

南海海洋真菌 *Fusarium* sp. (# 2489) 的代谢产物 *李厚金¹ 林永成¹ 刘晓红¹ 周世宁² L. L. P. Vrijmoed³⁽¹⁾ 中山大学化学化工学院 广州 510275)⁽²⁾ 中山大学生命科学学院 广州 510275)⁽³⁾ 香港城市大学生物学和化学系)

提要 首次对南海海洋真菌 *Fusarium* sp. (# 2489) 的代谢产物进行研究, 从菌体和培养液中分离纯化得 10 个化合物。它们的结构通过 IR, MS, NMR 谱以及元素分析推导确定。其中 (3'E, 4E)-1- β -D-吡喃葡萄糖基-3-羟基-2-(2'-羟基十八碳酰基) 氨基-10-甲基-3', 4, 9-十八碳三烯(A) 是鞘胺醇甙, 为首次从海洋真菌中分离得到。

关键词 海洋真菌, *Fusarium* sp., 代谢产物, 神经鞘胺醇甙

海洋微生物是近年来的一个研究热点。越来越多的研究也表明, 海洋微生物, 尤其是那些跟海洋动物或海洋植物存在共生或寄生等关系的微生物, 能产生结构独特并具强烈生理活性的代谢产物。海洋微生物繁殖快, 可利用现代微生物技术, 大规模工业发酵, 有广阔的应用前景。科学家们预计, 开发新的海洋药物将寄希望于海洋微生物这一新的领域^[1-4]。

采自南海的海洋真菌 *Fusarium* sp. (# 2489), 摇瓶发酵培养 200 L, 对菌体和培养液分别提取分离。菌体晒干用甲醇浸提, 培养液浓缩用乙酸乙酯萃取。从其菌体和培养物共分离得到 10 个化合物。菌体中分出 A~C (图 1), 从培养液中分离得到 D~J (图 1)。其中 (3'E, 4E)-1- β -D-吡喃葡萄糖基-3-羟基-2-(2'-羟基十八碳酰基) 氨基-10-甲基-3', 4, 9-十八碳三烯(A) 是鞘胺醇甙。南海海域的此种属真菌代谢物还未见有文献报道。

1 材料与方法

1.1 试剂与实验仪器

葡萄糖为化学纯, 蛋白胨 BR, 酵母膏 BR, 其他实验用试剂均为市售 AR 试剂, 所用仪器为 INOVA500 核磁共振仪, VG ZAB HS 质谱仪, Bruker E-QUINOX 55-A 590/3 E 红外光谱仪, Elementar Vario EL 元素分析仪以及北京 X4 型显微熔点仪。

1.2 菌种

真菌 *Fusarium* sp. (# 2489) 由香港城市大学 L. L. P. Vrijmoed 和 E. B. G. Jones 教授提供。菌种分别保存在香港城市大学和中山大学内。

1.3 菌种培养

菌种以 PDA 为培养基, 4 °C 保存, 发酵培养基为葡萄糖 1%, 蛋白胨 0.2%, 酵母膏 0.1%, 海水 20%, pH 为 7.0。500 ml 三角瓶, 内装培养液 200 ml, 1.25×10^5 Pa 灭菌 15 min。共接种培养 200 L。在 25 °C 摇瓶培养 20 d。

1.4 提取和分离

发酵液过滤, 菌体和培养液分别收集, 菌体晒干甲醇浸泡, 培养液浓缩乙酸乙酯提取。提取浓缩物拌硅胶过柱, 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, 重结晶纯化。从菌体中分离得 A 210 mg, B 约 5 g, C 30 mg, 从培养液中分离得 D 25 mg, E 12 mg, F 15 mg, G 27 mg, H 35 mg, I 20 mg, J 17 mg。

1.5 化合物的波谱数据

A, m.p. 177~179 °C。FABMS (m/z): 754 [M+1], 736, 574, 276, 154, 136, 95, 55; 元素分析: C: 68.34, H: 10.32, N: 2.291, 计算值: C: 68.49, H: 10.56, N: 1.857; IR (KBr) cm^{-1} : 3389, 3010, 2921, 2851, 1642, 1534, 1466, 1084, 1031; ¹H NMR (DMSO-d₆, TMS): 7.27 (d, 9.5 Hz, 1 H), 5.67 (ddt, 16.0, 7.5, 1.5 Hz, 1 H), 5.65 (d, 5.0 Hz, 1 H), 5.58 (dt, 15.0, 6.0 Hz,

* 国家自然科学基金资助项目 29672053 号和 20072058 号及广东省自然科学基金资助项目 980371 号。

第一作者: 李厚金, 出生于 1974 年, 博士研究生, 目前主要从事海洋微生物活性代谢产物研究。E-mail: lhoujin@263.net

收稿日期: 2001-07-23; 修回日期: 2001-09-21

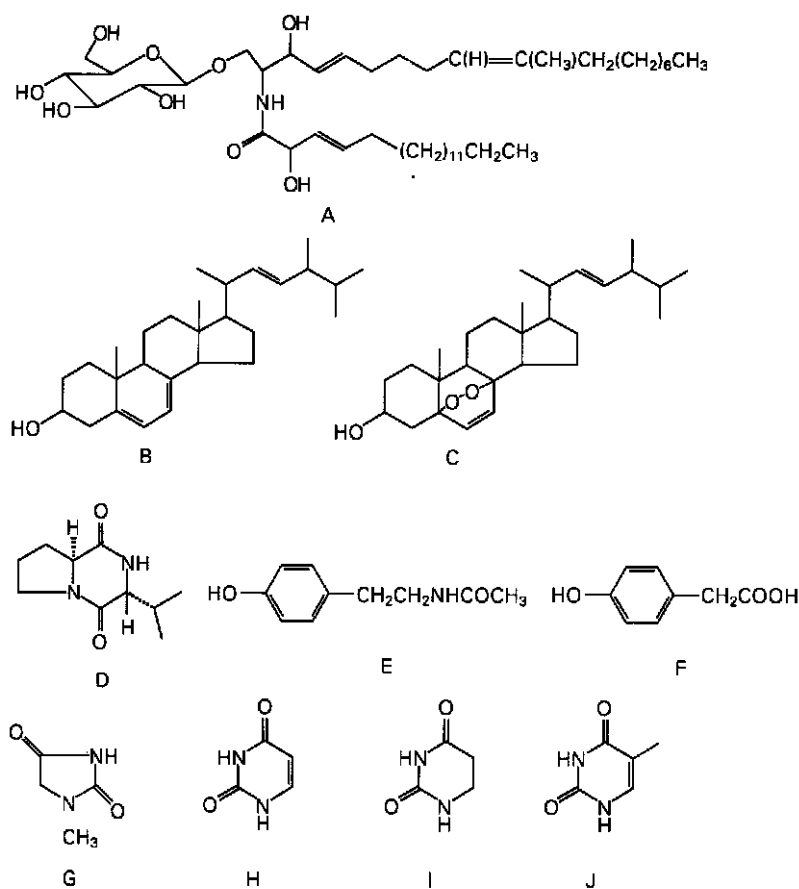


图1 化合物 A~J 的结构

Fig.1 The structures of compounds A~J

1 H), 5.45(dd, 16.0, 5.5 Hz, 1 H), 5.39(dd, 15.0, 6.5 Hz, 1 H), 5.09(t, 6.5 Hz, 1 H), 4.80(d, 7.0 Hz, 1 H), 4.79(d, 4.5 Hz, 1 H), 4.74(d, 4.5 Hz, 1 H), 4.73(d, 5.0 Hz, 1 H), 4.34(t, 6.0 Hz, 1 H), 4.30(ddd, 5.5, 5.0, 1.5 Hz, 1 H), 4.12(d, 8.0 Hz, 1 H), 4.01(ddd, 7.0, 6.0, 6.0 Hz, 1 H), 3.91(dd, 10.5, 6.0 Hz, 1 H), 3.81(m, 1 H), 3.67(ddd, 11.0, 6.0, 2.0 Hz, 1 H), 3.55(dd, 10.5, 4.5 Hz, 1 H), 3.45(ddd, 11.0, 5.5, 6.0 Hz, 1 H), 3.20(m, 1 H), 3.09(m, 1 H), 3.08(m, 1 H), 2.98(ddd, 8.0, 8.0, 4.5 Hz, 1 H), 1.98(m, 2 H), 1.97(m, 2 H), 1.96(m, 2 H), 1.93(m, 2 H), 1.51(s, 3 H), 1.35(m, 2 H), 1.28(36 H), 0.84(t, 7.5 Hz, 6 H)。¹³CNMR (DMSO-d₆, TMS): 171.9(C), 134.7(C), 130.8(CH), 130.7(CH), 130.6(CH), 128.9(CH), 123.3(CH), 103.3(CH), 76.7(CH), 76.5(CH), 73.2(CH), 71.8(CH), 70.5(CH), 70.0(CH), 68.3(CH₂), 61.0(CH₂),

52.9(CH), 38.8(CH₂), 31.9(CH₂), 31.4(CH₂), 31.0(CH₂), 28.8-28.7(共 16 个 CH₂), 28.4(CH₂), 27.1(CH₂), 21.8(CH₂), 15.5(CH₃), 13.6(2 个 CH₃)。2DNMR 数据略。

D, ¹HNMR(Acetone-d₆, TMS): 6.76(s, 1 H), 4.12(t, 8.0 Hz), 3.96(brs, 1 H), 3.52(dt, 12, 8 Hz, 1 H), 3.41(ddd, 12, 8, 3.5 Hz, 1 H), 2.50(m, 1 H), 2.33(m, 1 H), 1.96(m, 2 H), 1.88(m, 1 H), 1.12(d, 7 Hz, 3 H), 0.95(d, 7 Hz, 3 H)。¹³CNMR (Acetone-d₆, TMS): 170.6(C), 165.9(C), 60.8(CH), 59.4(CH), 45.5(CH₂), 29.2(CH), 29.1(CH₂), 23.1(CH₂), 18.9(CH₃), 16.8(CH₃)。

E, FABMS: 180[M+ 1], 154, 120, 107, 77, 57; IR (KBr) cm⁻¹: 3 335, 3 102, 3 014, 2 934, 1 635, 1 513, 1 462, 1 247, 1 104, 812, 602; ¹HNMR(Acetone-d₆,

TMS): 7.03(d, 8.5 Hz, 2 H), 6.74(d, 8.5 Hz, 2 H), 3.33(q, 7.0 Hz, 2 H), 2.67(q, 7.0 Hz, 2 H), 1.84(s, 3 H); ¹³CNMR(Acetone-d₆, TMS): 169.7(C), 156.5(C), 131.1(C), 130.4(2 个 CH), 115.9(2 个 CH), 41.6(CH₂), 35.6(CH₂), 22.8(CH₃)。

其他化合物的波谱数据略。

2 结果与讨论

A, 是神经鞘胺醇葡萄糖甙。FABMS 表明分子离子峰是 754[M+ 1], 根据 ¹H 和 ¹³CNMR, DEPT 知道分子中含有 43 个碳原子, 其中 3 个 CH₃, 25 个 CH₂, 13 个 CH 和 2 个 C。从 IR 1642 cm⁻¹ 和 ¹³CNMR 174.9(C) 可以看出, 分子中含有一个酰胺基。结合元素分析推定分子式为 C₄₃H₇₉NO₉。分子中还含有多个连氧碳, 且 ¹³C (δ 103.3) 有缩醛基信号, 说明分子中含有糖基。分子中还有烷基长链。再结合其他 2 DNMR(¹H-¹H COSY,

HMOC, HMBC) 数据, 确定 A 的结构为 (3'E, 4E)-1- β -D 吡喃葡萄糖基-3-羟基-2-(2'-羟基十八碳酰基) 氨基-10-甲基-3', 4, 9-十八碳三烯。鞘胺醇甙, 又称为脑甙类化合物, 是存在于动物、植物、真菌和海洋生物中的一类含量很低, 活性很强的内源性物质。研究表明, 鞘胺醇甙及其代谢产物具有化学信息物质的作用, 涉及细胞识别, 跨膜信号传导和第二信使的作用。存在于真菌、陆生植物和海洋生物中的脑甙类化合物基本上都含有一个糖基, 并且糖的种类较固定, 大多为葡萄糖, 半乳糖或氨基糖。关于单糖脑甙类化合物的药用报道仍较少, 就目前报道有抗溃疡作用, 抗肿瘤和免疫增强的作用。A, 作者曾在南海红树林内源真菌 (# 1356) 中分离到。但 A 在 *Fusarium* sp. (# 2489) 中有较高的含量, 且培养条件还可进一步优化, 因此 *Fusarium* sp. (# 2489) 有望作为一种资源菌开发利用。

B 和 C 熔点, 氢谱以及薄层层析对照, 分别与麦角甾醇和过氧化麦角甾醇完全一致。麦角甾醇和过氧化麦角甾醇广泛存在于真菌代谢产物中。

D, 根据¹³CNMR 以及 DEPT 知道, 分子含有两个羰基 (δ 170.6 和 165.9), 3 个 CH (δ 60.8, 59.4 和 29.2), 3 个 CH₂ (δ 45.5, 29.1, 23.1) 以及 2 个 CH₃ (δ 18.9 和 16.8)。从¹HNMR 可看到 6.76 ppm 为一个活波氢 (NH), ¹H 4.12 以及 3.96 ppm 有两个氢。这些说明 D 为环二肽。两个甲基¹³CNMR (δ 18.9 和 16.8), ¹HNMR: 1.12 ppm (d, 7 Hz, 3H), 0.95 ppm (d, 7 Hz, 3H)

提示分子中含有一个异丙基结构。另外剩下 3 个 CH₂, 从氢谱可以看出, 它们之间有偶合关系, 因此 3 个 CH₂ 相连。由此决定 D 的结构为环(脯-缬)二肽。

E, 分子量为 179, 说明含有奇数个氮。含有 3 个季碳, 4 个 CH, 两个 CH₂, 一个 CH₃。结合氢谱可知含有一个对位二取代苯环, 根据偶合常数知两个 CH₂ 相连。分子中还含有羰基 IR (1635 cm⁻¹), ¹³C (δ 169.7) 提示含有酰胺。由此确定分子式为 C₁₀H₁₃NO₂。E 的结构为对羟基乙酰苯乙胺。

另外, 从培养液的乙酸乙酯提取物中还分离到对羟基苯乙酸 F, 以及 4 个小分子环肽 G ~ J。

参考文献

- 1 李厚金, 林永成, 王立等。南海海洋真菌 *Hypoxylon oceanicum* 的代谢产物, 中山大学学报 (自然科学版) 2001, 40(4): 70 ~ 80
- 2 Lin YC., Shao ZY., Jiang GC. 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, *Tetrahedron*, 2000, 56(49): 9607 ~ 9609
- 3 Lin YC., Wu XY., Ren S. et al.. A novel Ncinnamoy-lcyclopeptide containing an allenic ether from the fungus *Xylaria* sp. (strain # 2508) from the South China Sea, *Tetrahedron Letters*, 2001, 42(3): 449 ~ 451
- 4 D. John Faulkner. Marine natural products, *Natural Product Reports*, 2001, 18(1): 1 ~ 49

STUDIES ON THE SECONDARY METABOLITES OF MARINE FUNGUS *Fusarium* sp. (# 2489) FROM THE SOUTH CHINA SEA

LI Hou-jin¹ LIN Yong-cheng¹ LIU Xiao-hong¹ ZHOU Shi-ning² L. L. P. Vrijmoed³

(¹ School of Chemistry and Chemical Engineering, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

(² School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

(³ Department of Biology and Chemistry, Hong Kong City University, Hong Kong)

Received: Jul. 23, 2001

Key Words: Marine fungus, *Fusarium* sp., Metabolites, Sphingosine

Abstract

Ten compounds, including a novel sphingosine (A) (3'E, 4E)-1-(β -D-glucopyranosyloxy)-3-hydroxy-2-[(2'-hydroxyoctadecanoyloxy)amino]-10-methyl-3', 4, 9-octadecatriene were first isolated from the marine fungus *Fusarium* sp. (# 2489) from the South China Sea. Their structures were elucidated by spectroscopy, including FAB/MS, IR, NMR and elemental analysis.

(本文编辑: 刘珊珊)