

南海海洋真菌 *Hypoxylon oceanicum* 的代谢产物*

李厚金¹, 林永成¹, 王立¹, 周世宁², L.L.P. Vrijmoed³

(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. 香港城市大学生物与化学系, 香港)

摘 要: 对中国南海海洋真菌 *Hypoxylon oceanicum* (326号) 的代谢产物进行研究, 共分离得到8个化合物 A~H, 其中, 8-羟基-9-酮-7(11) 雅礁蓝烯-12, 8-交酯(A) 为新的倍半萜内酯化合物. 它们的结构通过 IR, FAB-MS, NMR (2DNMR) 及元素分析数据得到确定.

关键词: 海洋真菌 *Hypoxylon oceanicum*; 代谢产物; 8-羟基-9-酮-7(11) 雅礁蓝烯-12, 8-交酯

中图分类号: O624.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2001) 04-0070-04

近年来, 对海洋微生物代谢产物进行研究, 分离发现了一大批结构独特, 具强烈生理活性的化合物, 有些已作为药物进入了临床试验. 海洋微生物繁殖快, 易培养, 结合现代发酵工程技术, 工业化生产, 可大大降低药物的生产成本. 科学家们预计, 海洋微生物将是人们寻找治疗恶性肿瘤、艾滋病、心脑血管病等疑难杂症特效药的主要来源^[1,2].

采自南海的海洋真菌 *Hypoxylon oceanicum* (326号), 以GYT为培养基, 在实验室发酵培养200 L, 目前, 从培养液中分离得到2个化合物A和B, 从菌体中分离到6个化合物C~H, 其中A为新的倍半萜内酯化合物, B和C为首次从海洋真菌中分离得到.

1 结果与讨论

A, 无色固体, θ_{mp} 241~243 °C. FAB-MS m/z 265 [$M+1$]⁺, 综合NMR谱(见表1)确定分子式为C₁₅H₂₀O₄. IR ν/cm^{-1} (KBr) 3490.0(m), 3280.3(s)说明分子中存在羟基, 且羟基受氢键螯合作用; IR 1751.5(s), 1691.2(s)和 δ_C (DMSO-d₆, TMS, ppm) 171.2(C), 209.4(C)提示分子中含酯基和酮羰基, 酮羰基比正常波数偏低, 说明受氢键影响. 分子中不存在芳环结构, δ_C 122.4(C)和157.7(C)为双键的2个季碳, 综合IR和NMR可确定分子含 α , β -不饱和 γ -内酯结构. δ_H (DMSO-d₆, TMS) 7.11(s, br)为羟基的信号, 但分子中不存在其它的连氧次甲基质子信号, 表明羟基连季碳. 分

子中含3个CH₃, 4个CH₂, 2个CH和6个季碳C. CH₃ (δ_H 0.45, s; δ_C 10.8)和CH₃ (δ_H 1.71, s; δ_C 7.5)都连季碳, 根据HMOC, HMBC和H-HCOSY可推出结构片段—CH₂—CH—C(CH₃)—CH₂—C=C—CH₃; CH₃ (δ_H 0.96, d, $J=7$ Hz, δ_C 14.3)连一个CH, 再结合其它NMR数据, 可确定另一个结构片段CH₃—CH—CH₂—CH₂—. 根据HMBC, 确定各片段的连接顺序. A的结构为8-羟基-9-酮-7(11)雅礁蓝烯-12, 8-交酯, 其基本骨架为雅礁蓝烷^[3], A是一个新的倍半萜内酯.

B, 无色固体(EtOAc), θ_{mp} 243~245 °C. δ_C (DMSO-d₆, TMS) 169.8(C), 167.2(C), 165.0(C), 143.1(C), 138.7(CH), 119.7(C), 115.7(CH), 108.7(C), 75.3(CH), 32.6(CH₂), 20.6(CH₃). δ_H (DMSO-d₆, TMS): 12.92(s, br, 1H), 11.67(s, 1H), 8.07(d, $J=9$ Hz, 1H), 6.96(d, $J=9$ Hz, 1H), 4.76(m, 1H), 3.80(dd, $J=3$ Hz, 17.5 Hz, 1H), 3.02(dd, $J=12$ Hz, 17.5 Hz, 1H), 1.45(d, $J=5.5$ Hz, 3H). B为3, 4-二氢-8-羟基-3-甲基-1H-2-苯吡喃-1-酮-5-羧酸, 其波谱数据与标准物对照基本一致.

C, 无色针状固体(CHCl₃), θ_{mp} 138~140 °C. 由FAB-MS m/z 209 [$M+1$]⁺和元素分析($w/\%$): C 63.34, H 5.992, 确定分子式为C₁₁H₁₂O₄. ¹³CNMR和DEPT(见表2)显示分子中含2个CH₃, 4个CH, 5个季碳C. δ_H (CDCl₃, TMS): 7.38(d, $J=9$ Hz, 1H), 6.94(d, $J=9$ Hz, 1H)可确定分子含1, 2, 3, 4-四取代苯环结构. IR ν/cm^{-1} (KBr): 1653.1(s)和C(CDCl₃, TMS) 169.8(C)确定分子含酯基. IR ν

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

收稿日期: 2000-09-23; 作者简介: 李厚金(1974-), 男, 博士研究生; 通讯联系人: 林永成.

3 485.1(s), 3 410.7(s), 3 103.4(m)以及 δ_{H} 10.97 (s, 1H), 1.81(brs, 1H)说明分子中含有2个羟基, 其中一个为酚羟基, 另一个为醇羟基. CH_3 (δ_{H} 2.36, s, δ_{C} 17.1)与苯环相连, CH_3 (δ_{H} 1.63, d, $J = 7$ Hz, δ_{C} 16.3)与 CH (δ_{H} 4.62, qd, $J = 7$ Hz, 2 Hz, δ_{C} 7.5)相连, CH (δ_{H} 4.64, d, $J = 2$ Hz, δ_{C} 7.5)又与 CH (δ_{H} 4.62, qd, $J = 7$ Hz, 2 Hz, δ_{C} 7.5)相接. 再结合 HMBC 推出 **C** 的结构为 3,4-二氢-4,8-二羟基-3,5-二甲苯基-1H-2-苯吡喃)-1-酮, **C** 是一种植物毒素^[4].

D, 无色针状结晶 (EtOAc), θ_{mp} 247 ~ 248 °C.

FAB-MS m/z 413 [$M + 1 - \text{H}_2\text{O}$]⁺ 和元素分析 ($w/\%$) C 77.60, H 10.12, 再综合 NMR 数据确定分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_3$. ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , TMS) 和 DEPT 显示分子中含 6 个 CH_3 , 7 个 CH_2 , 11 个 CH , 4 个季碳 C. 由 ^1H NMR, ^{13}C NMR, H-HCOSY, HMQC, HMBC 综合谱图分析, 确定 **D** 的结构为 7,22-二烯-3,5,6-三羟基-麦角甾醇. 波谱数据与标准谱图对照, 基本一致^[5,6].

另外, 从菌体的总提物中, 还分离得到过氧化麦角甾醇(**E**), 麦角甾醇(**F**), 丁二酸(**G**), 甘露醇(**H**).

表 1 化合物 **A** 的 NMR 数据 (DMSO- d_6 , TMS)

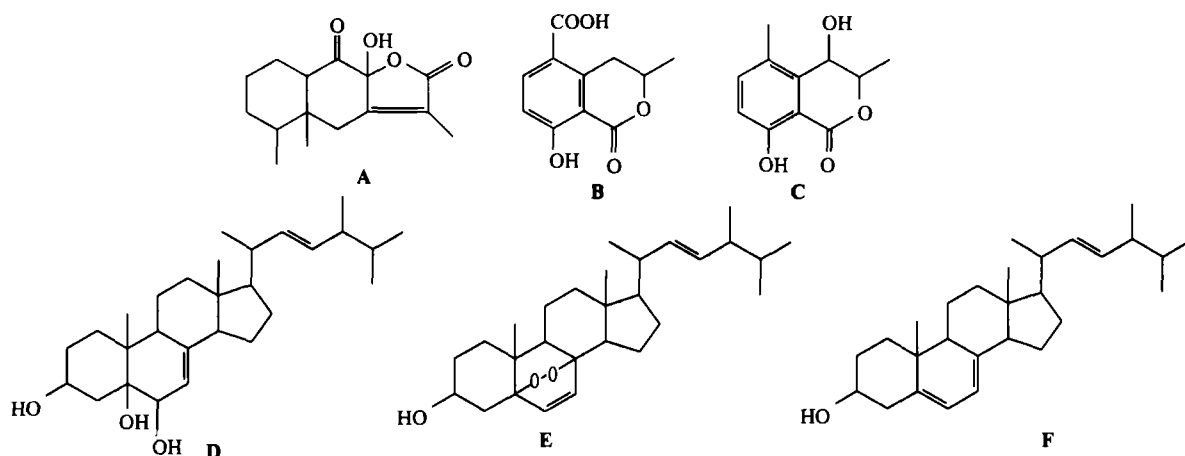
Tab.1 NMR data (DMSO- d_6 , TMS) of compound **A**

C	δ_{C} (DEPT)	H	d_{H} (J, Hz)	HMBC	H-HCOSY
1	40.2(CH_2)	1	2.56(m)		H-2, H-3, H-3'
		1'	2.50(m)		H-2, H-3, H-3'
2	33.6(CH_2)	2	2.15(m)		H-1', H-2', H-3', H-10
		2'	1.50(t, 13)		H-2, H-3, H-10
3	30.4(CH_2)	3	1.85(m),	H-1, H-15	H-1, H-3', H-4
		3'	1.55(ddd, 14.0, 4.5, 5.5)		H-1, H-3, H-4
4	40.8(CH)	4	2.08(m)	H-2, H-14, H-15	H-3, H-3', H-15
5	44.0(C)			H-6, H-6', H-14, H-15	
6	36.2(CH_2)	6	2.64(d, 13)	H-14	H-6'
		6'	2.17(dd, 13, 3.5)		H-6, H-13
7	157.7(C)			H-6, H-6', H-13	
8	103.2(C)			H-6, H-6'	
9	209.4(C)			H-1	
10	53.3(CH)	10	2.77(dd, 12.5, 3.5)	H-2', H-6, H-14	H-1, H-1', H-2, H-2', H-14
11	122.4(C)			H-6, H-6', H-13	
12	171.2(C)			H-13	
13	7.5(CH_3)	13	1.71(s)		H-6'
14	10.8(CH_3)	14	0.45(s)	H-6'	H-6', H-10
15	14.3(CH_3)	15	0.96(d, 7)		H-4
		OH	7.11		

表 2 化合物 **C** 的 NMR 数据 (CDCl_3 , TMS)

Tab.2 NMR data (CDCl_3 , TMS) of compound **C**

位号	δ_{C} (DEPT)	δ_{H} (J/Hz)	HMBC	位号	δ_{C} (DEPT)	δ_{H} (J/Hz)	HMBC
1	169.8			8	160.4(C)		H-6, H-7, H-14
2	0			9	106.7(C)		H-4, H-7, H-14
3	64.4(CH)	4.62(qd, 7, 2)	H-4, H-11	10	137.6(C)		H-4, H-6
4	78.0(CH)	4.64(d, 2)	H-3, H-11	11	16.3(CH_3)	1.63(d, 7)	H-3
5	126.2(C)		H-4, H-7, H-13	12	OH	1.81(brs)	
6	138.9(CH)	7.38(d, 9)	H-13	13	17.1(CH_3)	2.36(s)	H-6
7	118.1(CH)	6.94(d, 9)	H-14	14	OH	10.97(s)	



2 实验部分

2.1 试剂和仪器

所用试剂均为市售 AR 试剂, *Hypoxylon oceanicum* (326 号) 菌株由香港城市大学 Vrijmoed 教授提供. 所用仪器为 VG ZAB- HS 质谱仪, Elementar Vario EL 元素分析仪, Nicolet 50X 红外光谱仪, Varian 500M 核磁共振仪, 北京 X4 型显微熔点仪.

2.2 提取和分离

Hypoxylon oceanicum (326 号) 以 GYT 为培养基, 发酵培养 200 L, 培养液用乙酸乙酯提取, 菌体用甲醇浸泡, 提取物浓缩, 反复硅胶柱层析, 重结晶, 从培养液中得到 A 4 mg, B 35 mg, 菌体中得 C 24 mg, D 32 mg, E 15 mg, F 约 150 mg, G 28 mg, H 约 5 g.

2.3 主要实验数据

A, FAB-MS m/z 265 $[M+1]^+$: 247, 229, 165, 91, 55. IR ν/cm^{-1} (KBr): 3 490, 3 280, 2 970, 2 879, 2 842, 1 751, 1 691, 1 464, 1 436, 1 382, 1 319, 1 196, 1 153, 1 133, 983, 954, 901, 713. ^1H NMR, ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , TMS) 见表 1.

B, ^1H NMR, ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , TMS) (见前).

C, FAB-MS m/z 209 $[M+1]^+$, 191, 91. IR ν/cm^{-1} (KBr): 3 485, 3 411, 3 103, 2 983, 2 927, 1 653, 1 606, 1 477, 1 386, 1 328, 1 222, 1 175, 1 142, 1 043, 998, 959, 864, 834, 737, 711, 672. ^1H NMR, ^{13}C NMR (CDCl₃, TMS) 见表 2.

D, FAB-MS m/z 413 $[M+1-H_2O]^+$, 395, 377, 341, 269, 251, 227, 183, 69. IR ν/cm^{-1} (KBr):

3 610, 3 442, 2 956, 2 870, 1 657, 1 457, 1 381, 1 310, 1 256, 1 163, 1 107, 1 030, 969, 938, 867. ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , TMS): 11.9 (CH₃), 17.2 (CH₃), 17.5 (CH₃), 19.3 (CH₃), 19.6 (CH₃), 20.8 (CH₃), 21.2 (CH₂), 22.5 (CH₂), 27.5 (CH₂), 31.1 (CH₂), 32.4 (CH₂), 32.4 (CH), 36.6 (C), 38.9 (CH₂), 39.8 (CH), 40.1 (CH₂), 41.9 (CH), 42.2 (CH), 42.9 (C), 54.1 (CH), 55.3 (CH), 65.9 (CH), 72.0 (CH), 74.4 (C), 119.3 (CH), 131.3 (CH), 135.2 (CH), 139.5 (C). ^1H NMR (DMSO- d_6 , TMS): 0.55 (s, 3H), 0.80 (d, 6.5, 3H), 0.82 (d, 6.5, 3H), 0.89 (d, 6.5, 3H), 0.9 (s, 3H), 1.1 (d, 6.5, 3H), 1.24 ~ 1.28 (m), 1.45 ~ 1.50 (m), 1.60 (2H), 1.84 ~ 2.01 (m), 3.37 (1H), 3.78 (m, 1H), 5.10 (1H), 5.19 (1H), 5.25 (1H).

E, θ_{mp} 182 ~ 183 °C. ^{13}C NMR (CDCl₃, TMS): 12.9 (CH₃), 17.6 (CH₃), 18.2 (CH₃), 19.6 (CH₃), 19.9 (CH₃), 20.6 (CH₂), 20.9 (CH₃), 23.4 (CH₂), 28.6 (CH₂), 30.11 (CH₂), 33.1 (CH), 34.7 (CH₂), 36.9 (C), 37.0 (CH₂), 39.3 (CH₂), 39.7 (CH), 42.8 (CH), 44.6 (C), 51.1 (CH), 51.7 (CH), 56.2 (CH), 66.4 (CH), 79.4 (C), 82.1 (C), 130.7 (CH), 132.3 (CH), 135.1 (CH), 135.4 (CH). ^1H NMR (CDCl₃, TMS): 0.82 (s, 3H), 0.83 (3H), 0.84 (d, 7, 3H), 0.88 (s, 3H), 0.91 (d, 7, 3H), 1.05 (d, 3H), 1.20 ~ 1.25 (m), 1.32 ~ 1.51 (m), 1.53 ~ 1.63 (m), 1.70 (dt, 13.5, 3.5, 1H), 1.74 ~ 1.78 (m), 1.83 ~ 2.04 (m), 2.09 ~ 2.13 (m), 3.97 (m, 1H), 5.20 (m, 2H), 6.24 (d, 8.5, 1H), 6.50 (d, 8.5, 1H).

F, G, H 波谱数据略.

(下转第 80 页)

- 的过量体积[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2000, 39(4): 66-69.
- [10] 张向宇. 实用化学手册[M]. 北京: 国防工业出版社, 1986.
- [11] MORRONE S R, FRANCESCONI A Z. Excess volumes of (hexane or cyclohexane + propan-2-ol or butan-2-ol) at the temperatures (288.15 K and 298.15 K) [J]. J Chem Thermodynamics, 1996, 28: 935-940.
- [12] PALA A, SINGH W. Excess molar volumes and excess partial molar volumes of $\{x\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3 + (1-x)\text{H}(\text{CH}_2)_v(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{OH}\}$ ($v = 1, 2, \text{ and } 4$) at the temperature 298.15 K [J]. J Chem Thermodynamics, 1996, 28: 717-722.
- [13] RODRIGUEZ V, ARTIGAS H, SANTAFE J, et al. Excess volumes of (an alkanol + a haloalkane) at the temperatures 298.15 K and 313.15 K [J]. J Chem Thermodynamics, 1994, 26: 595-598.

Excess Volumes of {1, 8-cineole + alkanols} at 298.15 and 308.15 K

HUANG Zhong-qi, LIU Fa-qiang, OUYANG Gang-feng, CHEN Wen-jie, ZENG Lan-zhen

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The excess molar volumes V^E of {1, 8-cineole + CH_3OH , + $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, + $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, + $(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$, + $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}$, + $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OH}$ } were determined from density measurements using a vibrating-tube densimeter at 298.15 and 308.15 K. All the mixtures studied exhibit negative excess molar volumes. The V^E values are fitted to a Redlich-Kister equation.

Keywords: 1, 8-cineole; excess molar volumes; vibrating-tube densimeter

(上接第72页)

参考文献:

- [1] 林永成, 周世宁, 乐长高. 海洋微生物代谢产物化学 [J]. 大学化学, 1996, 11(6): 12.
- [2] FAULKNER D J. Highlights of marine natural products chemistry (1972-1999) [J]. Nat Prod Rep, 2000, 17: 1-6.
- [3] WIEMER D F, WOLFE L K, WILLIAM F, et al. Palmosolides A-C, new sesquiterpenoids from the India ocean teleostean octocoral *Coelogorgia palmosa* [J]. Tetrahedron Letters, 1990, 31(14): 1973-1976.
- [4] TOSHIKATSU O, SATORU O, TAKNOBU G, et al. Structures and phytotoxicity of metabolites from *Valsa ceratosperma* [J]. Agric Biol Chem, 1986, 50(4): 997-1001.
- [5] KAWAGISHI H, KATSUMI R, SAZAWA T, et al. Cytotoxic steroids from the mushroom *Agaricus blazei* [J]. Phytochemistry, 1988, 27(9): 2777-2779.
- [6] EL-MEKKAWY S, MESELY M R, NAKAMURA N, et al. Anti-HIV-1 and anti-HIV-1-protease substances from *Ganoderma lucidum* [J]. Phytochemistry, 1998, 49(6): 1651-1657.

Metabolites of Marine Fungus *Hypoxylon oceanicum* from the South China Sea

LI Hou-jin¹, LIN Yong-cheng¹, WANG Li¹, ZHOU Shi-ning², L. L. P. VRIJMOED³

(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, Hong Kong)

Abstract: A new sesquiterpenoid lactone 8-hydroxy-9-one-7(11)-eremophilien-12,8-olide (A), together with seven known compounds C-H, were isolated from the metabolites of marine fungus *Hypoxylon oceanicum* (326 #) from the South China Sea. Their structures were established by using a broad range of spectral evidence including 2DNMR spectroscopic experiment.

Keywords: marine fungus; *Hypoxylon oceanicum*; metabolite; 8-hydroxy-9-one-7(11)-eremophilien-12,8-olide