分类号: O624.99 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2001) 01-0127-02

海洋微生物的研究是一个新兴的巨大领域, 发展很快, 取得了丰硕成果. 红树林海洋真菌是海洋微生物的重要组成部分, 大部分海洋微生物都可在红树林中找到. 但是, 至今国际上对红树林微生物特别是真菌生物学研究较多而对其活性物质研究则很少. 近年来, 作者等首先在国内开展对南海红树林真菌包括内生真菌活性物质的研究, 已分离出一大批结构新颖的, 有很好生理活性的化合物^[1-3].

2533 号菌是从南海红树 *avicennia* 嫩叶获得的一种内生真菌, 其代谢产物很丰富, 从它的培养液中分离出很多有意义的化合物, 其中异香豆素 *avicennin-A* 是新化合物, 未见文献报道.

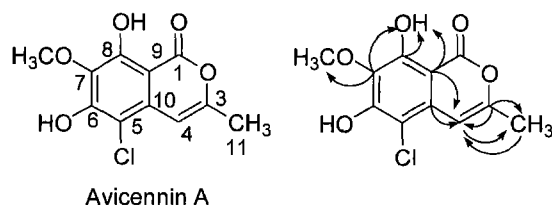


图1 Avicennin-A 的结构图和 HMBC 关系图

Fig.1 The structure and the
HMBC Correlations of Avicennin A

1 材料与方法

1.1 试剂与试验仪器 所用试剂均为市售 AR 试剂, 所用仪器为 VG ZAB-HS 质谱仪, INOVA-500 核磁共振仪, FT-5DX 红外光谱仪, ELEMETAR VARIOEL 元素分析仪.

1.2 菌种和菌种培养 真菌 No.2533 由香港城

市大学 L.L.P.Vrijmoed 和 E.B.G.Jones 教授提供, 上从红树 *avicennia* 的嫩叶分离出来的, 菌种分别保存在香港城市大学和中山大学内.

培养基: ρ (葡萄糖) 0.5%, ρ (蛋白胨) 0.1%, ρ (酵母膏) 0.05%, ρ (牛肉浸膏) 0.05%, 天然海水 1 L/20 L, 分装入 500 mL 三角瓶, 每瓶 300 mL, 8 Pa 15 min 灭菌后接种 (接种量 10%). 25 °C 静置培养 45 d, 过滤, 收集发酵液.

1.3 次级代谢物提取 收集发酵液约 220 L, 浓缩至 5 L, 乙酸乙酯萃取, 萃取液浓缩, 过滤, 拌入 100 目硅胶并装柱, 以乙酸乙酯和石油醚混合溶液梯度洗脱, 以 V(乙酸乙酯): V(石油醚) 为 10% ~ 20% 洗脱出 A, 重结晶纯化, 得 120 mg 白色针状晶体.

1.4 化合物的物理和波谱数据

A FABMS: 259 (14%) ($M + 2$), 257 (41%), $^1\text{H NMR}$ (500 Mz, CDCl_3 , TMS) δ : 11.37 (s, OH-8), 6.74 (d, 1 Hz, H-4), 6.60 (s, OH-6), 4.06 (s, CH_3 -7), 2.31 (d, 1 Hz, CH_3 -11); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ : 166.2 (C-1), 154.5 (C-3), 100.8 (C-4), 131.6 (C-5), 152.7 (C-6), 133.2 (C-7), 152.8 * (C-8), 134.5 (C-9), 104.8 (C-10), 19.7 (C-11), 61.1 (OCH_3); IR ν/cm^{-1} (KBr): 3 436, 3 010, 2 955, 2 850, 1 690, 1 646, 1 560, 1 472, 1 345, 1 290, 1 174, 1 095, 1 016. UV $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}(\epsilon)$: 342 (5 126), 284 (6 520). 元素分析 ($\text{C}_{11}\text{H}_9\text{ClO}_5$, $w/\%$, 括号里为计算值: C 52.18 (51.46), H 4.009 (3.51). θ_{mp} 197 ~ 199 °C.

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (29672053, 20072058); 广东省自然科学基金资助项目 (950026, 980371)

收稿日期: 2000-12-03; 作者简介: 王军 (1962-), 女, 博士生; 通讯联系人: 林永成.

2 结果与讨论

No.2533 菌采自香港红树 *avicennia* 嫩叶内部,其种属未鉴定. **A** 是从该菌的培养液分离得到的,它的 FABMS 分子离子峰是 257,其同位素峰(M):(M+2)=3:1,表明含 Cl,X-射线能谱证明有氯原子,结合元素分析、核磁共振氢谱和碳谱,推出分子式为 $C_{11}H_9ClO_5$,不饱和度为 7,显示分子可能含有芳香环,红外光谱羰基吸收在 1690 cm^{-1} ,碳谱中最低场信号位于 166.2. 证明分子中存在有强氢键的酯羰基或羧基, ^1H NMR 谱显示分子中含有 2 个 OH,其中,1 个在 11.37,这样的低场吸收,表明是 1 个酚羟基或羧基的羟基,因为在 HMBC 谱中,11.37 羟基与 C-7 相关,说明该羟基不属于羧基的应是酚羟基,氢谱中没有其它的羧基吸收信号,这样可推导分子中的羰基是酯基. 尚有 8 个不饱和碳,其中位于 154.5, 152.8, 152.2, 133.2 和 131.6 可能为连氧和氯的芳香碳,其余 3 个在 104.8, 100.8, 100.2 是不连杂原子的. DEPT 谱表明分子中有 1 个甲基和 1 个甲氧基,为 19.7 和 61.1. 除去羰基的 1 个不饱和度,苯环的 4 个不饱和度和 1 个双键后,还余 1 个不饱和度,故此该分子应为二环结构. HMQC 指定了分子中所有碳上质子的归属. **A** 的分子结构主要由 HMBC 证明(见图 1). 在 HMBC 谱中, C-3 与

H-4 和 CH_3 -11 相关表明甲基连在吡喃环上, C-7 分别与甲氧基和低场的酚羟基(11.37)相关,提示甲氧基连在 C-7 上. 在二维谱中连氯的碳 131.6, 和连羟基的碳 152.7 的相关信号没有被观察到. 根据经验计算^[4],对于苯环上的碳化学位移,除了直接相连的基团外,邻位基团影响最大. 苯环连甲氧基的碳应是 159.9,但在 **A** 中连甲氧基的碳只有 133.2,显然其邻位都有羟基,2 个邻位羟基可使其降低 25.4,得 134.5,与实际相近. 这样可推导出氯和羟基的位置.

参考文献:

- [1] ULRIKE K L. *Marine fungi — a prolific resource of biologically active natural products?* [J]. *Pharmazie*, 1995, 50.
- [2] 姜广策,林永成,周世宁,等. 中国南海红树内生真菌 No. 1403 次级代谢物的研究[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2000, 39(6): 119.
- [3] LIN Y C, SHAO Z Y, JIANG 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. from the South China Sea[J]. *Tetrahedron*, 2000, 56(49): 9607.
- [4] 龚运淮. 天然有机化合物的 ^{13}C 核磁共振化学位移[J]. 昆明: 云南科技出版社, 1986. 44

Avicennin A, a New Isocoumarin from Mangrove Entophytic Fungus No.2533 from the South China Sea

WAN Jun¹, LIN Yong-cheng¹, WU Xiong-yu¹, ZHOU Shi-ning², VRIJMOED L. L. P.³

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China;

2. School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China;

3. Department of Biology and Chemistry, City University of Hong Kong, Hongkong, China)

Abstract: Avicennin A, a new isocoumarin, was isolated from ethyl acetate extract of the mangrove endophytic fungus No.2533 from the South China Sea. Its structure was elucidated using spectroscopic methods, primarily 2D NMR techniques.

Keywords: mangrove endophytic fungus; isocoumarin; structure