

深海来源真菌 *Aspergillus* sp. SCSIO Ind09F01 代谢产物的研究

田永奇^{1,2*}, 林圣楠¹, 周洪¹, 刘永宏^{2*}

¹福州大学生物科学与工程学院, 福州 350108;

²中国科学院南海海洋研究所, 中国科学院热带海洋生物资源与生态重点实验室, 广州 510301

摘要: 利用硅胶柱色谱、凝胶柱、反向柱色谱和高效液相等手段对深海来源的真菌 *Aspergillus* sp. SCSIO Ind09F01 的代谢产物进行分离纯化, 从中分离得到了 13 个化合物。通过理化性质、波谱分析方法结合文献对照, 鉴定了化合物的结构分别为: sydowinin B (1)、pinselin (2)、1,6-dihydroxy-3-methyl-8-carbom ethoxyxanthone (3)、MT-1 (4)、1-hydroxy-6,8-dimethoxy-3-methyl-9,10-anthraquin one (5)、methyl orsellinate (6)、orcinol (7)、mrlactone1 (8)、Janthinone (9)、cyclo-(L-trptophyl-L-phenylalanyl) (10)、13-O-acetylsydowinin B (11)、7-Hydroxy-2,5-dimethylchromone (12)、Acremolin (13)。

关键词: 深海真菌; *Aspergillus* sp. SCSIO Ind09F01; 波谱分析; 次生代谢产物

中图分类号: Q939.11 + 2; R931.77 文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.9.1010

Metabolites from the Deep-Sea-Derived Fungus *Aspergillus* sp. SCSIO Ind09F01

TIAN Yong-qi^{1,2*}, LIN Sheng-nan¹, ZHOU Hong¹, LIU Yong-hong^{2*}

¹College of Biological Science and Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China;

²Key Laboratory of Tropical Marine Bio-resources and Ecology, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China

Abstract: To study the chemical constituents from the deep-sea fungus *Aspergillus* sp. SCSIO Ind09F01. Thirteen compounds were isolated from the EtOAc extract using silica gel, Sephadex LH-20, ODS and HPLC methods. Based on the spectroscopic analysis, their structures were identified as sydowinin B (1), pinselin (2), 1,6-dihydroxy-3-methyl-8-carbom ethoxyxanthone (3), MT-1 (4), 1-hydroxy-6,8-dimethoxy-3-methyl-9,10-anthraquin one (5), methyl orsellinate (6), orcinol (7), mrlactone1 (8), Janthinone (9), cyclo-(L-trptophyl-L-phenylalanyl) (10), 13-O-acetylsydowinin B (11), 7-Hydroxy-2,5-dimethylchromone (12), Acremolin (13).

Key words: deep-sea fungus; *Aspergillus* sp. SCSIO Ind09F01; spectroscopic analysis; secondary metabolites

海洋微生物是长期处于高盐, 高压, 低温, 寡营养等环境, 因而产生了很多独特的代谢途径, 其产生的活性化合物也高于海洋藻类和海洋无脊椎动物^[1]。目前从海洋微生物发酵物种分离到许多结构新颖, 生物活性显著的化合物。其结构类型包括聚酮, 生物碱, 环肽, 大环内酯, 萜类等, 大多具有抗肿瘤, 抗菌, 抗病毒, 抗氧化等活性海洋真菌作为海洋微生物的重要分支, 其遗传背景复杂, 代谢产物种

类多、产量高, 成为海洋微生物新天然产物的主要来源, 研究最多的真菌是曲霉 (*Aspergillus*) 和青霉 (*Penicillium*), 而来源主要有海底泥, 海绵, 藻类, 珊瑚等^[2]。为了寻找结构新颖的活性分子, 我们课题组对一株深海来源的真菌的大米发酵产物进行了提取分离, 并从中得到 13 个化合物 (图 1)。通过核磁共振 (NMR)、质谱 (MS) 文献对照等方法鉴定了这些化合物的结构, 并首次得到了化合物 13 的单晶结构, 为修正的结构^[3-5] 提供了有力的证据 (图 2)。

收稿日期: 2017-05-05 接受日期: 2017-07-10

基金项目: 福州大学科研启动基金 (XRC-1672); 福州大学贵重仪器设备开放测试基金 (2017T022)

* 通信作者 Tel: 86-20-89023174; E-mail: yonghongliu@scsio.ac.cn; tian.yongqi@163.com

1 仪器与材料

核磁共振波谱仪; BrukerAvance DRX500 型

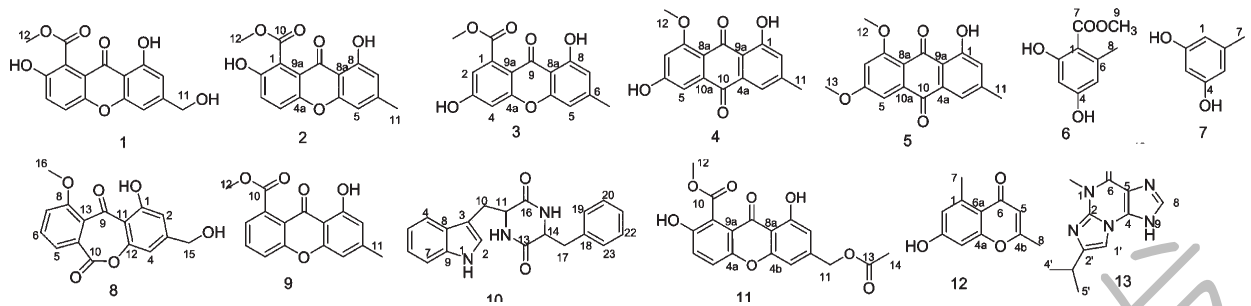


图1 化合物 1 ~ 12 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of 1 ~ 12

(500/125MHz, TMS 为内标)。HR-ESI-MS: Bruker-micro TOF-QII mass spectrometer (Bruker, Fällanden, Switzerland)。EYELAN-1000 型旋转蒸发器。高效液相色谱仪: Agilent 1200 (泵型号: G1212C, 紫外检测器型号: G1315D), YMC-Pack (C8 250 × 10 mm I. D. S-5 μm, 12 nm)。TLC: 高效薄层层析板 (HPTLC) 为德国 Merck 公司产品 and 烟台江友硅胶开发有限公司产品。显色剂: 12% 硫酸香兰素溶液。常用有机试剂均为国产的分析纯产品。

2 发酵培养

曲霉 *Aspergillus* sp. SCSIO Ind09F01 在 25 °C 的 MB 培养基上培养 7 d。将其接种到种子培养基中 (麦芽浸膏: 15 g, 海盐: 2.5 g, 蒸馏水: 1000 mL, pH 7.4 ~ 7.8), 并在 25 °C 的摇床中摇 72 h (170 rpm)。放大发酵用的是大米培养基。将 10 mL 种子悬浮液接种到 1000 mL 的大米培养基中 (大米 200 g, 海盐 2.5 g, 蒸馏水 200 mL), 培养 30 d。

3 提取与分离

发酵物用丙酮浸泡, 然后用乙酸乙酯提取 3 次。之后分别用石油醚进行萃取 (去除油脂) 得到粗浸膏。粗浸膏用硅胶柱, LH-20 凝胶柱和高效液相得到化合物 1 ~ 13。具体过程为: 发酵物切成小块浸泡到丙酮中一天, 然后过滤蒸干 (A), 滤渣用乙酸乙酯提取三次 (B)。将 A, B 合并后分别用石油醚, 乙酸乙酯萃取, 最后得到乙酸乙酯相 (31.3 g)。粗浸膏首先用中压硅胶柱进行分离, 流动相为石油醚 (petroleum ether)/乙酸乙酯 (EtOAc) 梯度洗脱 (V/V, 50:1, 30:1, 20:1, 10:1, 5:1, 1:1, 0:1)。洗脱下来的馏分用 TLC 检测并合并为 8 个馏分。Fraction 3 (4.1 g) 用凝胶柱 (Sephadex LH-20) 进行分离 (流

动相 CHCl₃/MeOH, 1:1) 得到 3 个馏分 (Fr. 3.1 ~ 3.3)。Fr. 3.2 用高效液相进行纯化 (SP-RP HPLC, C18 column (YMC-Pack, ODS-A, S-5 μm × 12 nm 250 × 20 mm i. d., 4 mL per minute) 流动相为 (MeOH/H₂O, 70:30) 得到 5 (17.0 mg), 9 (12.3 mg), 12 (3.5 mg)。Fr. 4 (400.5 mg) 用凝胶柱进行分离 (CHCl₃/MeOH, 1:1) 得到 3 个馏分 (Fr. 4.1 ~ 4.3)。Fr. 4.1 (92.5 mg) 用高效液相进行纯化, 流动相为 (MeOH/H₂O, 60:40) 得到 2 (12.3 mg), 3 (5.8 mg), Fr. 4.2 (110.1 mg) 用高效液相进行纯化, 流动相为 (MeOH/H₂O, 60:40) 得到 7 (13.5 mg)。Fr. 5 (1.3 g) 用凝胶柱进行分离 (CHCl₃/MeOH, 1:1) 得到 3 个馏分 (fr. 5.1 ~ 5.3)。Fr. 5.2 (600 mg) 用 ODS 柱洗脱, (流动相为 MeOH/H₂O, 1:9, 2:3, 3:2, 4:1, 9:1) 得到 4 个馏分 (fr. 5.2.1 ~ 5.2.4)。Fr. 5.2.3 (170 mg) 流动相为 (MeOH/H₂O, 65:35) 得到 4 (5.9 mg), 6 (6.7 mg), 8 (5.5 mg)。Fr. 8 (4.3 g) 用中压硅胶柱分段, 流动相为 (CHCl₃/MeOH, 100:0, 50:1, 25:1, 10:1, 0:100) 分成 7 个组分。Fr. 8.2 (1.3 g) 用 ODS 柱分离 (线性梯度, 50% MeOH ~ 100% MeOH) 得到 5 个馏分 (fr. 8.2.1 ~ 8.2.5)。Fr. 8.2.3 (70.1 mg) 用 HPLC 分离, 条件为 (CH₃CN-H₂O, 50:50) 得到 13 (10.2 mg)。Fr. 8.2.2 (47 mg) 用 HPLC 分离, 条件为 (CH₃CN-H₂O, 50:50) 得到 1 (8.0 mg)。Fr. 8.3 (1.1 g) 用 ODS 分离得到 3 个馏分 (fr. 8.3.1 ~ 8.3.3)。Fr. 8.3.2 (43 mg) 重结晶得到 10 (23.2 mg)。Fr. 8.4 (1 g) 用 ODS 柱分段得到 3 个组分 (fr. 8.4.1 ~ 8.4.3)。Fr. 8.4.3 (100 mg) 用 HPLC 纯化, 条件为 (CH₃OH-H₂O, 50:50) 得到 11 (5.7 mg)。

4 结构鉴定

化合物 1 黄色针状结晶, ESI-MS 给出分子量

为 316.06 [M + H]⁺, 核磁谱和紫外图谱给出的数据暗示它为咕酮类化合物, 经仔细核对这些数据也和已知化合物 sydownin B^[6] 完全一致。因此将其结构定为 sydownin B。其核磁数据如下: ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ_{H} : 7.56 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3), 7.43 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-4), 6.98 (1H, s, H-5), 6.73 (1H, s, H-7), 4.59 (2H, s, H₂-11), 3.91 (3H, s, H₃-11); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO) δ_{C} : 179.8 (C, C-9), 167.0 (C, C-10), 160.6 (C, C-8), 154.6 (C, C-6), 154.0 (C, C-4b), 150.0 (C, C-2), 147.9 (C, C-4a), 123.2 (CH, C-3), 120.0 (C, C-1), 118.4 (CH, C-4), 116.9 (C, C-9a), 107.7 (CH, C-7), 107.1 (C, C-8a), 104.1 (CH, C-5), 62.8 (CH₂, C-11), 52.3 (CH₃, C-12)。

化合物 2 黄色粉末; ESIMS m/z 323.1 [M + Na]⁺, 从紫外和核磁数据上可以推测其可能为咕酮类化合物。氢谱给出 4 个烯氢信号, 一个甲氧基信号和一个甲基信号, 而碳谱给出 2 个苯环信号, 2 个羰基信号和一个甲基信号, 以上数据和 pinselin 完全一致^[7]。所以将化合物 2 的结构定为 pinselin。其核磁数据如下: ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ_{H} : 7.60 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-4), 7.45 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3), 6.87 (1H, s, H-5), 6.63 (1H, s, H-7), 3.83 (3H, s, H₃-12), 2.37 (3H, s, H₃-11); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO) δ_{C} : 180.7 (C, C-9), 167.3 (C, C-10), 160.8 (C, C-8), 155.9 (C, C-4b), 151.2 (C, C-2), 149.6 (C, C-4a), 149.3 (C, C-6), 125.7 (CH, C-3), 120.6 (C, C-1), 117.7 (C, C-9a), 117.5 (CH, C-4), 111.2 (C, C-8a), 107.9 (CH, C-5), 106.4 (CH, C-7), 52.7 (CH₃, C-12), 22.5 (CH₃, C-11)。

化合物 3 黄色结晶 (MeOH), HR-ESI-MS 给出分子式为 C₁₆H₁₂O₆, 该化合物的核磁数据与 2 非常类似, 唯一不同的地方在于羟基取代的位置。将其数据与已知文献相对比^[8], 发现与已知化合物 1,6-dihydroxy-3-methyl-8-carbomethoxyxanthone 完全吻合, 所以将化合物 3 定为此结构。其核磁数据如下: ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ_{H} : 6.93 (1H, s, H-2), 6.88 (1H, s, H-5), 6.84 (1H, s, H-4), 6.65 (1H, s, H-7), 3.87 (3H, s, H₃-12), 2.39 (3H, s, H₃-11); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO) δ_{C} : 179.1 (C, C-9), 168.4 (C, C-10), 164.3 (C, C-8), 160.5 (C, C-3), 157.7 (C, C-4b), 155.2 (C, C-4a), 149.3 (C, C-

6), 135.0 (C, C-1), 112.9 (CH, C-2), 111.2 (CH, C-4), 109.9 (C, C-9a), 107.4 (CH, C-5), 105.8 (C, C-8a), 103.2 (CH, C-7), 52.7 (CH₃, C-12), 22.0, (CH₃, C-11)。

化合物 4 黄色晶体 (MeOH), 氢谱给出一个羟基信号, 4 个苯环上的氢信号, 一个甲氧基信号和一个甲基信号。碳谱给出 16 个碳信号: 二个苯环信号, 两个羰基信号, 一个甲氧基信号和一个甲基信号。这些数据结合紫外暗示化合物 4 为大黄素类化合物。经过比对文献^[9], 将化合物 4 结构定为 MT-1。其核磁数据如下: ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ_{H} : 13.24 (1H, s, OH-1), 7.43 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-4), 7.21 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-5), 7.13 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2), 6.85 (1H, $J = 2.5$ Hz, H-7), 3.91 (3H, s, H₃-12), 2.39 (3H, s, H₃-11); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO) δ_{C} : 186.2 (C, C-9), 182.2 (C, C-10), 164.4 (C, C-6), 164.3 (C, C-8), 163.3 (C, C-8), 161.6 (C, C-1), 146.5 (C, C-3), 136.7 (C, C-10a), 131.9 (C, C-4a), 124.1 (CH, C-2), 119.0 (CH, C-4), 114.3 (C, C-9a), 112.5 (C, C-8a), 106.9 (CH, C-5), 104.9 (CH, C-7), 56.2 (CH₃, C-12), 21.3 (CH₃, C-11)。

化合物 5 黄色针状结晶 (MeOH), 质谱结合核磁谱给出化合物分子式为 C₁₇H₁₄O₅。核磁谱给出 2 个苯环, 2 个酮羰基, 2 个甲氧基和 1 个甲基, 这些数据都与化合物 1-hydroxy-6,8-dimethoxy-3-methyl-9,10-anthraquinone 数据完全一致^[10]。其核磁数据如下: ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_{H} : 13.09 (1H, s, OH-1), 7.57 (1H, s, H-4), 7.46 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-5), 7.08 (1H, s, H-2), 6.79 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-7), 4.03 (3H, s, H₃-13), 3.99 (3H, s, H₃-12), 2.43 (3H, s, H₃-11); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ_{C} : 187.7 (C, C-9), 183.2 (C, C-10), 165.5 (C, C-8), 163.3 (C, C-6), 162.9 (C, C-1), 147.1 (C, C-3), 137.9 (C, C-10a), 132.5 (C, C-4a), 125.0 (CH, C-2), 120.2 (CH, C-4), 115.5 (C, C-8a), 104.9 (CH, C-7), 104.2 (CH, C-5), 115.0 (C, C-9a), 56.8 (CH₃, C-13), 56.3 (CH₃, C-12), 22.2 (CH₃, C-11)。

化合物 6 白色结晶 (MeOH), 核磁谱给出 9 个碳信号: 一个苯环信号, 一个羰基信号, 一个甲氧基信号和一个甲基信号。这些数据与已知化合物 methyl orsellinate 完全一致^[11], 所以将化合物 6 的结

构定为 methyl orsellinate。其核磁数据如下:¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ_{H} : 6.17 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-5), 6.14 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-3), 3.86 (3H, s, H₃-12), 2.40 (3H, s, H₃-11); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO) δ_{C} : 173.6 (C, C-7), 166.4 (C, C-4), 163.9 (C, C-2), 144.8 (C, C-6), 112.7 (CH, C-5), 106.0 (C, C-1), 101.9 (CH, C-3), 52.3 (CH₃, C-9), 24.5 (CH₃, C-8)。

化合物 7 白色结晶, 碳谱核磁谱给出 1 个苯环信号和 1 个甲基信号, 氢谱给出 3 个芳香氢信号且都为单峰。这些数据与 orcinol 完全一致, 将化合物 7 鉴定为 orcinol^[12]。¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ_{H} : 6.13 (1H, t, $J = 2.0$ Hz, H-1), 6.13 (1H, t, $J = 2.1$ Hz, H-5), 6.08 (1H, t, $J = 2.1$ Hz, H-3), 2.18 (3H, s, H₃-7); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO) δ_{C} : 159.7 (C, C-4), 159.7 (C, C-2), 144.8 (C, C-6), 108.9 (CH, C-1), 108.9 (CH, C-5), 101.1 (CH, C-3), 22.0 (CH₃, C-7)。

化合物 8 黄色粉末, 高分辨质谱 HRESIMS 结合核磁谱推测出分子式为 C₁₆H₁₂O₆, 一维谱结合 HMQC 给出 16 个碳信号: 2 个羰基, 2 个苯环, 一个亚甲基和一个甲氧基。这些数据与已知化合物 mrlactone1 完全一致^[13]。所以我们将化合物 8 的结构定为如 mrlactone1。核磁数据如下:¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ_{H} : 7.93 (1H, dd, $J = 8.3, 7.3$ Hz, H-6), 7.77 (1H, dd, $J = 8.3, 1.1$ Hz, H-5), 7.45 (1H, dd, $J = 7.3, 1.1$ Hz, H-7), 7.00 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-4), 6.80 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-2), 4.60 (3H, s, H₃-15), 3.90 (3H, s, H₃-16); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO) δ_{C} : 180.1 (C, C-9), 168.6 (C, C-8), 160.5 (C, C-1), 155.5 (C, C-10), 155.5 (C, C-12), 154.5 (C, C-3), 136.0 (CH, C-6), 133.6 (C, C-14), 122.9 (CH, C-7), 119.7 (CH, C-5), 116.6 (C, C-13), 107.7 (CH, C-2), 107.0 (C, C-11), 104.2 (CH, C-4), 62.3 (CH₃, C-15), 52.7 (CH₃, C-16)。

化合物 9 黄色针状结晶 (CH₂Cl₂-MeOH), ESI-MS 给出 285 [M + H]⁺。氢谱给出 5 个烯氢信号, 一个甲氧基信号和一个甲基信号。碳谱给出 16 个碳信号: 包括 2 个苯环信号, 2 个羰基信号, 一个甲氧基信号和一个甲基信号, 结合紫外和核磁数据推测该化合物为咕酮类化合物, 经过与文献比对, 将其结构确定为 Janthinone^[14]。其核磁数据如下:¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_{H} : 7.65 (1H, dd, $J = 8.5,$

7.3 Hz, H-3), 7.43 (1H, dd, $J = 8.5, 1.0$ Hz, H-4), 7.22 (1H, dd, $J = 7.3, 1.0$ Hz, H-2), 6.65 (1H, brs, H-5), 6.53 (1H, brs, H-7), 3.95 (3H, s, H₃-11), 2.34 (3H, s, H₃-12); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ_{C} : 180.4 (C, C-9), 169.6 (C, C-10), 161.4 (C, C-8), 155.9 (C, C-4a), 155.6 (CH, C-4b), 149.3 (CH, C-6), 134.7 (CH, C-3), 133.5 (C, C-1), 122.4 (CH, C-2), 119.4 (CH, C-4), 117.5 (C, C-9a), 111.6 (CH, C-7), 107.3 (CH, C-5), 106.9 (C, C-8a), 53.1 (CH₃, C-11), 22.6 (CH₃, C-12)。

化合物 10 白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -254.9^{\circ}$ (MeOH; c 1.0), HR-ESI-MS 给出分子式为 C₂₀H₁₉N₃O₂, 计算其不饱和度为 13。一维谱结合 HMQC 谱给出 2 个苯环信号, 2 个酰胺羰基信号, 一个双键信号和 2 个亚甲基信号。这些数据与化合物 Cyclo-(t-Trp-L-Phe) 完全一致^[15]。结合该化合物的旋光值将其结构定为 cyclo-(L-trptophyl-L-phenylalanyl)。其核磁数据如下:¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ_{H} : 10.89 (1H, s, H-1), 7.91 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, NH-12), 7.71 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-15), 7.48 (1H, dd, $J = 7.2, 1.0$ Hz, H-4), 7.32 (1H, dd, $J = 7.7, 7.5$ Hz, H-7), 7.17 (1H, m, H-21), 7.16 (2H, m, H-19, 23), 7.08 (1H, ddd, $J = 7.7, 7.5, 1.0$ Hz, H-6), 6.98 (1H, ddd, $J = 7.2, 7.5, 1.5$ Hz, H-5), 6.96 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2), 6.71 (2H, dd, $J = 7.5, 1.5$ Hz, H-20, 22), 3.98 (1H, m, H-11), 3.89 (1H, m, H-14), 2.81 (1H, dd, $J = 14.5, 4.5$ Hz, H-10a), 2.52 (1H, dd, $J = 14.5, 5.7$ Hz, H-10b), 2.45 (1H, dd, $J = 13.5, 4.7$ Hz, H-17b), 1.85 (1H, dd, $J = 13.5, 7.0$ Hz, H-17a); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO) δ_{C} : 166.9 (C, C-16), 166.2 (C, C-13), 136.6 (C, C-18), 136.1 (C, C-9), 129.7 (2 × CH, C-20, 22), 128.0 (2 × CH, C-19, 23), 127.5 (C, C-8), 126.4 (CH, C-21), 124.4 (CH, C-6), 120.9 (CH, C-2), 118.8 (CH, C-5), 118.4 (CH, C-4), 111.3 (CH, C-7), 108.9 (C, C-3), 55.6 (CH, C-14), 55.3 (CH, C-11), 39.9 (CH₂, C-17), 29.7 (CH₂, C-10)。

化合物 11 黄色结晶 (MeOH), HR-ESI-MS 给出分子量为 m/z 359.0764 [M + H]⁺, 给出分子式为 C₁₈H₁₄O₈。氢谱给出 4 个烯氢信号, 一个连氧的亚甲基信号和 2 个甲基信号, 氢谱与已知化合物 sydownin B 非常像。但是碳谱给出 18 个碳信号, 比 sydownin B 多了一个乙酰基。且从 HMBC 中也可

以很清楚的找到 H₂-13 与 C-14 的相关,结合文献,将其结构定为 13-*O*-acetylsydowinin B^[16],其核磁数据如下:¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ_H: 7.63 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3), 7.49 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-4), 7.02 (1H, s, H-5), 6.77 (1H, s, H-7), 5.16 (2H, s, H₂-12), 3.84 (3H, s, H₃-11), 2.14 (3H, s, H₃-14); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO) δ_C: 180.9 (C, C-9), 172.0 (C, C-13), 170.7 (C, C-10), 167.3 (C, C-8), 155.1 (CH, C-4b), 152.0 (C, C-2), 151.0 (C, C-4a), 149.0 (C, C-6), 126.1 (CH, C-3), 120.6 (CH, C-4), 117.4 (C, C-1), 117.3 (C, C-9a), 108.6 (CH, C-7), 105.7 (CH, C-5), 107.3 (C, C-8a), 64.6 (CH₂, C-12), 52.8 (CH₃, C-11), 21.1 (CH₃, C-14)。

化合物 12 黄色针状结晶,碳谱给出 11 个碳信号:1 个羰基信号,1 个苯环信号,1 个双键信号和 2 个甲基信号。氢谱非常简单包括:1 个活泼氢信号,2 个苯环氢信号,1 个双键氢信号和 2 个甲基信号。这些数据与文献数据完全一致^[17],所以将其结构定为 2,5-dimethyl-7-hydroxychromone。核磁数据如下:¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ_H: 10.59 (1H, s, OH-7), 6.63 (1H, s, H-8), 6.61 (1H, s, H-6), 5.98 (1H, s, H-3), 2.65 (3H, s, H₃-12), 2.27 (3H, s, H₃-11); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO) δ_C: 178.7 (C, C-4), 164.3 (C, C-2), 161.4 (C, C-7), 159.6 (C, C-9), 141.9 (C, C-5), 117.0 (CH, C-3), 111.2 (CH, C-6), 114.7 (C, C-10), 101.0 (CH, C-8), 22.9 (CH₃, C-12), 19.8 (CH₃, C-11)。

化合物 13 白色针状结晶,HR-ESI-MS 给出分子式为 C₁₁H₁₃ON₃。氢谱非常简单,给出两个烯氢信号,一个甲氧基信号,一个次甲基信号和两个甲基信号。碳谱给出 11 个碳信号。这些数据与已知化合物 *Acremolin* 数据^[5] 完全一致。核磁数据如下:¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ_H: 8.15 (1H, s, H-8), 3.57 (3H, s, H₃-10), 7.38 (1H, s, H-1'), 2.89 (1H, sept, *J* = 7.0 Hz, H-3'), 1.24 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, H-4'), 1.24 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, H-5'); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO) δ_C: 142.3 (C, C-2), 141.5 (C, C-1), 108.8 (C, C-5), 152.5 (C, C-6), 140.3 (CH, C-8), 28.9 (CH₃, C-10), 103.1 (CH, C-1'), 148.1 (C, C-2'), 27.6 (CH, C-3'), 22.0 (C-4', CH₃), 22.0 (C-5', CH₃)。值得一提的是该结构最初发表时,因为缺少 H-1' 与 C-4 的相关,所以 Julianti E^[4]

认为该结构中含有一个 1-吡丙因的集团,这引起了很大的争议。众所周知含有吡丙因的化合物很不稳定, Banert K 质疑此结构,并通过核磁数据比对的方法提出了修正结构; Januar LA 用化学合成的方法合成了这个化合物,并通过 ¹H-¹⁵NHMBBC 的方法找到了 H-1' 与 N-3 之间的相关,从而确证了 Banert K 的推测^[3-5]。我们成功培养了此化合物的单晶,为修正的结构提供了有力的证据(图 2)。

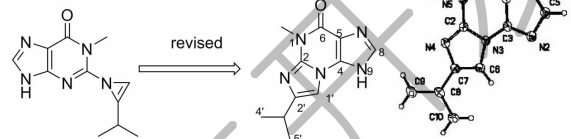


图 2 化合物 13 的修正结构和单晶结构

Fig. 2 Revised and X-ray crystal structure of compound 13

参考文献

- Blunt JW, Copp BR, Keyzers RA, et al. Marine natural products. *Nat Prod Rep*, 2016, 33:382-431.
- Zhao C, Zhu T, Zhu W. New marine natural products of microbial origin from 2010 to 2013. *Chin J Org Chem*, 2013, 33:1195.
- Julianti E, Oh H, Lee HS, et al. *Acremolin*, a new 1H-azirine metabolite from the marine-derived fungus *Acremonium strictum*. *Tetrahedr Lett*, 2012, 43:2885-2886.
- Banert K, Banert K. *Acremolin*, a stable natural product with an antiaromatic 1H-azirine moiety? A structural reorientation. *Tetrahedr Lett*, 2012, 53:6443-6445.
- Januar LA, Molinski TF. *Acremolin* from *Acremonium strictum* is N(2), 3-etheno-2'-isopropyl-1-methylguanine, not a 1H-azirine. *Synthesis and structural revision. Org Lett*, 2013, 15: 2370-2373.
- Little A, Porco JA. Total syntheses of graphisin A and sydowinin B. *Org Lett*, 2012, 14:2862-2865.
- Sun YL (孙玉林), Chen Y (陈茵), Xu XY (徐新亚), et al. Secondary metabolites of marine-derived fungus *Penicillium oxalicum* SCSGAF 0023 and their antifouling and enzyme-inhibitory activities. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2013, 25:1-6.
- Ren H (任虹), Cao XL (曹学丽), Gu QQ (顾谦群), et al. Discovery of 1,7-dihydroxy-3-methyl-8-carbomethoxyxanthone as a potential antitumor agent from marine-derived fungus *Penicillium lividum* BF-20. *Chin J Antibiot* (中国抗生素杂志), 2010, 9:663-667.

(下转第 1528 页)