

國立臺灣大學生命科學院漁業科學研究所



碩士論文

Graduate Institute of Fisheries Science

College of Life Science

National Taiwan University

Master Thesis

綠藻源真菌株 *Acremonium tubakii* NTU60 之活性成分研究

Bioactive constituents from the green alga-derived fungus

Acremonium tubakii NTU60

衛信樺

Xin-Hua Wei

指導教授：李宗徽 博士

Advisor: Tzong-Huei Lee, Ph.D.

中華民國 106 年 6 月

June, 2017

誌謝

時光飛逝，於大學畢業後選擇進入研究所已餘兩年，積累了實驗生捱的點點滴滴，辛酸苦辣，而今將隨論文的完成進入尾聲。回首過往，跨入一個新的領域，從頭開始學，感謝我的指導老師李宗徽教授，在漁科所 R204 提供讓我學習的機會，老師常說一句話：「做人第一，做事第二」，強調為人處世的重要性，期望我們能更圓融通達。

在研究的路途上遭遇了許多困難，謝謝余淳維大哥，真的給我很多幫助，不僅實驗上的建議還有許多其他任何事情；謝謝李明憲學長，雖然你講的冷笑話常常讓大家都不用吹冷氣；謝謝張雅植學長，在碩一時常常挨你罵，但學長給的建議常常都很中肯實用；謝謝卓霆宇學長，化合物解析教了我很多，電腦軟體的使用上也受到很多幫助；謝謝王昱凱學長，平常的打屁聊天、實驗的教導與幫忙；感謝我同學王家樞及兩位學妹石采艷和陳佳妤，在未知的研究路途上增添許多色彩。

感謝口試委員李慶國博士、盧重光博士、王永松博士撥冗前來參加口試，不僅在論文初稿給予許多指正，口試時也提出不少論文修改的建議，使論文更加充實完善，在此致上最誠摯的謝意。

最後要感謝我身邊家人的關心與支持，謝謝父母親的栽培與付出，沒有你們的辛勞與陪伴就不會有現在的我，一路上有你們的支持，是我不斷前行的動力。謝謝你們，我愛你們。

衛信樺 於臺灣大學漁科所

2017 年 7 月

中文摘要



海洋環境複雜多變，具有豐富的真菌多樣性。本研究的藻體在基隆海科館附近沿岸採得，以進行藻源真菌的單離與菌株之抗菌活性篩選。其中，由腸石髮 (*Ulva intestinalis*) 所分離的頂孢黴菌 (*Acremonium tubakii* NTU60) 之粗萃物具有明顯的抑菌活性，因此在大量培養後，利用分離、純化技術找出具有活性的次級代謝物。NTU60 透過液態曝氣培養與固態糙米醱酵，進行化合物之分離、純化計獲得 10 個化合物。化合物 Cephaibol A–C (1–3)、Cephaibol E (4)、Glycocholic acid (5)、Cholic acid (6)、Glycochenodeoxycholate (7)、Glycodeoxycholsaeure (8)、Helvolic acid (9) 與 1-Linoleoyl glycerol (10)。在生物活性方面，Cephaibol A (1) 具有抑制新型隱球菌 (*Cryptococcus neoformans*) 的活性，其最小抑制濃度 (MIC) 為 8 $\mu\text{g/mL}$ ；Cephaibol B (2) 與 Helvolic acid (9) 抑制金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 的活性，其 MIC 分別為 16 $\mu\text{g/mL}$ 與 4 $\mu\text{g/mL}$ ；Cephaibol B (2) 對於人類抗藥性卵巢癌細胞 (Paclitaxel-resistant ovarian cancer cells, TOV-21G-RT) 與人類肝細胞癌細胞 (Hepatocellular carcinoma cells; SK-Hep-1) 細胞株具有毒殺活性，其半抑制濃度 (IC_{50}) 分別為 $6.2 \pm 0.1 \mu\text{M}$ 與 $3.1 \pm 0.5 \mu\text{M}$ ；Cephaibol E (4) 在 20 μM 濃度下，沒有細胞毒性，卻對於小鼠小膠質細胞 (BV-2) 產生一氧化氮具有抑制活性，其效果為 $5.3 \pm 1.5 \mu\text{M}$ 。

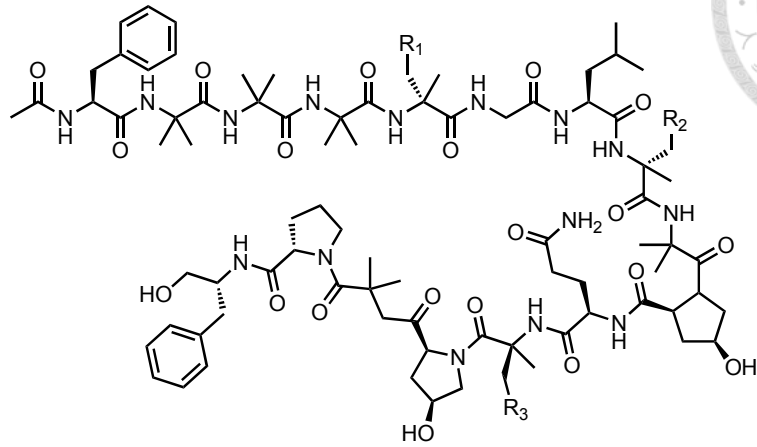
關鍵字：海洋真菌、*Acremonium tubakii*、抗菌活性、細胞毒性、小鼠小膠質細胞

ABSTRACT

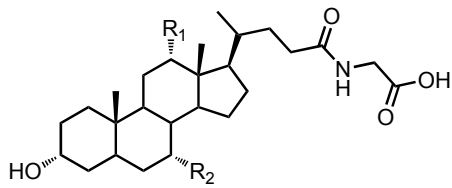


The marine environment is extremely complex which contains a broad spectrum of fungal diversity. The algae of this study was collected from the seaboard near the National Museum of Marine Science and Technology, and the antimicrobial activity of the alga-derived fungi were screened. Among them, the crude extract of *Acremonium tubakii* NTU60, which was isolated from *Ulva intestinalis*, exhibited significant antibacterial activity. In order to determine the best condition for enhancing chemical diversity, NTU60 were cultured in liquid- and solid-state fermentation. A series of separation and purification of the bioactive compound was thus carried out. Ten compounds, including cephaibols A–C (**1–3**), cephaibol E (**4**), glycocholic acid (**5**), cholic acid (**6**), glycochenodeoxycholate (**7**), glycodeoxycholsaeure (**8**), helvolic acid (**9**) and 1-Linoleoyl glycerol (**10**) were isolated from liquid- or solid-state fermented products of *Acremonium tubakii* NTU60. Cephaibol A (**1**) exhibited the activity of inhibiting *Cryptococcus neoformans* with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 8 $\mu\text{g/mL}$, while Cephaibol B (**2**) and Helvolic acid (**9**) showed the activity of inhibiting *Staphylococcus aureus* with the MIC 16 $\mu\text{g/mL}$ and 4 $\mu\text{g/mL}$, respectively. On the other hand, Cephaibol B (**2**) also showed cytotoxic activity against paclitaxel-resistant ovarian cancer cells (TOV-21G-RT) and hepatocellular carcinoma cells (SK-Hep-1), the half inhibitory concentrations (IC_{50}) were $6.2 \pm 0.1 \mu\text{M}$ and $3.1 \pm 0.5 \mu\text{M}$, respectively. Cephaibol E (**4**) showed the inhibitory effect on LPS-induced NO production murine brain microglial cell line (BV-2) with $5.3 \pm 1.5 \mu\text{M}$, without cytotoxic activity.

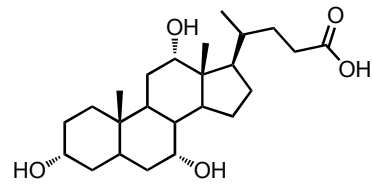
Key words: marine microfungus; *Acremonium tubakii*; anti-microbial activity; cytotoxic activity; murine microglial cell line (BV-2)



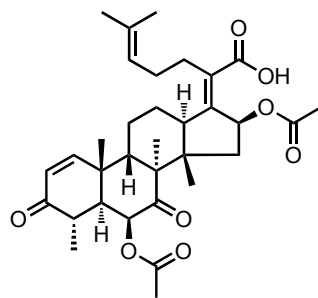
- 1 $R_1 = H, R_2 = R_3 = CH_3$
- 2 $R_1 = R_2 = R_3 = CH_3$
- 3 $R_1 = R_3 = H, R_2 = CH_3$
- 4 $R_1 = R_2 = H, R_3 = CH_3$



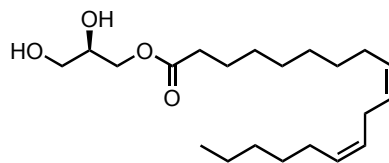
- 5 $R_1 = OH, R_2 = OH$
- 7 $R_1 = H, R_2 = OH$
- 8 $R_1 = OH, R_2 = H$



6



9

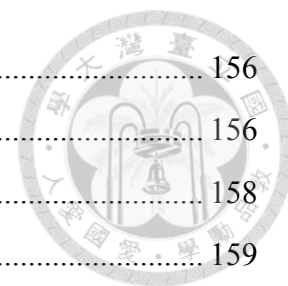


10

目錄 (CONTENTS)

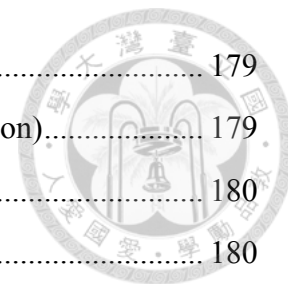


口試委員會審定書.....	#
誌謝.....	i
中文摘要.....	ii
ABSTRACT.....	iii
目錄 (CONTENTS).....	v
圖目錄.....	viii
表目錄.....	xi
縮寫表 (Abbreviations).....	xii
壹、緒論與研究目的 (Introduction and Research Purpose).....	1
貳、文獻回顧 (Review)	6
2.1 菌株之分類學與介紹	6
2.2 頂孢黴菌屬 (<i>Acremonium</i>) 真菌成分之文獻回顧.....	8
參、結果與討論 (Results and Discussions)	44
3.1 真菌培養醱酵分離流程	44
3.1.1 <i>Acremonium tubakii</i> NTU60 液態培養分離流程.....	44
3.1.2 <i>Acremonium tubakii</i> NTU60 固態培養分離流程.....	46
3.2 化合物 1-10 結構分類.....	48
3.2.1 Cephaibol A (1) 之結構解析	52
3.2.2 Cephaibol B (2) 之結構解析.....	69
3.2.3 Cephaibol C (3) 之結構解析.....	87
3.2.4 Cephaibol E (4) 之結構解析	104
3.2.5 Glycocholic acid (5) 之結構解析.....	121
3.2.6 Cholic acid (6) 之結構解析	129
3.2.7 Glycochenodeoxycholate (7) 之結構解析	132
3.2.8 Glycodeoxycholsaeure (8) 之結構解析	135
3.2.9 Helvolic acid (9) 之結構解析	138
3.2.10 1-Linoleoyl glycerol (10) 之結構解析.....	148



3.3 化合物活性平臺測試.....	156
3.3.1 一氧化氮抑制與細胞存活率之實驗結果	156
3.3.2 抑菌試驗結果	158
3.3.3 細胞毒性試驗	159
肆、實驗部分 (Experimental).....	160
4.1 儀器設備與試劑.....	160
4.1.1 化合物之物理性質測定儀器	160
4.1.2 高效液相層析系統	161
4.1.3 管柱色層層析膠體	161
4.1.4 薄層層析系統	161
4.1.5 試劑耗材與溶劑	162
4.2 真菌單離.....	163
4.2.1 真菌來源	163
4.2.2 真菌培養基	163
4.2.3 藻體單離菌株	164
4.2.4 菌株培養與萃取	165
4.2.5 粗萃物抗菌活性評估	165
4.2.6 菌株鑑種	166
4.3 真菌培養.....	169
4.3.1 多種培養基測試	169
4.3.2 液態曝氣培養	169
4.3.3 固態糙米醱酵	170
4.4 <i>Acremonium tubakii</i> NTU60 之成分分離、純化	172
4.4.1 液態醱酵萃取物分離流程	172
4.4.2 固態糙米萃取物分離流程	175
4.5 一氧化氮抑制試驗 (NO production inhibitory activity)	177
4.4.1 細胞培養	177
4.4.2 Griess reagent assay.....	177
4.6 抑菌試驗 (Antimicrobial activity).....	179

4.6.1 細胞培養	179
4.6.2 最小抑制濃度試驗 (Minimal inhibition concentration).....	179
4.7 細胞毒性試驗 (Cytotoxic activity)	180
4.7.1 原理與目的	180
4.7.2 細胞培養	181
4.7.3 Sulforhodamine B (SRB) assay	181
伍、討論 (Discussions)	182
陸、各成分之物理數據 (Physical data)	184
參考文獻 (Reference).....	189



圖目錄



圖 1、微生物活性代謝物之應用。.....	1
圖 2、藻源真菌粗萃物抗菌活性平臺篩選。.....	3
圖 4、 <i>Acremonium tubakii</i> NTU60 培養液分離流程圖。.....	45
圖 5、 <i>Acremonium tubakii</i> NTU60 固態發酵分離流程圖。.....	47
圖 6、化合物 1 之高解析電灑游離質譜。.....	62
圖 7、化合物 1 之紅外光譜 (ZnSe)。.....	63
圖 8、化合物 1 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 600 MHz)。.....	64
圖 9、化合物 1 之碳譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 150 MHz)。.....	65
圖 10、化合物 1 之 HSQC 圖譜。.....	66
圖 11、化合物 1 之 COSY 圖譜。.....	67
圖 12、化合物 1 之 HMBC 圖譜。.....	68
圖 13、化合物 2 之高解析電灑游離質譜。.....	80
圖 14、化合物 2 之紅外光譜 (ZnSe)。.....	81
圖 15、化合物 2 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 500 MHz)。.....	82
圖 16、化合物 2 之碳譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 125 MHz)。.....	83
圖 17、化合物 2 之 HSQC 圖譜。.....	84
圖 18、化合物 2 之 COSY 圖譜。.....	85
圖 19、化合物 2 之 HMBC 圖譜。.....	86
圖 20、化合物 3 之高解析電灑游離質譜。.....	97
圖 21、化合物 3 之紅外光譜 (ZnSe)。.....	98
圖 22、化合物 3 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 500 MHz)。.....	99
圖 23、化合物 3 之碳譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 125 MHz)。.....	100
圖 24、化合物 3 之 HSQC 圖譜。.....	101
圖 25、化合物 3 之 COSY 圖譜。.....	102
圖 26、化合物 3 之 HMBC 圖譜。.....	103
圖 27、化合物 4 之高解析電灑游離質譜。.....	114
圖 28、化合物 4 之紅外光譜 (ZnSe)。.....	115

圖 29、化合物 4 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 500 MHz)。	116
圖 30、化合物 4 之碳譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 125 MHz)。	117
圖 31、化合物 4 之 HSQC 圖譜。	118
圖 32、化合物 4 之 COSY 圖譜。	119
圖 33、化合物 4 之 HMBC 圖譜。	120
圖 34、化合物 5 之高解析電灑游離質譜。	126
圖 35、化合物 5 之紅外光譜 (ZnSe)。	126
圖 36、化合物 5 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 500 MHz)。	127
圖 37、化合物 5 之碳譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 125 MHz)。	127
圖 38、化合物 5 之 HSQC 圖譜。	128
圖 39、化合物 5 之 HMBC 圖譜。	128
圖 40、化合物 6 之高解析電灑游離質譜。	130
圖 41、化合物 6 之紅外光譜 (ZnSe)。	130
圖 42、化合物 6 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 300 MHz)。	131
圖 43、化合物 7 之高解析電灑游離質譜。	133
圖 44、化合物 7 之紅外光譜 (ZnSe)。	133
圖 45、化合物 7 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 300 MHz)。	134
圖 46、化合物 8 之高解析電灑游離質譜。	136
圖 47、化合物 8 之紅外光譜 (ZnSe)。	136
圖 48、化合物 8 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 300 MHz)。	137
圖 49、化合物 9 之高解析電灑游離質譜。	144
圖 50、化合物 9 之紅外光譜 (ZnSe)。	144
圖 51、化合物 9 之氫譜 (Chloroform- d , 500 MHz)。	145
圖 52、化合物 9 之碳譜 (Chloroform- d , 125 MHz)。	145
圖 53、化合物 9 之 HSQC 圖譜。	146
圖 54、化合物 9 之 COSY 圖譜。	146
圖 55、化合物 9 之 HMBC 圖譜。	147
圖 56、化合物 10 之高解析電灑游離質譜。	152
圖 57、化合物 10 之紅外光譜 (ZnSe)。	152

圖 58、化合物 10 之氫譜 (Chloroform- <i>d</i> , 500 MHz)。	153
圖 59、化合物 10 之碳譜 (Chloroform- <i>d</i> , 125 MHz)。	153
圖 60、化合物 10 之 HSQC 圖譜。	154
圖 60、化合物 10 之 COSY 圖譜。	154
圖 62、化合物 10 之 HMBC 圖譜。	155
圖 63、化合物 1-4 與 9 對 BV-2 產生一氧化氮之抑制結果。	157
圖 64、化合物 1-4 與 9 對於 BV-2 細胞之存活率影響。	157
圖 65、真菌親緣關係演化樹。	168
圖 66、 <i>Acremonium tubakii</i> NTU60 之產孢構造顯微型態。	168
圖 67、真菌醱酵過程示意圖。	171
圖 68、Griess reagent assay 之反應流程。	178
圖 69、Sulforhodamine B (SRB) 結構。	180

表目錄



表 1、1940—2010 年來自微生物的活性次級代謝物數量。.....	2
表 2、成功進入臨床試驗海洋天然物列表。.....	4
表 3、藻源真菌粗萃物抑菌結果。.....	5
表 4、頂孢黴菌屬真菌二次代謝物文獻回顧。.....	8
表 5、化合物 1 之氫、碳譜數據。[δ in ppm, mult. (J in Hz)].....	58
表 6、化合物 2 之氫、碳譜數據。[δ in ppm, mult. (J in Hz)].....	76
表 7、化合物 3 之氫、碳譜數據。[δ in ppm, mult. (J in Hz)].....	93
表 8、化合物 4 之氫、碳譜數據。[δ in ppm, mult. (J in Hz)].....	110
表 9、化合物 5 之氫、碳譜數據。[δ in ppm, mult. (J in Hz)].....	124
表 10、化合物 9 之氫、碳譜數據。[δ in ppm, mult. (J in Hz)].....	142
表 11、化合物 10 之氫、碳譜數據。[δ in ppm, mult. (J in Hz)].....	151
表 12、化合物 1—4 與 9 對於病原菌的抑菌測試結果。.....	158
表 13、化合物 1—4 與 9 對癌細胞株毒殺活性。.....	159
表 14、化合物 1 與 2 對於癌細胞株之半抑制濃度。.....	159
表 15、真菌液態發酵種源成分。.....	164
表 16、各種培養基配方。.....	164
表 17、 <i>Acremonium tubakii</i> NTU60 液態培養之乙酸乙酯萃出物以膠濾管柱層析分 離的結果。.....	172
表 18、 <i>Acremonium tubakii</i> NTU60 糙米萃出物經 Silica gel 管柱層析沖提的條件。	175
表 19、NTU60 糙米培養萃出物經 Silica gel 管柱層析沖提併管結果。.....	175

縮寫表 (Abbreviations)



ACN	acetonitrile
calcd	calculated
COSY	correlation spectroscopy
EIMS	electron impact mass spectroscopy
EtOAc	ethyl acetate
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HPLC	high performance/press liquid chromatography
HRESIMS	high resolution electrospray ionization mass spectrometry
HSQC	heteronuclear single quantum correlation
Hz	herze
IR	infrared
MeOH	methanol
<i>n</i> -hexane	normal hexane
NMR	nuclear magnetic resonance
RI	refractive index
ROESY	rotating frame overhauser spectroscopy
TLC	thin layer chromatography
UV	ultraviolet



壹、緒論與研究目的 (Introduction and Research Purpose)

自古至今，人們仰賴著大自然提供的資源來維持生活所需，醫藥用品更是如此。從天然的中草藥材到運用新穎科技發展各種合成藥物，天然物仍舊是新藥開發不可或缺的重要來源 [1]。在自然環境裡，海洋覆蓋整個地球表面積 70% 以上，其中 95% 的海洋深度超過 1000 公尺 [2]，所涵蓋的生物圈範疇遠超過陸地，其獨特的環境與廣闊的面積造就有別於陸地的生態區位，據調查分析顯示，深海下的珊瑚礁岩和陸地上熱帶雨林都是地球存在物種最豐富且具多樣性的棲息地 [3-5]。報告指出，地球上約有 5×10^{30} 的微生物存活，且絕大多數的已知物種還未被測試過其生物活性，更遑論從這些物種所分離出的次級代謝產物。次級代謝產物對於生物的主要作用是防禦、溝通、調節，人們能將之應用在廣泛的領域，包括抗生素、飼料添加物、維生素、抗腫瘤藥物、激素等 (圖 1) [6]。

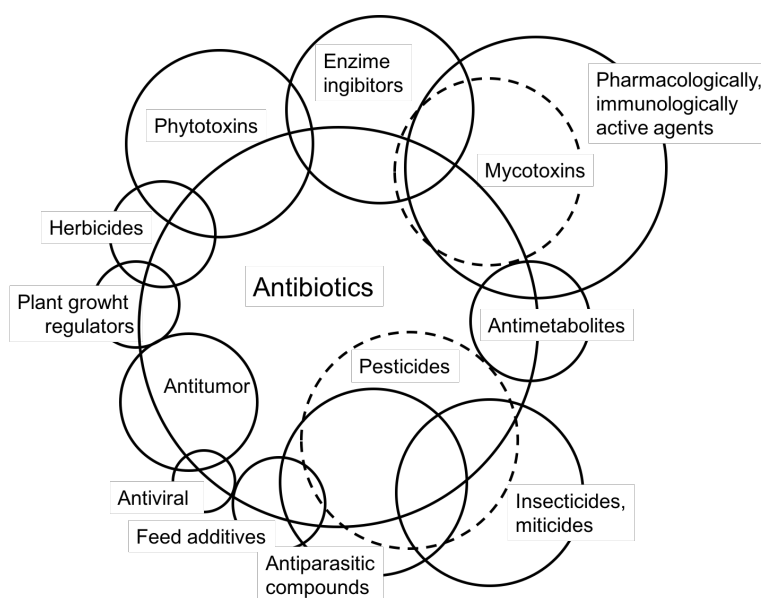


圖 1、微生物活性代謝物之應用。

近幾十年來許多研究結果顯示，從海藻分離的細菌與真菌擁有別於陸地微生物的獨特化學分子結構，呈現廣效的抗生活性 [7]，包含抗細菌、真菌和寄生原蟲等，並可應用在動物、人體醫療以及農漁業生物防治。研究證明海藻富含豐富的營養成分，可提供微生物極佳的生長環境，使得大量且高歧異的微生物同時聚集在藻體，這些微生物間彼此為了生存而競爭激烈，經由漫長時間演化後，各種微生物發展出不同的生存策略，其中有些微生物演化出分泌抗菌物質，能有效地抑制競爭對手的生長 [8]，這些抗菌物質也成為科學家們的研究標的，期望能應用在農業發展或生物醫療防治等領域。表 1 列出文獻囊括 1940 至 2010 年，從微生物產生的活性次級代謝物數量，可以看出來自真菌、放線菌與細菌三者中，從真菌產生的活性次級代謝物的比例逐漸上升，證明真菌為進行活性次級代謝物研究的良好素材 [6]。

表 1、1940—2010 年來自微生物的活性次級代謝物數量

Periods	1940—1974		1975—2000		2001—2010		Total
	Early years	%	Mid-era	%	New age	%	
Species							
Actinobacteria	3400	62	7200	42	3100	28.5	13700
<i>Srreptomycetes</i> sp.	2900		5100		2400		10400
Other actinobacteria	500		2100		700		3300
All microscopic bacteria	800	15	2300	13	1100	10	4200
Myxobacteriales	25		400		210		635
Cyanobacteria	10		30		1250		1290
All Fungi	1300	23	7700	45	6600	61	15600
Microscopoc fungi	950		5400		4900		11250
Basidiomycetes	300		1800		1500		3600
Other fungi	20		200		160		380
Total per year	5500/180		17000/690		10800/1100		33500

隨著儀器與技術的進步，科學家找到越來越多在以前難以分離的小分子化合物，為新藥開發開啟新的契機，表 2 列出目前來自海洋天然物已進入臨床前試驗和臨床試驗，更能確定海洋微生物成為新藥開發的另一種選擇 [9]。

截至 2017 年 5 月為止，台灣物種名錄所記錄的真菌菌種有 1648 屬 6405 種 [10]，佔約全世界的 4.8% [11]，然而，雖然真菌相豐富，但絕大多數的真菌次級代謝物及相關活性的研究仍闕如，擁有相當大的發展潛力。此外，在天然物研究的過程中，真菌之菌絲體可於實驗室內已醱酵方式大量培養，在固定的培養條件下，具有良好的化學組成再現性，如發現有活性顯著的標的化合物時，也容易產業化等，皆為其優勢所在。

本實驗室在基隆海科館附近 (25°08'52.3"N 121°47'44.3"E) 海岸進行藻體採樣，而後將真菌從藻體單離。將藻源真菌株進行培養後用甲醇萃取，用病原菌篩選平臺 (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*) 找出具有抗菌潛力的菌株 (圖 2)。圖中 NTU64 抗菌圈較小，且在抑菌試驗達 30 小時，紙錠周圍的抑菌圈亦淡化至幾近無；NTU59 經由外觀型態與顯微鏡檢判斷，應與 NTU60 為同屬真菌，故選擇 NTU60 作為培養標的。本研究從藻類單離出真菌計 198 株，其粗萃物抑菌結果如表 3 所列。

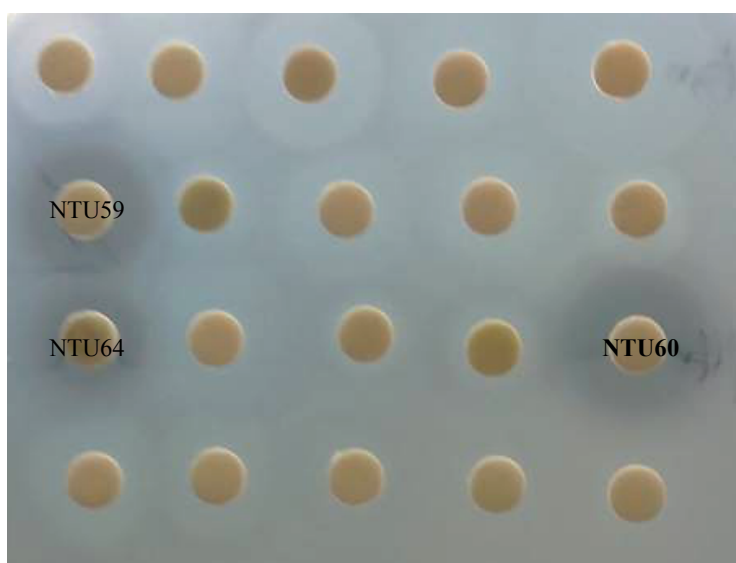
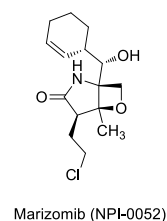
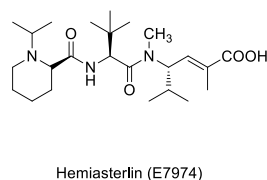
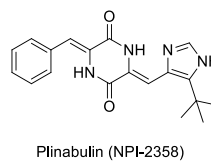
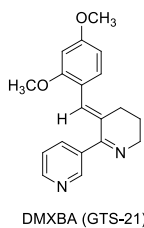
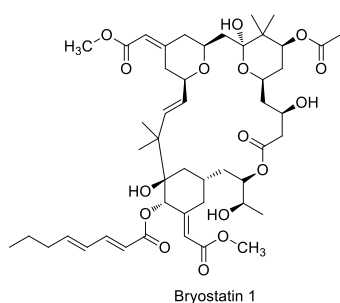
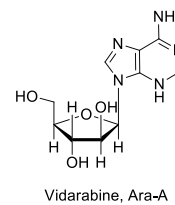
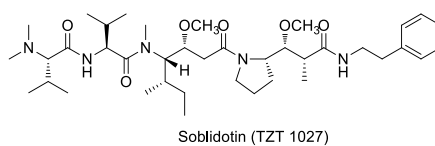
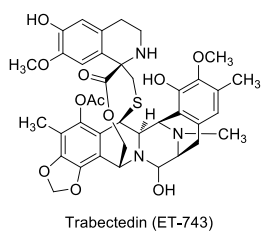


圖 2、藻源真菌粗萃物抗菌活性平臺篩選。

表 2、成功進入臨床試驗海洋天然物列表

Compound name	Marine organism	Chemical class	Disease area	Clinical status
Trabectedin (ET-743)	Tunicate	Alkaloid	Cancer	Approved
Vidarabine, Ara-A	Sponge	Nucleoside	Antiviral	Approved
Soblidotin (TZT 1027)	Bacterium	Peptide	Cancer	Phase III
DMXBA (GTS-21)	Worm	Alkaloid	Schizophrenia	Phase II
Plinabulin (NPI-2358)	Fungus	Diketopiperazine	Cancer	Phase II
Bryostatin 1	Bryozoa	Polyketide	Cancer	Phase I
Hemiasterlin (E7974)	Sponge	Tripeptide	Cancer	Phase I
Marizomib (NPI-0052)	Bacterium	Beta-lactone-gamma lactam	Cancer	Phase I



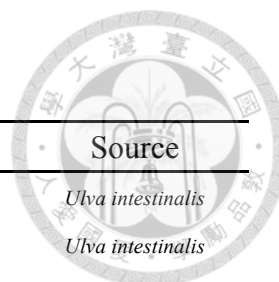


表 3、藻源真菌粗萃物抑菌結果

No.	<i>S.a.</i> ^a	<i>E.c.</i> ^b	<i>C.n.</i> ^c	<i>C.a.</i> ^d	Source
NTU59	++ ^e	-	-	-	<i>Ulva intestinalis</i>
NTU60	++	-	++	-	<i>Ulva intestinalis</i>
NTU64	+ ^f	-	-	-	<i>Dermonema frapperi</i>
NTU172	+	-	-	-	<i>Mastophora rosea</i>
NTU183	+	-	-	-	<i>Ulva lactuca</i>
NTU185	+	-	-	-	<i>Ulva lactuca</i>
NTU186	+	-	-	-	<i>Ulva lactuca</i>
NTU187	+	-	-	-	<i>Ulva lactuca</i>
NTU189	+	-	-	+	<i>Ulva lactuca</i>
NTU200	+	-	-	-	<i>Hypnea charoides</i>
NTU220	+	-	-	-	<i>Chondrus crispus</i>

^a *Staphylococcus aureus*, ^b *Escherichia coli*, ^c *Cryptococcus neoformans*, ^d *Candida albicans*, ^e > 1.0 cm, ^f > 0.3 cm

另一方面藉由馬偕醫學院王士維老師的協助亦進行真菌粗萃物的癌細胞毒性測試，發現 NTU60 在 25 µg/mL 濃度下，對於人類抗藥性卵巢癌細胞 (Paclitaxel-resistant ovarian cancer cells, TOV-21G-RT) 有抑制效果，於是選擇這株真菌作為研究標的，期望分離純化出具有應用潛力的化合物。



貳、文獻回顧 (Review)

2.1 菌株之分類學與介紹

頂孢黴菌屬 (*Acremonium*) 菌株廣泛分布於各種環境，比如土壤 [12]、植物 [13]、底泥 [14]、海洋生物 [15, 16] 或空氣中 [17]。目前文獻記錄頂孢黴菌屬已被確認屬種名的真菌有 95 株 [18]。其中部分菌株為人體致病菌，造成腦膜炎、灰指甲或過敏性肺炎等疾病 [19]。

真菌的分類有其特殊之處，在於同一種真菌具有有性世代的學名與無性世代的學名，有許多真菌(不完全菌)甚至尚未發現有性世代的存在 [20]，而無性的分生孢子的特徵便在其鑑定上更具重要性 [21]。頂孢黴菌屬最早在 1809 年由 Link 創立 [22]，屬於無性世代，是不完全菌，不容易使用型態分類學進行菌種鑑定，分類地位不明確。1968 年 Gams 檢查 Link 的館藏標本，發現 *Acremonium alternatum* 具有不同的分生孢子類型，有許多其他屬的菌株符合此特徵 [23]。1971 年 Gams 修改分類樹，將 *Cephalosporium* 屬合併至 *Acremonium* 底下，同時因外觀型態相似而合併的屬還有 *Glimastix*、*Hyalopus*、*Mastigocladium*、*Oospora* 和 *Monosporium* [24]。此外，也有菌株被隔離出成為新的屬，比如在 1978 年 Gams 將 *Sagenomella* 從 *Acremonium* 獨立出來 [25]。直至現今，真菌屬種的界定仍不斷被討論，尚未能清楚定案。

Acremonium tubakii NTU60 在分類上屬於真菌界 (Fungi)，子囊菌門 (Ascomycota)，糞殼菌綱 (Sordariomycetes)，肉座菌目 (Hypocreales)，頂孢黴菌屬 [26]，因頂孢黴菌屬屬於無性世代，其有性世代涵跨各屬分支，分類地位不明確，故此菌未將科列入。*Acremonium tubakii* W. Gams 其同種異名為 *Cephalosporium polyaleurum* Tabaki，但後者成為無效學名。首次於 1971 年由 Gams 從德國北海齒緣墨角藻 (*Fucus serratus*) 單離取得 [24, 27]。*Acremonium tubakii* NTU60 菌絲呈

黃白色，由本實驗室 2016 年 4 月至臺灣東北角海科館附近 (25°08'52.3"N
121°47'44.3"E) 海岸進行藻體採樣，在腸石髮 (*Ulva intestinalis*) 中單離出菌株。



2.2 頂孢黴菌屬 (*Acremonium*) 真菌成分之文獻回顧



頂孢黴菌屬真菌所產生的次級代謝物，已發表文獻回顧計有 305 個化合物，依其結構的相似性分類整理於表 4 如下：

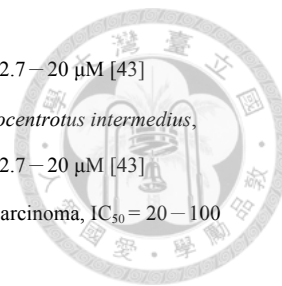
表 4、頂孢黴菌屬真菌二次代謝物文獻回顧

Compounds	Sources	Bioactivities (MIC, $\mu\text{g/mL}$)
Steroids		
Cerevisterol (11)	<i>A. luzulae</i> [28]	
Ergosterol peroxide (12)	<i>A. luzulae</i> [28], [29] <i>A. roseum</i>	
NGA0187 (13) [16]	<i>Acremonium</i> sp. [30]	
Ergosta-6,8,22-trien-3 β -ol (14)	<i>A. roseum</i> [31]	
Ergosterol (15)	<i>Acremonium</i> sp. [29]	
Sesquiterpenoids		
Heptelidic acid chlorohydrin (16)	<i>Acremonium</i> sp. No.618 [32]	IMR-90 ^a , IC ₅₀ = 0.74 [32] SW-13 ^b , IC ₅₀ = 0.13 [32] G361 ^c , IC ₅₀ = 0.28 [32] IMR-32 ^d , IC ₅₀ = 0.24 [32]
Spirobenzofuran (17)	<i>Acremonium</i> sp. HKI 0230 [12]	<i>Bacillus subtilis</i> , 25 [12]
Dihydroxybergamotene (18)	<i>Acremonium</i> sp. [33]	
Lignoren (19)	<i>Acremonium</i> sp. [33]	
Acremostriectin (20)	<i>A. strictum</i> [15]	<i>Micrococcus luteus</i> , 50 [15] <i>Salmonella typhimurium</i> , 50 [15] <i>Proteus vulgaris</i> , 12.5 [15]
Trichodermol (21)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	<i>Cryptococcus neoformans</i> , 32 [34] <i>Candida albicans</i> , 64 [34]
Verrol 4-acetate (22)	<i>A. neo-caledoneae</i> [35]	KB cells ^e , IC ₅₀ = 0.4 [35]
8-Deoxytrichothecin (23)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	<i>Candida albicans</i> , 16 [34]
Crotocin (24)	<i>A. crotocinigenum</i> [36–38]	
Acremeremophilane A (25)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	

Acremeremophilane B (26)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	RAW 264.7 ^f , IC ₅₀ = 8 μM [39]
Acremeremophilane C (27)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	RAW 264.7 ^f , IC ₅₀ = 45 μM [39]
Acremeremophilane D (28)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	RAW 264.7 ^f , IC ₅₀ = 25 μM [39]
Acremeremophilane E (29)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	RAW 264.7 ^f , IC ₅₀ = 15 μM [39]
Acremeremophilane F (30)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	RAW 264.7 ^f , IC ₅₀ = 26 μM [39]
Acremeremophilane G (31)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	
Acremeremophilane H (32)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	
Acremeremophilane I (33)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	
Acremeremophilane J (34)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	
Acremeremophilane K (35)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	
Acremeremophilane L (36)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	
Acremeremophilane M (37)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	
Acremeremophilane N (38)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	RAW 264.7 ^f , IC ₅₀ = 22 μM [39]
Acremeremophilane O (39)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	RAW 264.7 ^f , IC ₅₀ = 8 μM [39]
Guignarderemophilane B (40)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	
Guignarderemophilane E (41)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	
Eremophil-1(10),11-dien-2 β,8β-diol (42)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	
2-Oxo-3-hydroxyeremophila-1(10),3,7(11),8-tetraen-8,12-olide (43)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	
2-epi-PF1092B (44)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	
2-epi-PF1092C (45)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	
3-epi-PF1092C (46)	<i>Acremonium</i> sp. [39]	

Diterpenoids

Isopimara-7, 15-dien-19-ol (47)	<i>A. luzulae</i> [40]	
19-Norisopimara-7, 15-dien-3-one (48)	<i>A. luzulae</i> [41]	
Virescenoside A (49)	<i>A. luzulae</i> [42]	<i>Strongylocentrotus intermedius</i> , MIC ₅₀ = 2.7–20 μM [43]
Virescenoside B (50)	<i>A. luzulae</i> [42]	<i>Strongylocentrotus intermedius</i> , MIC ₅₀ = 2.7–20 μM [43]
Virescenoside C (51)	<i>A. luzulae</i> [44]	<i>Strongylocentrotus intermedius</i> , MIC ₅₀ = 2.7–20 μM [43]
Virescenoside D (52)	<i>A. luzulae</i> [45]	
Virescenoside E (53)	<i>A. luzulae</i> [46]	
Virescenoside F (54)	<i>A. luzulae</i> [47]	
Virescenoside G (55)	<i>A. luzulae</i> [47]	
Virescenoside H (56)	<i>A. luzulae</i> [45]	
Virescenoside L (57)	<i>A. luzulae</i> [46]	
Virescenoside M (58)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [43]	<i>Strongylocentrotus intermedius</i> ,



Virescenoside N (59)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [43, 48]	MIC ₅₀ = 2.7–20 μM [43] <i>Strongylocentrotus intermedius</i> , MIC ₅₀ = 2.7–20 μM [43]
Virescenoside O (60)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [49]	Ehrlich carcinoma, IC ₅₀ = 20–100 μM [49]
Virescenoside P (61)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [49]	<i>Strongylocentrotus intermedius</i> , MIC ₅₀ = 5.0 μM [49]
Virescenoside Q (62)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [49]	Ehrlich carcinoma, IC ₅₀ = 20–100 μM [49]
Virescenoside R (63)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [50]	Ehrlich carcinoma, IC ₅₀ = 25–60 μM [50]
Virescenoside S (64)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [50]	Ehrlich carcinoma, IC ₅₀ = 25–60 μM [50]
Virescenoside T (65)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [50]	Ehrlich carcinoma, IC ₅₀ = 25–60 μM [50]
Virescenoside U (66)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [50]	Ehrlich carcinoma, IC ₅₀ = 25–60 μM [50]
Virescenoside V (67)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [51]	
Virescenoside W (68)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [51]	
Virescenoside X (69)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [51]	
Virescenoside Z ₄ (70)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [52]	
Virescenoside Z ₅ (71)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [52]	
Virescenoside Z ₆ (72)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [52]	
Virescenoside Z ₇ (73)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [52]	
Virescenoside Z ₈ (74)	<i>A. striatisporum</i> KMM 4401 [52]	
Virescenoside R ₁ (75)	<i>A. striatisporum</i> [53]	
Virescenoside R ₂ (76)	<i>A. striatisporum</i> [53]	
Virescenoside R ₃ (77)	<i>A. striatisporum</i> [53]	
Virescenoside Z (78)	<i>A. striatisporum</i> [53]	
Triterpenoids		
Fusidic acid (79)	<i>Acremonium</i> sp. [54]	<i>Staphylococcus aureus</i> , <1 [54] <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <1 [54]
Helvolic acid (9)	<i>Acremonium</i> sp. [55]	<i>Bacillus subtilis</i> , 2 [56] methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> , 4 [56]
7-Deacetylhelvolic acid (80)	<i>Acremonium</i> sp. [57]	
Helvolinic acid (81)	<i>Acremonium</i> sp. [57]	
3-Oxo-16β-acetoxyfusida-1,17(20)[16,21-cis],24-trien-21-oic acid (82)	<i>Acremonium</i> sp. [58]	
Cephalosporin P ₁ (83)	<i>Acremonium</i> sp. [59, 60]	
Deacetylcephalosporin P ₁ (84)	<i>A. strictum</i> [61]	
16-deacetoxy-7β-hydroxy-fusidic acid (85)	<i>A. crocinigenum</i> [62]	methicillin-resistant <i>Staphylococcus</i>

aureus, 16 [62]



Polyterpenoids

SCH 60059 (86)	<i>Acremonium</i> sp. [63]
SCH 60065 (87)	<i>Acremonium</i> sp. [63]
SCH 64879 (88)	<i>Acremonium</i> sp. [63]
SCH 60061 (89)	<i>Acremonium</i> sp. [63]
SCH 60063 (90)	<i>Acremonium</i> sp. [63]
SCH 60057 (91)	<i>Acremonium</i> sp. [63]
SCH 64878 (92)	<i>Acremonium</i> sp. [63]

Merohemiterpenoids

F-11263 (93)	<i>Acremonium</i> sp. SANK 11894 [64]	sphingomyelinase, IC ₅₀ = 0.8 [64]
F-11334 A ₁ (94)	<i>A. murorum</i> 20793 [65]	neutral pH-optimum, IC ₅₀ = 7.5 [65]
	<i>Acremonium</i> sp.[16]	
F-11334 A ₂ (95)	<i>A. murorum</i> 20793 [65]	neutral pH-optimum, IC ₅₀ = 3.6 [65]
	<i>Acremonium</i> sp.	
F-11334 A ₃ (96)	<i>A. murorum</i> 20793 [65]	neutral pH-optimum, IC ₅₀ = 3.2 [65]
	<i>Acremonium</i> sp. [16]	
F-11334 B ₁ (97)	<i>A. murorum</i> 20793 [65]	
F-11334 B ₂ (98)	<i>A. murorum</i> 20793 [65]	
Acremine A (99)	<i>A. byssoides</i> A20 [66, 67]	
Acremine B (100)	<i>A. byssoides</i> A20 [66]	H460 ^g , IC ₅₀ = 35.7 [68]
Acremine C (101)	<i>A. byssoides</i> A20 [66]	
Acremine D (102)	<i>A. byssoides</i> A20 [66]	
Acremine E (103)	<i>A. byssoides</i> A20 [66]	
Acremine F (104)	<i>A. byssoides</i> A20 [66, 67]	
Acremine H (105)	<i>A. byssoides</i> A20 [68]	
Acremine I (106)	<i>A. byssoides</i> A20 [68]	H460 ^g , IC ₅₀ = 56 [68]
Acremine L (107)	<i>A. byssoides</i> A20 [68]	
Acremine M (108)	<i>A. byssoides</i> A20 [68]	
Acremine N (109)	<i>A. byssoides</i> A20 [68]	
5-Chloroacremine A (110)	<i>A. persicinum</i> [69]	
5-Chloroacremine H (111)	<i>A. persicinum</i> [69]	
Acremine O (112)	<i>A. persicinum</i> [69]	
Acremine P (113)	<i>A. persicinum</i> [69]	
Acremine Q (114)	<i>A. persicinum</i> [69]	



Acremine R (115)	<i>A. persicinum</i> [69]	
9-O-Methylacremine F (116)	<i>A. persicinum</i> [69]	
Acremine T (117)	<i>A. persicinum</i> SC0105 [70, 71]	
Spiroacremine A (118)	<i>A. persicinum</i> [69]	
Spiroacremine B (119)	<i>A. persicinum</i> [69]	
Awajanoran (120)	<i>Acremonium</i> sp. AWA16-1 [72]	A549 ^h , IC ₅₀ = 17 [72]
2,2-Dimethyl-2H-chromen-6-ol (121)	<i>A. polychromum</i> PSU-F125 [73]	
Acremine G (122)	<i>Acremonium</i> sp. A20 [74]	H460 ^g , IC ₅₀ = 48 [74]
Bisacremine A (123)	<i>A. persicinum</i> SC0105 [71]	HeLa ⁱ , IC ₅₀ = 10.7 μM [71]
Bisacremine B (124)	<i>A. persicinum</i> SC0105 [71]	HeLa ⁱ , IC ₅₀ = 9.3 μM [71] A549 ^h , IC ₅₀ = 41.3 μM [71] HepG2 ^j , IC ₅₀ = 31.1 μM [71]
Bisacremine C (125)	<i>A. persicinum</i> SC0105 [71]	HeLa ⁱ , IC ₅₀ = 31.1 μM [71]
Bisacremine D (126)	<i>A. persicinum</i> SC0105 [71]	HeLa ⁱ , IC ₅₀ = 46.1 μM [71]
Bisacremine E (127)	<i>A. persicinum</i> SC0105 [70]	
Bisacremine F (128)	<i>A. persicinum</i> SC0105 [70]	
Bisacremine G (129)	<i>A. persicinum</i> SC0105 [70]	
JBIR-37 (130)	<i>Acremonium</i> sp. SpF080624G1f01 [75]	
JBIR-38 (131)	<i>Acremonium</i> sp. SpF080624G1f01 [75]	
Acremonoside (132)	<i>A. polychromum</i> PSU-F125 [73]	
<hr/>		
Merosequiterpenoids		
Chlorocylindrocapol (133)	<i>Acremonium</i> sp. [33]	
Cylindrocapol (134)	<i>Acremonium</i> sp. [33]	
Ascochlorin (135)	<i>Acremonium</i> sp. [33] <i>A. luzulae</i> [76] <i>Acremonium</i> sp. LG0808 [77]	
Cylindrol B (136)	<i>Acremonium</i> sp. [33]	
Illicolin F (137)	<i>Acremonium</i> sp. [33]	
LL-Z 1272 ε (138)	<i>Acremonium</i> sp. [33]	
Illicolin C (139)	<i>Acremonium</i> sp. [33]	
Deacetylchloronectrin (140)	<i>Acremonium</i> sp. [33] <i>Acremonium</i> sp. LG0808 [77]	
Ascofuranone (141)	<i>Acremonium</i> sp. [33] <i>Acremonium</i> sp. LG0808 [77]	
Ascofuranol (142)	<i>Acremonium</i> sp. [33]	
Acremofuranone A (143)	<i>Acremonium</i> sp. [33]	

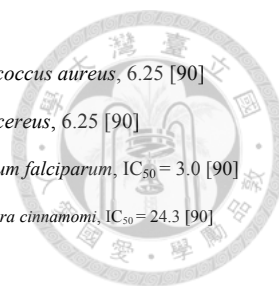


Acremofuranone B (144)	<i>Acremonium</i> sp. [33]	
10'-Deoxy-10' α -hydroxyascochlorin (145)	<i>Acremonium</i> sp. LG0808 [77]	
TAN-2355A (146)	<i>Acremonium</i> sp. FL-65227 [78]	
TAN-2355B (147)	<i>Acremonium</i> sp. FL-65227 [78]	
Pestalotinopene A (148)	<i>A. strictum</i> [79]	A2780 sens ^k , IC ₅₀ = 76.2 [79] A2780 cisR ^l , IC ₅₀ = 30.1 [79]
Pestalotiopene C (149)	<i>A. strictum</i> [79]	
Xenovulene A (150)	<i>A. strictum</i> XI 1458 [80]	
	<i>Acremonium</i> sp. TAMA116 [81]	
Isororidin A (151)	<i>A. neo-caledoniae</i> [35]	<i>Staphylococcus aureus</i> , 10 μ g/disk [35] <i>Candida albicans</i> , 1 μ g/disk [35] KB cells ^e , IC ₅₀ = 0.007 [35]
Verrucarin A (152)	<i>A. neo-caledoniae</i> [35]	<i>Candida albicans</i> , 2 μ g/disk [35] KB cells ^e , IC ₅₀ = 0.01 [35]
Meroditerpenoids		
Sesquicillin (153)	<i>Acremonium</i> sp. [82]	
Deposides		
PS-990 (154)	<i>Acremonium</i> sp. [83]	<i>Bacillus subtilis</i> , 0.65 [83] <i>Enterococcus faecium</i> , 21 [83] <i>Staphylococcus aureus</i> , 10 [83]
CRM646-A (155)	<i>Acremonium</i> sp. [84]	B16-F10 ^m , IC ₅₀ = 15 μ M [84]
CRM646-B (156)	<i>Acremonium</i> sp. [84]	B16-F10 ^m , IC ₅₀ = 30 μ M [84]
Lactones		
Djalonsone (157)	<i>Acremonium</i> sp. [29]	
Alternariol (158)	<i>Acremonium</i> sp. [29]	
Acremonone B (159)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
Acremonone C (160)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
Acremonone D (161)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
Acremonone E (162)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
Acremonone F (163)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
Acremonone G (164)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
Acremonone H (165)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
(3R,4R)-4-Hydroxy-5-methylmellein (166)	<i>A. strictum</i> [79]	
Cytosporone C (167)	<i>A. strictum</i> [79]	
Bicytosporone D (168)	<i>A. strictum</i> [79]	
Kawain (169)	<i>A. neo-caledoniae</i> [35]	
7,8-Dihydrokawain (170)	<i>A. neo-caledoniae</i> [35]	



5,6-Dehydrokawain (171)	<i>A. neo-caledoniae</i> [35]	
Acropyrone (172)	<i>A. strictum</i> [79]	
5,7-dimethoxy-3,4-dimethyl-3-hydroxyphthalide (173)	<i>A. crotocinigenum</i> MYC-1590 [85]	
Acremonide (174)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
Cytosporone E (175)	<i>A. strictum</i> [79]	<i>Staphylococcus aureus</i> , 14.3 μ M [79] resistant A2780', IC ₅₀ = 19.0 μ M [79]
Acremolactone C (176)	<i>A. roseum</i> 14267 [86]	
Acremonone A (177)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
Orbuticin 196a (178)	<i>A. butyri</i> [87]	
Orbuticin 196b (179)	<i>A. butyri</i> [87]	
Dihydroresorcyllide (180)	<i>A. zae</i> NRRL 45893 [88]	
7R-Hydroxydihydroresorcyllide (181)	<i>A. zae</i> NRRL 45893 [88]	
7S-Hydroxydihydroresorcyllide (182)	<i>A. zae</i> NRRL 45893 [88]	
Hydroquinones		
Acremonidin D (183)	<i>Acremonium</i> sp. LL-Cyan 416 [89]	methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> , 64 [89]
Acremonidin E (184)	<i>Acremonium</i> sp. LL-Cyan 416 [89]	methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> , 64 [89] <i>Enterococcus faecalis</i> , 32 [89]
Acremonidin A (185)	<i>Acremonium</i> sp. LL-Cyan 416 [89]	methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> , 8 [89] <i>Bacillus cereus</i> , 1.56 [90] <i>Enterococcus faecalis</i> , 16 [89] vancomycin-susceptible <i>Escherichia coli</i> , 16 [90] <i>Plasmodium falciparum</i> , IC ₅₀ = 5.4 [90]
Acremonidin B (186)	<i>Acremonium</i> sp. LL-Cyan 416 [89]	methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> , 32 [89] <i>A. camptosporum</i> [91] vancomycin-resistant <i>Enterococcus faecalis</i> , 32 [89]
Acremonidin C (187)	<i>Acremonium</i> sp. LL-Cyan 416 [89]	methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> , 32 [89] <i>Bacillus cereus</i> , 3.13 [90] <i>Acremonium</i> sp. BCC 31806 [90] vancomycin-susceptible <i>Enterococcus faecalis</i> , 32 [89]
Acremoxanthone A (188)	<i>Acremonium</i> sp. BCC 31806 [90] <i>A. camptosporum</i> [91]	<i>Staphylococcus aureus</i> , 12.5 [90] <i>Candida albicans</i> , IC ₅₀ = 1.7 [90]

Acremoxanthone B (189)	<i>Acremonium</i> sp. BCC 31806 [90] <i>A. camptosporum</i> [91]	<i>Staphylococcus aureus</i> , 6.25 [90] <i>Bacillus cereus</i> , 6.25 [90] <i>Plasmodium falciparum</i> , IC ₅₀ = 3.0 [90] <i>Phytophthora cinnamomi</i> , IC ₅₀ = 24.3 [90]
Acremoxanthone C (190)	<i>A. camptosporum</i> [91]	
Acremoxanthone E (191)	<i>A. camptosporum</i> [91]	
(4S)-6-hydroxyisosclerone (192)	<i>A. strictum</i> [79]	



Other aromatic compounds

RKB 3564S (193)	<i>Acremonium</i> sp. MST-MF588a [92]	
Acremonisol A (194)	<i>Acremonium</i> sp. [93]	
4-O-methylglucopyranoside (195)	<i>Acremonium</i> sp. BCC 14080 [94]	
4-methyl-1-phenyl-2,3-hexanediol (196)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
(2R,3R)-4-methyl-1-phenyl-2,3-pentanediol (197)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
6'-Hydroxypestalotiopsone C (198)	<i>A. stricrum</i> [79]	

Cyclic compounds

(4S,5S)-Sapinofuranone B (199)	<i>A. stricrum</i> [95]	
Acremolactone A (200)	<i>A. roseum</i> I4267 [86, 96]	
Waal A (201)	<i>A. stricrum</i> [79]	resistant A2780 ^l , IC ₅₀ = 12.6 μM [79]
Waal acid (202)	<i>A. stricrum</i> [79]	
3,5-Dihydroxydecanoic acid δ-lactone (203)	<i>A. recifei</i> [97]	
Recifeiolide (204)	<i>A. recifei</i> [98]	
Acremonol (205)	<i>Acremonium</i> sp. [99]	
Acremodiol (206)	<i>Acremonium</i> sp. [99]	
(+)-Brefeldin A (207)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	<i>Candida albicans</i> , 32 [34]
NBRI17671 (208)	<i>Acremonium</i> sp. CR17671	
NBRI17671al (209)	<i>Acremonium</i> sp. CR17671 [100]	
Bisvertinolone (210)	<i>A. strictum</i> [101]	

Acyclic compounds

Halymecin D (211)	<i>Acremonium</i> sp. FK-N30 [102]	
Halymecin E (212)	<i>Acremonium</i> sp. FK-N30 [102]	
2-(1-methylethylidene)pentanedioic acid (213)	<i>Acremonium</i> sp. [16]	
Pentanedioic acid 2-(1-methylethylidene)-5-methyl ester (214)	<i>Acremonium</i> sp. [16]	
Pentanedioic acid 2-(1-methylethylidene)-5-methyl ester (215)	<i>Acremonium</i> sp. [16]	
Pentanedioic acid 2-(1-methylethenyl)-5-methyl ester (216)	<i>Acremonium</i> sp. [16]	

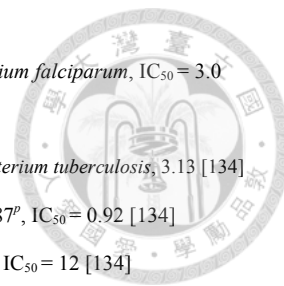
Alkaloids



Lolitre A (219)	<i>A. lolii</i> [103]	
Lolitre B (217)	<i>A. lolii</i> [104]	
Lolitre E (218)	<i>A. lolii</i> [105]	
Lolitre F (220)	<i>A. lolii</i> [106]	
Lolilline (221)	<i>A. lolii</i> [107]	
Paxilline (222)	<i>A. lolii</i> [107–109]	
α -paxitriol (223)	<i>A. lolii</i> [107, 108]	
Lolitriol (224)	<i>A. lolii</i> [107, 108]	
Preamine (225)	<i>A. loliae</i> [110, 111]	
UCS1025A (226)	<i>Acremonium</i> sp. KY4917 [112]	<i>Staphylococcus aureus</i> , 1.3 [112] <i>Bacillus subtilis</i> , 1.3 [112] <i>Enterococcus hirae</i> , 1.3 [112]
UCS1025B (227)	<i>Acremonium</i> sp. KY4917 [112]	<i>Staphylococcus aureus</i> , 42 [112] <i>Bacillus subtilis</i> , 83 [112] <i>Enterococcus hirae</i> , 42 [112]
Oxepinamide A (228)	<i>Acremonium</i> sp. [113]	
Oxepinamide B (229)	<i>Acremonium</i> sp. [113]	
Oxepinamide C (230)	<i>Acremonium</i> sp. [113]	
Fumiquinazoline H (231)	<i>Acremonium</i> sp. [113]	
Fumiquinazoline I (232)	<i>Acremonium</i> sp. [113]	
Pyrrucidine A (233)	<i>A. zeae</i> NRRL 13540 [114, 115]	
Pyrrucidine B (234)	<i>A. zeae</i> NRRL 13540 [114, 115]	
Acremoauxin A (235)	<i>A. roseum</i> I 4267 [116]	
19-O-acetylchaetoglobosin B (236)	<i>Acremonium</i> sp. MST-MF588a [92]	
19-O-acetylchaetoglobosin D (237)	<i>Acremonium</i> sp. MST-MF588a [92]	
TMC-260 (238)	<i>A. kiliense</i> Gruetz TC 1703 [117]	
Awajanomycin (239)	<i>Acremonium</i> sp. AWA16-I [118]	A549 ^h , IC ₅₀ = 27.5 [118]
Sch 54794 (240)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
Sch 54796 (241)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
Pyridoxatin (242)	<i>Acremonium</i> sp. BX86 [119]	<i>Candida albicans</i> , 1.64 [119] HeLa ⁱ , IC ₅₀ = 1.0 [119]
Acremolactone B (243)	<i>A. roseum</i> I4267 [86]	
Cyclopeptides		
Phoenistatin (244)	<i>A. fusigerum</i> QN5320 [120]	
Scytalidamine A (245)	<i>Acremonium</i> sp. [121]	
Scytalidamide B (246)	<i>Acremonium</i> sp. [121]	
Anthranicine (247)	<i>Acremonium</i> sp. A29-2004 [122]	

FR235222 (248)	<i>Acremonium</i> sp. No.27082 [123 – 125]	
AS1387292 (249)	<i>Acremonium</i> sp. No.27082 [126, 127]	
Cordyheptapeptide C (250)	<i>A. persicinum</i> SCSIO 115 [14]	SF-268 ⁿ , IC ₅₀ = 3.7 [14] MCF-7 ^p , IC ₅₀ = 3.0 [14] NCI-H460, IC ₅₀ = 11.6 [14]
Cordyheptapeptide D (251)	<i>A. persicinum</i> SCSIO 115 [14]	SF-268 ⁿ , IC ₅₀ = 45.6 [14] MCF-7 ^p , IC ₅₀ = 82.7 [14]
Cordyheptapeptide E (252)	<i>A. persicinum</i> SCSIO 115 [14]	SF-268 ⁿ , IC ₅₀ = 3.2 [14] MCF-7 ^p , IC ₅₀ = 2.7 [14] NCI-H460, IC ₅₀ = 4.5 [14]
Cyclosporin A (253)	<i>A. luzulae</i> [128, 129]	
Cyclosporin C (254)	<i>A. luzulae</i> [130]	
[Thr ² ,Leu ⁵ ,Ala ¹⁰]Cyclosporin (255)	<i>A. luzulae</i> [131]	
Aselacin A (256)	<i>Acremonium</i> sp. AB 2093T-194 [132, 133]	
Aselacin B (257)	<i>Acremonium</i> sp. AB 2093T-194 [132, 133]	
Aselacin C (258)	<i>Acremonium</i> sp. AB 2086L-51 [132, 133]	
Acremolide A (259)	<i>Acremonium</i> sp. MST-MF588a [92]	
Acremolide B (260)	<i>Acremonium</i> sp. MST-MF588a [92]	
Acremolide C (261)	<i>Acremonium</i> sp. MST-MF588a [92]	
Acremolide D (262)	<i>Acremonium</i> sp. MST-MF588a [92]	
Enniatin L (263)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [134]	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 12.5 [134]
Enniatin M ₁ (264)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [134]	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 6.25 [134]
Enniatin M ₂ (265)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [134]	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 6.25 [134]
Enniatin N (266)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [134]	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 6.25 [134]
Enniatin B (267)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [134]	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 3.13 [134] NCI-H187 ⁿ , IC ₅₀ = 5.0 [134]
	<i>Acremonium</i> sp. BCC28424 [135]	
Enniatin H (268)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [134]	
Enniatin I (269)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [134]	
MK1688 (270)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [134]	
Enniatin B ₄ (271)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [134]	
Beauverniatin A (272)	<i>Acremonium</i> sp. BCC28424 [134]	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 3.13 [134] NCI-H187 ⁿ , IC ₅₀ = 1.0 [134] MCF-7 ^p , IC ₅₀ = 6.2 [134]





Beauverriatin B (273)	<i>Acremonium</i> sp. BCC28424 [134]	<i>Plasmodium falciparum</i> , IC ₅₀ = 3.0 [134] <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 3.13 [134] NCI-H187 ^p , IC ₅₀ = 0.92 [134] MCF-7 ^p , IC ₅₀ = 12 [134] <i>Plasmodium falciparum</i> , IC ₅₀ = 3.0 [134]
Beauverriatin C (274)	<i>Acremonium</i> sp. BCC28424 [134]	NCI-H187 ^p , IC ₅₀ = 6.6 [134] <i>Plasmodium falciparum</i> , IC ₅₀ = 3.4 [134]
Beauverriatin D (275)	<i>Acremonium</i> sp. BCC28424 [134]	
Beauverriatin E (276)	<i>Acremonium</i> sp. BCC28424 [134]	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 25 [134] NCI-H187 ^p , 7.6 [134] MCF-7 ^p , IC ₅₀ = 9.6 [134] <i>Plasmodium falciparum</i> , IC ₅₀ = 2.9 [134]
Beauvericin J (277)	<i>Acremonium</i> sp. BCC28424 [134]	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 12.5 [134] NCI-H187 ^p , IC ₅₀ = 8.4 [134] <i>Plasmodium falciparum</i> , IC ₅₀ = 3.0 [134]
Beauvericin (278)	<i>Acremonium</i> sp. BCC28424 [134]	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 6.25 [134] NCI-H187 ^p , IC ₅₀ = 2.0 [134] MCF-7 ^p , IC ₅₀ = 8.6 [134] <i>Plasmodium falciparum</i> , IC ₅₀ = 3.1 [134]
Beauverriatin F (279)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [136]	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 1.07 [136] KB cells ^e , IC ₅₀ = 1.05 μM [136] NCI-H187 ^p , IC ₅₀ = 2.29 [136] <i>Plasmodium falciparum</i> , IC ₅₀ = 3.8 [136]
Beauverriatin G ₁ (280)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [136]	
Beauverriatin G ₂ (281)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [136]	
Beauverriatin G ₃ (282)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [136]	
Beauverriatin H ₁ (283)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [136]	
Beauverriatin H ₂ (284)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [136]	



Beauverniatin H ₃ (285)	<i>Acremonium</i> sp. BCC2629 [136]	
Guangomide A (286)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
Guangomide B (287)	<i>Acremonium</i> sp. PSU-MA70 [34]	
<hr/>		
Linear peptides		
XR586 (288)	<i>A. persicinum</i> [137]	
Leucinostatin A (289)	<i>Acremonium</i> sp. [138]	<i>Pythium ultimum</i> , EC ₅₀ < 1 μM [138] BT-20 ^g , IC ₅₀ = 2.3 nM [138] MCF-7 ^o , IC ₅₀ = 4.0 nM [138]
Cephaibol A (1)	<i>A. tubakii</i> DSM 12774 [139]	<i>Staphylococcus aureus</i> , 10 [139] <i>Streptococcus pyogenes</i> , 10 [139] <i>Enterococcus faecium</i> , 20 [139] <i>Ascaris galli</i> , 25 [139]
Cephaibol A ₂ (290)	<i>A. tubakii</i> DSM 12774 [139]	
Cephaibol B (2)	<i>A. tubakii</i> DSM 12774 [139]	<i>Staphylococcus aureus</i> , 5 [139] <i>Streptococcus pyogenes</i> , 5 [139] <i>Enterococcus faecium</i> , 10 [139]
Cephaibol C (3)	<i>A. tubakii</i> DSM 12774 [139]	
Cephaibol D (291)	<i>A. tubakii</i> DSM 12774 [139]	
Cephaibol E (4)	<i>A. tubakii</i> DSM 12774 [139]	<i>Staphylococcus aureus</i> , 80 [139]
Cephaibol P (292)	<i>A. tubakii</i> DSM 12774 [139]	
Cephaibol Q (293)	<i>A. tubakii</i> DSM 12774 [139]	
Acremostatin A (294)	<i>Acremonium</i> sp. Tbp-5 DSM 12973 [140]	
Acremostatin B (295)	<i>Acremonium</i> sp. Tbp-5 DSM 12973 [140]	
Acremostatin C (296)	<i>Acremonium</i> sp. Tbp-5 DSM 12973 [140]	
RHM1 (297)	<i>Acremonium</i> sp. [121, 141]	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , 25 [141]
RHM2 (298)	<i>Acremonium</i> sp.	
RHM3 (299)	<i>Acremonium</i> sp. [121]	
RHM4 (300)	<i>Acremonium</i> sp. [121]	
Efrapeptin E α (301)	<i>Acremonium</i> sp. [121]	H125 ^r , IC ₅₀ = 1.3 nM [121]
Efrapeptin E (302)	<i>Acremonium</i> sp. [121]	
Efrapeptin F (303)	<i>Acremonium</i> sp. [121, 141]	H125 ^r , IC ₅₀ = 1.3 nM [121]
Efrapeptin G (304)	<i>Acremonium</i> sp. [121, 141]	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , 80 [141] H125 ^r , IC ₅₀ = 1.3 nM [121]
Efrapeptin H (305)	<i>Acremonium</i> sp. [121]	
<hr/>		
β-Lactam antibiotics and related compounds		
Cephalosporin C (306)	<i>A. chrysogenum</i> [142]	<i>Escherichia coli</i> , 0.4 [143]
Penicillin N (307)	<i>A. chrysogenum</i> [142]	<i>Micrococcus luteus</i> , 2.5 ^s [144] <i>Escherichia coli</i> , 2.5 ^s [144]

Isopenicillin N (308)

A. chrysogenum [142]

Miscellaneous

Thiacremonone (309)

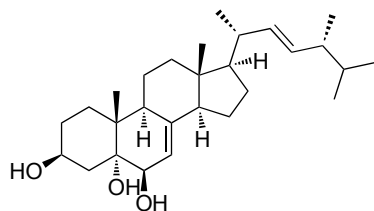
Acronium sp. HA33-95 [145]

Acromannolipin A (310)

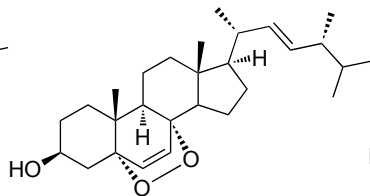
A. strictum [146]

^aIMR-90 (normal diploid fibroblast of lung); ^bSW-13 (adrenal cortex adenocarcinoma); ^cG361 (malignant melanoma); ^dIMR-32 (neuroblastoma); ^eKB cells (papilloma carcinoma); ^fRAW 264.7 (abelson murine leukemia virus-induced tumor); ^gH460 (non-small cell lung tumour cell line); ^hA549 (human lung adenocarcinoma); ⁱHeLa (human cervix adenocarcinoma); ^jHepG2 (liver hepatocellular cells); ^kA2780 sens (human ovarian carcinoma sensitive); ^lA2780 cisR (human ovarian carcinoma cisplatin-resistant); ^mB16-F10 (skin adherent melanoma); ⁿSF-268 (human glioblastoma); ^oMCF-7 (human breast cancer); ^pNCI-H187 (human small- cell lung cancer); ^qBT-20 (human breast cancer); ^rH125 (lung non-small cell carcinoma); ^sbioactivity only showed the test concentration.

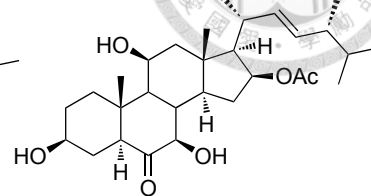
Steroids



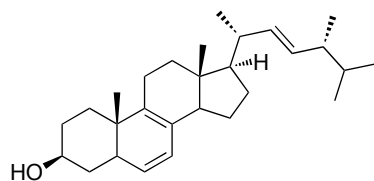
11



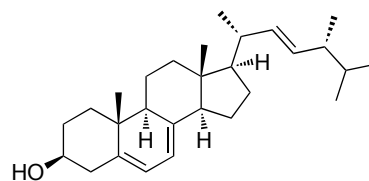
12



13

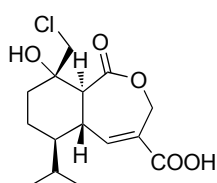


14

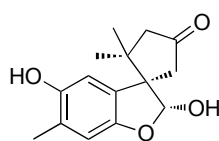


15

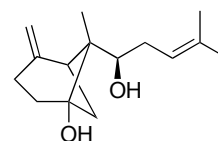
Sesquiterpenoids



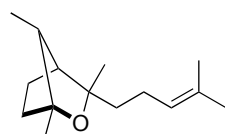
16



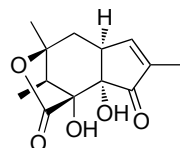
17



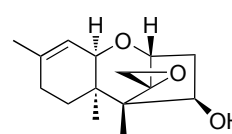
18



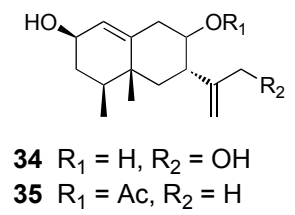
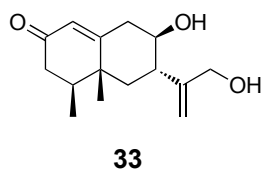
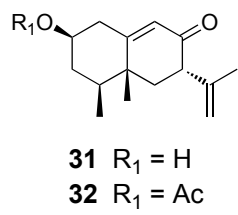
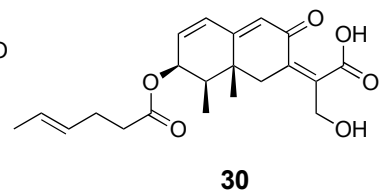
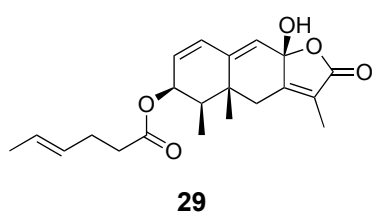
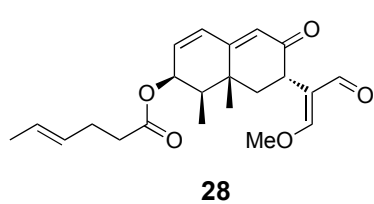
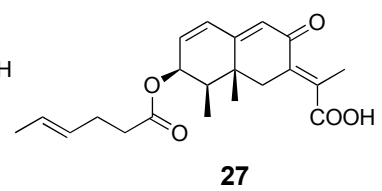
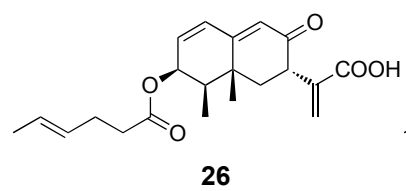
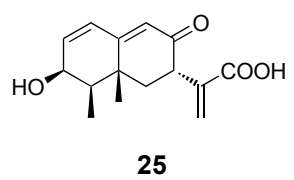
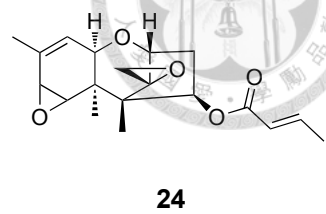
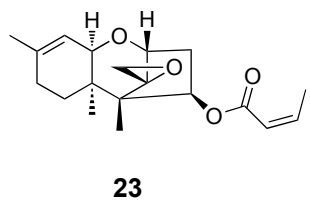
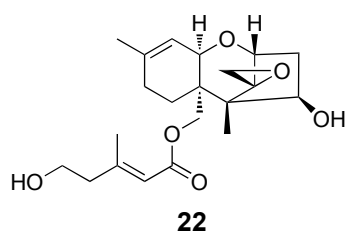
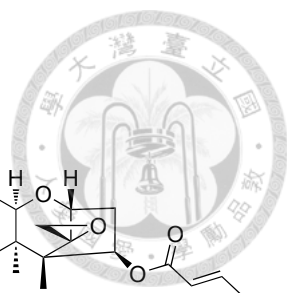
19

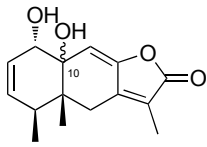


20

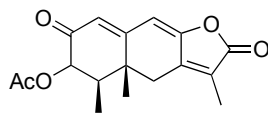


21

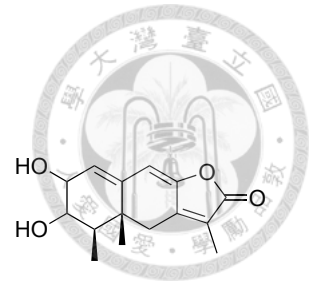




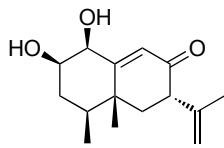
36 10R
37 10S



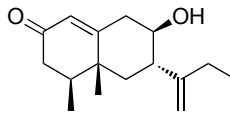
38



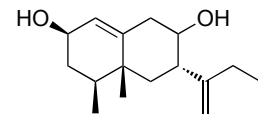
39



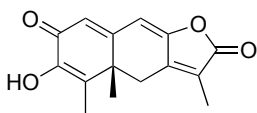
40



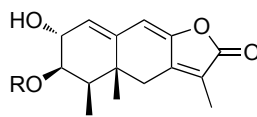
41



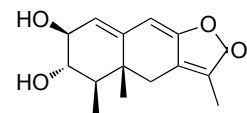
42



43

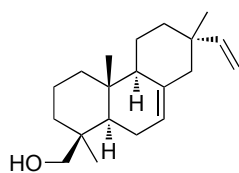
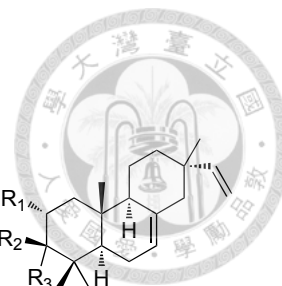


44 R = Ac
45 R = H

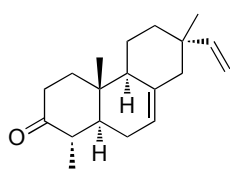


46

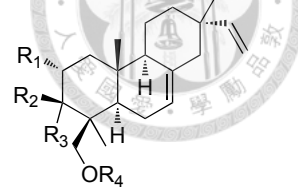
Diterpenoids



47



48



49 $R_1 = R_2 = \text{OH}$

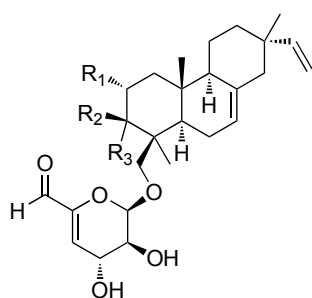
$R_3 = \text{H}, R_4 = \beta\text{-D-Alt}$

50 $R_1 = R_3 = \text{H}$

$R_2 = \text{OH}, R_4 = \beta\text{-D-Alt}$

51 $R_1 = \text{H}, R_2 + R_3 = \text{O}$

$R_4 = \beta\text{-D-Alt}$

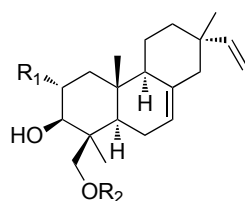


52 $R_1 = R_3 = \text{H}$

$R_2 = \text{OH}$

53 $R_1 = R_3 = \text{OH}$

$R_2 = \text{H}$

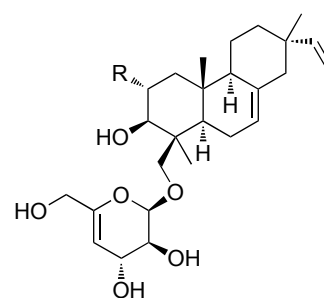


54 $R_1 = \text{OH}$

$R_2 = \beta\text{-D-Alu}$

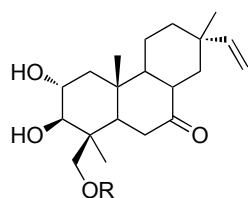
55 $R_1 = \text{H}$

$R_2 = \beta\text{-D-Alu}$

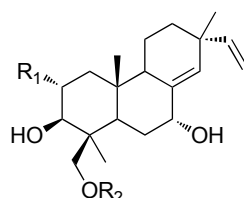


56 $R = \text{H}$

57 $R = \text{OH}$



58 $R = \beta\text{-D-Alt}$

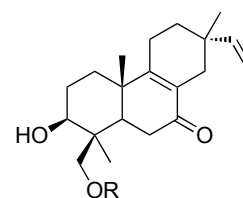


59 $R_1 = \text{OH}$

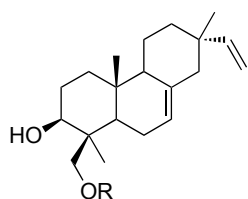
$R_2 = \beta\text{-D-Alt}$

60 $R_1 = \text{H}$

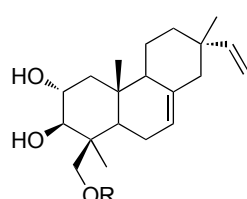
$R_2 = \beta\text{-D-Alt}$



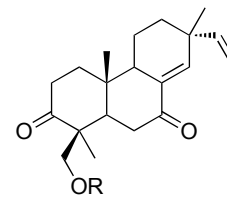
61 $R = \beta\text{-D-Alt}$



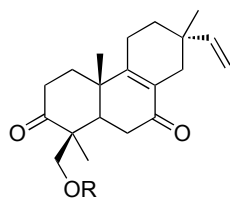
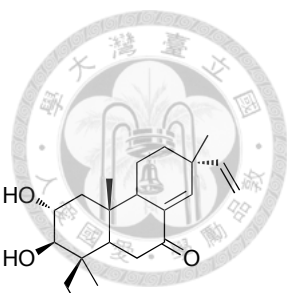
62 $R = \beta\text{-D-man}$



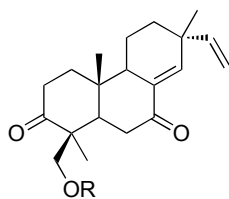
63 $R = \alpha\text{-D-Glc}(1 \rightarrow 6)\text{-}\beta\text{-D-Alt}$



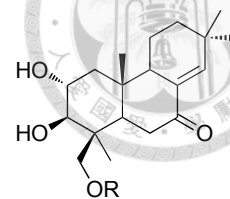
64 $R = \beta\text{-D-Alt}$



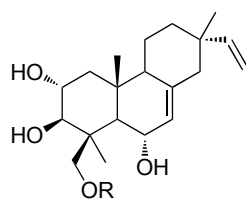
65 R = β -D-Alt



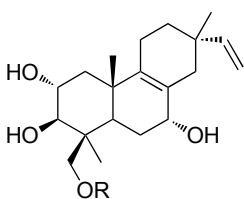
66 R = β -D-Alt



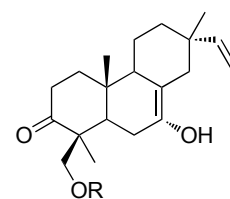
67 R = β -D-Alt



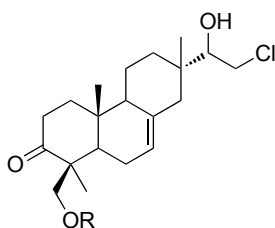
68 R = β -D-Alt



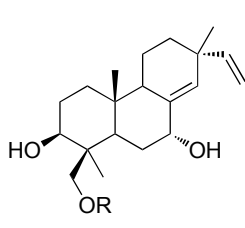
69 R = β -D-Alt



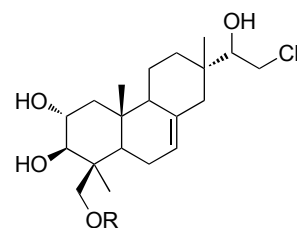
70 R = β -D-Alu



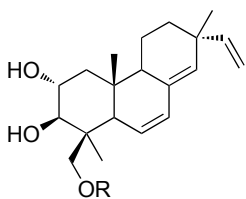
71 R = β -D-Alu



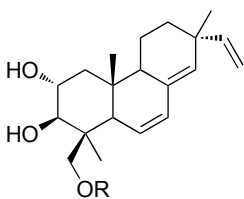
72 R = β -D-Alu



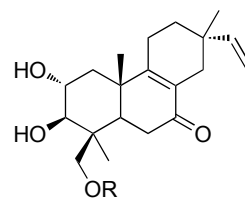
73 R = β -D-Alu



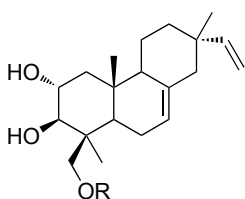
74 R = β -D-Alu



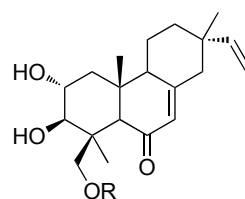
75 R = α -D-Glc(1 \rightarrow 6)- β -D-Alt



76 R = α -D-Glc(1 \rightarrow 6)- β -D-Alt

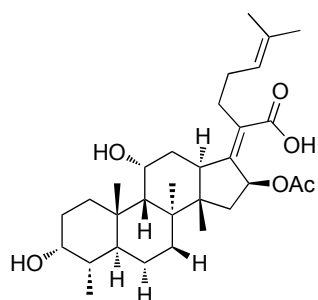


77 R = α -D-Glc(1 \rightarrow 4)- β -D-Alt

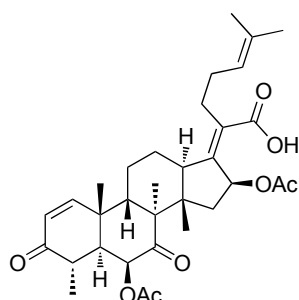


78 R = β -D-Alt

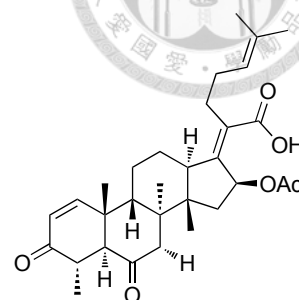
Triterpenoids



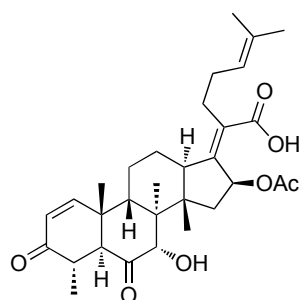
79



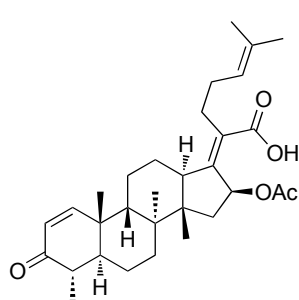
9



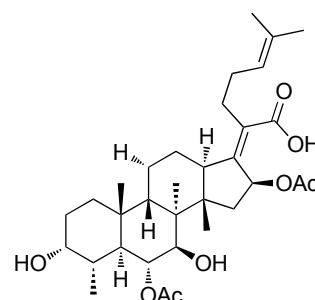
80



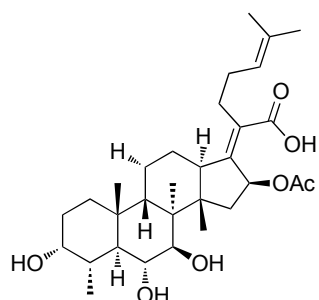
81



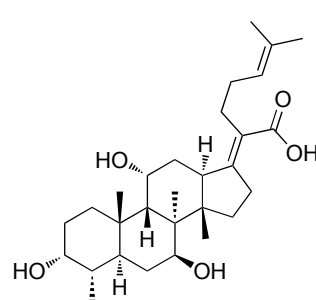
82



83

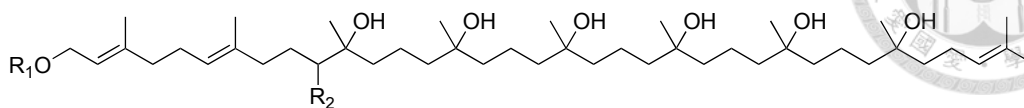
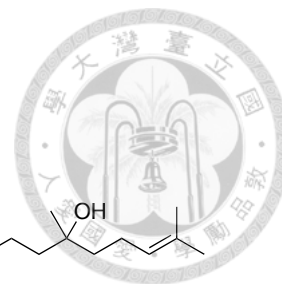


84



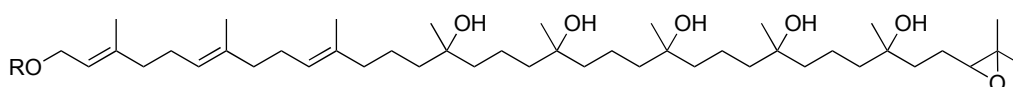
85

Polyterpenoids

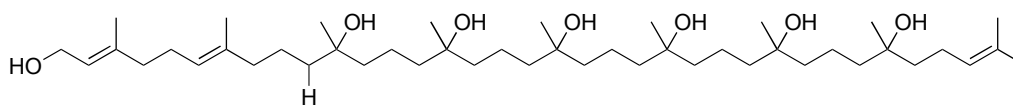


86 R₁ = β-D-glucopyranosyl, R₂ = OH

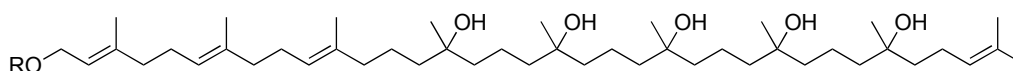
87 R₁ = β-D-glucopyranosyl, R₂ = H



88 R = β-D-glucopyranosyl

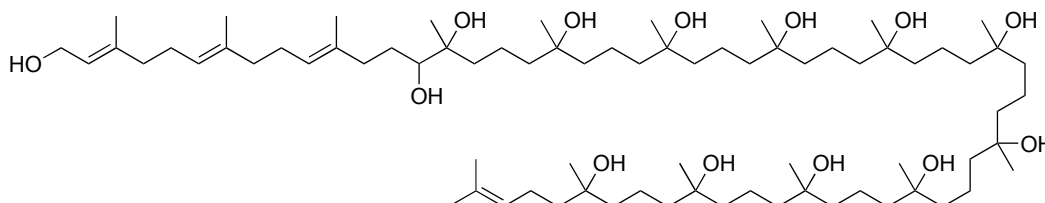


89



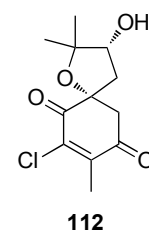
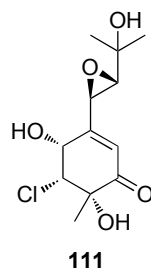
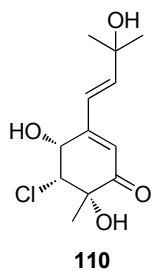
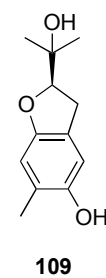
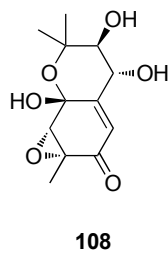
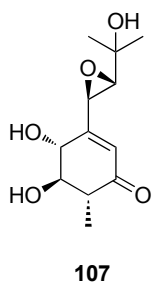
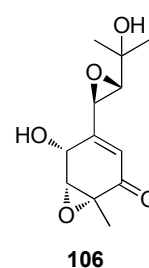
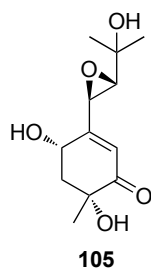
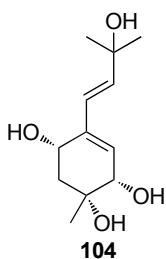
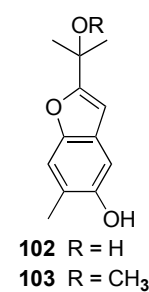
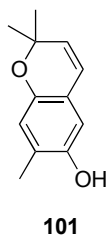
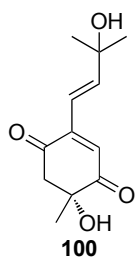
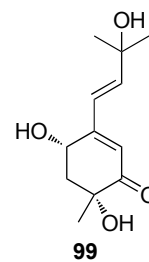
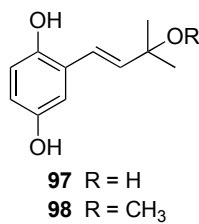
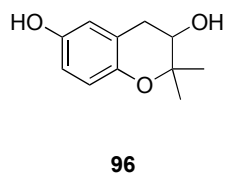
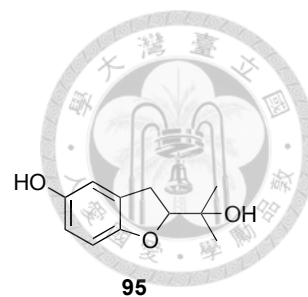
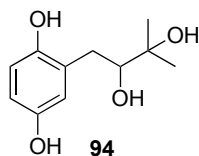
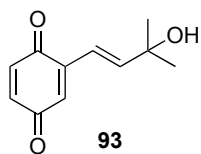
90 R = β-D-glucopyranosyl

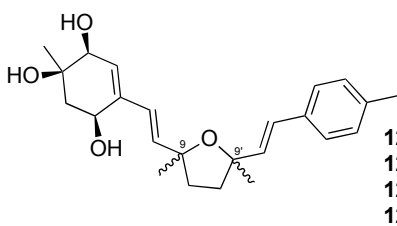
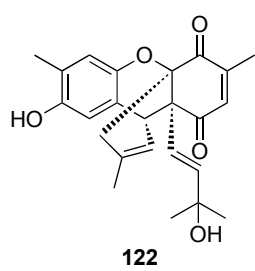
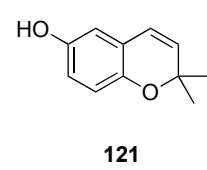
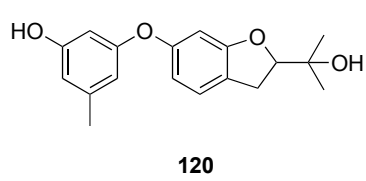
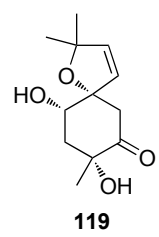
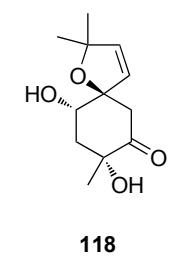
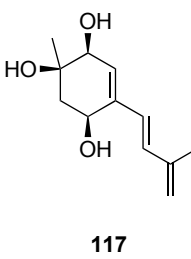
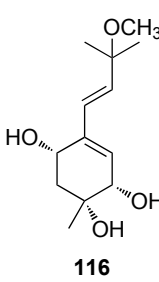
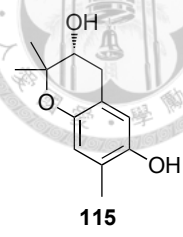
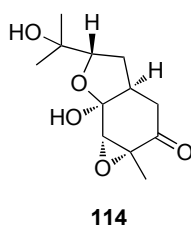
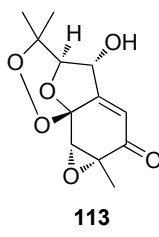
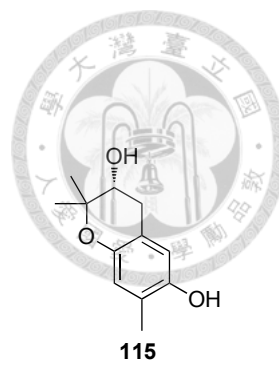
91 R = H



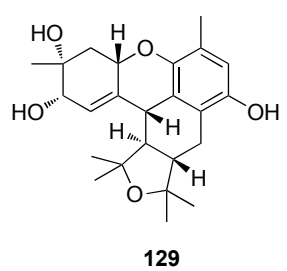
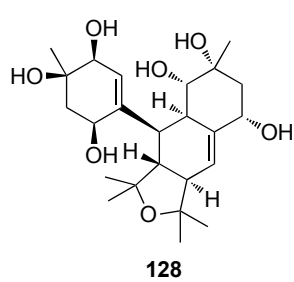
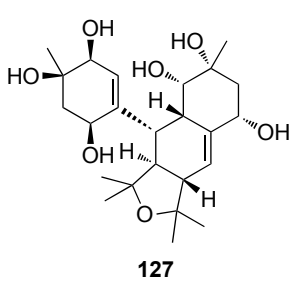
92

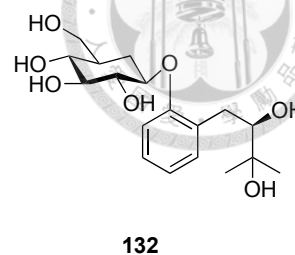
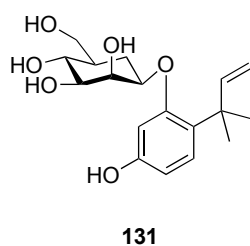
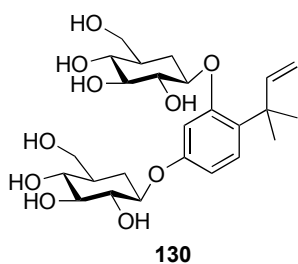
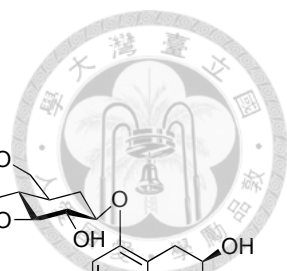
Merohemiterpenoids



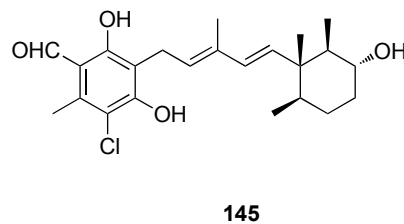
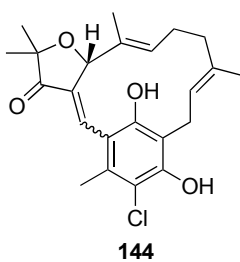
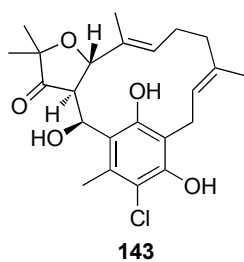
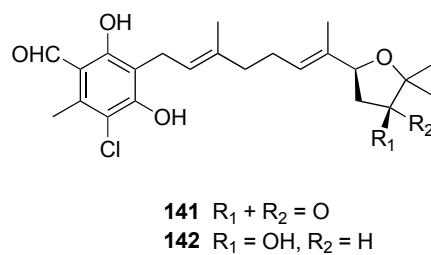
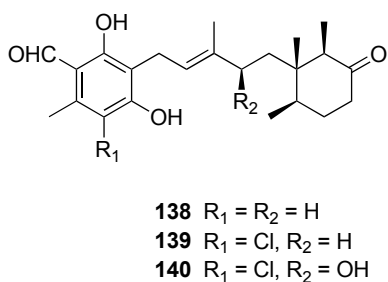
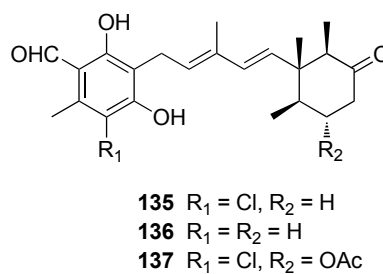
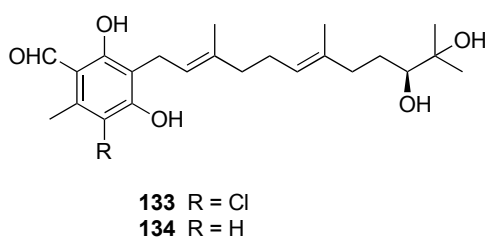


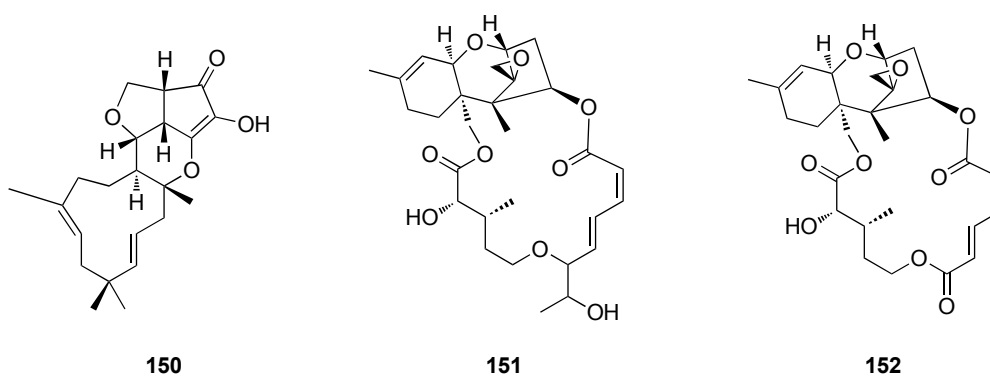
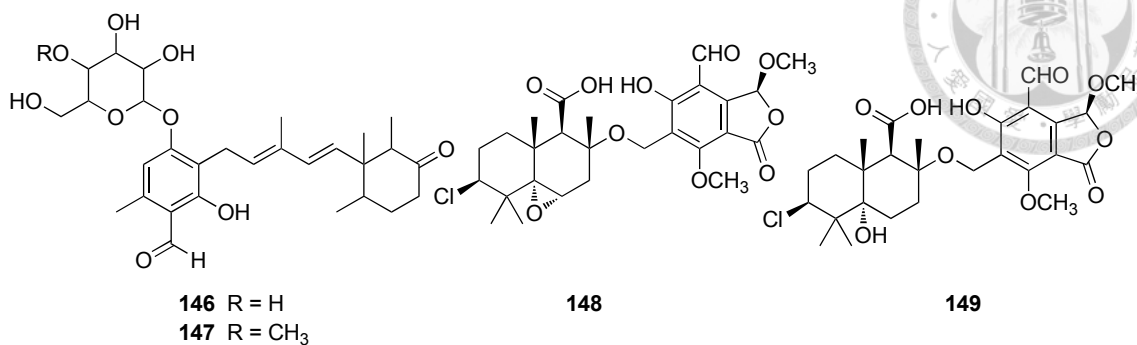
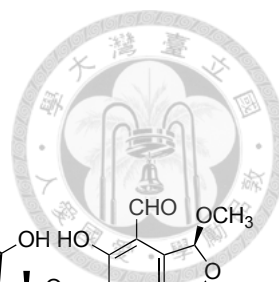
123 9S, 9'S
124 9R, 9'R
125 9S, 9'R
126 9R, 9'S



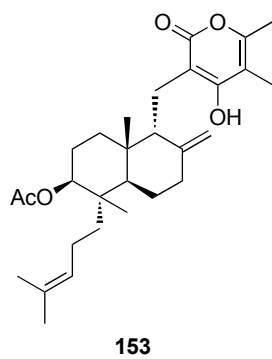


Merosesquiterpenoids

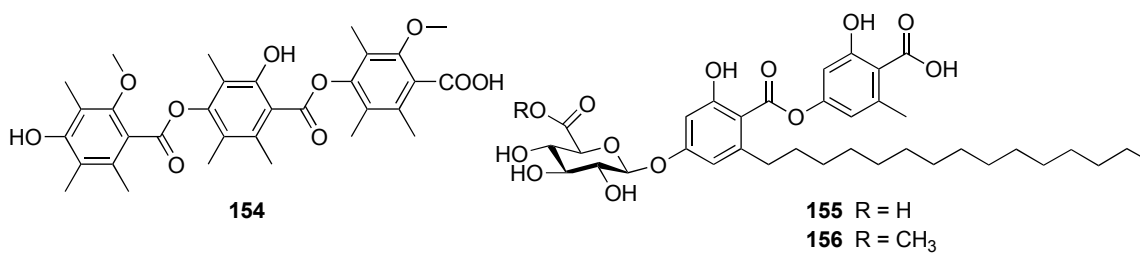




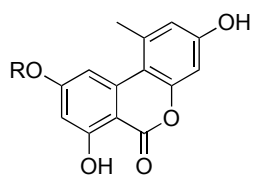
Meroditerpenoids



Depsides

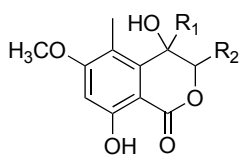


Lactones



157 R = CH₃

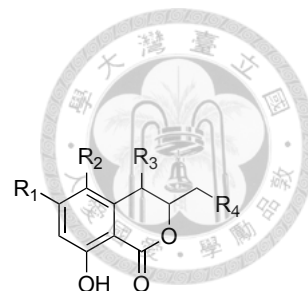
158 R = H



159 R₁ = COCH₃, R₂ = H

160 R₁ = CH₂OH, R₂ = CH₃

161 R₁ = CH(OH)CH₃, R₂ = H



162 R₁ = OCH₃, R₂ = CH₃

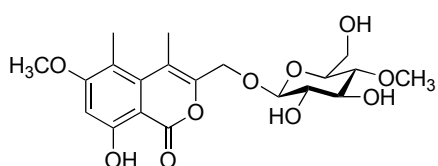
R₃ = CH₂OH, R₄ = OH

163 R₁ = R₄ = OH, R₂ = CH₃

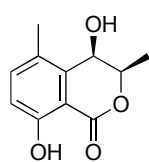
R₃ = CH₂OH

164 R₁ = R₄ = OH, R₂ = H

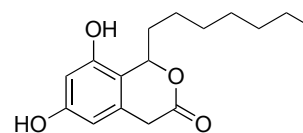
R₃ = CH₃



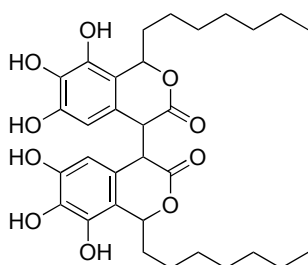
165



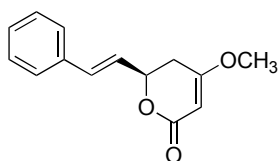
166



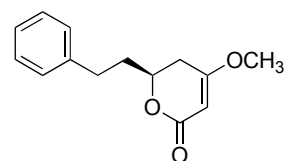
167



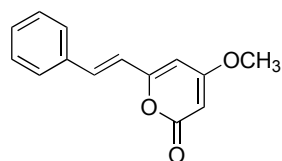
168



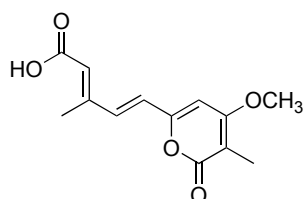
169



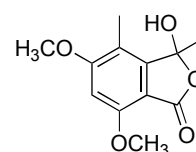
170



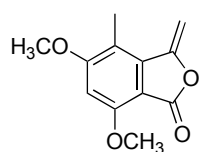
171



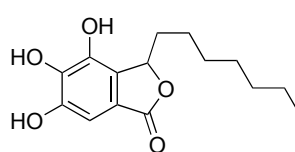
172



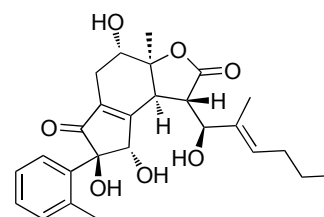
173



174

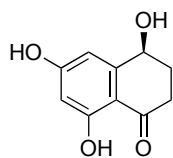


175

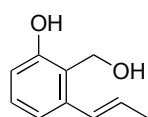


176

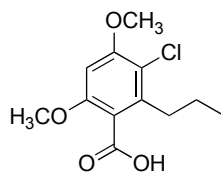
Other aromatic compounds



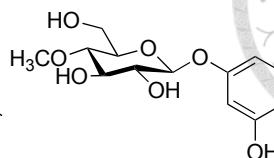
192



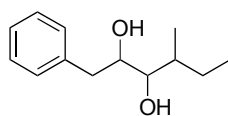
193



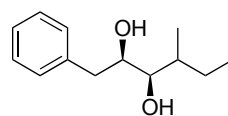
194



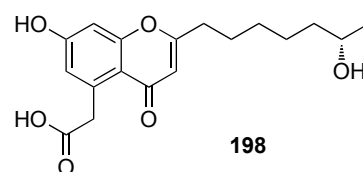
195



196

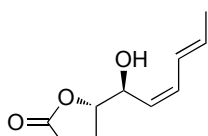


197

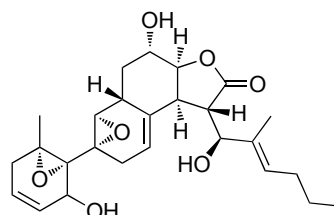


198

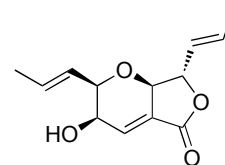
Cyclic compounds



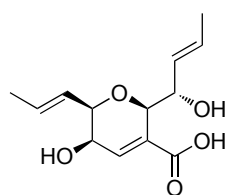
199



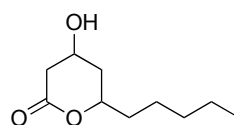
200



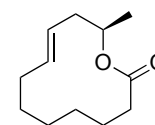
201



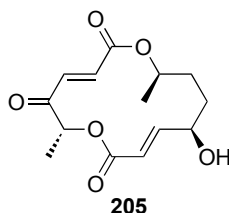
202



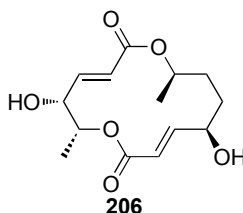
203



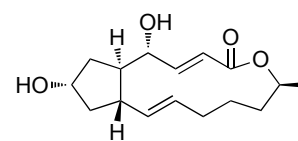
204



205

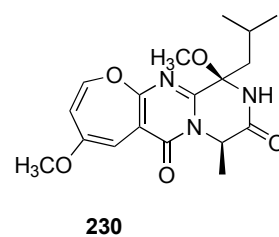
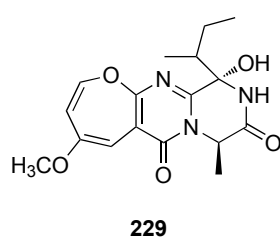
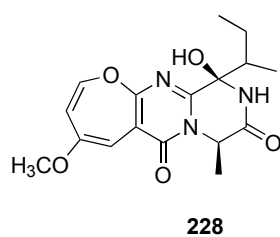
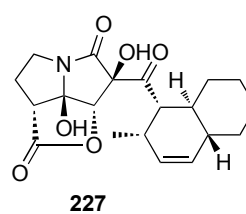
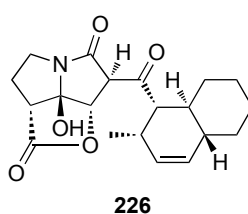
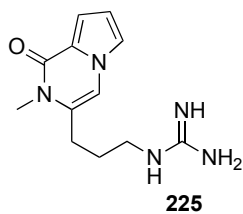
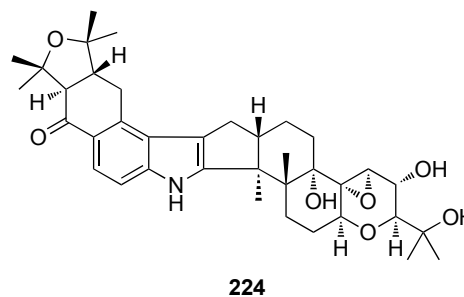
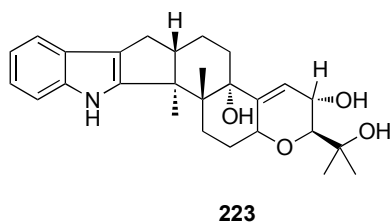
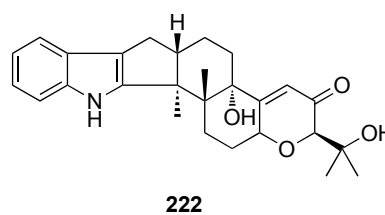
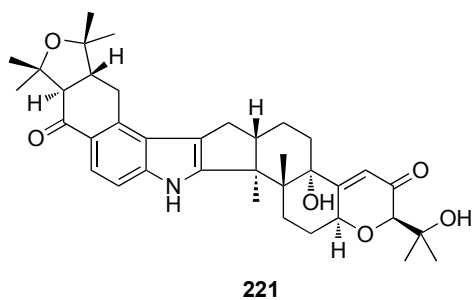
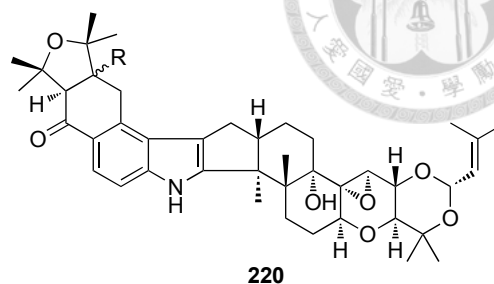
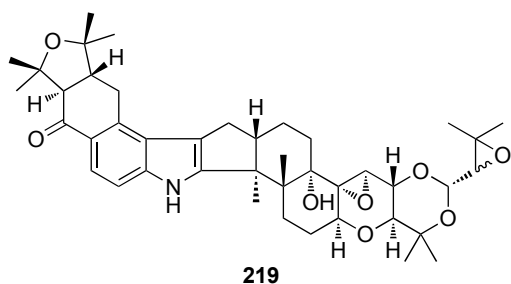


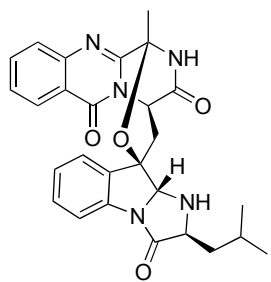
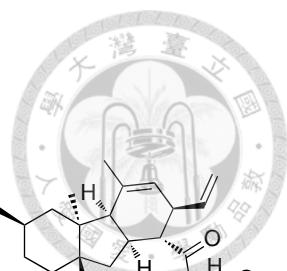
206



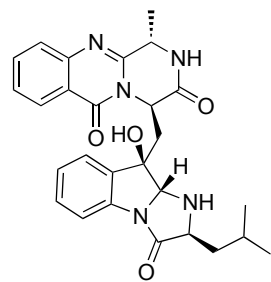
207

Alkaloids

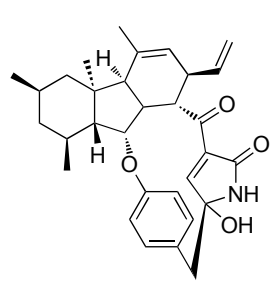




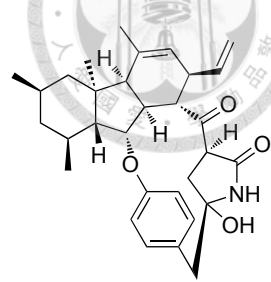
231



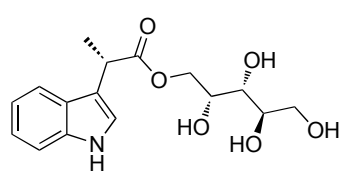
232



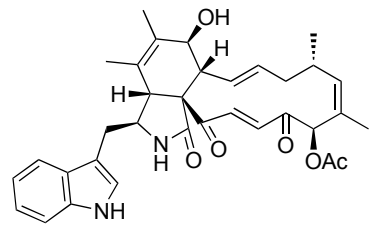
233



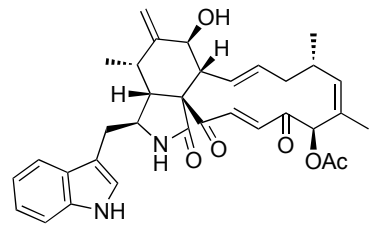
234



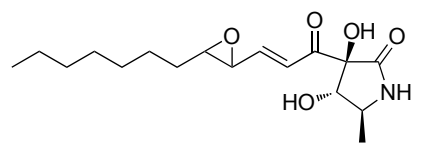
235



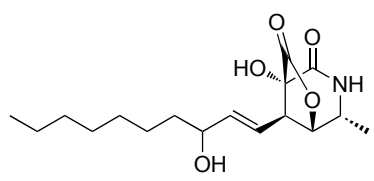
236



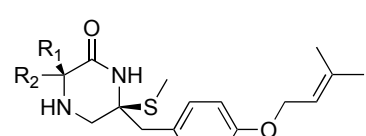
237



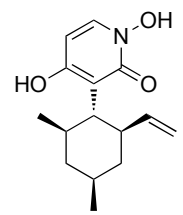
238



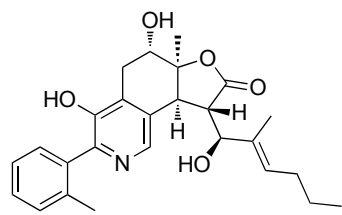
239



240 R₁ = SMe, R₂ = H
241 R₁ = H, R₂ = SMe

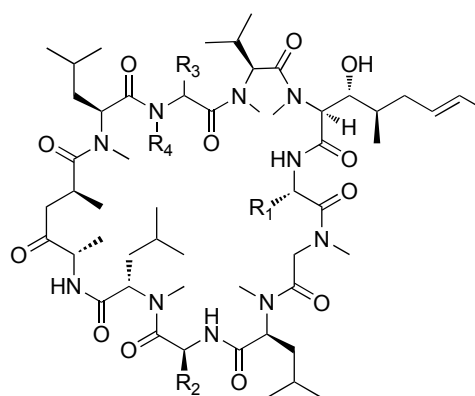
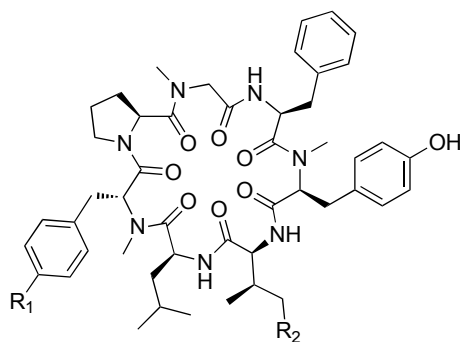
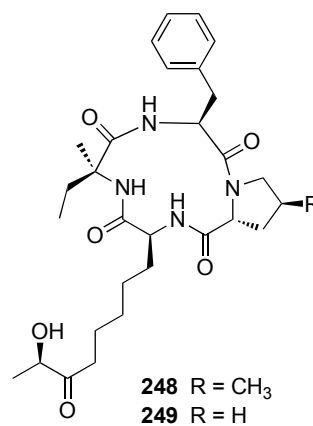
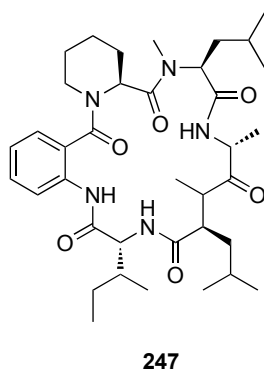
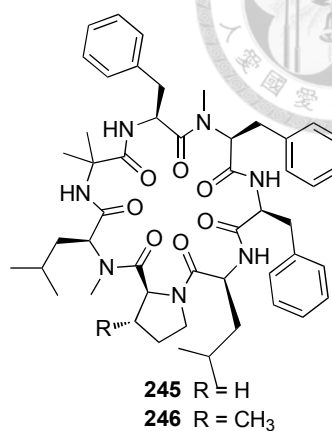
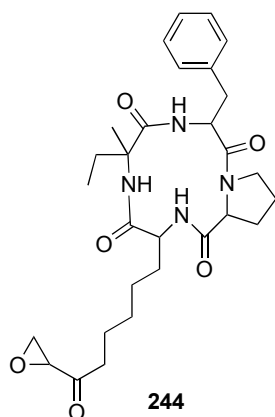


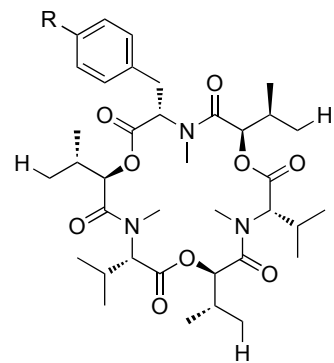
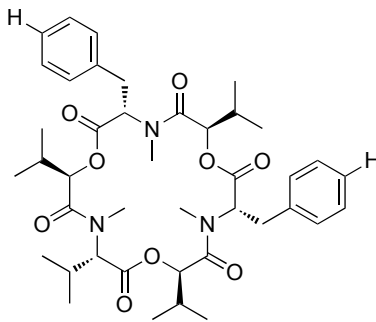
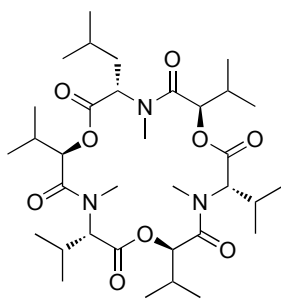
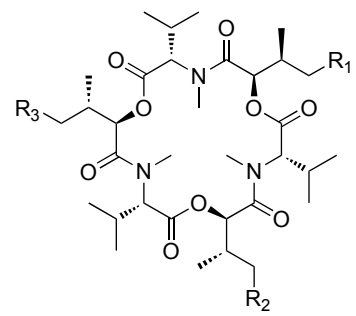
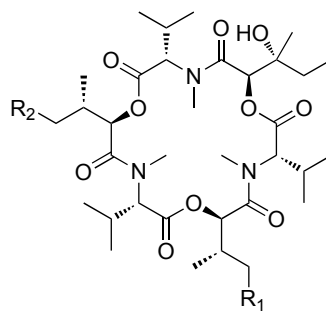
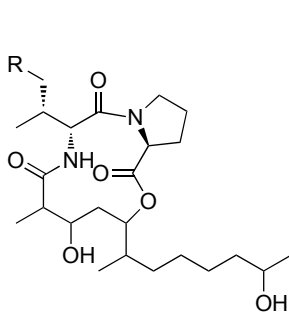
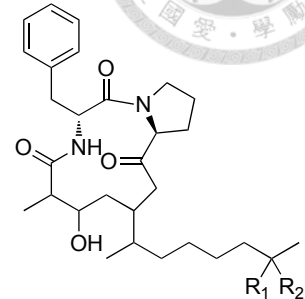
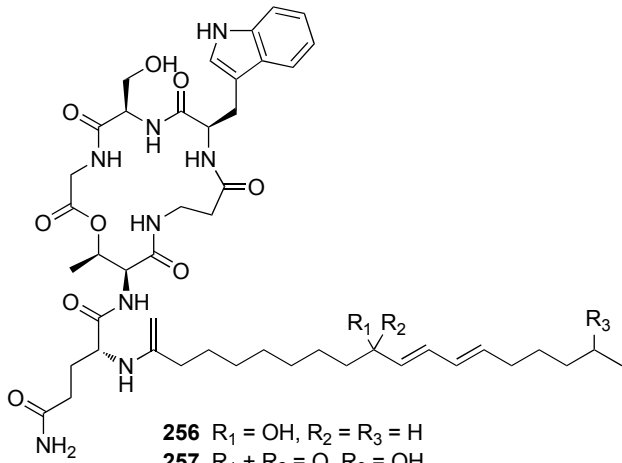
242

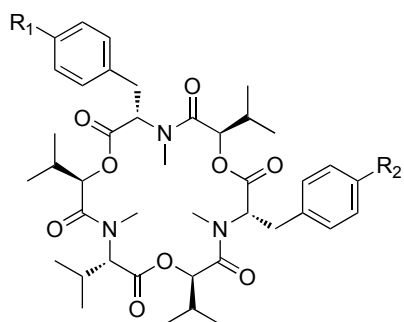
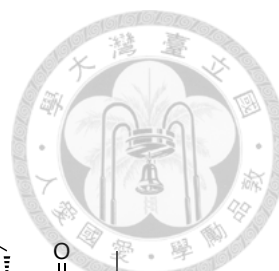


243

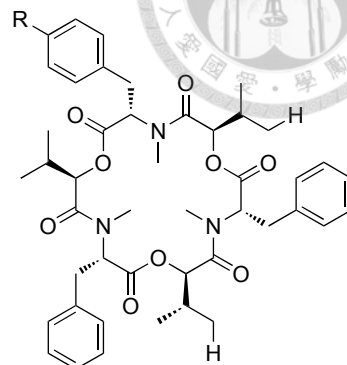
Cyclopeptides



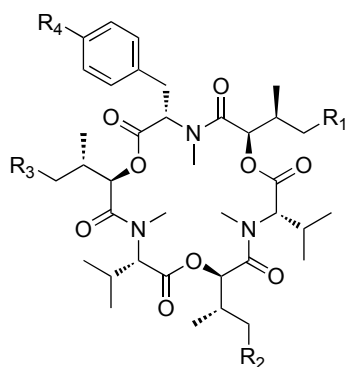




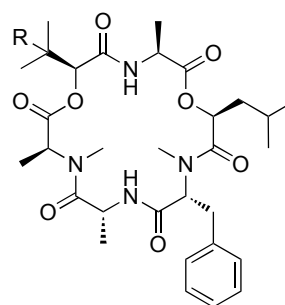
275 R₁ = H, R₂ = H
276 R₁ = OH, R₂ = H



277 R = OH
278 R = H

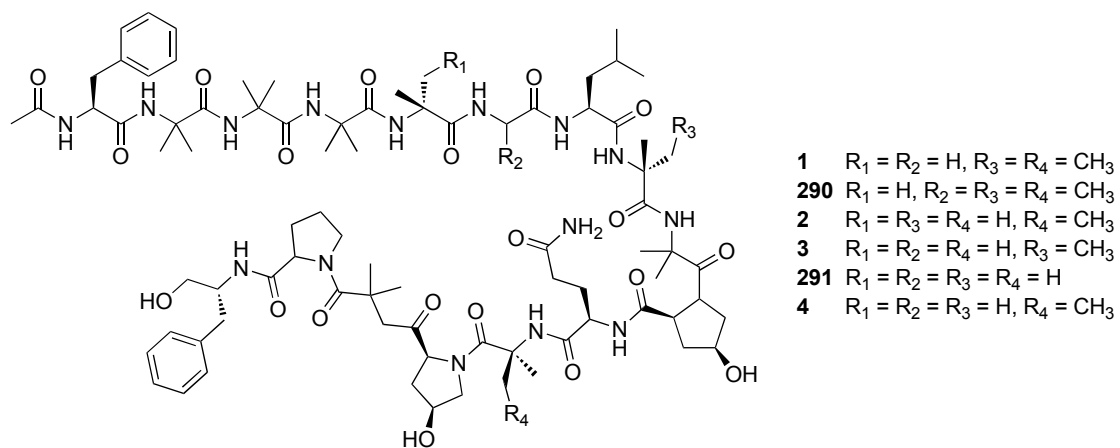
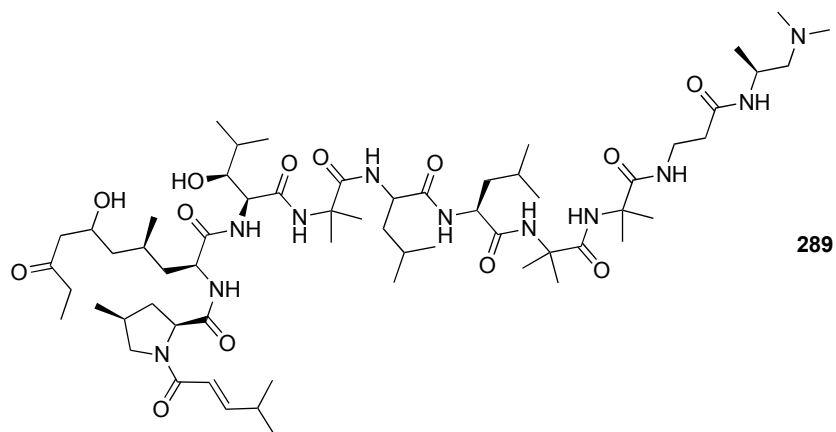
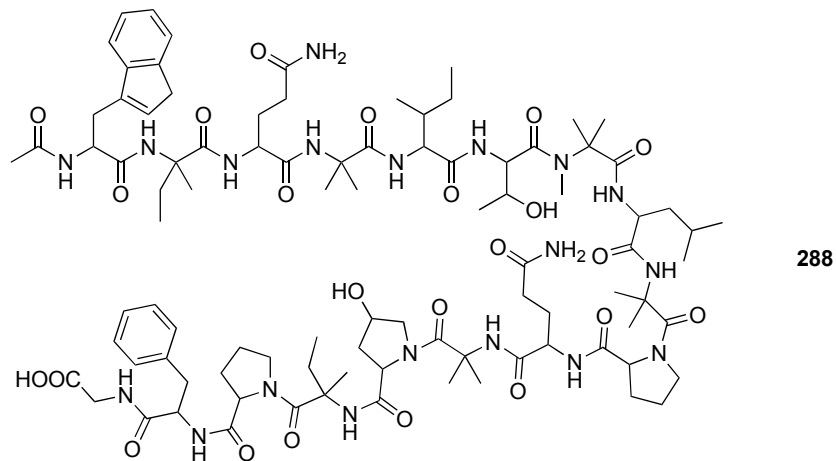


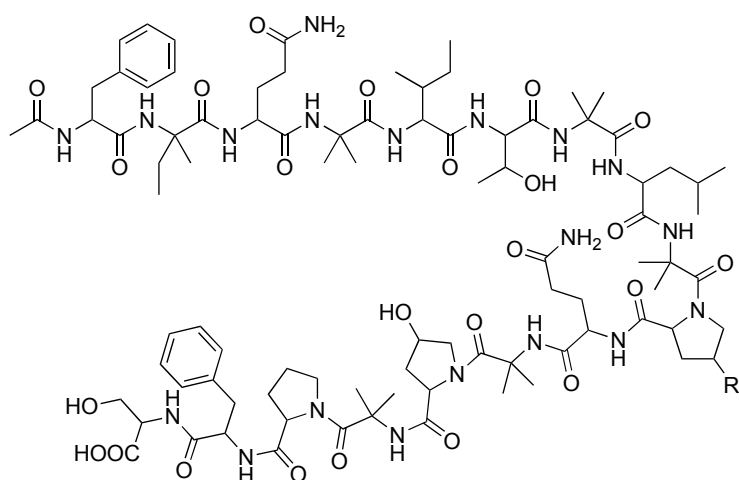
279 R₁ = R₂ = R₃ = H, R₄ = OH
280 R₁ = R₂ = R₃ = CH₃, R₄ = H
281 R₁ = R₂ = CH₃, R₃ = R₄ = H
282 R₁ = R₃ = CH₃, R₂ = R₄ = H
283 R₁ = CH₃, R₂ = R₃ = R₄ = H
284 R₁ = R₃ = R₄ = H, R₂ = CH₃
285 R₁ = R₂ = R₄ = H, R₃ = CH₃



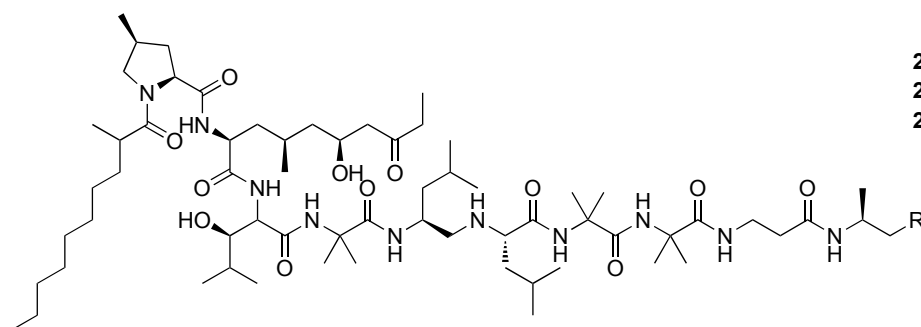
286 R = OH
287 R = H

Linear peptides

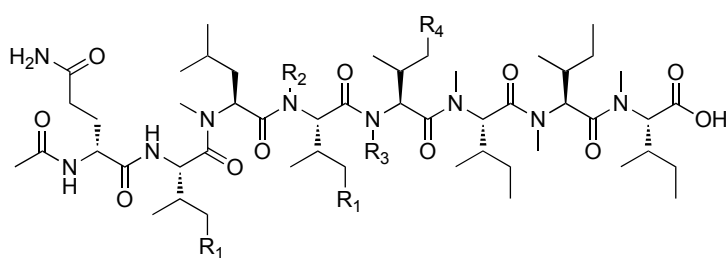




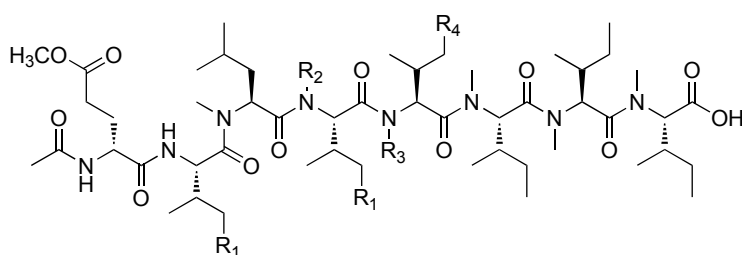
292 R = OH
293 R = H



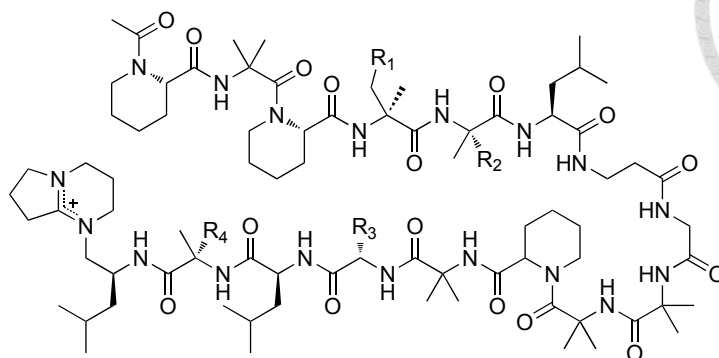
294 R = NHCH₃
295 R = N(CH₃)₂
296 R = NO(CH₃)₂



297 R₁ = R₃ = CH₃
R₂ = R₄ = H
298 R₁ = R₃ = H
R₂ = R₄ = CH₃
299 R₁ = R₂ = R₄ = H
R₃ = CH₃

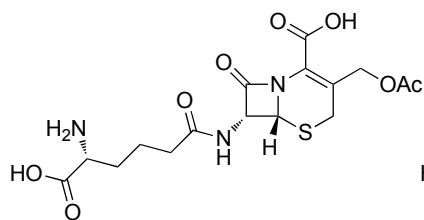


300

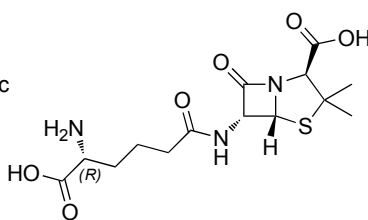


- 301** $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = \text{CH}_3$
302 $R_1 = R_2 = \text{CH}_3, R_3 = \text{H}, R_4 = \text{CH}_2\text{CH}_3$
303 $R_1 = \text{H}, R_2 = R_3 = \text{CH}_3, R_4 = \text{CH}_2\text{CH}_3$
304 $R_1 = R_2 = R_3 = \text{CH}_3, R_4 = \text{CH}_2\text{CH}_3$
305 $R_1 = R_3 = \text{CH}_3, R_2 = R_4 = \text{CH}_2\text{CH}_3$

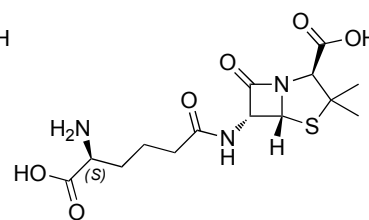
β -Lactam antibiotics and related compounds



306

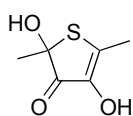


307

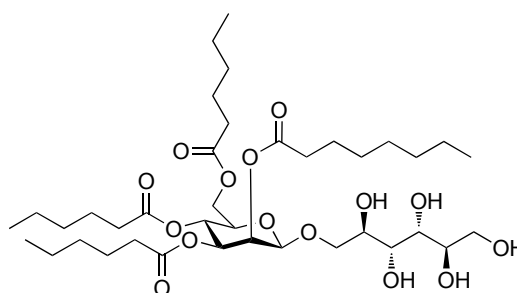


308

Miscellaneous



309



310

參、結果與討論 (Results and Discussions)



3.1 真菌培養醱酵分離流程

Acremonium tubakii NTU60 是本實驗室於 2016 年 4 月至臺灣東北角海科館附近海岸 (25°08'52.3"N 121°47'44.3"E) 進行藻體採樣，在腸石髮 (*Ulva intestinalis*) 中單離出菌株 *Acremonium tubakii* NTU60。操作上，*Acremonium tubakii* NTU60 先由保種管取出，培養在 PDA 固態培養基的培養皿中，菌絲體呈白色，生長速度緩慢，約兩星期可達直徑四公分的真菌菌落，生長較久的培養基上方會長出絲狀白色菌絲。後續液態與固態醱酵培養流程如下。

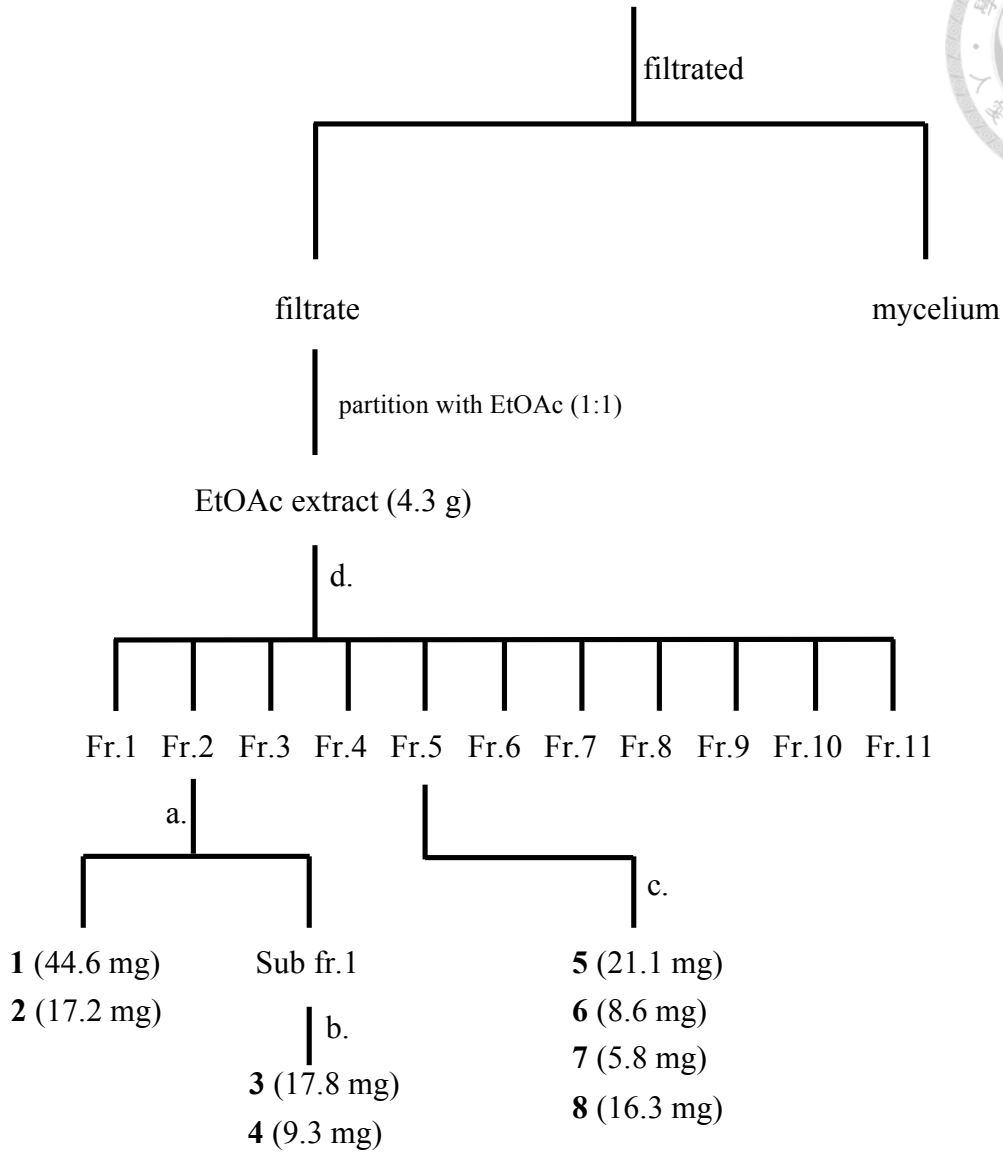
3.1.1 *Acremonium tubakii* NTU60 液態培養分離流程

將長有菌絲的洋菜膠轉殖到含有種源(表 15)的三角錐瓶進行小量液態醱酵。*Acremonium tubakii* NTU60 在液態種源培養基中形成濃稠小顆粒菌絲，最後轉入含有麥芽抽出物的 5 公升血清瓶曝氣培養 6 天，菌絲在曝氣培養環境下呈黃白色塊狀，醱酵液隨時間深褐轉為橘黃色。

培養 6 天的血清瓶移除曝氣裝置，經過抽氣過濾分成菌絲體與醱酵菌液。其中菌絲體浸泡於甲醇中萃取，而醱酵液 20 公升以乙酸乙酯進行等體積分配萃取三次後，經減壓濃縮得乙酸乙酯萃出物 4.3 公克。

如圖 3 所示。乙酸乙酯萃出物 4.3 公克以 Sephadex LH-20 分成 11 個分液，經由抑菌試驗得知 Fr. 2—Fr. 8 有抑菌活性，遂以這 7 個分液為後續純化分離目標。其中 Fr. 2 經 HPLC 純化得到化合物 1、2 和 Subfr. 1。Subfr. 1 經 HPLC 純化得到化合物 3 和 4。Fr. 5 經 HPLC 純化得到化合物 5、6、7 和 8。

The fermented broth of *Acremonium tubakii* NTU60 (20 L)



- a. RP-HPLC, Thermo Hpersil HS C₁₈, 5 μ , 10 \times 250 mm, 60% ACN
- b. RP-HPLC, Thermo Hpersil HS C₁₈, 5 μ , 10 \times 250 mm, 75% MeOH
- c. RP-HPLC, Phenomenex Luna PFP, 5 μ , 10 \times 250 mm, 45% ACN + 0.03% Trifluoroacetic acid
- d. CC, Sephadex LH-20, MeOH

圖 3、*Acremonium tubakii* NTU60 培養液分離流程圖。

3.1.2 *Acremonium tubakii* NTU60 固態培養分離流程



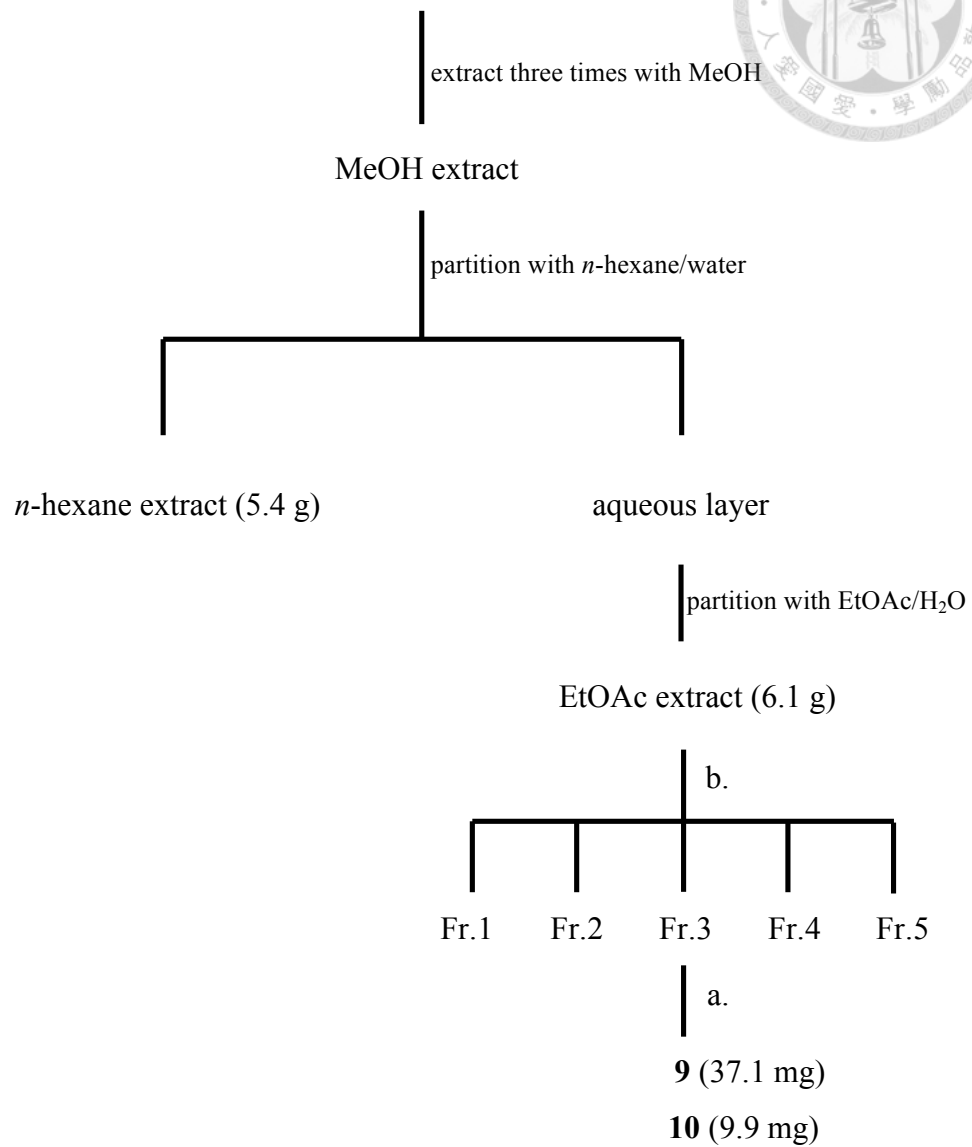
將長有菌絲的洋菜膠轉殖到含有種源(表 15)的三角錐瓶進行小量液態醱酵。

Acremonium tubakii NTU60 在液態種源培養基中形成濃稠小顆粒菌絲，接著轉入裝有糙米的三角錐瓶內避光培養 21 天。

使用甲醇對長有菌絲的糙米團塊進行萃取三次，將甲醇萃取液經減壓濃縮後，以 *n*-hexane 及 H₂O (1:1, v:v) 進行分配萃取，經減壓濃縮後得到正己烷萃取物 5.4 公克；將水層再與 EtOAc (1:1, v:v) 進行分配萃取，經減壓濃縮後得到乙酸乙酯萃取物 6.1 公克。

如圖 4 所示。乙酸乙酯粗萃物 6.1 公克以二氯甲烷 (dichloromethane) 與甲醇進行梯度沖提經由 silica gel 60 管柱層析分成 30 個分液，透過薄層層析法 (thin layer chromatography) 的分析結果合併為 5 個分液。其中 Fr. 3 經 HPLC 純化得到化合物 9 和 10。

Solid-state fermented brown rice of *Acremonium tubakii* NTU60 (900 g)



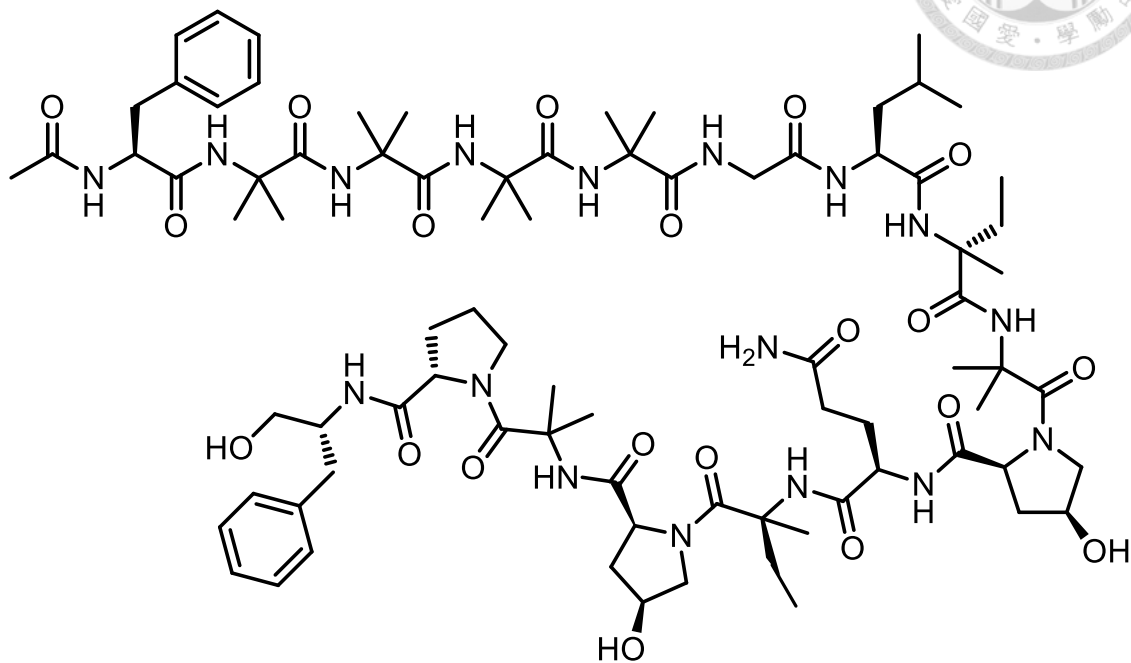
- a. RP-HPLC, Phenomenex Luna PFP, 5 μ , 10 \times 250 mm, 45% ACN + 0.03% Trifluoroacetic acid
- b. CC, Siliga gel 60, Dichloromethane to MeOH

圖 4、*Acremonium tubakii* NTU60 固態發酵分離流程圖。

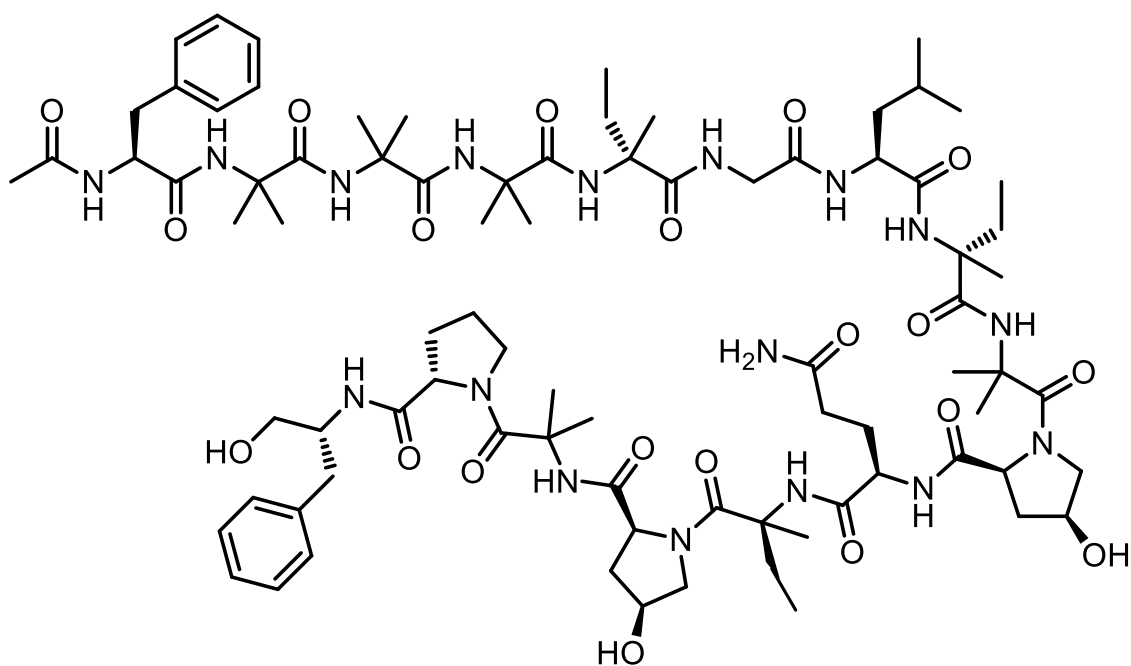


3.2 化合物 1-10 結構分類

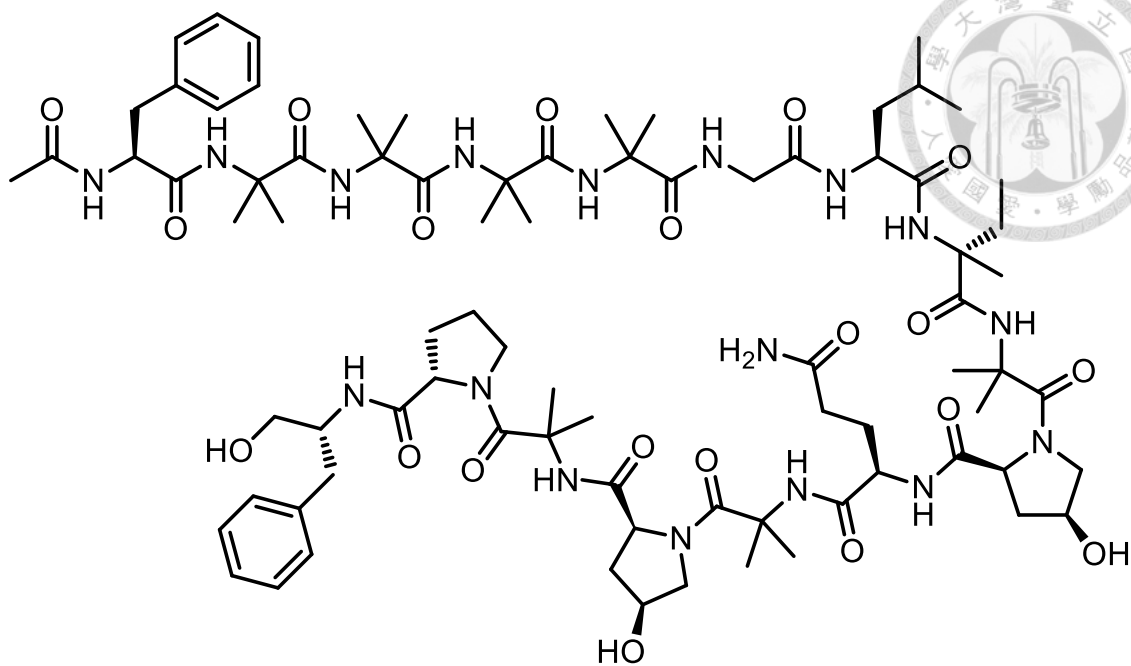
Linear peptides:



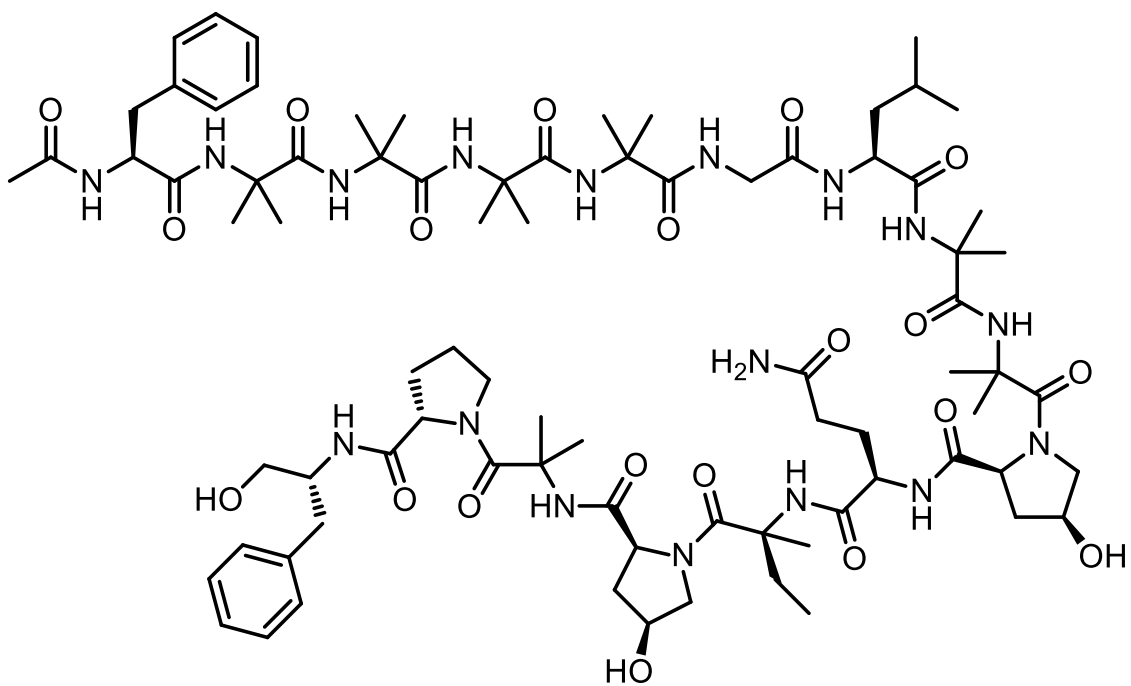
Cephaibol A (1)



Cephaibol B (2)

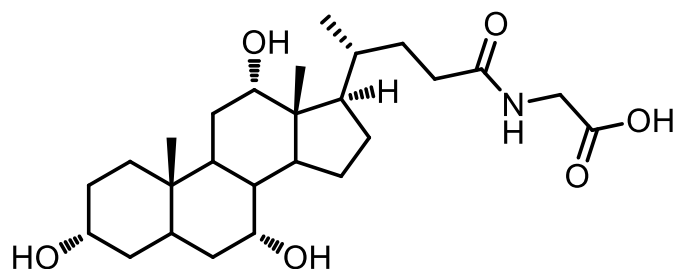


Cephaibol C (3)

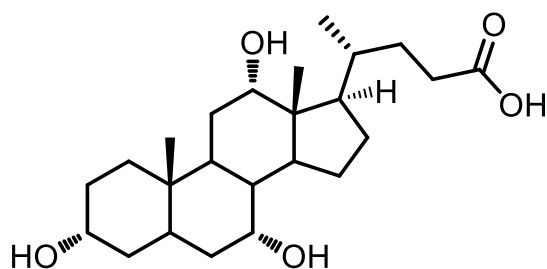


Cephaibol E (4)

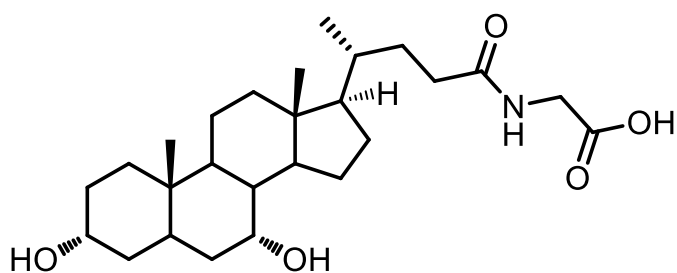
Steroids:



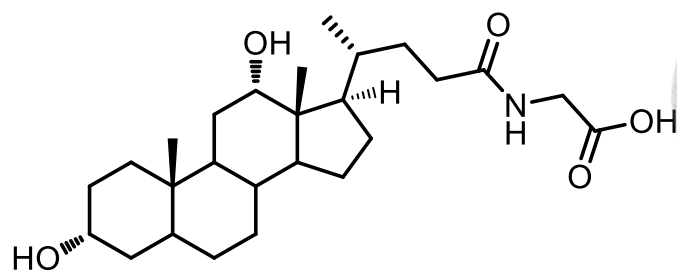
Glycocholic acid (5)



Cholic acid (6)



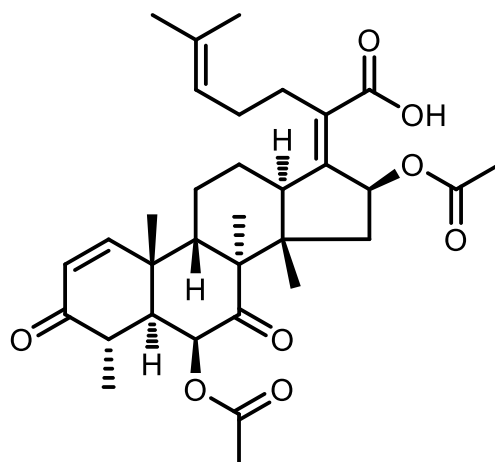
Glycochenodeoxycholate (7)



Glycodeoxycholsaeure (8)

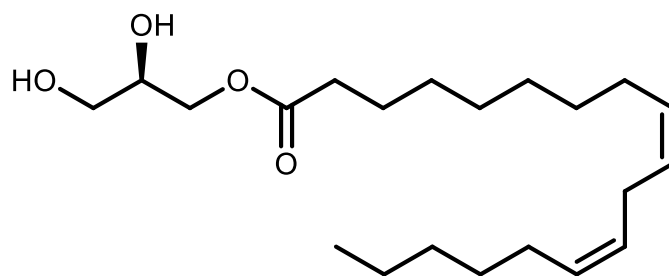


Triterpenoid:



Helvolic acid (9)

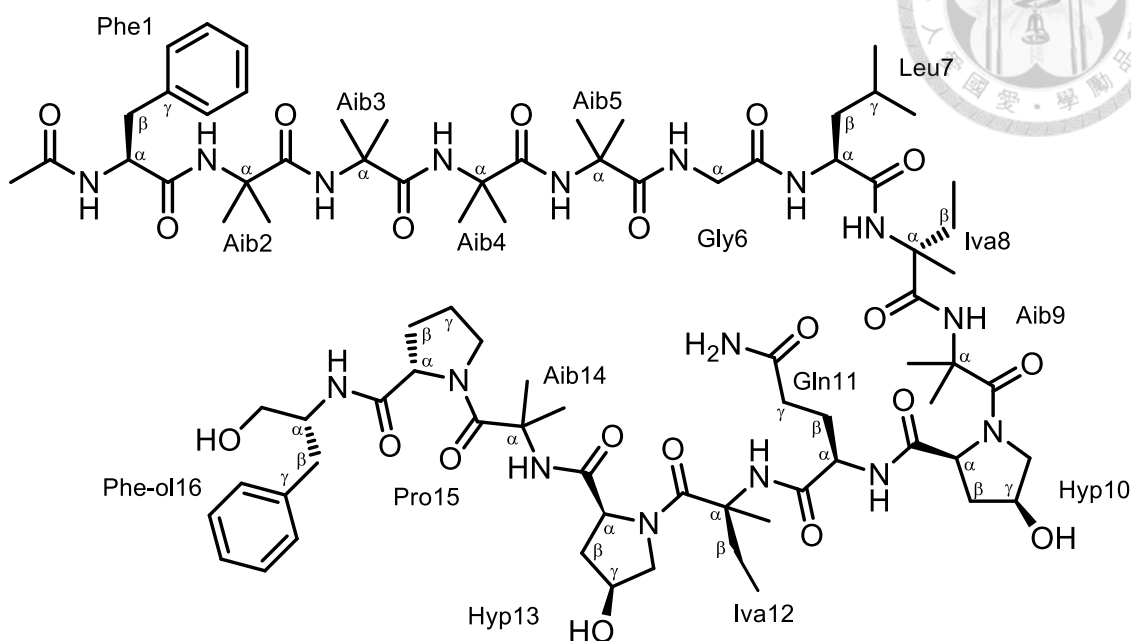
Lipid:



1-Linoleoyl glycerol (10)



3.2.1 Cephaibol A (1) 之結構解析



Aib = α -aminoisobutyric acid, Iva = isovaline

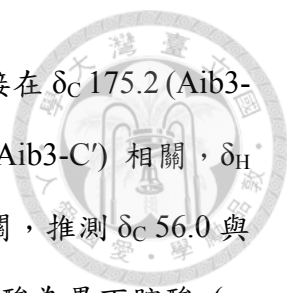
化合物 **1** 為白色粉末，比旋光度 $[\alpha]_D^{28} = +1.5$ (c 0.1, MeOH)，高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其 $[M + Na]^+$ 離子峰 m/z 1692.9333 (calcd for $C_{82}H_{127}N_{17}O_{20}Na$, 1692.9341)，推測分子式為 $C_{82}H_{127}N_{17}O_{20}$ (圖 5)。紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 (3284 cm^{-1}) 及雙鍵 (1646 cm^{-1}) 等官能基的存在 (圖 6)。

氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 600 MHz) (圖 7) 配合 HSQC (圖 9) 解析，在較高場區之訊號 δ_H 0.85 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, Leu7- H_δ) 和 0.91 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, Leu7- H_δ') 為兩組互相耦合之甲基 (methyl) 質子訊號； δ_H 0.72 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, Iva8- $H_{\gamma Me}$) 及 δ_H 0.73 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, Iva12- $H_{\gamma Me}$) 推測為甲基 (methyl) 質子訊號。

碳譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 150 MHz) (圖 8) 顯示化合物 **1** 總共有 82 個碳，其中 δ_C 180.0 ~ 170.0 有 16 個酰胺羰基 (amide carbonyl) 訊號，同時在 δ_C 60.0—40.0 區域有相對應的 C_α 的訊號，推測化合物 **1** 為多肽 (polypeptide) 結構。在 δ_C 140.0 ~ 125.0 的區域內有 δ_C 137.5 (Phe1- C_γ)、129.3 (Phe1- C_δ)、128.2 (Phe1- C_ϵ)、

126.5 (Phe1-C_ξ) 與 δ_C 139.6 (Phe16-C_γ)、129.5 (Phe16-C_δ)、128.2 (Phe16-C_ε)、125.8 (Phe16-C_ξ) 共兩組苯環的訊號。

由 HMBC (圖 11) 實驗中顯示 δ_H 0.91 (Leu7-H_δ) 與 δ_C 21.7 (Leu7-C_{δ'})、δ_C 24.2 (Leu7-C_γ)、δ_C 39.5 (Leu7-C_β) 相關, δ_H 0.85 (Leu7-H_{δ'}) 與 δ_C 22.8 (Leu7-C_δ)、δ_C 24.2 (Leu7-C_γ)、δ_C 39.5 (Leu7-C_β) 相關, 配合 COSY (圖 10) 實驗 δ_H 0.91 (Leu7-H_δ) 與 δ_H 1.69 (Leu7-H_γ) 相關, δ_H 0.85 (Leu7-H_{δ'}) 與 δ_H 1.69 (Leu7-H_γ) 相關而推測 δ_C 22.8 (Leu7-C_δ) 和 δ_C 21.7 (Leu7-C_{δ'}) 接在 δ_C 24.2 (Leu7-C_γ) 上。δ_H 1.69 (Leu7-H_γ) 與 δ_H 1.52 (Leu7-H_β) 相關, 推測 δ_C 24.2 (Leu7-C_γ) 接在 δ_C 39.5 (Leu7-C_β) 上。δ_H 1.52 (Leu7-H_β) 與 δ_H 4.02 (Leu7-H_α) 相關, δ_H 4.02 (Leu7-H_α) 與 δ_H 7.74 (Leu7-NH) 相關, 而 HMBC 實驗顯示 δ_H 1.52 (Leu7-H_β) 與 δ_C 53.3 (Leu7-C_α)、δ_C 24.2 (Leu7-C_γ)、δ_C 171.8 (Leu7-C') 相關, 推測 δ_C 39.5 (Leu7-C_β) 接在 δ_C 53.3 (Leu7-C_α) 上, 羰基 (carbonyl) 在 δ_C 171.8 (Leu7-C'), 胺基 (amine) 在 δ_H 7.74 (Leu7-NH), 經比對得知此胺基酸為白胺酸 (Leucine)。δ_H 7.74 (Leu7-NH) 與 δ_C 170.9 (Gly6-C') 相關, δ_H 3.72 (Gly6-H_α) 與 δ_C 170.9 (Gly6-C') 相關, 配合 COSY 實驗顯示 δ_H 7.99 (Gly6-NH) 與 δ_H 3.72 (Gly6-H_α) 相關, 經比對得知此胺基酸為甘胺酸 (Glycine)。δ_H 7.99 (Gly6-NH) 與 δ_C 175.8 (Aib5-C') 相關, 推測 δ_H 7.99 (Gly6-NH) 接在 δ_C 175.8 (Aib5-C') 上。δ_H 1.40 (Aib5-H_{βMe1}) 與 δ_C 56.0 (Aib5-C_α)、δ_C 175.8 (Aib5-C') 相關, δ_H 1.37 (Aib5-H_{βMe2}) 與 δ_C 56.0 (Aib5-C_α)、δ_C 175.8 (Aib5-C') 相關, 推測 δ_C 56.0 與 δ_C 24.9、δ_C 24.5 和 δ_C 175.8 的連接關係, 經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α-aminoisobutyric acid), 胺基 (amine) 在 δ_H 7.58 (Aib5-NH) 上, 與 δ_C 56.0 (Aib5-C_α) 相關。δ_H 7.58 (Aib5-NH) 與 δ_C 175.8 (Aib4-C') 相關, 推測 δ_H 7.58 (Aib5-NH) 接在 δ_C 175.8 (Aib4-C') 上; δ_H 1.37 (Aib4-H_{βMe1}) 與 δ_C 55.9 (Aib4-C_α)、δ_C 175.8 (Aib4-C') 相關, δ_H 1.38 (Aib4-H_{βMe2}) 與 δ_C 55.9 (Aib4-C_α)、δ_C 175.8 (Aib4-C') 相關, 推測 δ_C 55.9 與 δ_C 24.8、δ_C 25.0 和 δ_C 175.8 的連接關係, 經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α-aminoisobutyric acid), 胺基 (amine) 在 δ_H 7.64 (Aib4-NH) 上, 與 δ_C 55.9 (Aib4-C_α) 相關。δ_H 7.64



(Aib4-NH) 與 δ_C 175.2 (Aib3-C') 相關, 推測 δ_H 7.64 (Aib4-NH) 接在 δ_C 175.2 (Aib3-C') 上; δ_H 1.28 (Aib3-H $_{\beta Me1}$) 與 δ_C 56.0 (Aib3-C $_{\alpha}$) 和 δ_C 175.2 (Aib3-C') 相關, δ_H 1.37 (Aib3-H $_{\beta Me2}$) 與 δ_C 56.0 (Aib3-C $_{\alpha}$) 和 δ_C 175.2 (Aib3-C') 相關, 推測 δ_C 56.0 與 δ_C 24.2、 δ_C 24.7 和 δ_C 175.2 的連接關係, 經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid), 胺基 (amine) 在 δ_H 7.69 (Aib3-NH) 上, 與 δ_C 56.0 (Aib3-C $_{\alpha}$) 相關。 δ_H 7.69 (Aib3-NH) 與 δ_C 175.1 (Aib2-C') 相關, 推測 δ_H 7.69 (Aib3-NH) 接在 δ_C 175.1 (Aib2-C') 上; δ_H 1.28 (Aib2-H $_{\beta Me1}$) 與 δ_C 55.9 (Aib2-C $_{\alpha}$) 和 δ_C 175.1 (Aib2-C') 相關, δ_H 1.27 (Aib2-H $_{\beta Me2}$) 與 δ_C 55.9 (Aib2-C $_{\alpha}$) 和 δ_C 175.1 (Aib2-C') 相關, 推測 δ_C 55.9 與 δ_C 23.6、 δ_C 25.4 和 δ_C 175.1 的連接關係, 經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid), 胺基 (amine) 在 δ_H 8.65 (Aib2-NH) 上, 與 δ_C 55.9 (Aib2-C $_{\alpha}$) 相關。 δ_H 8.65 (Aib2-NH) 與 δ_C 172.5 (Phe1-C') 相關, 推測 δ_H 8.65 (Aib2-NH) 接在 δ_C 172.5 (Phe1-C') 上。 δ_H 2.83 (Phe1-H $_{\beta}$) 與 δ_C 55.3 (Phe1-C $_{\alpha}$)、 δ_C 137.5 (Phe1-C $_{\gamma}$) 和 δ_C 129.3 (Phe1-C $_{\delta}$) 相關; δ_H 4.33 (Phe1-H $_{\alpha}$) 與 δ_C 36.5 (Phe1-C $_{\beta}$)、 δ_C 137.5 (Phe1-C $_{\gamma}$) 和 δ_C 172.5 (Phe1-C') 相關, 配合 COSY 實驗顯示 δ_H 4.33 (Phe1-H $_{\alpha}$) 與 δ_H 2.83 (Phe1-H $_{\beta}$) 和 δ_H 8.34 (Phe1-NH) 相關, 推測 δ_C 55.3 (Phe1-C $_{\alpha}$) 與 δ_C 36.5 (Phe1-C $_{\beta}$) 和 δ_C 137.5 (Phe1-C $_{\gamma}$) 有連接關係, δ_C 137.5 (Phe1-C $_{\gamma}$) 與 δ_C 129.3 (Phe1-C $_{\delta}$)、 δ_C 128.2 (Phe1-C $_{\epsilon}$) 和 δ_C 126.5 (Phe1-C $_{\xi}$) 為相連的苯環質子訊號, 經比對得知此胺基酸為苯丙胺酸 (Phenylalanine), 胺基 (amine) 在 δ_H 8.34 (Phe1-NH) 上, 與 δ_C 55.3 (Phe1-C $_{\alpha}$) 相關。 δ_H 8.34 (Phe1-NH) 與 δ_C 170.5 (Ac-C') 相關, δ_H 1.83 (Ac-H $_{Me}$) 與 δ_C 170.5 (Ac-C') 相關, 此官能基為乙醯基 (acetyl), 與苯丙胺酸 (Phenylalanine) 相連。目前能推測化合物片段含七個胺基酸組成: Ac-Phe-Aib-Aib-Aib-Aib-Gly-Leu。

根據 HMBC 實驗顯示甲基 (methyl) δ_H 0.73 (Iva8-H $_{\gamma Me}$) 與 δ_C 27.7 (Iva8-C $_{\beta}$)、 δ_C 59.5 (Iva8-C $_{\alpha}$) 相關, δ_H 1.26 (Iva8-H $_{\beta Me}$) 與 δ_C 27.7 (Iva8-C $_{\beta}$)、 δ_C 59.5 (Iva8-C $_{\alpha}$) 相關, 推測 δ_C 7.4 (Iva8-C $_{\gamma Me}$) 與 δ_C 27.7 (Iva8-C $_{\beta}$)、 δ_C 59.5 (Iva8-C $_{\alpha}$) 和 δ_C 22.1 (Iva8-

$C_{\beta Me}$) 有連接關係，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 0.73 (Iva8- $H_{\gamma Me}$) 與 δ_H 1.67 (Iva8- H_{β}) 相關，推測 δ_C 7.4 (Iva8- $C_{\gamma Me}$) 接在 δ_C 27.7 (Iva8- C_{β}) 上，經比對得知此胺基酸為異纈胺酸 (Isovaline)，羰基在 δ_C 176.2 (Iva8- C')。 δ_H 7.58 (Aib9-NH) 與 δ_C 176.2 (Iva8- C') 和 δ_C 56.3 (Aib9- C_{α}) 相關，推測 δ_H 7.58 (Aib9-NH) 接在 δ_C 176.2 (Iva8- C') 上。 δ_H 1.48 (Aib9- $H_{\beta Me1}$) 與 δ_C 56.3 (Aib9- C_{α}) 和 δ_C 173.6 (Aib9- C') 相關， δ_H 1.38 (Aib9- $H_{\beta Me2}$) 與 δ_C 56.3 (Aib9- C_{α}) 和 δ_C 173.6 (Aib9- C') 相關，推測 δ_C 56.3 與 δ_C 23.3、 δ_C 25.8 和 δ_C 173.6 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_H 7.58 (Aib9-NH) 上。此胺基酸片段為：Iva-Aib。

COSY 實驗顯示 δ_H 4.38 (Hyp10- H_{α}) 與 δ_H 2.16 (Hyp10- H_{β})、 δ_H 4.29 (Hyp10- H_{γ})、 δ_H 3.74 (Hyp10- H_{δ}) 和 δ_H 5.17 (Hyp10-OH) 相關，配合 HMBC 實驗顯示 δ_H 3.74 (Hyp10- H_{δ}) 與 δ_C 69.1 (Hyp10- C_{γ}) 相關； δ_H 2.16 (Hyp10- H_{β}) 與 δ_C 69.1 (Hyp10- C_{γ})、 δ_C 61.1 (Hyp10- C_{α}) 相關，推測 δ_C 61.1 (Hyp10- C_{α}) 與 δ_C 36.9 (Hyp10- C_{β})、 δ_C 69.1 (Hyp10- C_{γ}) 和 δ_C 56.2 (Hyp10- C_{δ}) 有連接關係， δ_C 56.2 (Hyp10- C_{δ}) 旁邊可能接有異原子，同時 HMBC 實驗顯示 δ_H 4.38 (Hyp10- H_{α}) 與 δ_C 171.9 (Hyp10- C') 相關，經比對得知此胺基酸為羥脯胺酸 (Hydroxyproline)。 δ_H 7.89 (Gln11-NH) 與 δ_C 171.9 (Hyp10- C') 和 δ_C 52.5 (Gln11- C_{α}) 相關，推測 δ_H 7.89 (Gln11-NH) 接在 δ_C 171.9 (Hyp10- C') 上； δ_H 4.16 (Gln11- H_{α}) 與 δ_C 172.2 (Gln11- C') 相關； δ_H 2.08 (Gln11- H_{γ}) 與 δ_C 52.5 (Gln11- C_{α})、 δ_C 26.8 (Gln11- C_{β}) 和 δ_C 173.3 (Gln11- C_{δ}) 相關； δ_H 6.72 (Gln11- NH_2) 與 δ_H 2.08 (Gln11- H_{γ}) 相關，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 7.89 (Gln11-NH) 與 δ_H 4.16 (Gln11- H_{α})、 δ_H 1.86 (Gln11- H_{β}) 和 δ_H 2.08 (Gln11- H_{γ}) 相關，推測 δ_C 52.5 (Gln11- C_{α}) 與 δ_C 26.8 (Gln11- C_{β})、 δ_C 31.6 (Gln11- C_{γ}) 與 δ_C 173.3 (Gln11- C_{δ}) 的連接關係，經比對得知此胺基酸為麩醯胺酸 (Glutamine)，羰基 (carbonyl) 在 δ_C 172.2 (Gln11- C') 上。 δ_H 7.46 (Iva12-NH) 與 δ_C 172.2 (Gln11- C') 相關，推測 δ_H 7.46 (Iva12-NH) 接在 δ_C 172.2 (Gln11- C') 上；根據 HMBC 實驗顯示甲基 (methyl) δ_H 0.73 (Iva12- $H_{\gamma Me}$) 與 δ_C 28.1 (Iva12- C_{β})、 δ_C 58.6 (Iva12- C_{α}) 相關， δ_H 1.41 (Iva12- $H_{\beta Me}$) 與 δ_C 28.1

(Iva12-C β)、 δ_C 58.6 (Iva12-C α) 相關，推測 δ_C 7.1 (Iva12-C γ Me) 與 δ_C 28.1 (Iva12-C β)、 δ_C 58.6 (Iva12-C α) 和 δ_C 20.5 (Iva12-C β Me) 有連接關係，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 0.73 (Iva12-H γ Me) 與 δ_H 1.78 (Iva12-H β) 相關，推測 δ_C 7.1 (Iva12-C γ Me) 接在 δ_C 28.1 (Iva12-C β) 上，經比對得知此胺基酸為異纈胺酸 (Isovaline)，羰基在 δ_C 172.9 (Iva12-C')。此胺基酸片段為：Hyp-Gln-Iva。

COSY 實驗顯示 δ_H 4.52 (Hyp13-H α) 與 δ_H 1.68 (Hyp13-H β)、 δ_H 4.21 (Hyp13-H γ)、 δ_H 3.38 (Hyp13-H δ) 和 δ_H 5.14 (Hyp13-OH) 相關，配合 HMBC 實驗顯示 δ_H 3.38 (Hyp13-H δ) 與 δ_C 69.2 (Hyp13-C γ) 相關； δ_H 1.68 (Hyp13-H β) 與 δ_C 69.2 (Hyp13-C γ)、 δ_C 60.7 (Hyp13-C α) 相關，推測 δ_C 60.7 (Hyp13-C α) 與 δ_C 37.5 (Hyp13-C β)、 δ_C 69.2 (Hyp13-C γ) 和 δ_C 56.6 (Hyp13-C δ) 有連接關係， δ_C 56.6 (Hyp13-C δ) 旁邊可能接有異原子，同時 HMBC 實驗顯示 δ_H 4.52 (Hyp13-H α) 與 δ_C 173.0 (Hyp13-C') 相關，經比對得知此胺基酸為羥脯胺酸 (Hydroxyproline)。 δ_H 7.94 (Aib14-NH) 與 δ_C 173.0 (Hyp13-C') 和 δ_C 55.8 (Aib14-C α) 相關，推測 δ_H 7.94 (Aib14-NH) 接在 δ_C 173.0 (Hyp13-C') 上； δ_H 1.39 (Aib14-H β Me1) 與 δ_C 55.8 (Aib14-C α)、 δ_C 171.9 (Aib14-C') 相關， δ_H 1.33 (Aib14-H β Me2) 與 δ_C 55.8 (Aib14-C α)、 δ_C 171.9 (Aib14-C') 相關，推測 δ_C 55.8 與 δ_C 23.6、 δ_C 25.8 和 δ_C 171.9 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，羰基 (carbonyl) 在 δ_C 171.9 (Aib14-C') 上，與 δ_C 55.8 (Aib14-C α) 相關。此胺基酸片段為：Hyp-Aib。

COSY 實驗顯示 δ_H 4.13 (Pro15-H α) 與 δ_H 1.14 (Pro15-H β)、 δ_H 1.50 (Pro15-H γ) 和 δ_H 3.49 (Pro15-H δ) 相關，配合 HMBC 實驗顯示 δ_H 1.50 (Pro15-H γ) 與 δ_C 47.5 (Pro15-C δ)、 δ_C 28.5 (Pro15-C β) 相關； δ_H 1.14 (Pro15-H β) 與 δ_C 24.9 (Pro15-C γ)、 δ_C 61.9 (Pro15-C α) 相關，推測 δ_C 61.9 (Pro15-C α) 與 δ_C 28.5 (Pro15-C β)、 δ_C 24.9 (Pro15-C γ) 和 δ_C 47.5 (Pro15-C δ) 有連接關係， δ_C 47.5 (Pro15-C δ) 旁邊可能接有異原子，同時 HMBC 實驗顯示 δ_H 4.13 (Pro15-H α) 與 δ_C 170.9 (Pro15-C') 相關，經比對得知此胺基酸為脯胺酸 (Proline)。 δ_H 7.16 (Phe16-NH) 與 δ_C 170.9 (Pro15-C') 和 δ_C 52.8

(Phe16-C_α) 相關，推測 δ_H 7.16 (Phe16-NH) 接在 δ_C 170.9 (Pro15-C') 上；δ_H 2.99 (Phe16-H_β) 與 δ_C 52.8 (Phe16-C_α)、δ_C 139.6 (Phe16-C_γ) 和 δ_C 129.5 (Phe16-C_δ) 相關；δ_H 7.13 (Phe16-H_ε) 與 δ_C 128.1 (Phe16-C_ε) 和 δ_C 129.5 (Phe16-C_δ) 相關，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 7.16 (Phe16-NH) 與 δ_H 3.83 (Phe16-H_α)、δ_H 2.99 (Phe16-H_β)、δ_H 3.24 (Phe16-CH₂) 與 δ_H 4.53 (Phe16-OH) 相關，推測 δ_C 52.8 (Phe16-C_α) 與 δ_C 36.5 (Phe16-C_β) 和 δ_C 139.6 (Phe16-C_γ) 和 δ_C 63.5 (Phe16-CH₂) 有連接關係，δ_C 139.6 (Phe16-C_γ) 與 δ_C 129.5 (Phe16-C_δ)、δ_C 128.1 (Phe16-C_ε) 和 δ_C 125.8 (Phe16-C_ζ) 為相連的苯環質子訊號，經比對得知此胺基酸為 Phenylalaninol。此胺基酸片段為：Pro-Pheol。

最後由 HMBC 連結此 16 個胺基酸的結構如圖所示，將以上解析所得數據詳列於表 5，並輔以高解析電灑電離質譜佐證胺基酸片段結構，再比對文獻確認化合物的結構為已知物 cephaibol A [147]，其立體組態的解析上經由比對文獻 [148]，確認各胺基酸的相對立體。

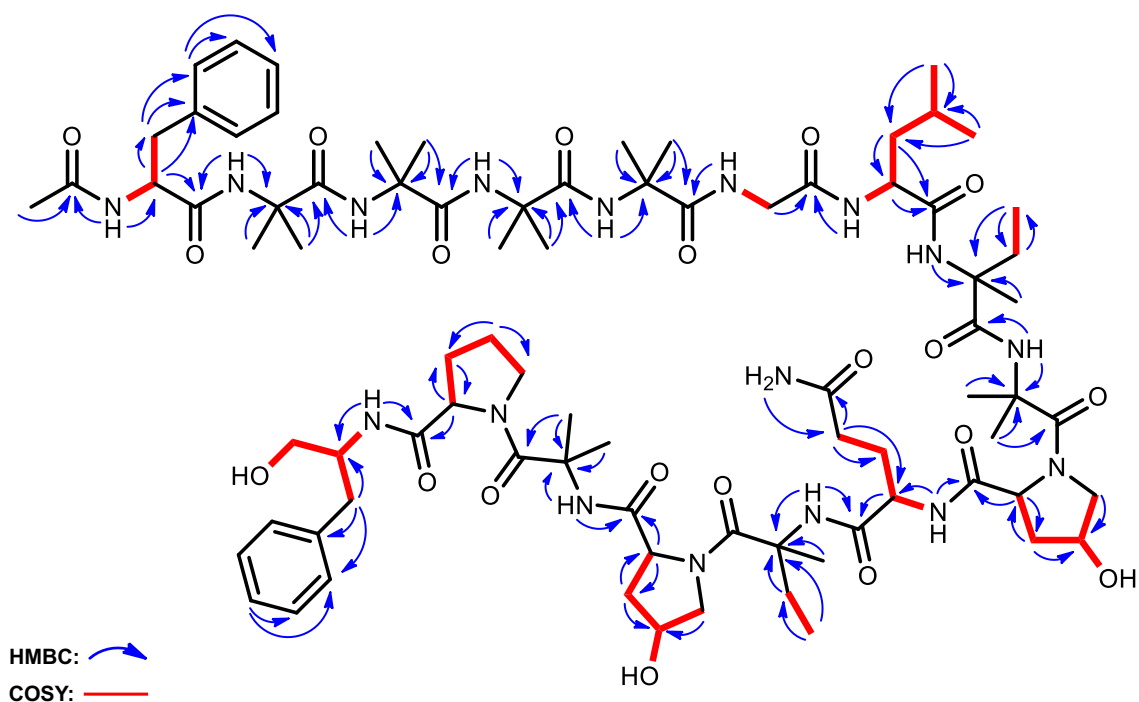




表 5、化合物 1 之氫、碳譜數據。[δ in ppm, mult. (J in Hz)]

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$	
Acetyl (Ac)	CH ₃	22.4	1.83 (3H, s)	
	C'	170.5		
Phenylalanine (Phe1)	NH		8.34 (1H, d, 5.8)	
	C _{α} (CH)	55.3	4.33 (1H, m)	
	C _{β} (CH ₂)		36.5	2.83 (1H, m)
				2.97 (1H, m)
	C _{γ} (C)	137.5		
	C _{δ} (CH)	129.3	7.29 (1H, m)	
	C _{ϵ} (CH)	128.2	7.25 (1H, m)	
	C _{ξ} (CH)	126.5	7.22 (1H, m)	
C' (C = O)	172.5			
α -Aminoisobutyric acid (Aib2)	NH		8.65 (1H, s)	
	C _{α} (C)	55.9		
	C _{βMe1} (CH ₃)	23.6	1.28 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	25.4	1.27 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.1		
α -Aminoisobutyric acid (Aib3)	NH		7.69 (1H, s)	
	C _{α} (C)	56.0		
	C _{βMe1} (CH ₃)	24.2	1.37 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	24.7	1.28 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.2		
α -Aminoisobutyric acid (Aib4)	NH		7.64 (1H, s)	
	C _{α} (C)	55.9		
	C _{βMe1} (CH ₃)	24.8	1.37 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	25.0	1.38 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.8		
α -Aminoisobutyric acid (Aib5)	NH		7.58 (1H, s)	
	C _{α} (C)	56.0		
	C _{βMe1} (CH ₃)	24.9	1.40 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	24.5	1.37 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.8		
Glycine (Gly6)	NH		7.99 (1H, m)	
	C _{α} (CH ₂)		3.65 (1H, m)	
		43.5	3.72 (1H, m)	

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$
	C' (C = O)	170.9	
Leucine (Leu7)	NH		7.74 (1H, m)
	C $_{\alpha}$ (CH)	53.3	4.02 (1H, m)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	39.5	1.52 (1H, m)
			1.68 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH)	24.2	1.69 (1H, m)
	C $_{\delta}$ (CH $_3$)	22.8	0.91 (3H, d, 6.0)
	C $_{\delta}'$ (CH $_3$)	21.7	0.85 (3H, d, 6.0)
C' (C = O)	171.8		
Isovaline (Iva8)	NH		7.49 (1H, s)
	C $_{\alpha}$ (C)	59.5	
	C $_{\beta\text{Me}}$ (CH $_3$)	22.1	1.26 (3H, s)
	C $_{\gamma\text{Me}}$ (CH $_3$)	7.4	0.73 (3H, d, 7.4)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	27.7	1.67 (1H, m)
			2.17 (1H, m)
C' (C = O)	176.2		
α -Aminoisobutyric acid (Aib9)	NH		7.58 (1H, s)
	C $_{\alpha}$ (C)	56.3	
	C $_{\beta\text{Me}1}$ (CH $_3$)	23.3	1.48 (3H, s)
	C $_{\beta\text{Me}2}$ (CH $_3$)	25.8	1.38 (3H, s)
	C' (C = O)	173.6	
Hydroxyproline (Hyp10)	C $_{\alpha}$ (CH)	61.1	4.38 (1H, t, 8.8)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	36.9	1.77 (1H, m)
			2.16 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH)	69.1	4.29 (1H, m)
	C $_{\delta}$ (CH $_2$)	56.2	3.49 (1H, m)
			3.74 (1H, m)
C' (C = O)	171.9		
γ -OH		5.17 (1H, m)	
Glutamine (Gln11)	NH		7.89 (1H, d, 8.7)
	C $_{\alpha}$ (CH)	52.5	4.16 (1H, m)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	26.8	1.86 (1H, m)
			2.17 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH $_2$)	31.6	2.08 (1H, m)
2.12 (1H, m)			
C $_{\delta}$ (C = O)	173.3		

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$
	$\varepsilon\text{-NH}_2$		6.72 (2H, s) 7.21 (1H, m)
	C' (C = O)	172.2	
Isovaline (Iva12)	NH		7.46 (1H, s)
	C $_{\alpha}$ (C)	58.6	
	C $_{\beta\text{Me}}$ (CH $_3$)	20.5	1.41 (3H, s)
	C $_{\gamma\text{Me}}$ (CH $_3$)	7.1	0.73 (3H, d, 7.4)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	28.1	1.78 (1H, m) 2.13 (1H, m)
	C'	172.9	
Hydroxyproline (Hyp13)	C $_{\alpha}$ (CH)	60.7	4.52 (1H, t, 8.9)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	37.5	1.68 (1H, m) 2.16 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH)	69.2	4.21 (1H, m)
	C $_{\delta}$ (CH $_2$)	56.6	3.38 (1H, m) 3.66 (1H, m)
	C'	173.0	
	$\gamma\text{-OH}$		5.17 (1H, m)
α -Aminoisobutyric acid (Aib14)	NH		7.94 (1H, s)
	C $_{\alpha}$ (C)	55.8	
	C $_{\beta\text{Me}1}$ (CH $_3$)	23.6	1.39 (3H, s)
	C $_{\beta\text{Me}2}$ (CH $_3$)	25.8	1.33 (3H, s)
	C' (C = O)	171.9	
Proline (Pro15)	C $_{\alpha}$ (CH)	61.9	4.13 (1H, m)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	28.5	1.14 (1H, m) 1.84 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH $_2$)	24.9	1.50 (1H, m) 1.57 (1H, m)
	C $_{\delta}$ (CH $_2$)	47.5	3.49 (1H, m) 3.79 (1H, m)
	C' (C = O)	170.9	
Phenylalaninol (Phe-ol16)	NH		7.16 (1H, s)
	C $_{\alpha}$ (CH)	52.8	3.83 (1H, m)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	36.5	2.59 (1H, m) 2.99 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (C)	139.6	

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$
	C_δ (CH)	129.5	7.26 (1H, m)
	C_ε (CH)	128.1	7.23 (1H, m)
	C_ζ (CH)	125.8	7.13 (1H, m)
Hydroxy (-ol)	CH_2	63.5	3.24 (1H, m)
			3.38 (1H, m)
	OH		4.53 (1H, t, 8.9)

^aMeasured in dimethyl sulfoxide- d_6 (150 MHz); ^bMeasured in dimethyl sulfoxide- d_6 (600 MHz).

^cSignals without multiplicity were overlapped, and picked from COSY or HMBC spectra.

WXH1-22-3-10ppm_161028111507 #1 RT: 0.02 AV: 1 NL: 6.89E8
T: FTMS + p ESI Full ms [150.00-2000.00]

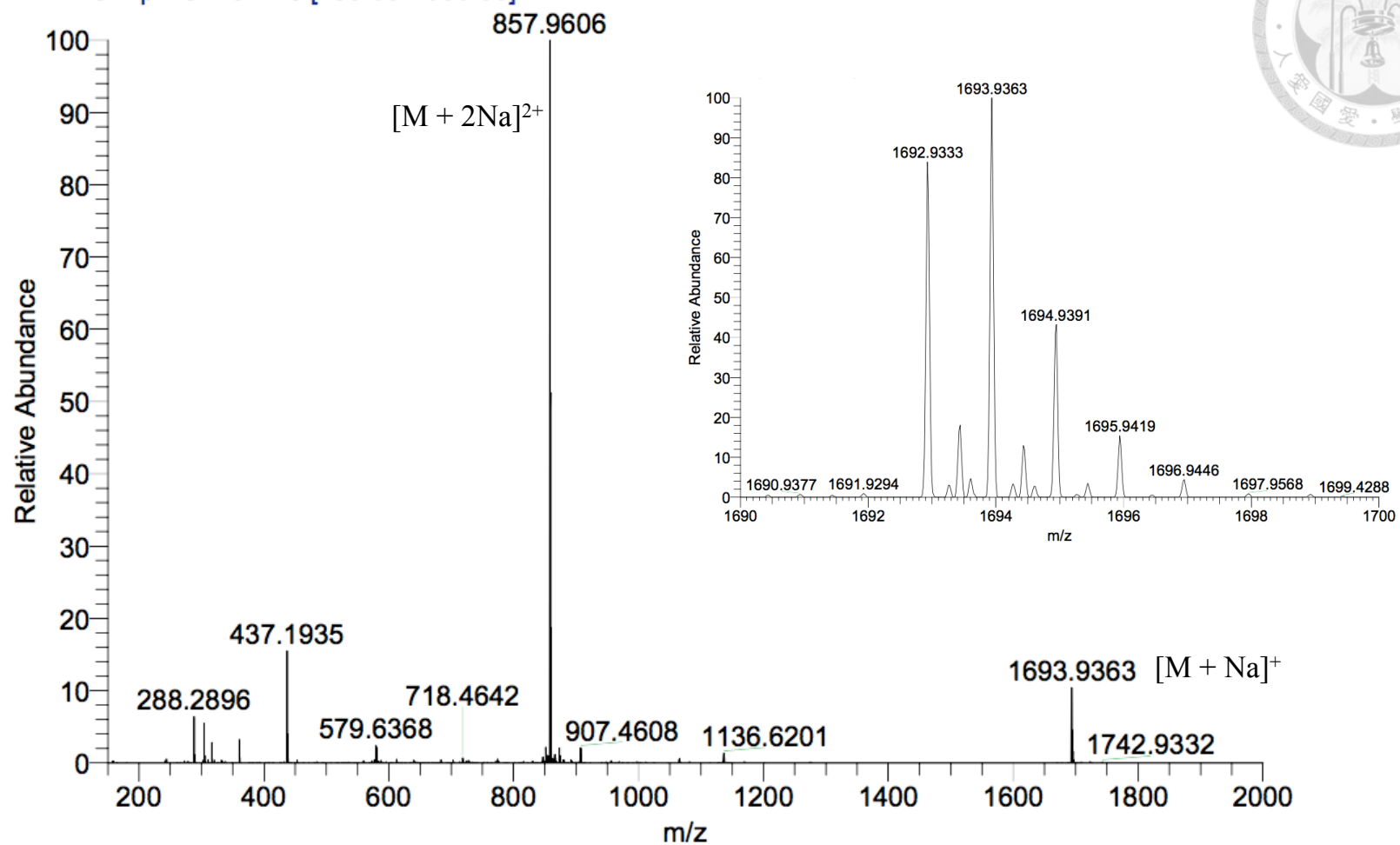


圖 5、化合物 1 之高解析電灑游離質譜。

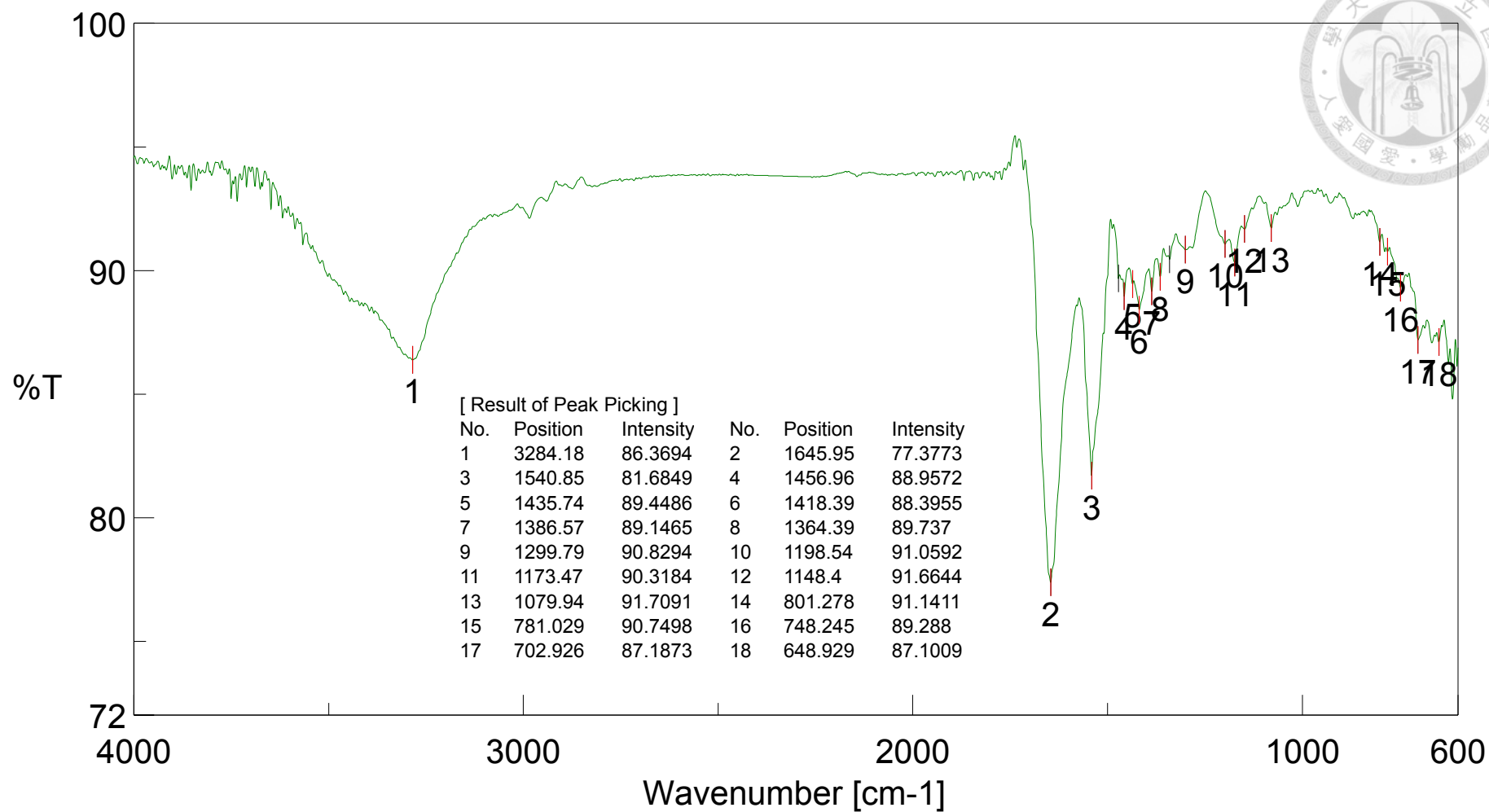


圖 6、化合物 1 之紅外光譜 (ZnSe)。

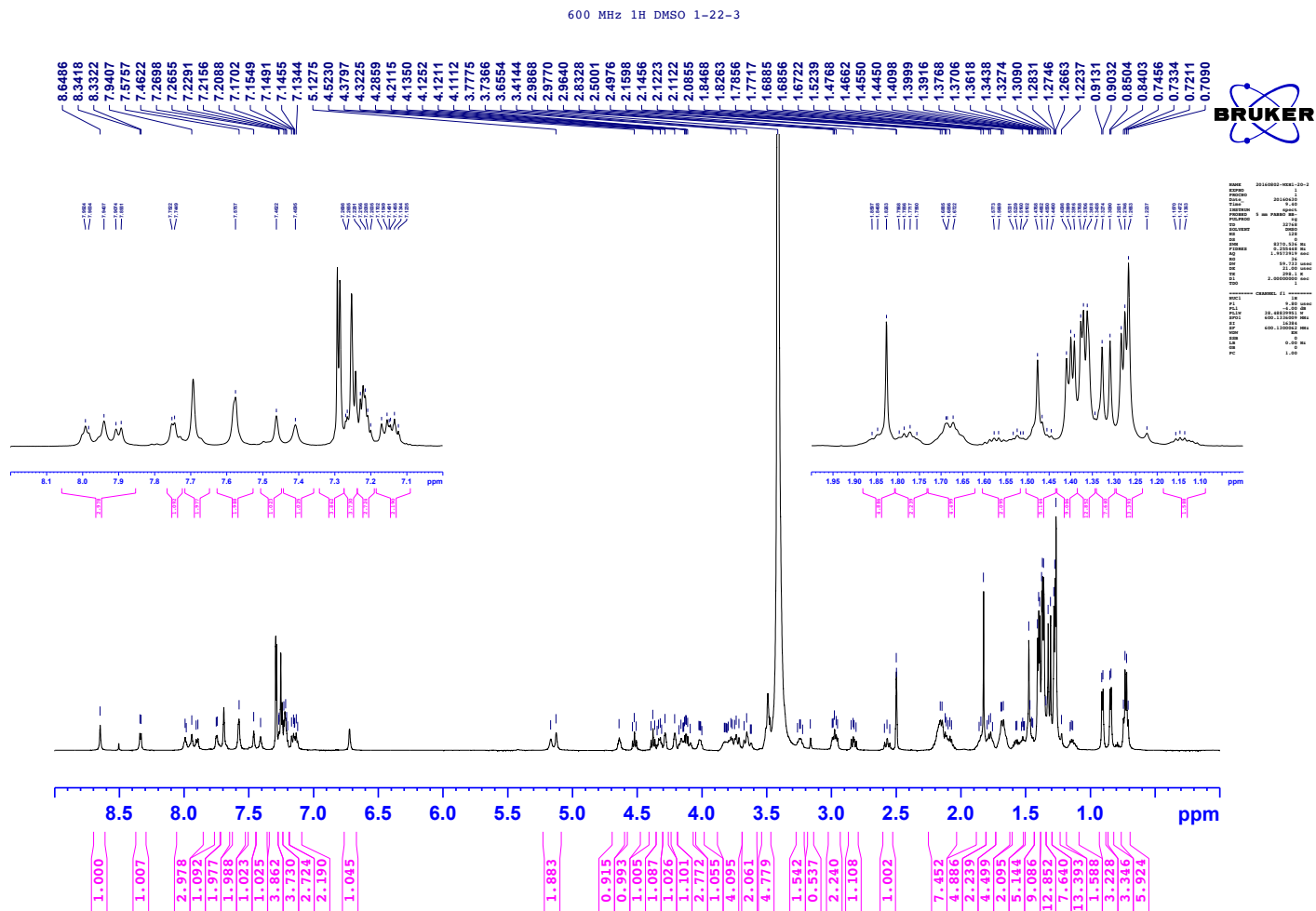


圖 7、化合物 1 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 600 MHz)。

600 MHz HSQC DMSO 1-22-3

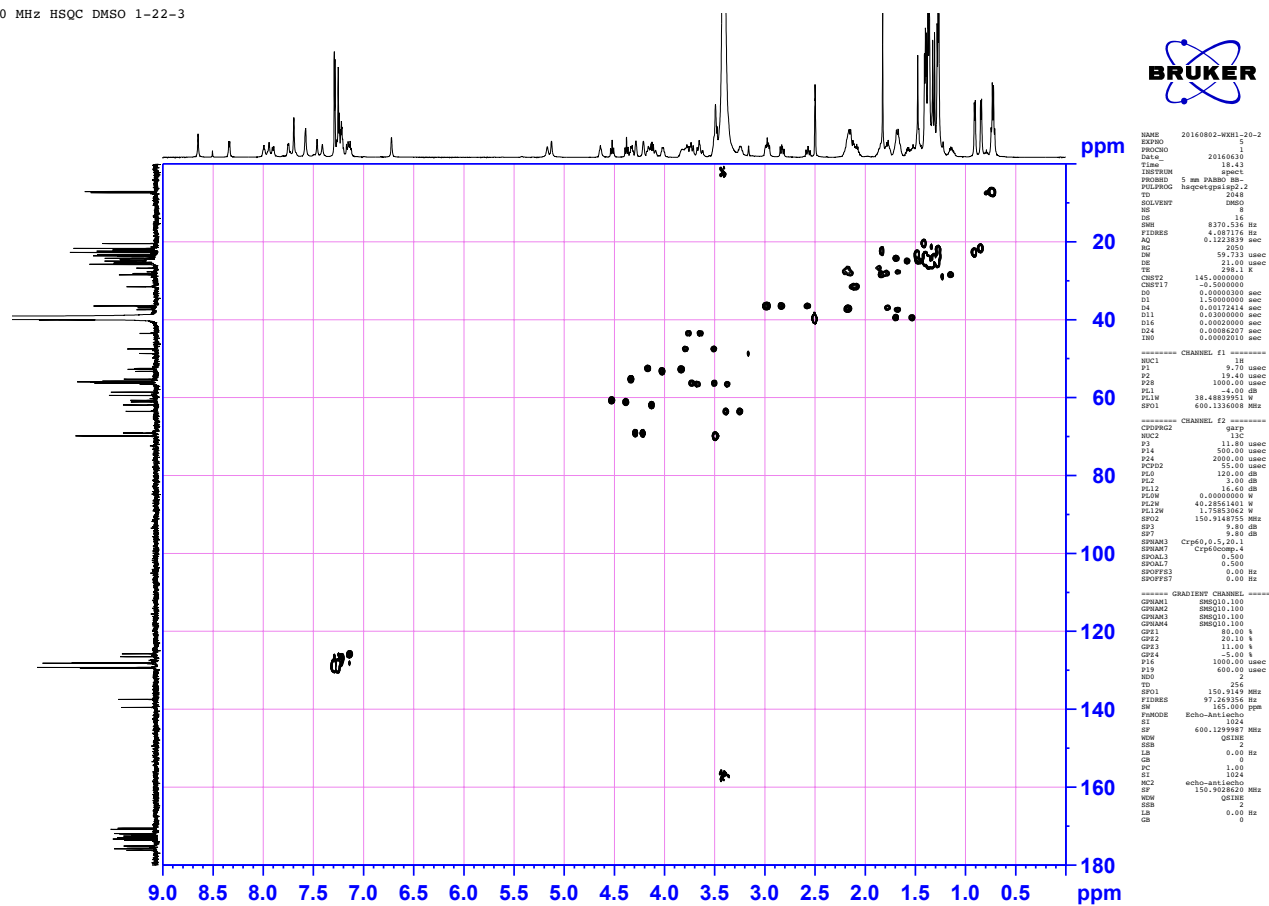


圖 9、化合物 1 之 HSQC 圖譜。

600 MHz COSY DMSO 1-22-3

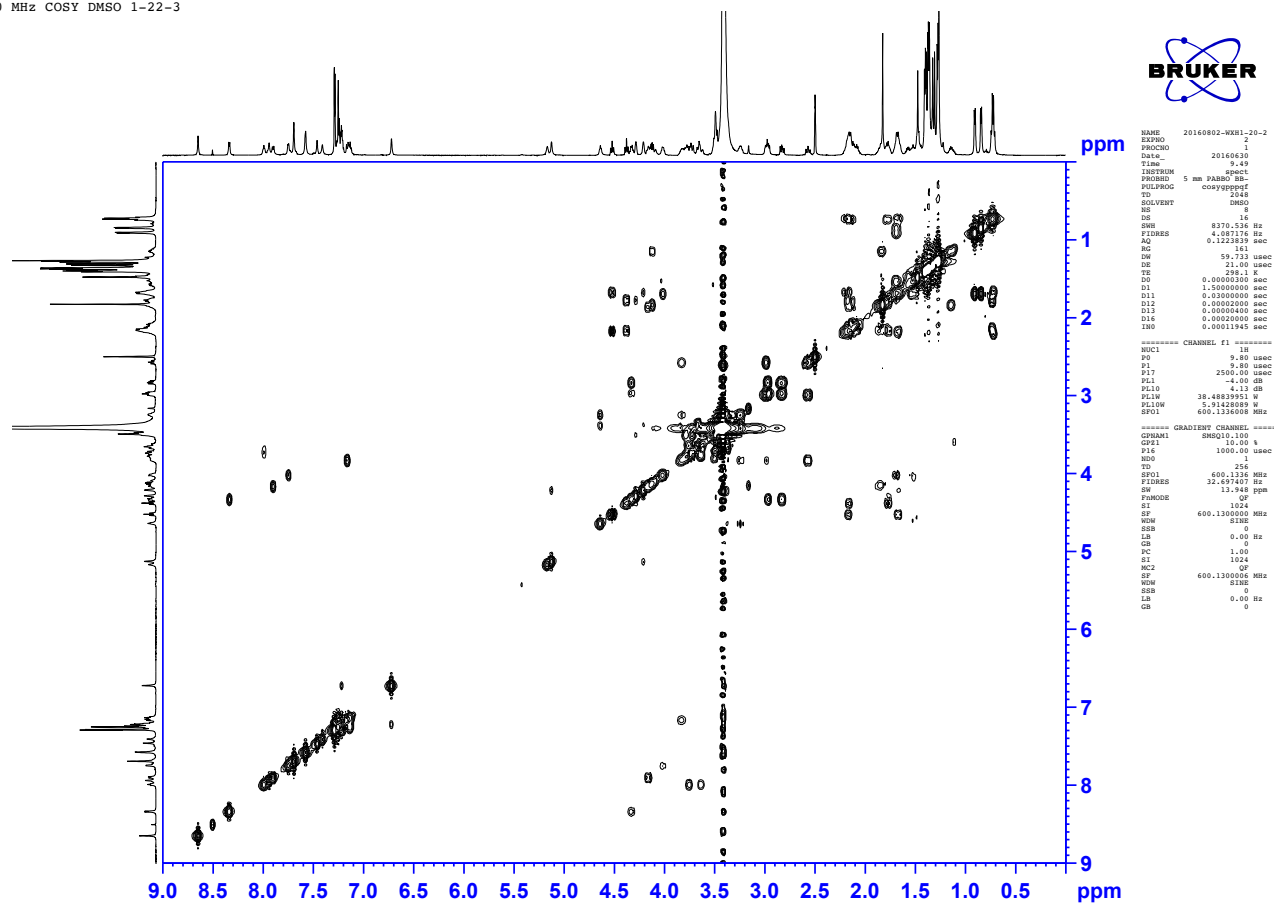


圖 10、化合物 1 之 COSY 圖譜。

600 MHz HMBC DMSO 1-22-3

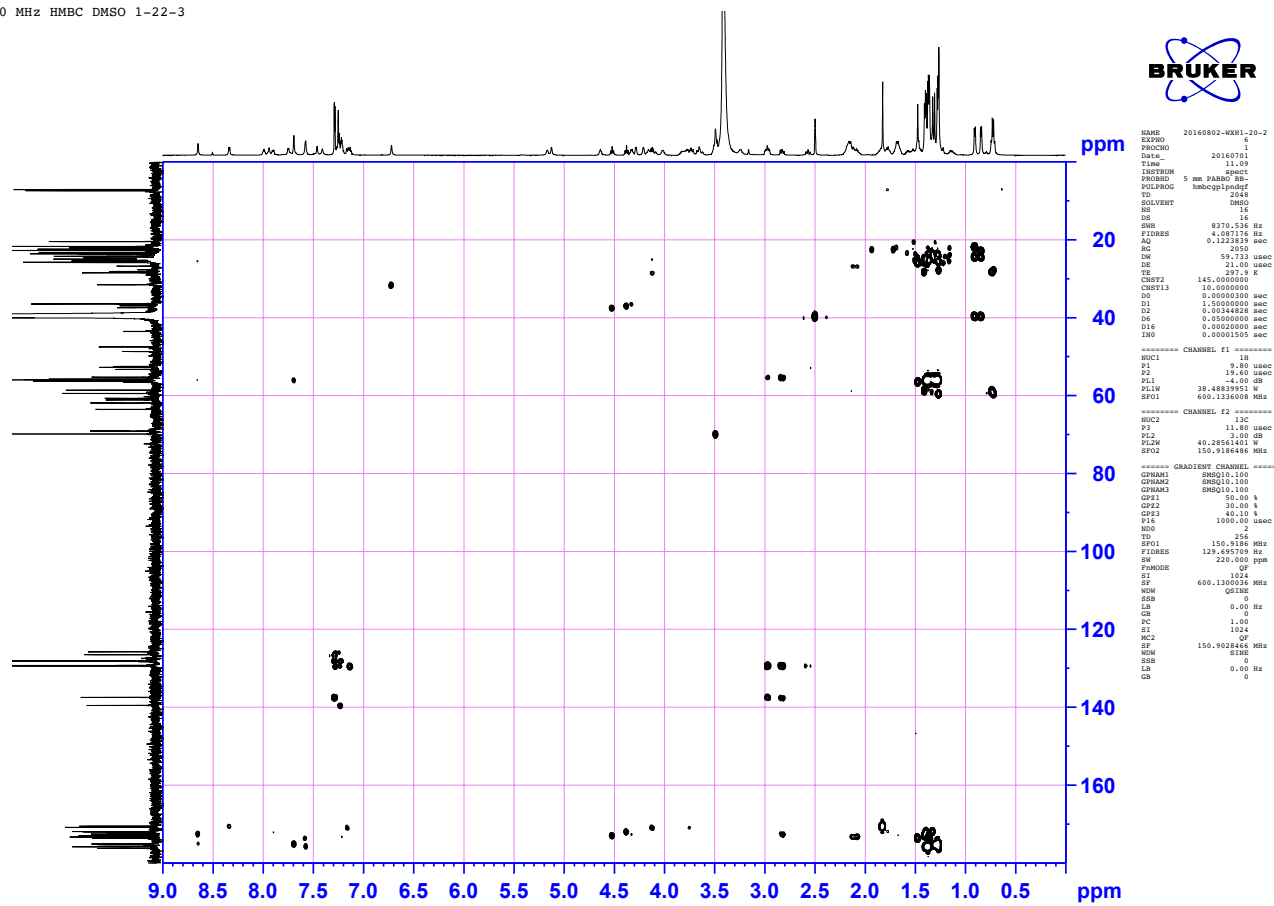
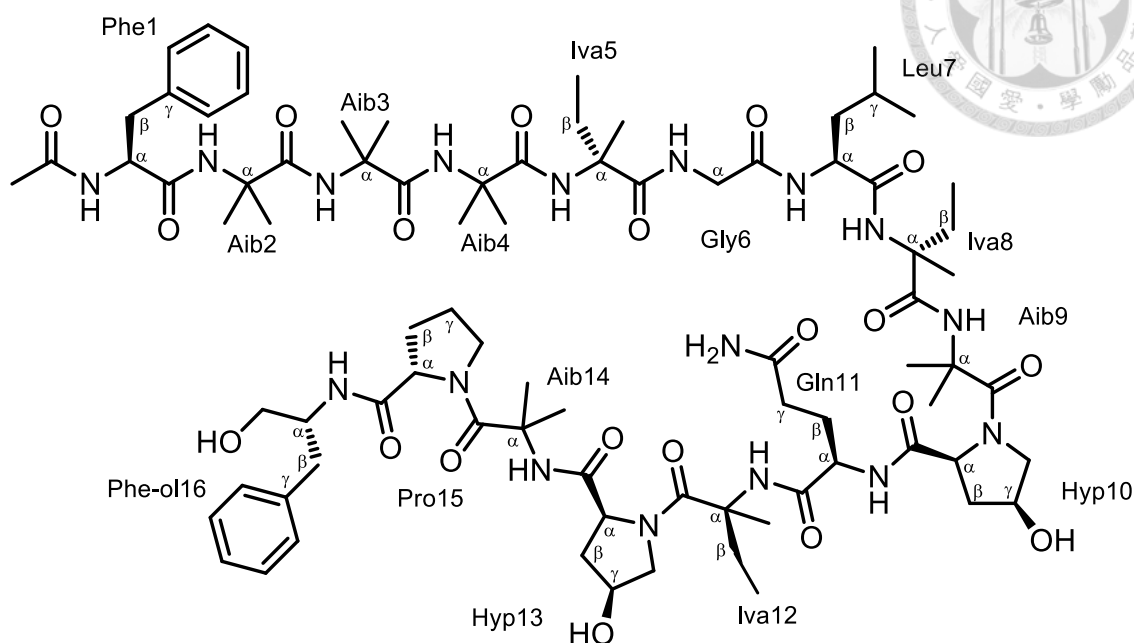


圖 11、化合物 1 之 HMBC 圖譜。



3.2.2 Cephaibol B (2) 之結構解析



Aib = α -aminoisobutyric acid, Iva = isovaline


化合物 **2** 為白色粉末，比旋光度 $[\alpha]_D^{28} = +1.2$ (c 0.1, MeOH)，高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其 $[M + Na]^+$ 離子峰 m/z 1706.9480 (calcd for $C_{83}H_{129}N_{17}O_{20}Na$, 1706.9497)，推測分子式為 $C_{83}H_{129}N_{17}O_{20}$ (圖 12)。紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 (3280 cm^{-1}) 及雙鍵 (1650 cm^{-1}) 等官能基的存在 (圖 13)。

氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 500 MHz) (圖 14) 配合 HSQC (圖 16) 解析，在較高場區之訊號 δ_H 0.84 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, Leu7- H_δ) 和 0.90 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, Leu7- $H_{\delta'}$) 為兩組互相耦合之甲基 (methyl) 質子訊號； δ_H 0.72 (3H, m, Iva8- $H_{\gamma Me}$) 及 δ_H 0.73 (3H, m, Iva12- $H_{\gamma Me}$) 和 δ_H 0.79 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, Iva5- $H_{\gamma Me}$) 推測為甲基 (methyl) 質子訊號。

碳譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 150 MHz) (圖 15) 顯示化合物 **2** 總共有 83 個碳，其中 δ_C 180.0 ~ 170.0 有 16 個酰胺羰基 (amide carbonyl) 訊號，同時在 δ_C 60.0 ~ 40.0 區域有相對應的 C_α 的訊號，推測化合物 **2** 為多肽 (polypeptide) 結構。在 δ_C 140.0 ~ 125.0 的區域內有 δ_C 137.5 (Phe1- C_γ)、129.3 (Phe1- C_δ)、128.2 (Phe1- C_ϵ)、

126.5 (Phe1-C_ξ) 與 δ_C 139.6 (Phe16-C_γ)、129.5 (Phe16-C_δ)、128.1 (Phe16-C_ε)、125.8 (Phe16-C_ξ) 共兩組苯環的訊號。

由 HMBC (圖 18) 實驗中顯示 δ_H 0.90 (Leu7-H_δ) 與 δ_C 21.7 (Leu7-C_{δ'})、δ_C 24.3 (Leu7-C_γ)、δ_C 39.5 (Leu7-C_β) 相關, δ_H 0.84 (Leu7-H_{δ'}) 與 δ_C 22.8 (Leu7-C_δ)、δ_C 24.3 (Leu7-C_γ)、δ_C 39.5 (Leu7-C_β) 相關, 配合 COSY (圖 17) 實驗 δ_H 0.90 (Leu7-H_δ) 與 δ_H 1.69 (Leu7-H_γ) 相關, δ_H 0.84 (Leu7-H_{δ'}) 與 δ_H 1.69 (Leu7-H_γ) 相關而推測 δ_C 22.8 (Leu7-C_δ) 和 δ_C 21.7 (Leu7-C_{δ'}) 接在 δ_C 24.3 (Leu7-C_γ) 上。δ_H 1.69 (Leu7-H_γ) 與 δ_H 1.52 (Leu7-H_β) 相關, 推測 δ_C 24.3 (Leu7-C_γ) 接在 δ_C 39.5 (Leu7-C_β) 上。δ_H 1.52 (Leu7-H_β) 與 δ_H 4.02 (Leu7-H_α) 相關, δ_H 4.02 (Leu7-H_α) 與 δ_H 7.74 (Leu7-NH) 相關, 而 HMBC 實驗顯示 δ_H 1.52 (Leu7-H_β) 與 δ_C 53.2 (Leu7-C_α)、δ_C 24.3 (Leu7-C_γ)、δ_C 171.9 (Leu7-C') 相關, 推測 δ_C 39.5 (Leu7-C_β) 接在 δ_C 53.3 (Leu7-C_α) 上, 羰基 (carbonyl) 在 δ_C 171.9 (Leu7-C'), 胺基 (amine) 在 δ_H 7.74 (Leu7-NH), 經比對得知此胺基酸為白胺酸 (Leucine)。δ_H 7.74 (Leu7-NH) 與 δ_C 170.8 (Gly6-C') 相關, δ_H 3.75 (Gly6-H_α) 與 δ_C 170.8 (Gly6-C') 相關, 配合 COSY 實驗顯示 δ_H 7.96 (Gly6-NH) 與 δ_H 3.72 (Gly6-H_α) 相關, 經比對得知此胺基酸為甘胺酸 (Glycine)。δ_H 7.96 (Gly6-NH) 與 δ_C 175.8 (Iva5-C') 相關, 推測 δ_H 7.96 (Gly6-NH) 接在 δ_C 175.8 (Iva5-C') 上。根據 HMBC 實驗顯示甲基 (methyl) δ_H 0.79 (Iva5-H_{γMe}) 與 δ_C 28.5 (Iva5-C_β)、δ_C 59.1 (Iva5-C_α) 相關, δ_H 1.33 (Iva5-H_{βMe}) 與 δ_C 28.5 (Iva5-C_β)、δ_C 59.1 (Iva5-C_α) 相關, 推測 δ_C 7.6 (Iva5-C_{γMe}) 與 δ_C 28.5 (Iva5-C_β)、δ_C 59.1 (Iva5-C_α) 和 δ_C 21.4 (Iva5-C_{βMe}) 有連接關係, 配合 COSY 實驗顯示 δ_H 0.79 (Iva5-H_{γMe}) 與 δ_H 1.98 (Iva5-H_β) 相關, 推測 δ_C 7.6 (Iva5-C_{γMe}) 接在 δ_C 28.5 (Iva5-C_β) 上, 經比對得知此胺基酸為異纈胺酸 (Isovaline), 胺基 (amine) 在 δ_H 7.50 (Iva5-NH) 上, 與 δ_C 59.1 (Iva5-C_α) 相關。δ_H 7.50 (Iva5-NH) 與 δ_C 175.7 (Aib4-C') 相關, 推測 δ_H 7.50 (Iva5-NH) 接在 δ_C 175.8 (Aib4-C') 上; δ_H 1.37 (Aib4-H_{βMe1}) 與 δ_C 56.1 (Aib4-C_α)、δ_C 175.7 (Aib4-C') 相關, δ_H 1.37 (Aib4-H_{βMe2}) 與 δ_C 56.1 (Aib4-C_α)、δ_C 175.7 (Aib4-C') 相關, 推測 δ_C 56.1 與



δ_C 24.8、 δ_C 24.9 和 δ_C 175.7 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_H 7.72 (Aib4-NH) 上，與 δ_C 56.1 (Aib4- C_α) 相關。 δ_H 7.72 (Aib4-NH) 與 δ_C 175.3 (Aib3- C') 相關，推測 δ_H 7.72 (Aib4-NH) 接在 δ_C 175.3 (Aib3- C') 上； δ_H 1.31 (Aib3- $H_{\beta Me1}$) 與 δ_C 56.0 (Aib3- C_α) 和 δ_C 175.3 (Aib3- C') 相關， δ_H 1.28 (Aib3- $H_{\beta Me2}$) 與 δ_C 56.0 (Aib3- C_α) 和 δ_C 175.3 (Aib3- C') 相關，推測 δ_C 56.0 與 δ_C 24.2、 δ_C 24.6 和 δ_C 175.3 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_H 7.67 (Aib3-NH) 上，與 δ_C 56.0 (Aib3- C_α) 相關。 δ_H 7.67 (Aib3-NH) 與 δ_C 175.0 (Aib2- C') 相關，推測 δ_H 7.67 (Aib3-NH) 接在 δ_C 175.0 (Aib2- C') 上； δ_H 1.28 (Aib2- $H_{\beta Me1}$) 與 δ_C 56.0 (Aib2- C_α) 和 δ_C 175.0 (Aib2- C') 相關， δ_H 1.27 (Aib2- $H_{\beta Me2}$) 與 δ_C 56.0 (Aib2- C_α) 和 δ_C 175.0 (Aib2- C') 相關，推測 δ_C 56.0 與 δ_C 23.9、 δ_C 25.3 和 δ_C 175.0 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_H 8.62 (Aib2-NH) 上，與 δ_C 56.0 (Aib2- C_α) 相關。 δ_H 8.62 (Aib2-NH) 與 δ_C 172.6 (Phe1- C') 相關，推測 δ_H 8.62 (Aib2-NH) 接在 δ_C 172.6 (Phe1- C') 上。 δ_H 2.83 (Phe1- H_β) 與 δ_C 55.3 (Phe1- C_α)、 δ_C 137.5 (Phe1- C_γ) 和 δ_C 129.3 (Phe1- C_δ) 相關； δ_H 4.32 (Phe1- H_α) 與 δ_C 36.5 (Phe1- C_β)、 δ_C 137.5 (Phe1- C_γ) 和 δ_C 172.6 (Phe1- C') 相關，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 4.32 (Phe1- H_α) 與 δ_H 2.83 (Phe1- H_β) 和 δ_H 8.33 (Phe1-NH) 相關，推測 δ_C 55.3 (Phe1- C_α) 與 δ_C 36.5 (Phe1- C_β) 和 δ_C 137.5 (Phe1- C_γ) 有連接關係， δ_C 137.5 (Phe1- C_γ) 與 δ_C 129.3 (Phe1- C_δ)、 δ_C 128.2 (Phe1- C_ϵ) 和 δ_C 126.6 (Phe1- C_ζ) 為相連的苯環質子訊號，經比對得知此胺基酸為苯丙胺酸 (Phenylalanine)，胺基 (amine) 在 δ_H 8.33 (Phe1-NH) 上，與 δ_C 55.3 (Phe1- C_α) 相關。 δ_H 8.33 (Phe1-NH) 與 δ_C 170.6 (Ac- C') 相關， δ_H 1.83 (Ac- H_{Me}) 與 δ_C 170.6 (Ac- C') 相關，此官能基為乙醯基 (acetyl)，與苯丙胺酸 (Phenylalanine) 相連。目前能推測化合物片段含七個胺基酸組成：Ac-Phe-Aib-Aib-Aib-Iva-Gly-Leu。



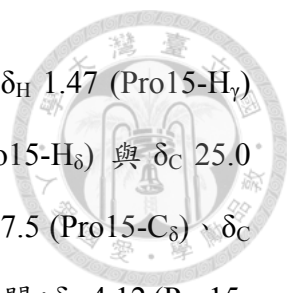
根據 HMBC 實驗顯示甲基 (methyl) δ_{H} 0.73 (Iva8- $\text{H}_{\gamma\text{Me}}$) 與 δ_{C} 28.0 (Iva8- C_{β})、 δ_{C} 59.5 (Iva8- C_{α}) 相關， δ_{H} 1.26 (Iva8- $\text{H}_{\beta\text{Me}}$) 與 δ_{C} 28.0 (Iva8- C_{β})、 δ_{C} 59.5 (Iva8- C_{α}) 相關，推測 δ_{C} 7.5 (Iva8- $\text{C}_{\gamma\text{Me}}$) 與 δ_{C} 28.0 (Iva8- C_{β})、 δ_{C} 59.5 (Iva8- C_{α}) 和 δ_{C} 21.9 (Iva8- $\text{C}_{\beta\text{Me}}$) 有連接關係，配合 COSY 實驗顯示 δ_{H} 0.73 (Iva8- $\text{H}_{\gamma\text{Me}}$) 與 δ_{H} 1.67 (Iva8- H_{β}) 相關，推測 δ_{C} 7.4 (Iva8- $\text{C}_{\gamma\text{Me}}$) 接在 δ_{C} 28.0 (Iva8- C_{β}) 上， δ_{H} 7.42 (Iva8-NH) 與 δ_{C} 171.9 (Leu7- C') 相關，推測 δ_{H} 7.42 (Iva8-NH) 接在 δ_{C} 171.9 (Leu7- C') 上。經比對得知此胺基酸為異纈胺酸 (Isovaline)，羰基在 δ_{C} 176.3 (Iva8- C')。 δ_{H} 7.58 (Aib9-NH) 與 δ_{C} 176.3 (Iva8- C') 和 δ_{C} 56.4 (Aib9- C_{α}) 相關，推測 δ_{H} 7.58 (Aib9-NH) 接在 δ_{C} 176.3 (Iva8- C') 上。 δ_{H} 1.47 (Aib9- $\text{H}_{\beta\text{Me}1}$) 與 δ_{C} 56.4 (Aib9- C_{α}) 和 δ_{C} 173.6 (Aib9- C') 相關， δ_{H} 1.33 (Aib9- $\text{H}_{\beta\text{Me}2}$) 與 δ_{C} 56.4 (Aib9- C_{α}) 和 δ_{C} 173.6 (Aib9- C') 相關，推測 δ_{C} 56.4 與 δ_{C} 23.3、 δ_{C} 25.8 和 δ_{C} 173.6 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_{H} 7.58 (Aib9-NH) 上。此胺基酸片段為：Iva-Aib。

COSY 實驗顯示 δ_{H} 4.38 (Hyp10- H_{α}) 與 δ_{H} 2.16 (Hyp10- H_{β})、 δ_{H} 4.28 (Hyp10- H_{γ})、 δ_{H} 3.75 (Hyp10- H_{δ}) 和 δ_{H} 5.16 (Hyp10-OH) 相關，配合 HMBC 實驗顯示 δ_{H} 3.75 (Hyp10- H_{δ}) 與 δ_{C} 69.1 (Hyp10- C_{γ}) 相關； δ_{H} 2.16 (Hyp10- H_{β}) 與 δ_{C} 69.1 (Hyp10- C_{γ})、 δ_{C} 61.1 (Hyp10- C_{α}) 相關，推測 δ_{C} 61.1 (Hyp10- C_{α}) 與 δ_{C} 36.9 (Hyp10- C_{β})、 δ_{C} 69.1 (Hyp10- C_{γ}) 和 δ_{C} 56.1 (Hyp10- C_{δ}) 有連接關係， δ_{C} 56.1 (Hyp10- C_{δ}) 旁邊可能接有異原子，同時 HMBC 實驗顯示 δ_{H} 4.38 (Hyp10- H_{α}) 與 δ_{C} 172.0 (Hyp10- C') 相關，經比對得知此胺基酸為羥脯胺酸 (Hydroxyproline)。 δ_{H} 7.89 (Gln11-NH) 與 δ_{C} 172.0 (Hyp10- C') 和 δ_{C} 52.6 (Gln11- C_{α}) 相關，推測 δ_{H} 7.89 (Gln11-NH) 接在 δ_{C} 172.0 (Hyp10- C') 上； δ_{H} 4.16 (Gln11- H_{α}) 與 δ_{C} 172.3 (Gln11- C') 相關； δ_{H} 1.86 (Gln11- H_{β}) 與 δ_{C} 52.6 (Gln11- C_{α})、 δ_{C} 31.6 (Gln11- C_{γ}) 相關； δ_{H} 1.86 (Gln11- H_{γ}) 與 δ_{C} 26.8 (Gln11- C_{β}) 和 δ_{C} 173.3 (Gln11- C_{δ}) 相關； δ_{H} 6.71 (Gln11- NH_2) 與 δ_{C} 173.3 (Gln11- C_{δ}) 和 δ_{H} 1.86 (Gln11- H_{γ}) 相關，配合 COSY 實驗顯示 δ_{H} 7.89 (Gln11-NH)



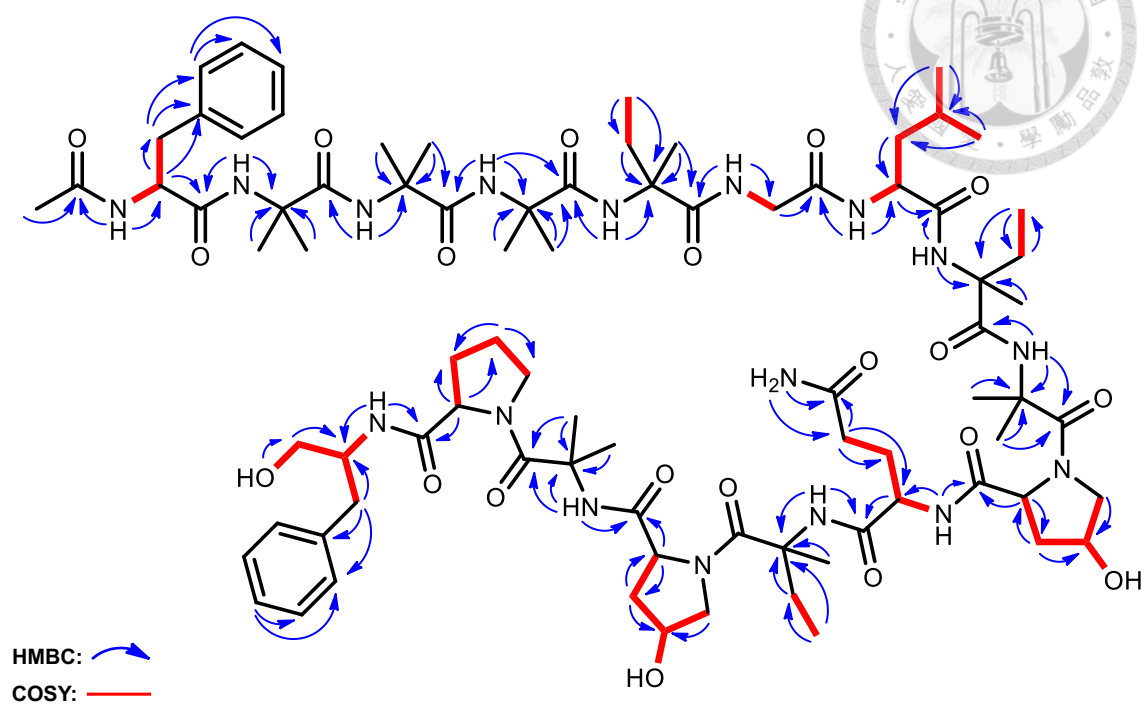
與 δ_H 4.16 (Gln11- H_α)、 δ_H 1.86 (Gln11- H_β) 和 δ_H 1.86 (Gln11- H_γ) 相關，推測 δ_C 52.6 (Gln11- C_α) 與 δ_C 26.8 (Gln11- C_β)、 δ_C 31.6 (Gln11- C_γ) 與 δ_C 173.3 (Gln11- C_δ) 的連接關係，經比對得知此胺基酸為麩醯胺酸 (Glutamine)，羰基 (carbonyl) 在 δ_C 172.3 (Gln11- C') 上。 δ_H 7.46 (Iva12-NH) 與 δ_C 172.3 (Gln11- C') 相關，推測 δ_H 7.46 (Iva12-NH) 接在 δ_C 172.3 (Gln11- C') 上；根據 HMBC 實驗顯示甲基 (methyl) δ_H 0.74 (Iva12- $H_{\gamma Me}$) 與 δ_C 28.2 (Iva12- C_β)、 δ_C 58.6 (Iva12- C_α) 相關， δ_H 1.41 (Iva12- $H_{\beta Me}$) 與 δ_C 28.2 (Iva12- C_β)、 δ_C 58.6 (Iva12- C_α) 相關，推測 δ_C 7.1 (Iva12- $C_{\gamma Me}$) 與 δ_C 28.2 (Iva12- C_β)、 δ_C 58.6 (Iva12- C_α) 和 δ_C 20.5 (Iva12- $C_{\beta Me}$) 有連接關係，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 0.74 (Iva12- $H_{\gamma Me}$) 與 δ_H 1.77 (Iva12- H_β) 相關，推測 δ_C 7.1 (Iva12- $C_{\gamma Me}$) 接在 δ_C 28.2 (Iva12- C_β) 上，經比對得知此胺基酸為異纈胺酸 (Isovaline)，羰基在 δ_C 173.0 (Iva12- C')。此胺基酸片段為：Hyp-Gln-Iva。

COSY 實驗顯示 δ_H 4.52 (Hyp13- H_α) 與 δ_H 1.67 (Hyp13- H_β)、 δ_H 4.21 (Hyp13- H_γ)、 δ_H 3.37 (Hyp13- H_δ) 和 δ_H 5.12 (Hyp13-OH) 相關，配合 HMBC 實驗顯示 δ_H 3.37 (Hyp13- H_δ) 與 δ_C 69.2 (Hyp13- C_γ) 相關； δ_H 1.67 (Hyp13- H_β) 與 δ_C 69.2 (Hyp13- C_γ)、 δ_C 60.7 (Hyp13- C_α) 相關，推測 δ_C 60.7 (Hyp13- C_α) 與 δ_C 37.5 (Hyp13- C_β)、 δ_C 69.2 (Hyp13- C_γ) 和 δ_C 56.6 (Hyp13- C_δ) 有連接關係， δ_C 56.6 (Hyp13- C_δ) 旁邊可能接有異原子，同時 HMBC 實驗顯示 δ_H 4.52 (Hyp13- H_α) 與 δ_C 173.0 (Hyp13- C') 相關，經比對得知此胺基酸為羥脯胺酸 (Hydroxyproline)。 δ_H 7.94 (Aib14-NH) 與 δ_C 173.0 (Hyp13- C') 和 δ_C 55.8 (Aib14- C_α) 相關，推測 δ_H 7.94 (Aib14-NH) 接在 δ_C 173.0 (Hyp13- C') 上； δ_H 1.39 (Aib14- $H_{\beta Me1}$) 與 δ_C 55.8 (Aib14- C_α)、 δ_C 171.9 (Aib14- C') 相關， δ_H 1.34 (Aib14- $H_{\beta Me2}$) 與 δ_C 55.8 (Aib14- C_α)、 δ_C 171.9 (Aib14- C') 相關，推測 δ_C 55.8 與 δ_C 23.6、 δ_C 25.8 和 δ_C 171.9 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，羰基 (carbonyl) 在 δ_C 171.9 (Aib14- C') 上，與 δ_C 55.8 (Aib14- C_α) 相關。此胺基酸片段為：Hyp-Aib。



COSY 實驗顯示 δ_H 4.12 (Pro15- H_α) 與 δ_H 1.14 (Pro15- H_β)、 δ_H 1.47 (Pro15- H_γ) 和 δ_H 3.50 (Pro15- H_δ) 相關，配合 HMBC 實驗顯示 δ_H 3.50 (Pro15- H_δ) 與 δ_C 25.0 (Pro15- C_γ)、 δ_C 28.5 (Pro15- C_β) 相關； δ_H 1.47 (Pro15- H_γ) 與 δ_C 47.5 (Pro15- C_δ)、 δ_C 28.5 (Pro15- C_β) 相關； δ_H 1.14 (Pro15- H_β) 與 δ_C 25.0 (Pro15- C_γ) 相關； δ_H 4.12 (Pro15- H_α) 與 δ_C 28.5 (Pro15- C_β) 和 δ_C 25.0 (Pro15- C_γ) 相關，推測 δ_C 61.9 (Pro15- C_α) 與 δ_C 28.5 (Pro15- C_β)、 δ_C 25.0 (Pro15- C_γ) 和 δ_C 47.5 (Pro15- C_δ) 有連接關係， δ_C 47.5 (Pro15- C_δ) 旁邊可能接有異原子，同時 HMBC 實驗顯示 δ_H 4.12 (Pro15- H_α) 與 δ_C 171.0 (Pro15- C') 相關，經比對得知此胺基酸為脯胺酸 (Proline)。 δ_H 7.17 (Phe16-NH) 與 δ_C 171.0 (Pro15- C') 和 δ_C 52.8 (Phe16- C_α) 相關，推測 δ_H 7.17 (Phe16-NH) 接在 δ_C 171.0 (Pro15- C') 上； δ_H 2.57 (Phe16- H_β) 與 δ_C 52.8 (Phe16- C_α)、 δ_C 139.6 (Phe16- C_γ) 和 δ_C 129.5 (Phe16- C_δ) 相關； δ_H 7.13 (Phe16- H_ξ) 與 δ_C 128.1 (Phe16- C_ϵ) 和 δ_C 129.5 (Phe16- C_δ) 相關，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 7.17 (Phe16-NH) 與 δ_H 3.83 (Phe16- H_α)、 δ_H 2.57 (Phe16- H_β)、 δ_H 3.25 (Phe16- CH_2) 與 δ_H 4.64 (Phe16-OH) 相關，推測 δ_C 52.8 (Phe16- C_α) 與 δ_C 36.5 (Phe16- C_β) 和 δ_C 139.6 (Phe16- C_γ) 和 δ_C 63.6 (Phe16- CH_2) 有連接關係， δ_C 139.6 (Phe16- C_γ) 與 δ_C 129.5 (Phe16- C_δ)、 δ_C 128.1 (Phe16- C_ϵ) 和 δ_C 125.8 (Phe16- C_ξ) 為相連的苯環質子訊號，經比對得知此胺基酸為 Phenylalaninol。此胺基酸片段為：Pro-Pheol。

最後由 HMBC 連結此 16 個胺基酸的結構如圖所示，將以上解析所得數據詳列於表 6，並輔以高解析電灑電離質譜佐證胺基酸片段結構，再比對文獻確認化合物的結構為已知物 cephaibol B [147]，其立體組態的解析上經由比對文獻 [148]，確認各胺基酸的相對立體。



HMBC and COSY correlations of **2**

表 6、化合物 2 之氫、碳譜數據。[δ in ppm, mult. (J in Hz)]

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$	
Acetyl (Ac)	CH ₃	22.4	1.83 (3H, s)	
	C'	170.6		
Phenylalanine (Phe1)	NH		8.33 (1H, d, 5.8)	
	C _{α} (CH)	55.3	4.32 (1H, m)	
	C _{β} (CH ₂)		36.5	2.83 (1H, m)
				2.97 (1H, m)
	C _{γ} (C)	137.5		
	C _{δ} (CH)	129.3	7.28 (1H, m)	
	C _{ϵ} (CH)	128.2	7.29 (1H, m)	
	C _{ξ} (CH)	126.6	7.21 (1H, m)	
C' (C = O)	172.6			
α -Aminoisobutyric acid (Aib2)	NH		8.62 (1H, s)	
	C _{α} (C)	56.0		
	C _{βMe1} (CH ₃)	23.9	1.28 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	25.3	1.27 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.0		
α -Aminoisobutyric acid (Aib3)	NH		7.67 (1H, s)	
	C _{α} (C)	56.0		
	C _{βMe1} (CH ₃)	24.2	1.31 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	24.6	1.28 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.3		
α -Aminoisobutyric acid (Aib4)	NH		7.72 (1H, s)	
	C _{α} (C)	56.1		
	C _{βMe1} (CH ₃)	24.8	1.37 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	24.9	1.37 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.7		
Isovaline (Iva5)	NH		7.50 (1H, s)	
	C _{α} (C)	59.1		
	C _{βMe} (CH ₃)	21.4	1.33 (3H, s)	
	C _{γMe} (CH ₃)	7.6	0.79 (3H, d, 7.5)	
	C _{β} (CH ₂)		28.5	1.70 (1H, m)
				1.98 (1H, m)
C' (C = O)	175.8			
Glycine (Gly6)	NH		7.96 (1H, m)	

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$
	C_α (CH_2)	43.5	3.65 (1H, m) 3.75 (1H, m)
	C' ($\text{C} = \text{O}$)	170.9	
Leucine (Leu7)	NH		7.74 (1H, m)
	C_α (CH)	53.2	4.02 (1H, m)
	C_β (CH_2)	39.5	1.52 (1H, m) 1.68 (1H, m)
	C_γ (CH)	24.3	1.69 (1H, m)
	C_δ (CH_3)	22.8	0.90 (3H, d, 6.1)
	$\text{C}_{\delta'}$ (CH_3)	21.7	0.84 (3H, d, 6.1)
	C' ($\text{C} = \text{O}$)	171.9	
Isovaline (Iva8)	NH		7.42 (1H, s)
	C_α (C)	59.5	
	$\text{C}_{\beta\text{Me}}$ (CH_3)	21.9	1.26 (3H, s)
	$\text{C}_{\gamma\text{Me}}$ (CH_3)	7.5	0.73 (3H, m)
	C_β (CH_2)	28.0	1.67 (1H, m) 2.15 (1H, m)
	C' ($\text{C} = \text{O}$)	176.3	
α -Aminoisobutyric acid (Aib9)	NH		7.58 (1H, s)
	C_α (C)	56.4	
	$\text{C}_{\beta\text{Me1}}$ (CH_3)	23.3	1.47 (3H, s)
	$\text{C}_{\beta\text{Me2}}$ (CH_3)	25.8	1.33 (3H, s)
	C' ($\text{C} = \text{O}$)	173.6	
Hydroxyproline (Hyp10)	C_α (CH)	61.1	4.38 (1H, t, 8.9)
	C_β (CH_2)	36.9	1.77 (1H, m) 2.16 (1H, m)
	C_γ (CH)	69.1	4.28 (1H, m)
	C_δ (CH_2)	56.1	3.48 (1H, m) 3.75 (1H, m)
	C' ($\text{C} = \text{O}$)	172.0	
	γ -OH		5.16 (1H, m)
Glutamine (Gln11)	NH		7.89 (1H, d, 8.9)
	C_α (CH)	52.6	4.16 (1H, m)
	C_β (CH_2)	26.8	1.86 (1H, m) 2.15 (1H, m)
	C_γ (CH_2)	31.6	1.86 (1H, m)

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$
			2.14 (1H, m)
	C_δ (C = O)	173.3	
	$\varepsilon\text{-NH}_2$		6.71 (1H, s) 7.22 (1H, m)
	C' (C = O)	172.3	
Isovaline (Iva12)	NH		7.46 (1H, s)
	C_α (C)	58.6	
	$\text{C}_{\beta\text{Me}}$ (CH ₃)	20.5	1.41 (3H, s)
	$\text{C}_{\gamma\text{Me}}$ (CH ₃)	7.1	0.73 (3H, m)
	C_β (CH ₂)	28.1	1.78 (1H, m) 2.13 (1H, m)
	C'	172.9	
Hydroxyproline (Hyp13)	C_α (CH)	60.7	4.52 (1H, t, 8.9)
	C_β (CH ₂)	37.5	1.67 (1H, m) 2.17 (1H, m)
	C_γ (CH)	69.2	4.21 (1H, m)
	C_δ (CH ₂)	56.6	3.37 (1H, m) 3.67 (1H, m)
	C'	173.0	
	$\gamma\text{-OH}$		5.12 (1H, m)
α -Aminoisobutyric acid (Aib14)	NH		7.94 (1H, s)
	C_α (C)	55.8	
	$\text{C}_{\beta\text{Me1}}$ (CH ₃)	23.6	1.39 (3H, s)
	$\text{C}_{\beta\text{Me2}}$ (CH ₃)	25.8	1.34 (3H, s)
	C' (C = O)	171.9	
Proline (Pro15)	C_α (CH)	61.9	4.12 (1H, m)
	C_β (CH ₂)	28.5	1.14 (1H, m) 1.83 (1H, m)
	C_γ (CH ₂)	25.0	1.47 (1H, m) 1.57 (1H, m)
	C_δ (CH ₂)	47.5	3.50 (1H, m) 3.78 (1H, m)
	C' (C = O)	170.9	
Phenylalaninol (Phe-ol16)	NH		7.17 (1H, m)
	C_α (CH)	52.8	3.83 (1H, m)
	C_β (CH ₂)	36.5	2.57 (1H, m)

Amino acid	Position	^{13}C ^a	^1H ^{b,c}
			2.97 (1H, m)
	C _γ (C)	139.6	
	C _δ (CH)	129.5	7.25 (1H, m)
	C _ε (CH)	128.1	7.25 (1H, m)
	C _ξ (CH)	125.8	7.13 (1H, m)
Hydroxy (-ol)	CH ₂	63.6	3.25 (1H, m)
			3.38 (1H, m)
	OH		4.64 (1H, m)

^aMeasured in dimethyl sulfoxide-*d*₆ (125 MHz); ^bMeasured in dimethyl sulfoxide-*d*₆ (500 MHz).

^cSignals without multiplicity were overlapped, and picked from COSY or HMBC spectra

WXH1-22-4-10ppm #37-154 RT: 0.82-3.43 AV: 118 NL: 1.06E9
T: FTMS + p ESI Full ms [150.00-2000.00]

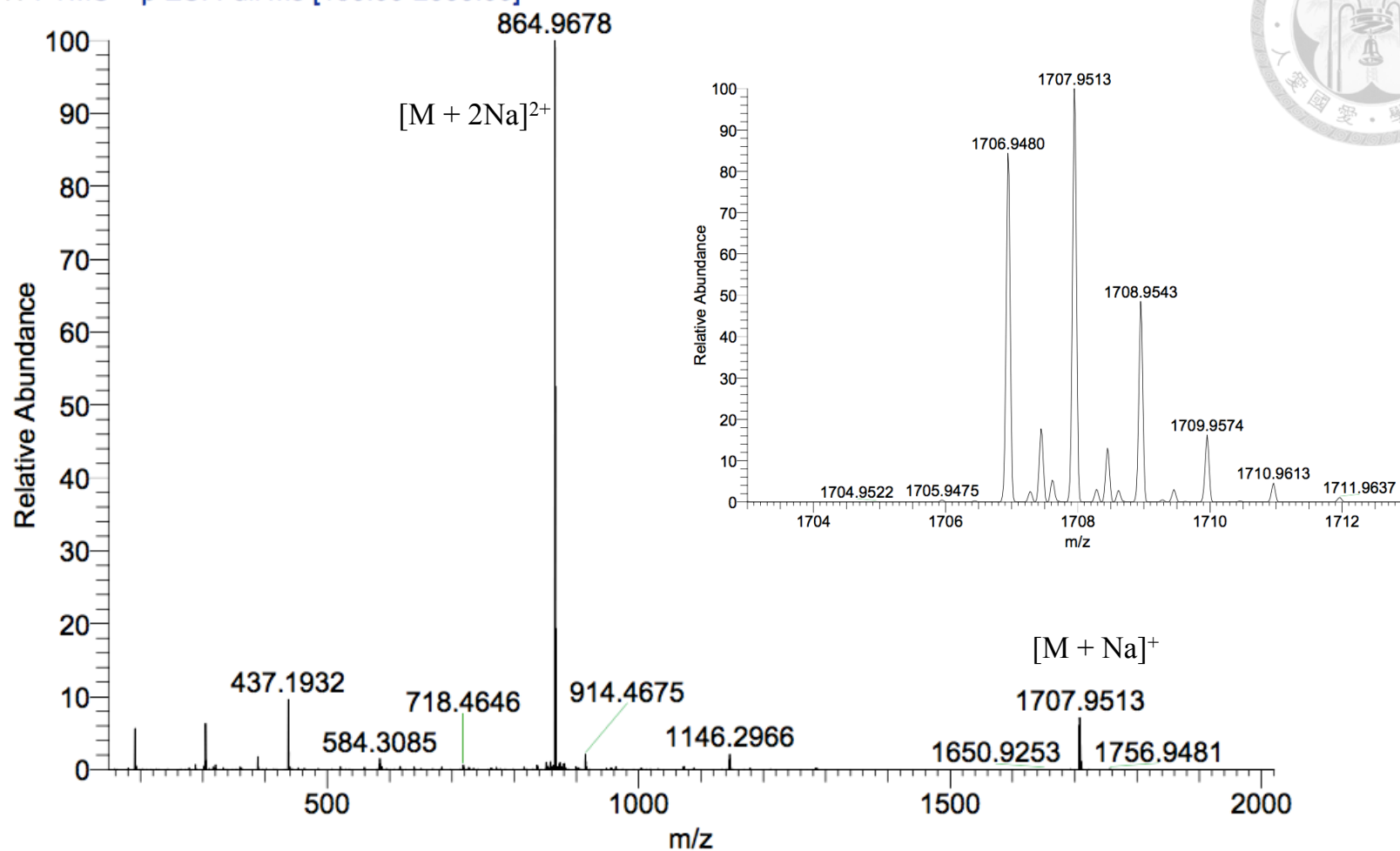


圖 12、化合物 2 之高解析電灑游離質譜。

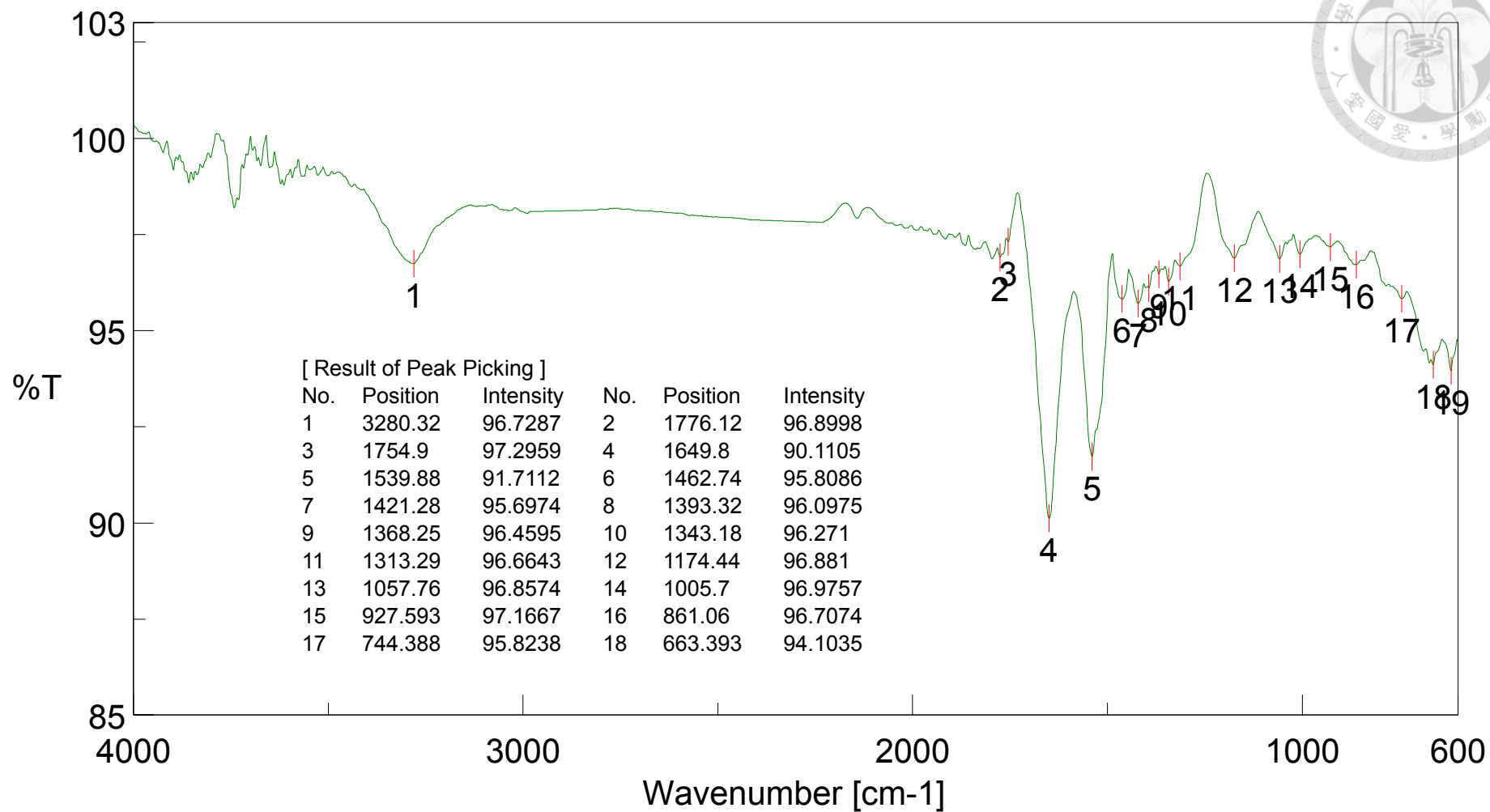


圖 13、化合物 2 之紅外光譜 (ZnSe)。

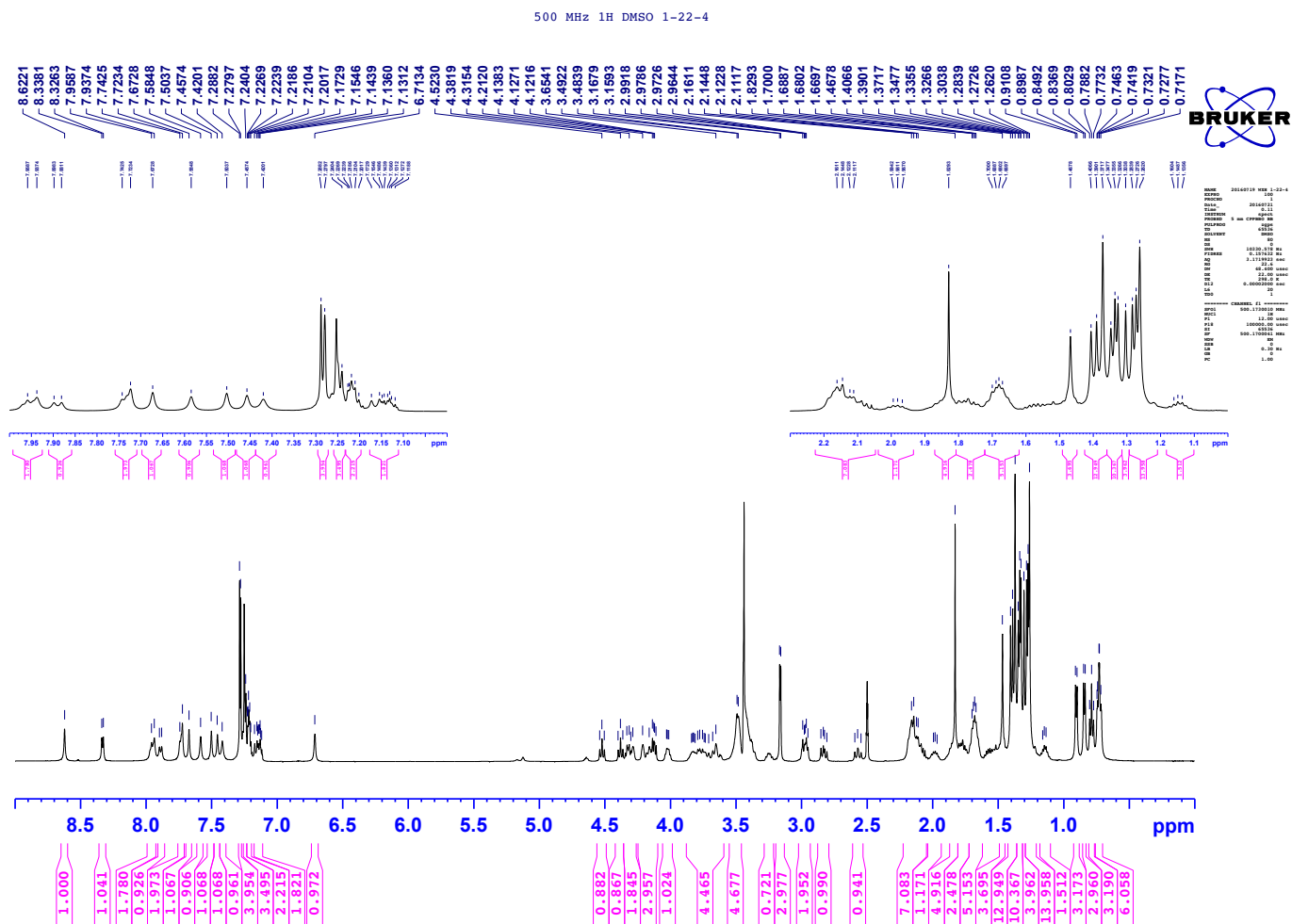


圖 14、化合物 2 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide-*d*₆, 500 MHz)。

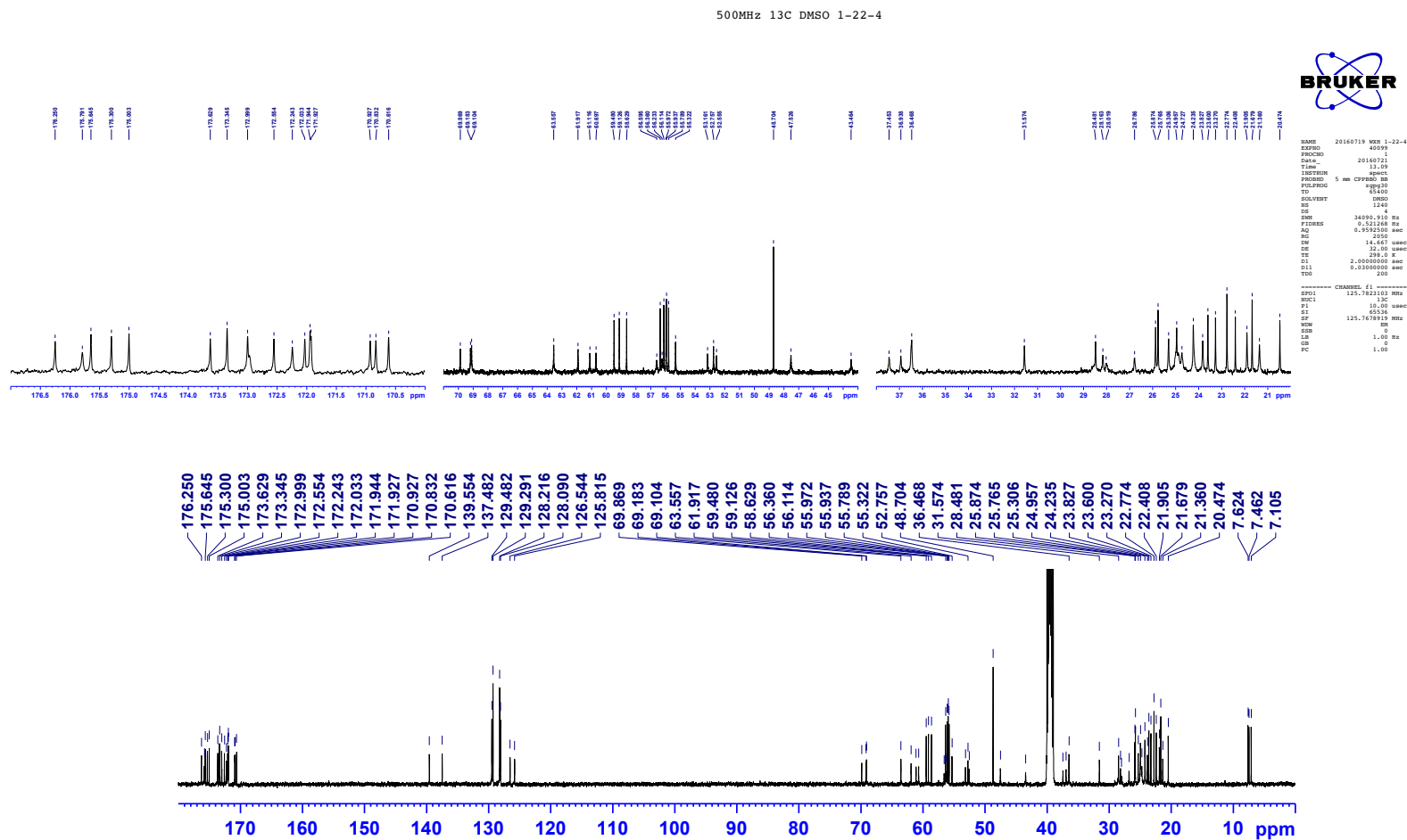


圖 15、化合物 2 之碳譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 125 MHz)。

500 MHz HSQC DMSO 1-22-4

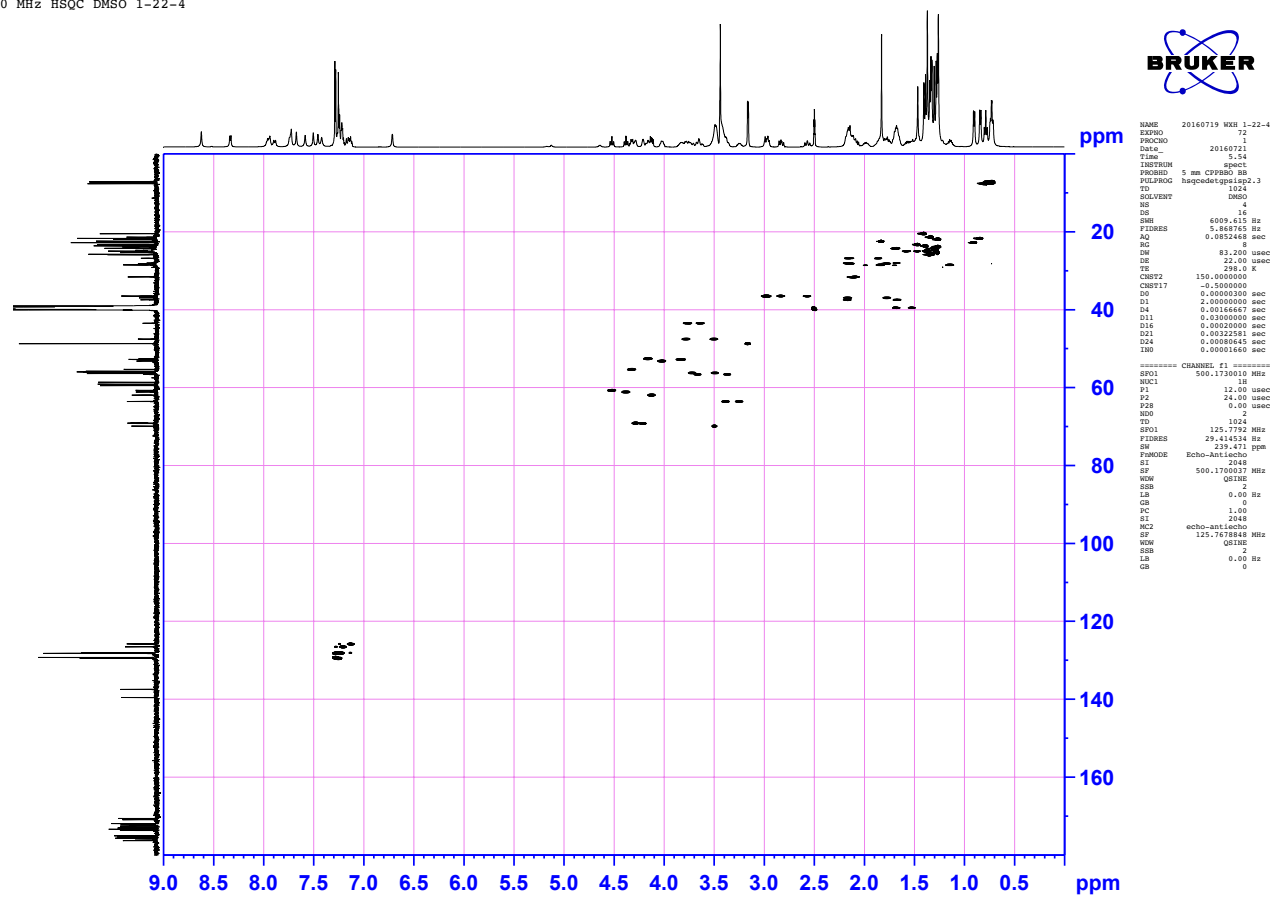


圖 16、化合物 2 之 HSQC 圖譜。

500 MHz COSY DMSO 1-22-4

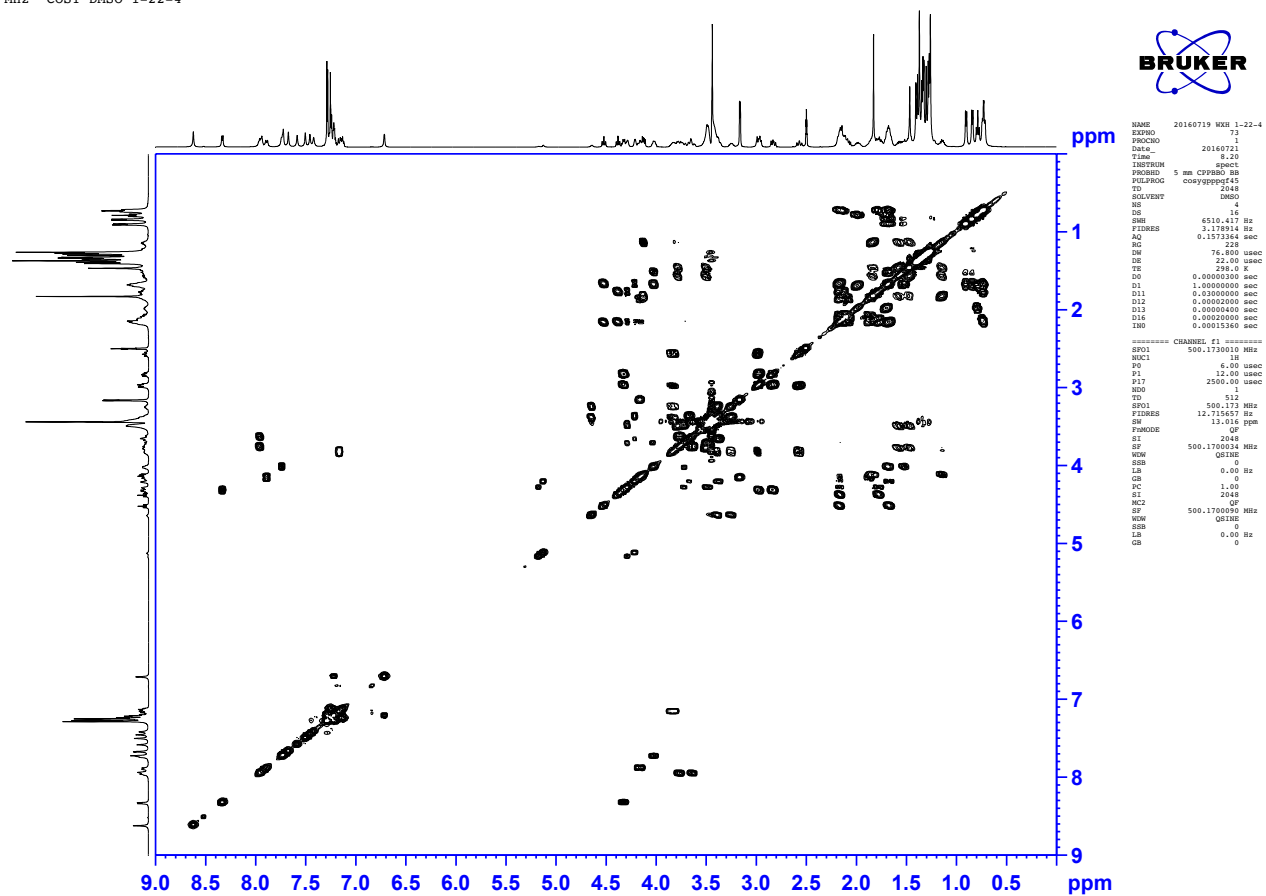


圖 17、化合物 2 之 COSY 圖譜。

500 MHz HMBC DMSO 1-22-4

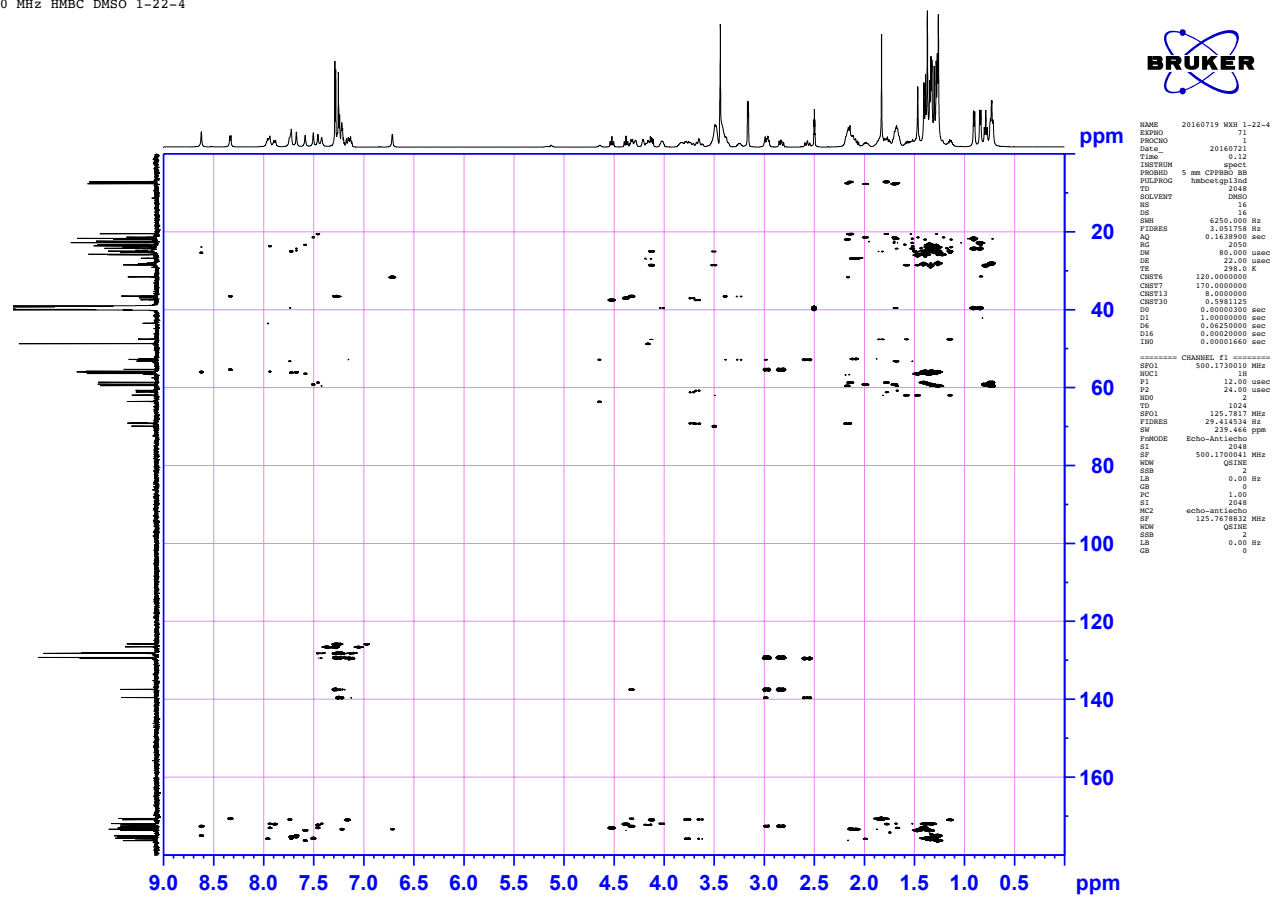
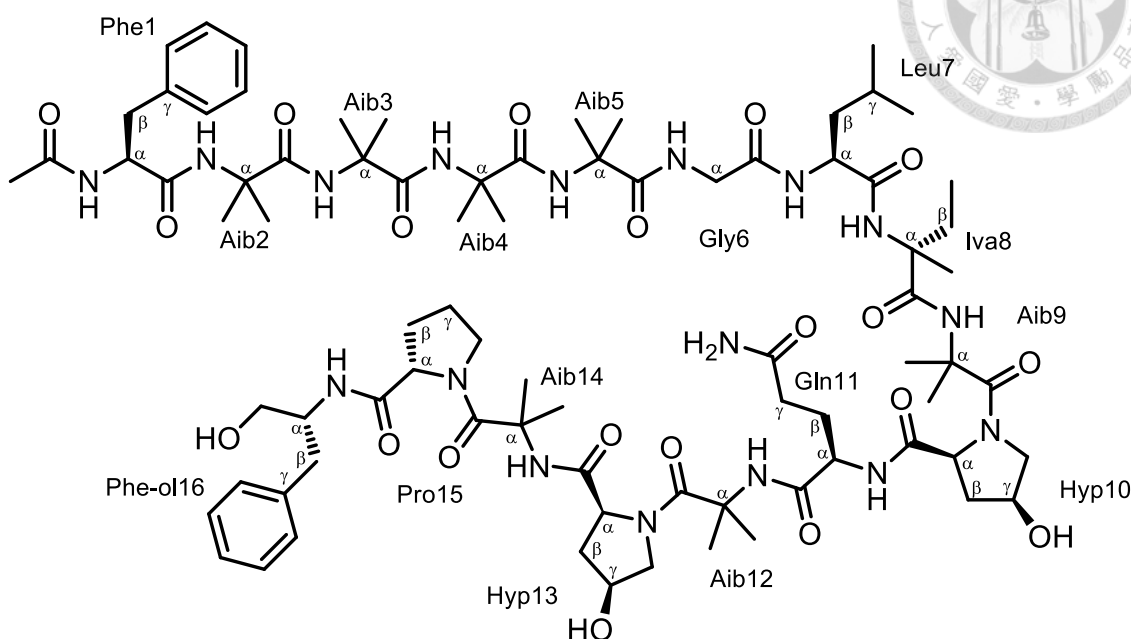


圖 18、化合物 2 之 HMBC 圖譜。



3.2.3 Cephaibol C (3) 之結構解析

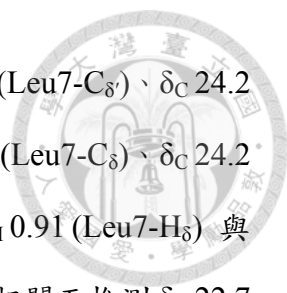


Aib = α -aminoisobutyric acid, Iva = isovaline

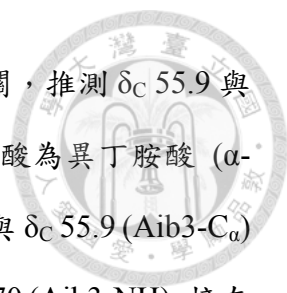
化合物 **3** 為白色粉末，比旋光度 $[\alpha]_D^{28} = +3.0$ (c 0.1, MeOH)，高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其 $[M + Na]^+$ 離子峰 m/z 1678.9180 (calcd for $C_{81}H_{125}N_{17}O_{20}Na$, 1678.9184)，推測分子式為 $C_{82}H_{127}N_{17}O_{20}$ (圖 19)。紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 (3280 cm^{-1}) 及雙鍵 (1647 cm^{-1}) 等官能基的存在 (圖 20)。

氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 500 MHz) (圖 21) 配合 HSQC (圖 23) 解析，在較高場區之訊號 δ_H 0.85 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, Leu7- H_δ) 和 0.91 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, Leu7- H_δ) 為兩組互相耦合之甲基 (methyl) 質子訊號； δ_H 0.74 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, Iva8- $H_{\gamma Me}$) 推測為甲基 (methyl) 質子訊號。

碳譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 150 MHz) (圖 22) 顯示化合物 **3** 總共有 82 個碳，其中 δ_C 180.0 ~ 170.0 有 16 個酰胺羰基 (amide carbonyl) 訊號，同時在 δ_C 60.0 ~ 40.0 區域有相對應的 C_α 的訊號，推測化合物 **3** 為多肽 (polypeptide) 結構。在 δ_C 140.0 ~ 125.0 的區域內有 δ_C 137.5 (Phe1- C_γ)、129.2 (Phe1- C_δ)、128.1 (Phe1- C_ϵ)、126.5 (Phe1- C_ξ) 與 δ_C 139.5 (Phe16- C_γ)、129.4 (Phe16- C_δ)、128.0 (Phe16- C_ϵ)、125.7 (Phe16- C_ξ) 共兩組苯環的訊號。



由 HMBC (圖 25) 實驗中顯示 δ_H 0.91 (Leu7-H δ) 與 δ_C 21.6 (Leu7-C δ')、 δ_C 24.2 (Leu7-C γ)、 δ_C 39.4 (Leu7-C β) 相關， δ_H 0.85 (Leu7-H δ') 與 δ_C 22.7 (Leu7-C δ)、 δ_C 24.2 (Leu7-C γ)、 δ_C 39.4 (Leu7-C β) 相關，配合 COSY (圖 24) 實驗 δ_H 0.91 (Leu7-H δ) 與 δ_H 1.69 (Leu7-H γ) 相關， δ_H 0.85 (Leu7-H δ') 與 δ_H 1.69 (Leu7-H γ) 相關而推測 δ_C 22.7 (Leu7-C δ) 和 δ_C 21.6 (Leu7-C δ') 接在 δ_C 24.2 (Leu7-C γ) 上。 δ_H 1.69 (Leu7-H γ) 與 δ_H 1.53 (Leu7-H β) 相關，推測 δ_C 24.2 (Leu7-C γ) 接在 δ_C 39.4 (Leu7-C β) 上。 δ_H 1.53 (Leu7-H β) 與 δ_H 4.03 (Leu7-H α) 相關， δ_H 4.03 (Leu7-H α) 與 δ_H 7.73 (Leu7-NH) 相關，而 HMBC 實驗顯示 δ_H 1.53 (Leu7-H β) 與 δ_C 53.1 (Leu7-C α)、 δ_C 24.2 (Leu7-C γ)、 δ_C 171.9 (Leu7-C') 相關，推測 δ_C 39.4 (Leu7-C β) 接在 δ_C 53.1 (Leu7-C α) 上，羰基 (carbonyl) 在 δ_C 171.9 (Leu7-C')，胺基 (amine) 在 δ_H 7.73 (Leu7-NH)，經比對得知此胺基酸為白胺酸 (Leucine)。 δ_H 7.73 (Leu7-NH) 與 δ_C 170.7 (Gly6-C') 相關， δ_H 3.65 (Gly6-H α) 與 δ_C 170.7 (Gly6-C') 相關，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 7.97 (Gly6-NH) 與 δ_H 3.65 (Gly6-H α) 相關，經比對得知此胺基酸為甘胺酸 (Glycine)。 δ_H 7.97 (Gly6-NH) 與 δ_C 175.6 (Aib5-C') 相關，推測 δ_H 7.97 (Gly6-NH) 接在 δ_C 175.6 (Aib5-C') 上。 δ_H 1.41 (Aib5-H β_{Me1}) 與 δ_C 55.9 (Aib5-C α)、 δ_C 175.6 (Aib5-C') 相關， δ_H 1.37 (Aib5-H β_{Me2}) 與 δ_C 55.9 (Aib5-C α)、 δ_C 175.6 (Aib5-C') 相關，推測 δ_C 55.9 與 δ_C 24.9、 δ_C 24.6 和 δ_C 175.6 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_H 7.57 (Aib5-NH) 上，與 δ_C 55.9 (Aib5-C α) 相關。 δ_H 7.57 (Aib5-NH) 與 δ_C 175.7 (Aib4-C') 相關，推測 δ_H 7.57 (Aib5-NH) 接在 δ_C 175.4 (Aib4-C') 上； δ_H 1.38 (Aib4-H β_{Me1}) 與 δ_C 55.9 (Aib4-C α)、 δ_C 175.7 (Aib4-C') 相關， δ_H 1.38 (Aib4-H β_{Me2}) 與 δ_C 55.9 (Aib4-C α)、 δ_C 175.7 (Aib4-C') 相關，推測 δ_C 55.9 與 δ_C 24.9、 δ_C 24.4 和 δ_C 175.7 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_H 7.69 (Aib4-NH) 上，與 δ_C 55.9 (Aib4-C α) 相關。 δ_H 7.69 (Aib4-NH) 與 δ_C 175.2 (Aib3-C') 相關，推測 δ_H 7.69 (Aib4-NH) 接在 δ_C 175.2 (Aib3-C') 上； δ_H 1.32 (Aib3-H β_{Me1}) 與 δ_C 55.9 (Aib3-C α) 和 δ_C 175.2 (Aib3-C') 相關， δ_H



1.29 (Aib3-H_{βMe2}) 與 δ_C 55.9 (Aib3-C_α) 和 δ_C 175.2 (Aib3-C') 相關，推測 δ_C 55.9 與 δ_C 24.1、δ_C 24.6 和 δ_C 175.2 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α-aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_H 7.70 (Aib3-NH) 上，與 δ_C 55.9 (Aib3-C_α) 相關。δ_H 7.70 (Aib3-NH) 與 δ_C 175.1 (Aib2-C') 相關，推測 δ_H 7.70 (Aib3-NH) 接在 δ_C 175.1 (Aib2-C') 上；δ_H 1.28 (Aib2-H_{βMe1}) 與 δ_C 55.8 (Aib2-C_α) 和 δ_C 175.1 (Aib2-C') 相關，δ_H 1.27 (Aib2-H_{βMe2}) 與 δ_C 55.8 (Aib2-C_α) 和 δ_C 175.1 (Aib2-C') 相關，推測 δ_C 55.8 與 δ_C 23.6、δ_C 25.4 和 δ_C 175.1 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α-aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_H 8.68 (Aib2-NH) 上，與 δ_C 55.8 (Aib2-C_α) 相關。δ_H 8.68 (Aib2-NH) 與 δ_C 172.6 (Phe1-C') 相關，推測 δ_H 8.68 (Aib2-NH) 接在 δ_C 172.6 (Phe1-C') 上。δ_H 2.84 (Phe1-H_β) 與 δ_C 55.3 (Phe1-C_α)、δ_C 137.5 (Phe1-C_γ) 和 δ_C 172.6 (Phe1-C') 相關；δ_H 4.34 (Phe1-H_α) 與 δ_C 36.4 (Phe1-C_β) 和 δ_C 137.5 (Phe1-C_γ) 相關，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 4.34 (Phe1-H_α) 與 δ_H 2.84 (Phe1-H_β) 和 δ_H 8.36 (Phe1-NH) 相關，推測 δ_C 55.3 (Phe1-C_α) 與 δ_C 36.4 (Phe1-C_β) 和 δ_C 137.5 (Phe1-C_γ) 有連接關係，δ_C 137.5 (Phe1-C_γ) 與 δ_C 129.2 (Phe1-C_δ)、δ_C 128.1 (Phe1-C_ε) 和 δ_C 126.5 (Phe1-C_ξ) 為相連的苯環質子訊號，經比對得知此胺基酸為苯丙胺酸 (Phenylalanine)，胺基 (amine) 在 δ_H 8.36 (Phe1-NH) 上，與 δ_C 55.3 (Phe1-C_α) 相關。δ_H 8.36 (Phe1-NH) 與 δ_C 170.5 (Ac-C') 相關，δ_H 1.83 (Ac-H_{Me}) 與 δ_C 170.5 (Ac-C') 相關，此官能基為乙醯基 (acetyl)，與苯丙胺酸 (Phenylalanine) 相連。目前能推測化合物片段含七個胺基酸組成：Ac-Phe-Aib-Aib-Aib-Iva-Gly-Leu。

根據 HMBC 實驗顯示甲基 (methyl) δ_H 0.73 (Iva8-H_{γMe}) 與 δ_C 27.9 (Iva8-C_β)、δ_C 59.4 (Iva8-C_α) 相關，δ_H 1.29 (Iva8-H_{βMe}) 與 δ_C 27.9 (Iva8-C_β)、δ_C 59.4 (Iva8-C_α) 相關，推測 δ_C 7.3 (Iva8-C_{γMe}) 與 δ_C 27.9 (Iva8-C_β)、δ_C 59.4 (Iva8-C_α) 和 δ_C 22.0 (Iva8-C_{βMe}) 有連接關係，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 0.73 (Iva8-H_{γMe}) 與 δ_H 1.68 (Iva8-H_β) 相關，推測 δ_C 7.3 (Iva8-C_{γMe}) 接在 δ_C 27.9 (Iva8-C_β) 上，δ_H 7.44 (Iva8-NH) 與 δ_C 171.9 (Leu7-C') 相關，推測 δ_H 7.44 (Iva8-NH) 接在 δ_C 171.9 (Leu7-C') 上。經比對

得知此胺基酸為異纈胺酸 (Isovaline)，羰基在 δ_C 176.2 (Iva8-C')。 δ_H 7.56 (Aib9-NH) 與 δ_C 176.2 (Iva8-C') 和 δ_C 56.3 (Aib9-C $_{\alpha}$) 相關，推測 δ_H 7.56 (Aib9-NH) 接在 δ_C 176.2 (Iva8-C') 上。 δ_H 1.48 (Aib9-H $_{\beta Me1}$) 與 δ_C 56.3 (Aib9-C $_{\alpha}$) 和 δ_C 173.7 (Aib9-C') 相關， δ_H 1.36 (Aib9-H $_{\beta Me2}$) 與 δ_C 56.3 (Aib9-C $_{\alpha}$) 和 δ_C 173.6 (Aib9-C') 相關，推測 δ_C 56.3 與 δ_C 23.4、 δ_C 25.5 和 δ_C 173.7 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_H 7.56 (Aib9-NH) 上。此胺基酸片段為：Iva-Aib。

COSY 實驗顯示 δ_H 4.39 (Hyp10-H $_{\alpha}$) 與 δ_H 1.77 (Hyp10-H $_{\beta}$)、 δ_H 4.22 (Hyp10-H $_{\gamma}$)、 δ_H 3.50 (Hyp10-H $_{\delta}$) 和 δ_H 5.15 (Hyp10-OH) 相關，配合 HMBC 實驗顯示 δ_H 3.50 (Hyp10-H $_{\delta}$) 與 δ_C 69.1 (Hyp10-C $_{\gamma}$) 相關； δ_H 1.77 (Hyp10-H $_{\beta}$) 與 δ_C 69.1 (Hyp10-C $_{\gamma}$)、 δ_C 61.2 (Hyp10-C $_{\alpha}$) 相關，推測 δ_C 61.2 (Hyp10-C $_{\alpha}$) 與 δ_C 36.8 (Hyp10-C $_{\beta}$)、 δ_C 69.1 (Hyp10-C $_{\gamma}$) 和 δ_C 56.3 (Hyp10-C $_{\delta}$) 有連接關係， δ_C 56.3 (Hyp10-C $_{\delta}$) 旁邊可能接有異原子，同時 HMBC 實驗顯示 δ_H 4.39 (Hyp10-H $_{\alpha}$) 與 δ_C 171.9 (Hyp10-C') 相關，經比對得知此胺基酸為羥脯胺酸 (Hydroxyproline)。 δ_H 7.81 (Gln11-NH) 與 δ_C 171.9 (Hyp10-C') 和 δ_C 51.9 (Gln11-C $_{\alpha}$) 相關，推測 δ_H 7.81 (Gln11-NH) 接在 δ_C 171.9 (Hyp10-C') 上； δ_H 4.23 (Gln11-H $_{\alpha}$) 與 δ_C 172.1 (Gln11-C') 相關； δ_H 1.82 (Gln11-H $_{\beta}$) 與 δ_C 51.9 (Gln11-C $_{\alpha}$)、 δ_C 31.3 (Gln11-C $_{\gamma}$) 相關； δ_H 2.09 (Gln11-H $_{\gamma}$) 與 δ_C 26.3 (Gln11-C $_{\beta}$) 和 δ_C 173.3 (Gln11-C $_{\delta}$) 相關； δ_H 6.69 (Gln11-NH $_2$) 與 δ_C 173.3 (Gln11-C $_{\delta}$) 和 δ_H 2.09 (Gln11-H $_{\gamma}$) 相關，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 7.81 (Gln11-NH) 與 δ_H 4.23 (Gln11-H $_{\alpha}$)、 δ_H 1.82 (Gln11-H $_{\beta}$) 和 δ_H 2.09 (Gln11-H $_{\gamma}$) 相關，推測 δ_C 51.9 (Gln11-C $_{\alpha}$) 與 δ_C 26.3 (Gln11-C $_{\beta}$)、 δ_C 31.3 (Gln11-C $_{\gamma}$) 與 δ_C 173.3 (Gln11-C $_{\delta}$) 的連接關係，經比對得知此胺基酸為麩醯胺酸 (Glutamine)，羰基 (carbonyl) 在 δ_C 172.1 (Gln11-C') 上。 δ_H 7.75 (Aib12-NH) 與 δ_C 172.1 (Gln11-C') 相關，推測 δ_H 7.75 (Aib12-NH) 接在 δ_C 172.1 (Gln11-C') 上。 δ_H 1.50 (Aib12-H $_{\beta Me1}$) 與 δ_C 56.0 (Aib12-C $_{\alpha}$)、 δ_C 172.3 (Aib12-C') 相關， δ_H 1.38 (Aib12-H $_{\beta Me2}$) 與 δ_C 56.0 (Aib12-C $_{\alpha}$)、 δ_C 172.3



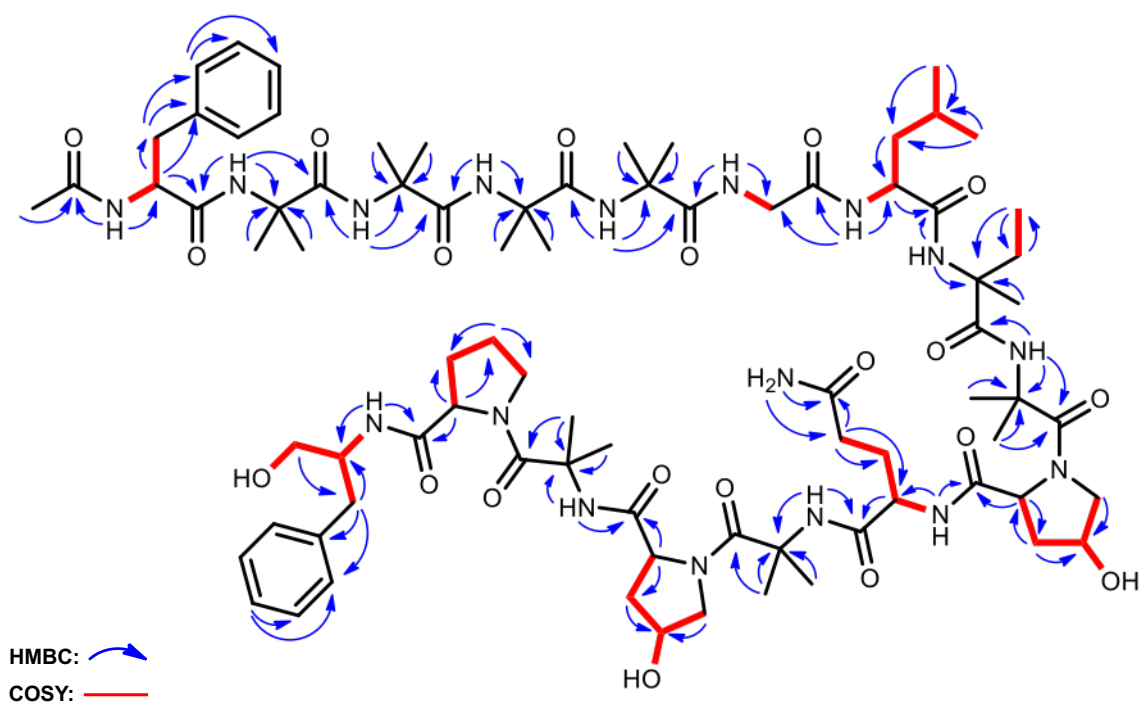
(Aib12-C') 相關，推測 δ_C 56.0 與 δ_C 23.8、 δ_C 25.8 和 δ_C 172.3 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，羰基在 δ_C 172.3 (Aib12-C')。此胺基酸片段為：Hyp-Gln- Aib。

COSY 實驗顯示 δ_H 4.51 (Hyp13-H $_{\alpha}$) 與 δ_H 1.70 (Hyp13-H $_{\beta}$)、 δ_H 4.22 (Hyp13-H $_{\gamma}$)、 δ_H 3.35 (Hyp13-H $_{\delta}$) 和 δ_H 5.11 (Hyp13-OH) 相關，配合 HMBC 實驗顯示 δ_H 3.35 (Hyp13-H $_{\delta}$) 與 δ_C 69.0 (Hyp13-C $_{\gamma}$) 相關； δ_H 1.70 (Hyp13-H $_{\beta}$) 與 δ_C 69.0 (Hyp13-C $_{\gamma}$)、 δ_C 60.7 (Hyp13-C $_{\alpha}$) 相關，推測 δ_C 60.7 (Hyp13-C $_{\alpha}$) 與 δ_C 37.4 (Hyp13-C $_{\beta}$)、 δ_C 69.0 (Hyp13-C $_{\gamma}$) 和 δ_C 56.5 (Hyp13-C $_{\delta}$) 有連接關係， δ_C 56.5 (Hyp13-C $_{\delta}$) 旁邊可能接有異原子，同時 HMBC 實驗顯示 δ_H 4.51 (Hyp13-H $_{\alpha}$) 與 δ_C 172.8 (Hyp13-C') 相關，經比對得知此胺基酸為羥脯胺酸 (Hydroxyproline)。 δ_H 7.95 (Aib14-NH) 與 δ_C 172.8 (Hyp13-C') 和 δ_C 55.7 (Aib14-C $_{\alpha}$) 相關，推測 δ_H 7.95 (Aib14-NH) 接在 δ_C 172.8 (Hyp13-C') 上； δ_H 1.41 (Aib14-H $_{\beta\text{Me}1}$) 與 δ_C 55.7 (Aib14-C $_{\alpha}$)、 δ_C 171.9 (Aib14-C') 相關， δ_H 1.34 (Aib14-H $_{\beta\text{Me}2}$) 與 δ_C 55.7 (Aib14-C $_{\alpha}$)、 δ_C 171.9 (Aib14-C') 相關，推測 δ_C 55.7 與 δ_C 23.5、 δ_C 25.6 和 δ_C 171.9 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，羰基 (carbonyl) 在 δ_C 171.9 (Aib14-C') 上，與 δ_C 55.7 (Aib14-C $_{\alpha}$) 相關。此胺基酸片段為：Hyp-Aib。

COSY 實驗顯示 δ_H 4.13 (Pro15-H $_{\alpha}$) 與 δ_H 1.17 (Pro15-H $_{\beta}$)、 δ_H 1.50 (Pro15-H $_{\gamma}$) 和 δ_H 3.53 (Pro15-H $_{\delta}$) 相關，配合 HMBC 實驗顯示 δ_H 1.14 (Pro15-H $_{\beta}$) 與 δ_C 47.5 (Pro15-C $_{\delta}$) 相關； δ_H 4.13 (Pro15-H $_{\alpha}$) 與 δ_C 28.5 (Pro15-C $_{\beta}$) 和 δ_C 24.9 (Pro15-C $_{\gamma}$) 相關，推測 δ_C 61.9 (Pro15-C $_{\alpha}$) 與 δ_C 28.5 (Pro15-C $_{\beta}$)、 δ_C 24.9 (Pro15-C $_{\gamma}$) 和 δ_C 47.5 (Pro15-C $_{\delta}$) 有連接關係， δ_C 47.5 (Pro15-C $_{\delta}$) 旁邊可能接有異原子，同時 HMBC 實驗顯示 δ_H 4.13 (Pro15-H $_{\alpha}$) 與 δ_C 170.8 (Pro15-C') 相關，經比對得知此胺基酸為脯胺酸 (Proline)。 δ_H 7.15 (Phe16-NH) 與 δ_C 170.8 (Pro15-C') 和 δ_C 52.7 (Phe16-C $_{\alpha}$) 相關，推測 δ_H 7.15 (Phe16-NH) 接在 δ_C 170.8 (Pro15-C') 上； δ_H 2.58 (Phe16-H $_{\beta}$) 與 δ_C 52.7 (Phe16-C $_{\alpha}$)、 δ_C 139.5 (Phe16-C $_{\gamma}$) 和 δ_C 129.4 (Phe16-C $_{\delta}$) 相關； δ_H 7.14 (Phe16-

H_ϵ) 與 δ_C 128.0 (Phe16- C_ϵ) 和 δ_C 129.4 (Phe1- C_δ) 相關，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 7.15 (Phe16-NH) 與 δ_H 3.84 (Phe16- H_α)、 δ_H 2.58 (Phe16- H_β)、 δ_H 3.26 (Phe16- CH_2) 與 δ_H 4.57 (Phe16-OH) 相關，推測 δ_C 52.7 (Phe16- C_α) 與 δ_C 36.5 (Phe16- C_β) 和 δ_C 139.5 (Phe16- C_γ) 和 δ_C 63.5 (Phe16- CH_2) 有連接關係， δ_C 139.5 (Phe16- C_γ) 與 δ_C 129.4 (Phe16- C_δ)、 δ_C 128.0 (Phe16- C_ϵ) 和 δ_C 125.7 (Phe16- C_ϵ) 為相連的苯環質子訊號，經比對得知此胺基酸為 Phenylalaninol。此胺基酸片段為：Pro-Pheol。

最後由 HMBC 連結此 16 個胺基酸的結構如圖所示，將以上解析所得數據詳列於表 7，並輔以高解析電灑電離質譜佐證胺基酸片段結構，再比對文獻確認化合物的結構為已知物 cephaibol C [147]，其立體組態的解析上經由比對文獻 [148]，確認各胺基酸的相對立體。



HMBC and COSY correlations of **3**

表 7、化合物 **3** 之氫、碳譜數據。 [δ in ppm, mult. (J in Hz)]

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$	
Acetyl (Ac)	CH ₃	22.4	1.83 (3H, s)	
	C'	170.5		
Phenylalanine (Phe1)	NH		8.36 (1H, d, 5.9)	
	C _{α} (CH)	55.3	4.34 (1H, m)	
	C _{β} (CH ₂)		36.4	2.84 (1H, m)
				2.97 (1H, m)
	C _{γ} (C)	137.5		
	C _{δ} (CH)	129.2	7.29 (1H, m)	
	C _{ϵ} (CH)	128.1	7.29 (1H, m)	
	C _{ξ} (CH)	126.5	7.22 (1H, m)	
C' (C = O)	172.6			
α -Aminoisobutyric acid (Aib2)	NH		8.68 (1H, s)	
	C _{α} (C)	55.8		
	C _{βMe1} (CH ₃)	23.6	1.28 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	25.4	1.27 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.1		
α -Aminoisobutyric acid (Aib3)	NH		7.70 (1H, s)	
	C _{α} (C)	55.9		
	C _{βMe1} (CH ₃)	24.1	1.32 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	24.6	1.29 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.2		
α -Aminoisobutyric acid (Aib4)	NH		7.69 (1H, s)	
	C _{α} (C)	55.9		
	C _{βMe1} (CH ₃)	24.4	1.38 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	24.9	1.38 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.7		
α -Aminoisobutyric acid (Aib5)	NH		7.57 (1H, s)	
	C _{α} (C)	55.9		
	C _{βMe1} (CH ₃)	24.6	1.37 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	24.9	1.41 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.6		
Glycine (Gly6)	NH		7.97 (1H, m)	
	C _{α} (CH ₂)	43.5	3.65 (1H, m) 3.75 (1H, m)	

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$	
	C' (C = O)	170.9		
Leucine (Leu7)	NH		7.73 (1H, m)	
	C $_{\alpha}$ (CH)	53.1	4.03 (1H, m)	
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)		39.4	1.53 (1H, m)
				1.69 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH)	24.2	1.69 (1H, m)	
	C $_{\delta}$ (CH $_3$)	22.7	0.91 (3H, d, 6.1)	
	C $_{\delta}'$ (CH $_3$)	21.6	0.85 (3H, d, 6.1)	
C' (C = O)	171.9			
Isovaline (Iva8)	NH		7.44 (1H, s)	
	C $_{\alpha}$ (C)	59.4		
	C $_{\beta\text{Me}}$ (CH $_3$)	22.0	1.29 (3H, s)	
	C $_{\gamma\text{Me}}$ (CH $_3$)	7.3	0.73 (3H, m)	
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)		27.9	1.68 (1H, m)
				2.19 (1H, m)
C' (C = O)	176.2			
α -Aminoisobutyric acid (Aib9)	NH		7.56 (1H, s)	
	C $_{\alpha}$ (C)	56.3		
	C $_{\beta\text{Me}1}$ (CH $_3$)	23.4	1.48 (3H, s)	
	C $_{\beta\text{Me}2}$ (CH $_3$)	25.5	1.36 (3H, s)	
	C' (C = O)	173.7		
Hydroxyproline (Hyp10)	C $_{\alpha}$ (CH)	61.2	4.39 (1H, m)	
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)		36.8	1.77 (1H, m)
				2.16 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH)	69.1	4.22 (1H, m)	
	C $_{\delta}$ (CH $_2$)		56.3	3.50 (1H, m)
				3.70 (1H, m)
C' (C = O)	171.9			
	γ -OH		5.15 (1H, m)	
Glutamine (Gln11)	NH		7.81 (1H, d, 8.9)	
	C $_{\alpha}$ (CH)	51.9	4.23 (1H, m)	
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)		26.3	1.82 (1H, m)
				2.19 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH $_2$)	31.3	2.09 (1H, m)	
		2.19 (1H, m)		
	C $_{\delta}$ (C = O)	173.3		

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$
	$\varepsilon\text{-NH}_2$		6.69 (1H, s) 7.19 (1H, m)
	C' (C = O)	172.3	
α -Aminoisobutyric acid (Aib12)	NH		7.75 (1H, s)
	C $_{\alpha}$ (C)	56.0	
	C $_{\beta\text{Me}1}$ (CH $_3$)	23.8	1.50 (3H, s)
	C $_{\beta\text{Me}2}$ (CH $_3$)	25.8	1.38 (3H, s)
	C' (C = O)	172.3	
Hydroxyproline (Hyp13)	C $_{\alpha}$ (CH)	60.7	4.51 (1H, t, 8.8)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	37.4	1.70 (1H, m)
			2.16 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH)	69.0	4.22 (1H, m)
	C $_{\delta}$ (CH $_2$)	56.5	3.35 (1H, m)
			3.67 (1H, m)
C'	172.8		
γ -OH		5.11 (1H, m)	
α -Aminoisobutyric acid (Aib14)	NH		7.95 (1H, s)
	C $_{\alpha}$ (C)	55.7	
	C $_{\beta\text{Me}1}$ (CH $_3$)	23.5	1.41 (3H, s)
	C $_{\beta\text{Me}2}$ (CH $_3$)	25.6	1.34 (3H, s)
	C' (C = O)	171.9	
Proline (Pro15)	C $_{\alpha}$ (CH)	61.9	4.13 (1H, m)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	28.5	1.17 (1H, m)
			1.85 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH $_2$)	24.9	1.50 (1H, m)
			1.58 (1H, m)
C $_{\delta}$ (CH $_2$)	47.5	3.53 (1H, m) 3.80 (1H, m)	
C' (C = O)	170.8		
Phenylalaninol (Phe-ol16)	NH		7.15 (1H, m)
	C $_{\alpha}$ (CH)	52.7	3.84 (1H, m)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	36.5	2.58 (1H, m)
			2.97 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (C)	139.5	
	C $_{\delta}$ (CH)	129.4	7.25 (1H, m)
C $_{\varepsilon}$ (CH)	128.0	7.25 (1H, m)	

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$
	C_ξ (CH)	125.7	7.14 (1H, m)
Hydroxy (-ol)	CH_2	63.5	3.26 (1H, m)
	OH		4.57 (1H, m)

^aMeasured in dimethyl sulfoxide- d_6 (125 MHz); ^bMeasured in dimethyl sulfoxide- d_6 (500 MHz).

^cSignals without multiplicity were overlapped, and picked from COSY or HMBC spectra.

WXH1-24-1-10ppm #13-39 RT: 0.29-0.87 AV: 27 NL: 1.38E9
T: FTMS + p ESI Full ms [150.00-2000.00]

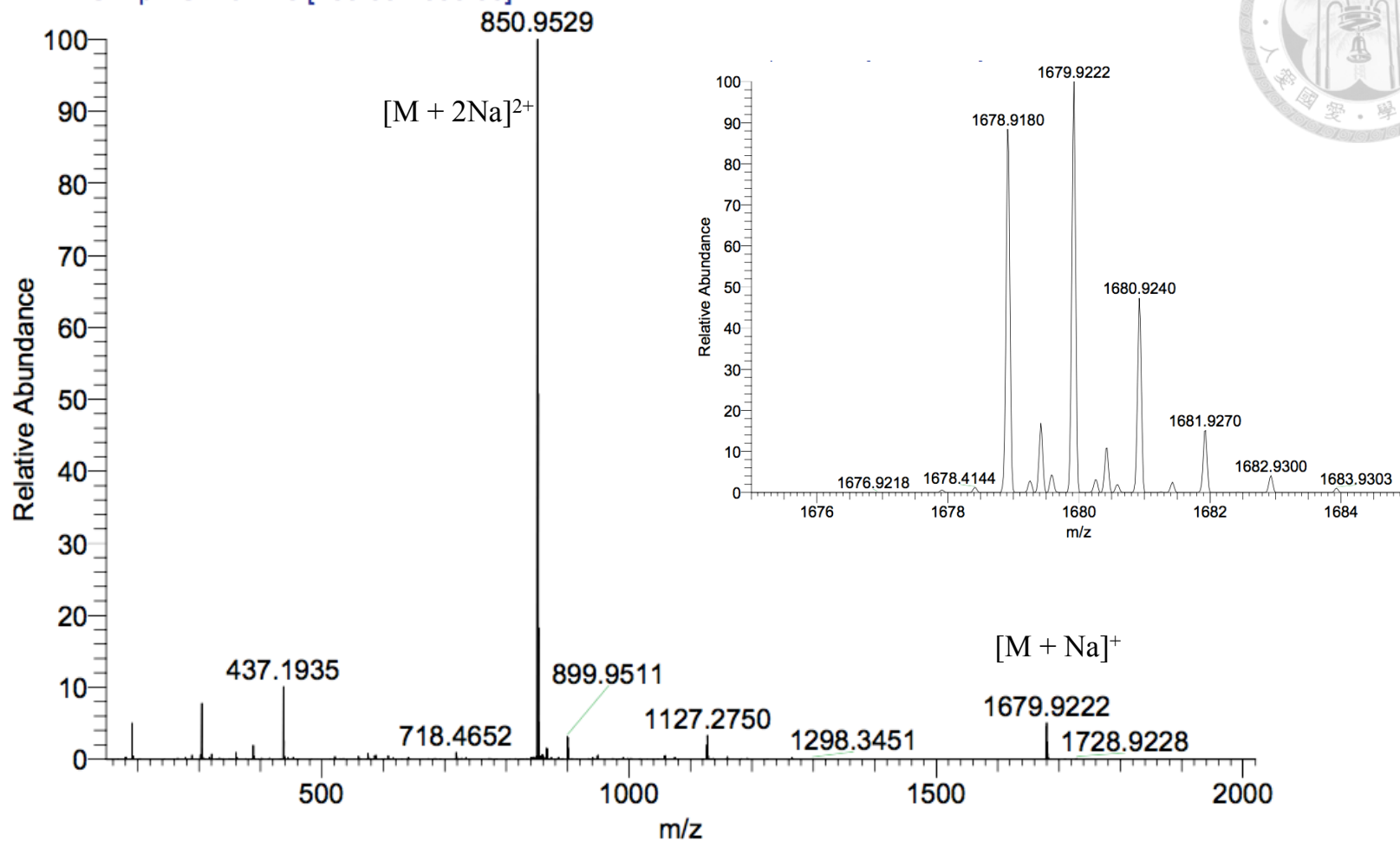


圖 19、化合物 3 之高解析電灑游離質譜。

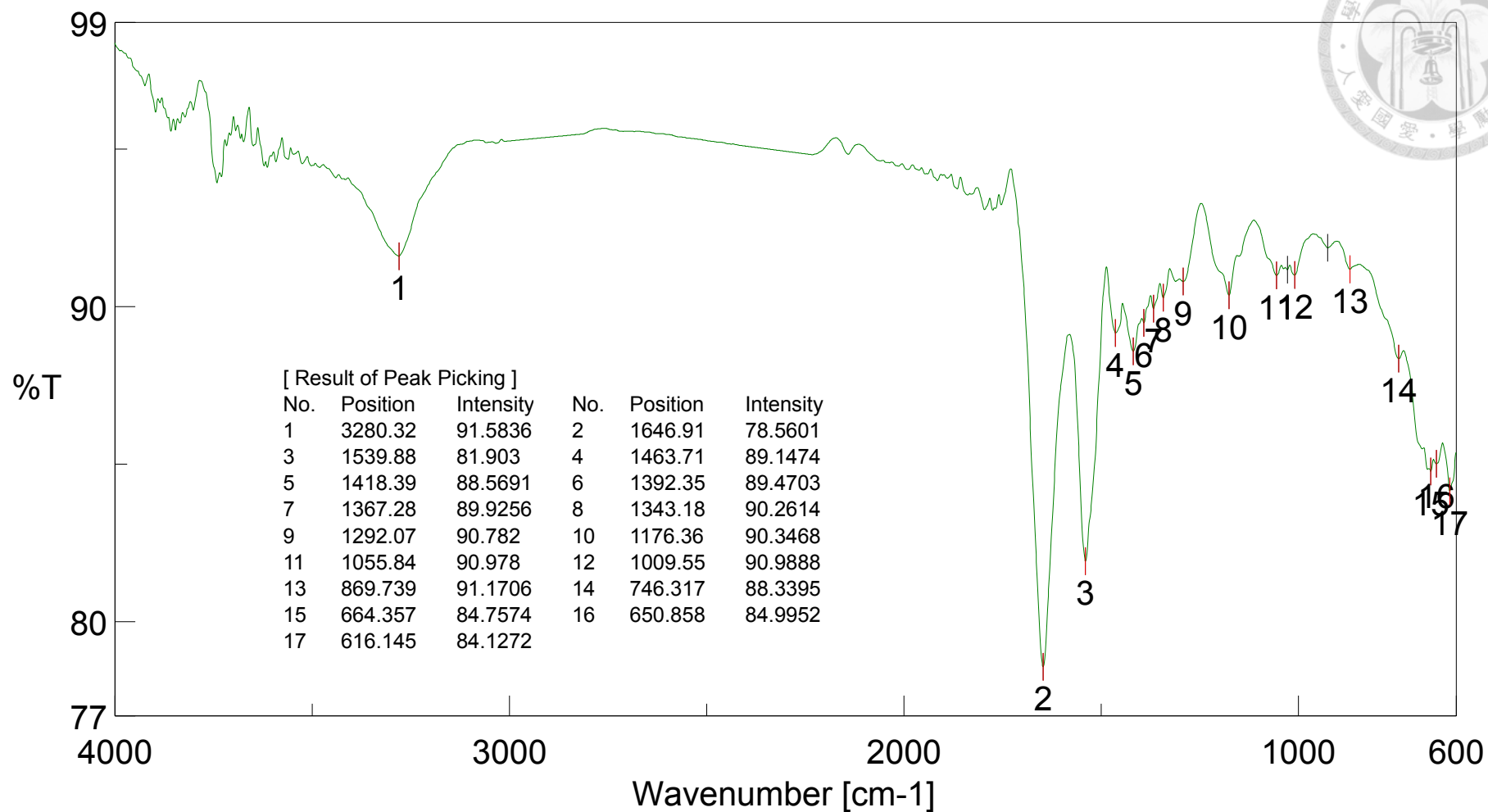


圖 20、化合物 3 之紅外光譜 (ZnSe)。

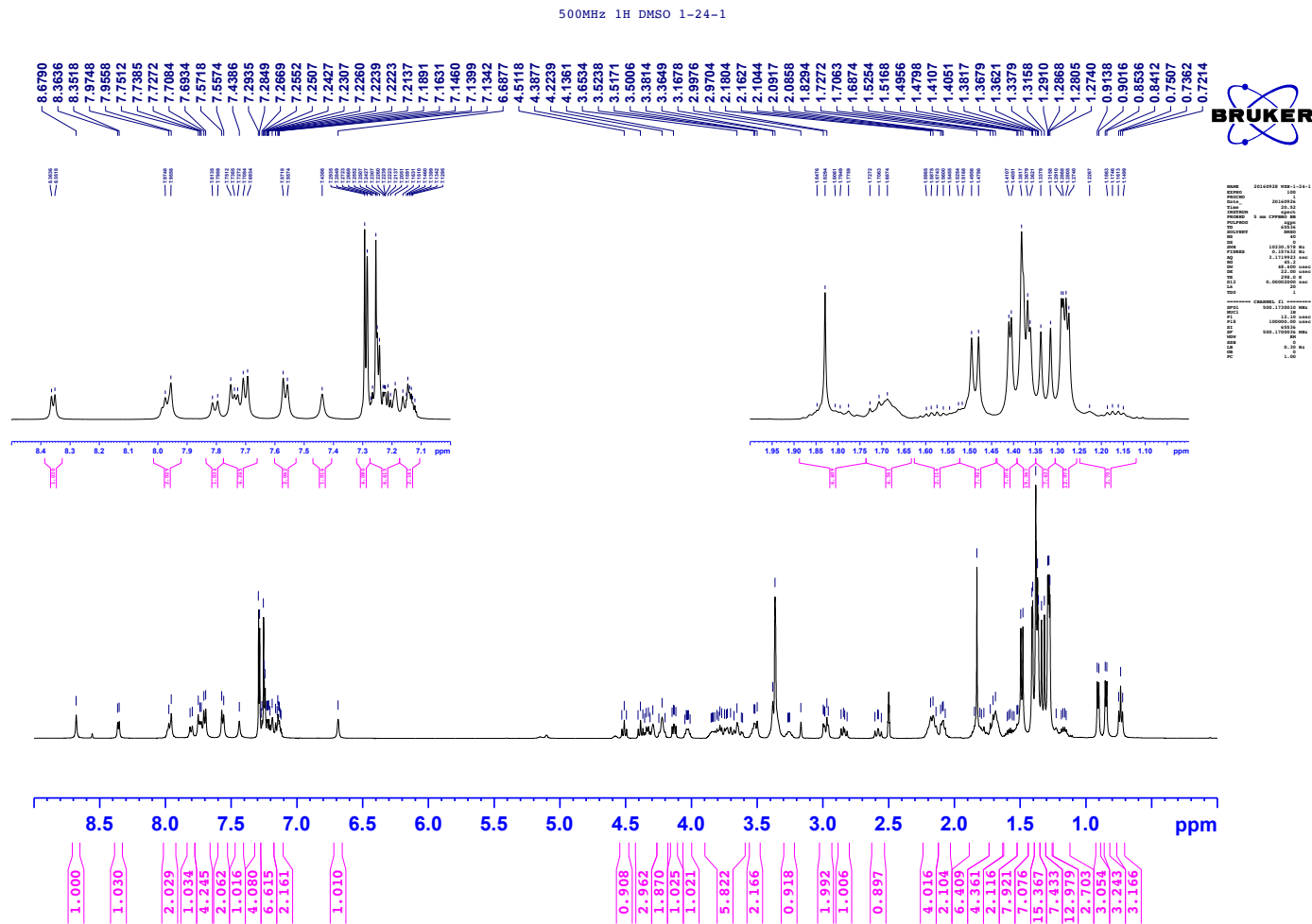


圖 21、化合物 3 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 500 MHz)。

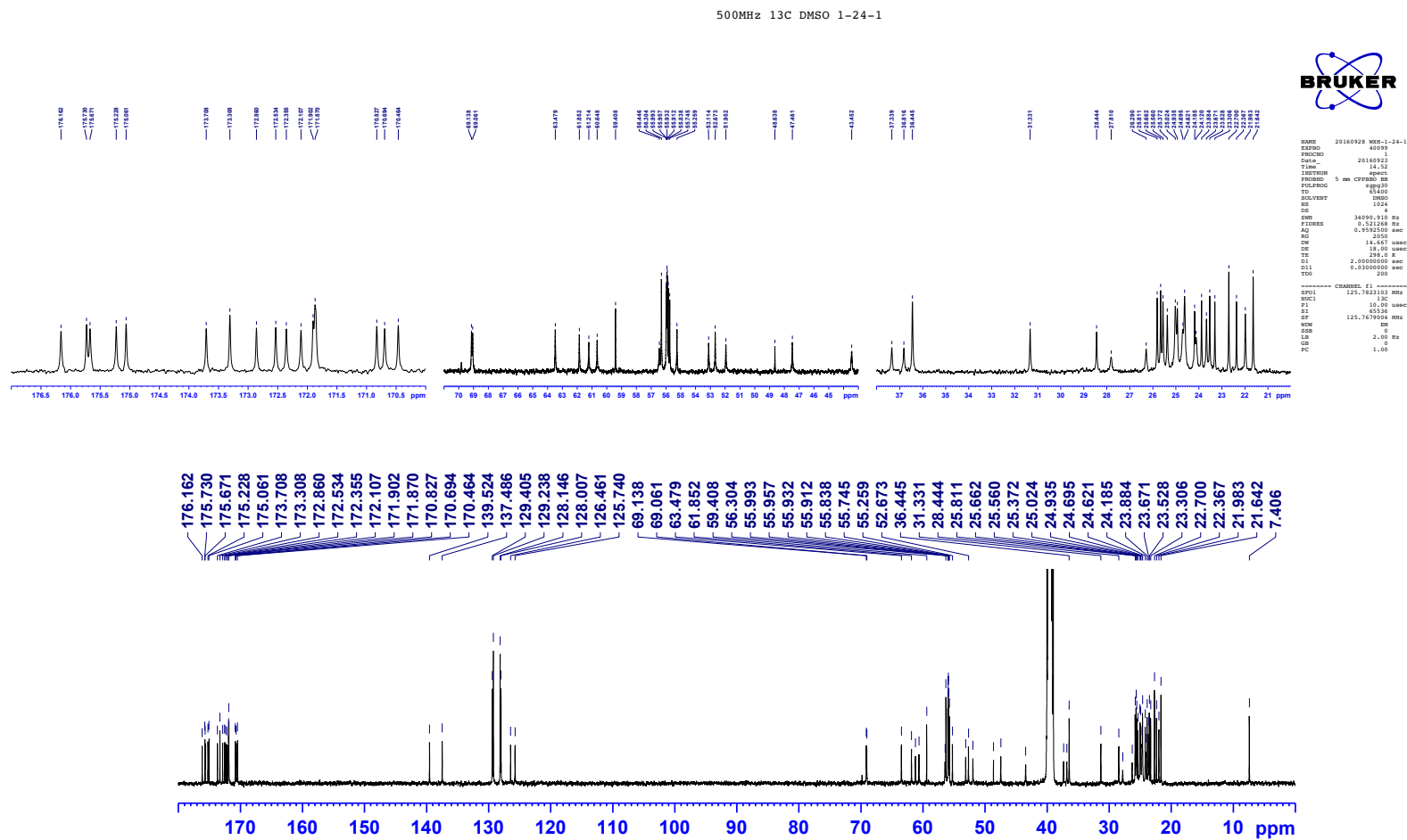


圖 22、化合物 3 之碳譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 125 MHz)。

500 MHz HSQC DMSO 1-24-1

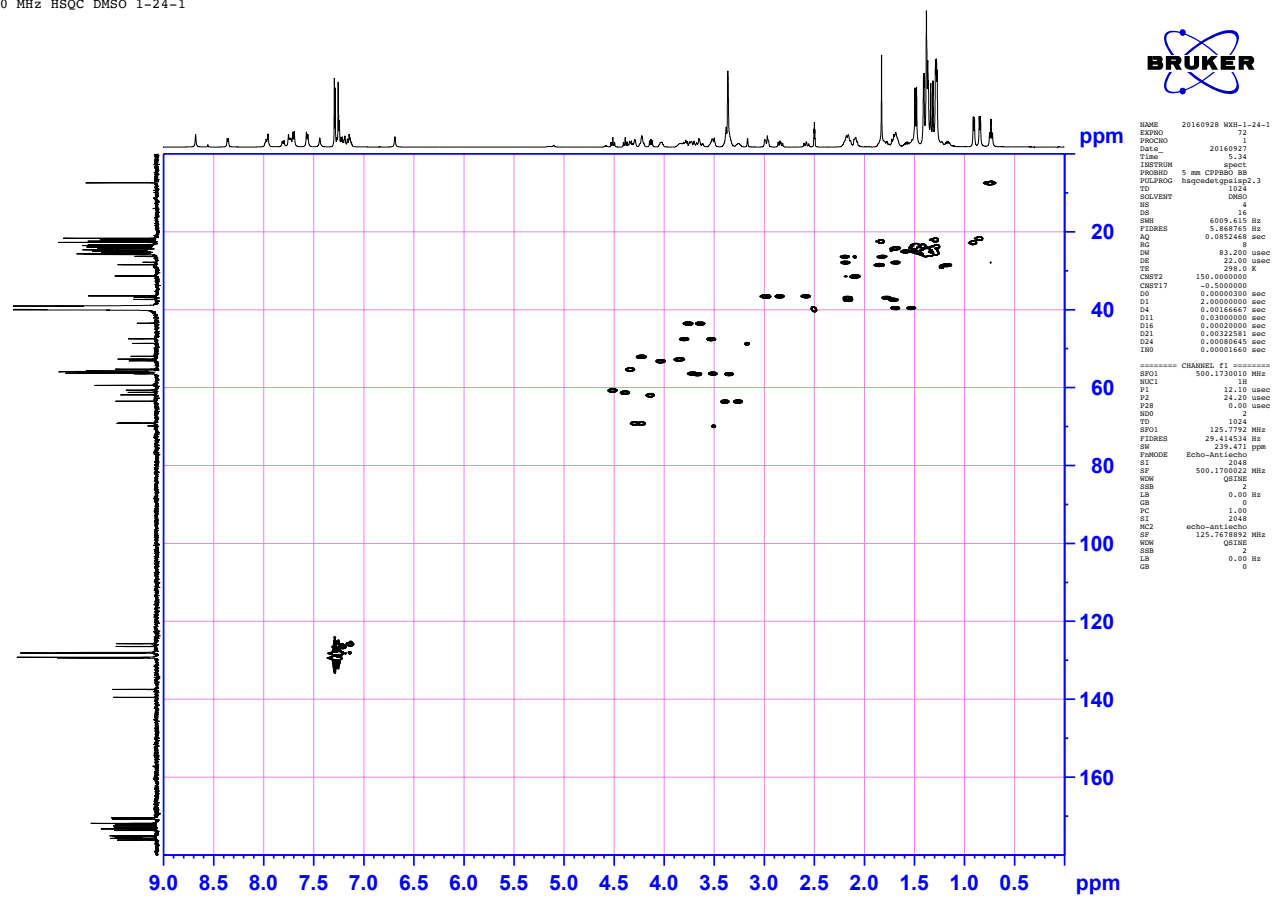


圖 23、化合物 3 之 HSQC 圖譜。

500 MHz COSY DMSO 1-24-1

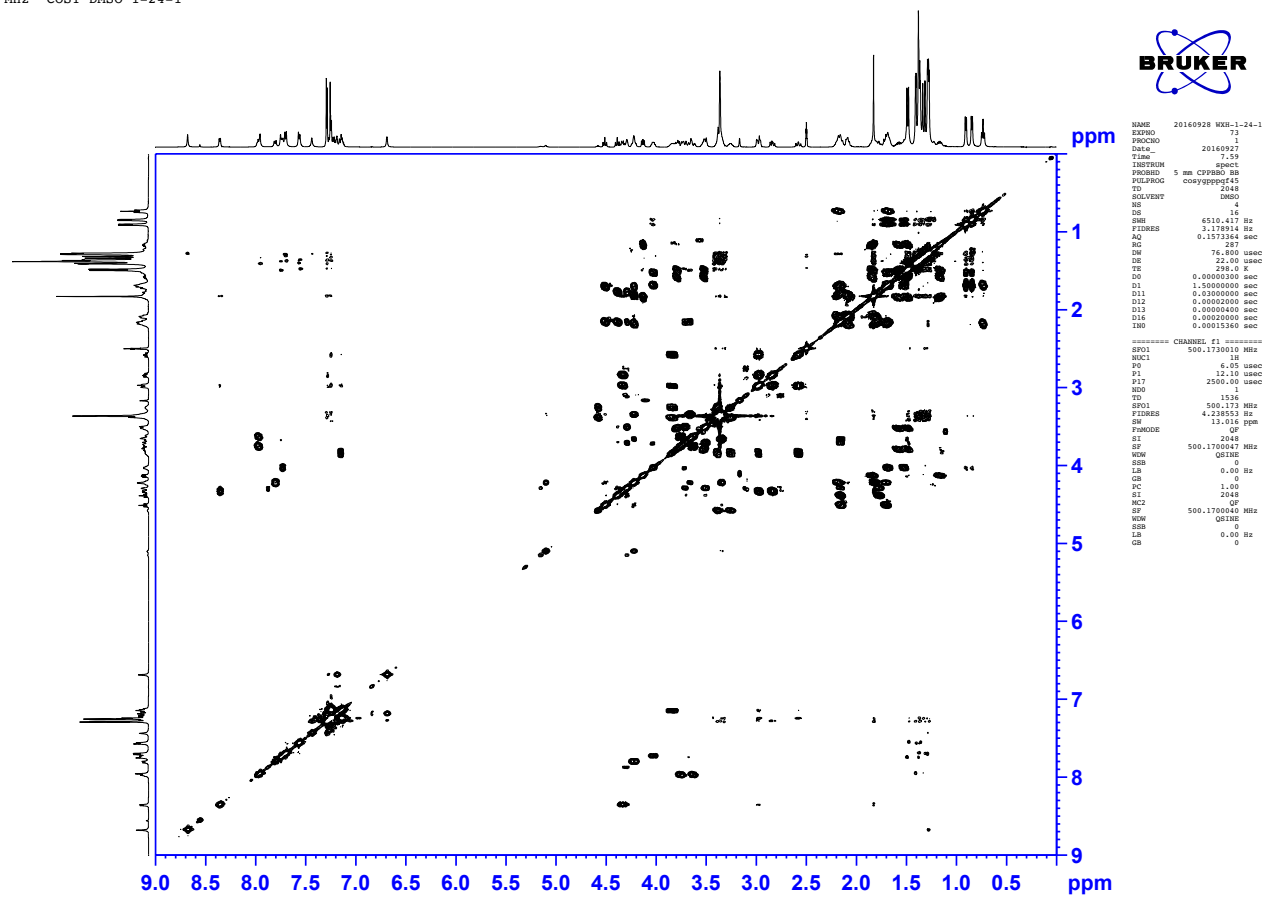


圖 24、化合物 3 之 COSY 圖譜。

500 MHz HMBC DMSO 1-24-1

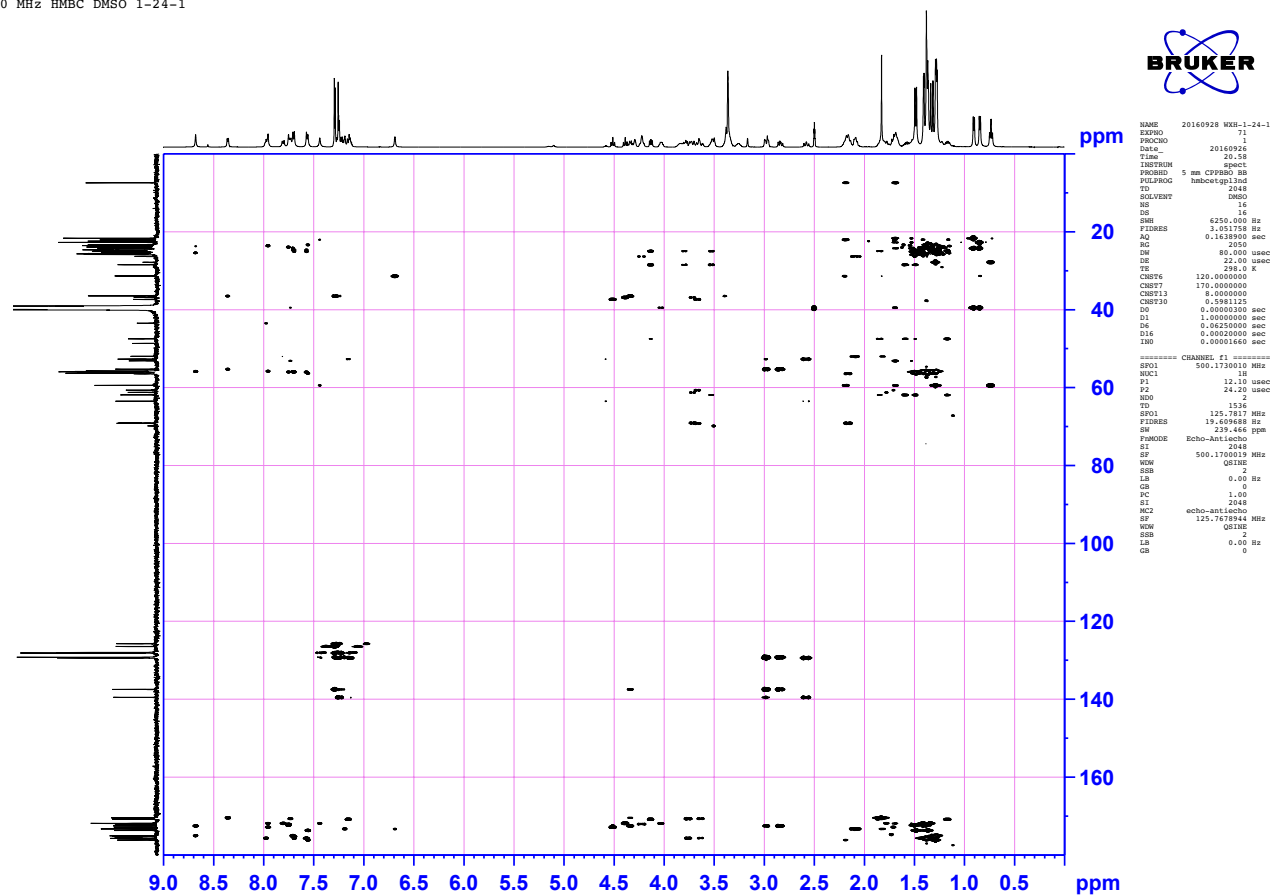
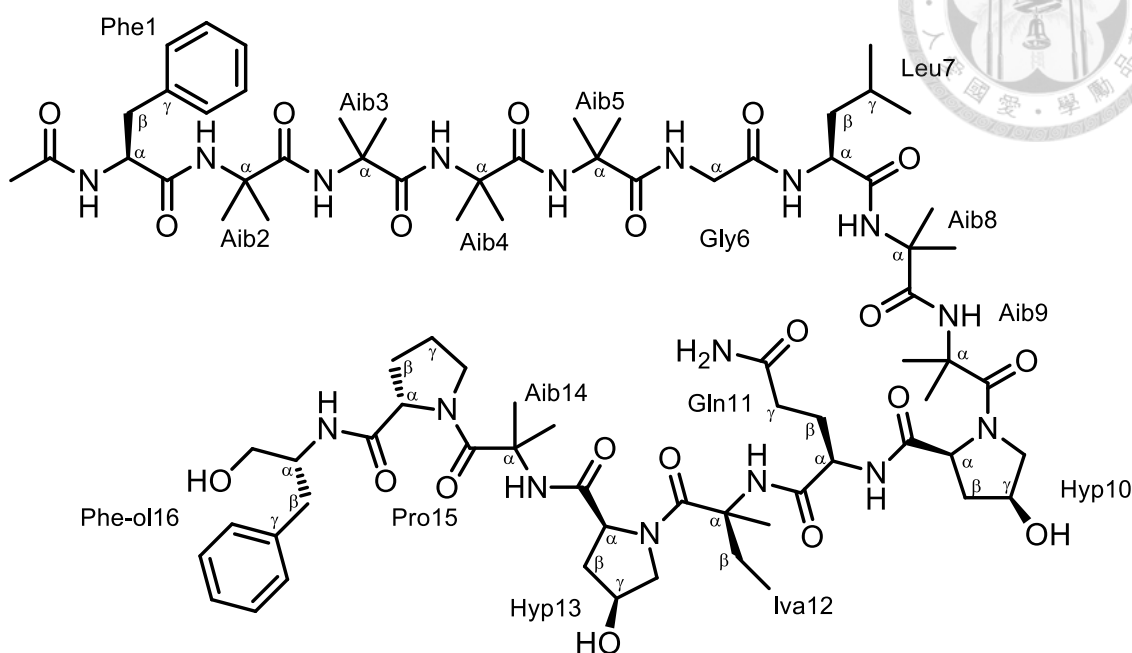


圖 25、化合物 3 之 HMBC 圖譜。



3.2.4 Cephaibol E (4) 之結構解析

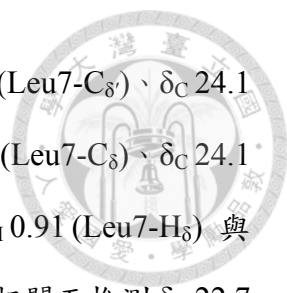


Aib = α -aminoisobutyric acid, Iva = isovaline

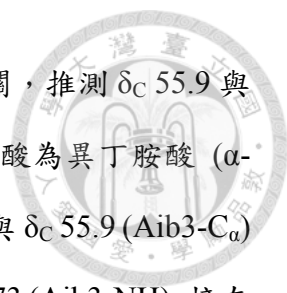
化合物 4 為白色粉末，比旋光度 $[\alpha]_{D}^{28} = -2.1$ (c 0.1, MeOH)，高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其 $[M + Na]^+$ 離子峰 m/z 1678.9189 (calcd for $C_{81}H_{125}N_{17}O_{20}Na$, 1678.9184)，推測分子式為 $C_{82}H_{127}N_{17}O_{20}$ (圖 26)。紅外光譜 (IR) 顯示有羰基 (3279 cm^{-1}) 及雙鍵 (1646 cm^{-1}) 等官能基的存在 (圖 27)。

氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 500 MHz) (圖 28) 配合 HSQC (圖 30) 解析，在較高場區之訊號 δ_H 0.85 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, Leu7- H_δ) 和 0.91 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, Leu7- H_δ) 為兩組互相耦合之甲基 (methyl) 質子訊號； δ_H 0.75 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, Iva12- $H_{\gamma Me}$) 推測為甲基 (methyl) 質子訊號。

碳譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 150 MHz) (圖 29) 顯示化合物 4 總共有 82 個碳，其中 δ_C 180.0 ~ 170.0 有 16 個酰胺羰基 (amide carbonyl) 訊號，同時在 δ_C 60.0 ~ 40.0 區域有相對應的 C_α 的訊號，推測化合物 4 為多肽 (polypeptide) 結構。在 δ_C 140.0 ~ 125.0 的區域內有 δ_C 137.6 (Phe1- C_γ)、129.2 (Phe1- C_δ)、128.1 (Phe1- C_ϵ)、126.4 (Phe1- C_ξ) 與 δ_C 139.6 (Phe16- C_γ)、129.4 (Phe16- C_δ)、128.0 (Phe16- C_ϵ)、125.7 (Phe16- C_ξ) 共兩組苯環的訊號。



由 HMBC (圖 32) 實驗中顯示 δ_H 0.91 (Leu7-H δ) 與 δ_C 21.7 (Leu7-C δ')、 δ_C 24.1 (Leu7-C γ)、 δ_C 39.3 (Leu7-C β) 相關， δ_H 0.85 (Leu7-H δ') 與 δ_C 22.7 (Leu7-C δ)、 δ_C 24.1 (Leu7-C γ)、 δ_C 39.3 (Leu7-C β) 相關，配合 COSY (圖 31) 實驗 δ_H 0.91 (Leu7-H δ) 與 δ_H 1.67 (Leu7-H γ) 相關， δ_H 0.85 (Leu7-H δ') 與 δ_H 1.67 (Leu7-H γ) 相關而推測 δ_C 22.7 (Leu7-C δ) 和 δ_C 21.7 (Leu7-C δ') 接在 δ_C 24.1 (Leu7-C γ) 上。 δ_H 1.67 (Leu7-H γ) 與 δ_H 1.53 (Leu7-H β) 相關，推測 δ_C 24.1 (Leu7-C γ) 接在 δ_C 39.3 (Leu7-C β) 上。 δ_H 1.55 (Leu7-H β) 與 δ_H 4.05 (Leu7-H α) 相關， δ_H 4.05 (Leu7-H α) 與 δ_H 7.68 (Leu7-NH) 相關，而 HMBC 實驗顯示 δ_H 1.55 (Leu7-H β) 與 δ_C 52.7 (Leu7-C α)、 δ_C 24.1 (Leu7-C γ)、 δ_C 171.8 (Leu7-C') 相關，推測 δ_C 39.3 (Leu7-C β) 接在 δ_C 52.7 (Leu7-C α) 上，羰基 (carbonyl) 在 δ_C 171.8 (Leu7-C')，胺基 (amine) 在 δ_H 7.68 (Leu7-NH)，經比對得知此胺基酸為白胺酸 (Leucine)。 δ_H 7.68 (Leu7-NH) 與 δ_C 170.5 (Gly6-C') 相關， δ_H 3.66 (Gly6-H α) 與 δ_C 170.5 (Gly6-C') 相關，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 7.98 (Gly6-NH) 與 δ_H 3.66 (Gly6-H α) 相關，經比對得知此胺基酸為甘胺酸 (Glycine)。 δ_H 7.98 (Gly6-NH) 與 δ_C 175.7 (Aib5-C') 相關，推測 δ_H 7.98 (Gly6-NH) 接在 δ_C 175.7 (Aib5-C') 上。 δ_H 1.40 (Aib5-H β_{Me1}) 與 δ_C 55.9 (Aib5-C α)、 δ_C 175.7 (Aib5-C') 相關， δ_H 1.38 (Aib5-H β_{Me2}) 與 δ_C 55.9 (Aib5-C α)、 δ_C 175.7 (Aib5-C') 相關，推測 δ_C 55.9 與 δ_C 24.9、 δ_C 24.6 和 δ_C 175.7 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_H 7.59 (Aib5-NH) 上，與 δ_C 55.9 (Aib5-C α) 相關。 δ_H 7.59 (Aib5-NH) 與 δ_C 175.7 (Aib4-C') 相關，推測 δ_H 7.59 (Aib5-NH) 接在 δ_C 175.7 (Aib4-C') 上； δ_H 1.38 (Aib4-H β_{Me1}) 與 δ_C 56.0 (Aib4-C α)、 δ_C 175.7 (Aib4-C') 相關， δ_H 1.38 (Aib4-H β_{Me2}) 與 δ_C 56.0 (Aib4-C α)、 δ_C 175.7 (Aib4-C') 相關，推測 δ_C 56.0 與 δ_C 25.1、 δ_C 24.9 和 δ_C 175.7 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_H 7.69 (Aib4-NH) 上，與 δ_C 55.9 (Aib4-C α) 相關。 δ_H 7.73 (Aib4-NH) 與 δ_C 175.1 (Aib3-C') 相關，推測 δ_H 7.73 (Aib4-NH) 接在 δ_C 175.1 (Aib3-C') 上； δ_H 1.32 (Aib3-H β_{Me1}) 與 δ_C 55.9 (Aib3-C α) 和 δ_C 175.2 (Aib3-C') 相關， δ_H



1.30 (Aib3-H_{βMe2}) 與 δ_C 55.9 (Aib3-C_α) 和 δ_C 175.2 (Aib3-C') 相關，推測 δ_C 55.9 與 δ_C 24.1、 δ_C 24.7 和 δ_C 175.2 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_H 7.73 (Aib3-NH) 上，與 δ_C 55.9 (Aib3-C_α) 相關。 δ_H 7.73 (Aib3-NH) 與 δ_C 175.1 (Aib2-C') 相關，推測 δ_H 7.73 (Aib3-NH) 接在 δ_C 175.1 (Aib2-C') 上； δ_H 1.28 (Aib2-H_{βMe1}) 與 δ_C 55.9 (Aib2-C_α) 和 δ_C 175.1 (Aib2-C') 相關， δ_H 1.27 (Aib2-H_{βMe2}) 與 δ_C 55.9 (Aib2-C_α) 和 δ_C 175.1 (Aib2-C') 相關，推測 δ_C 55.9 與 δ_C 23.7、 δ_C 25.3 和 δ_C 175.1 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_H 8.72 (Aib2-NH) 上，與 δ_C 55.9 (Aib2-C_α) 相關。 δ_H 8.72 (Aib2-NH) 與 δ_C 172.6 (Phe1-C') 相關，推測 δ_H 8.72 (Aib2-NH) 接在 δ_C 172.6 (Phe1-C') 上。 δ_H 2.85 (Phe1-H_β) 與 δ_C 55.3 (Phe1-C_α)、 δ_C 137.6 (Phe1-C_γ) 和 δ_C 172.6 (Phe1-C') 相關； δ_H 4.34 (Phe1-H_α) 與 δ_C 36.4 (Phe1-C_β) 和 δ_C 137.6 (Phe1-C_γ) 相關，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 4.34 (Phe1-H_α) 與 δ_H 2.85 (Phe1-H_β) 和 δ_H 8.39 (Phe1-NH) 相關，推測 δ_C 55.3 (Phe1-C_α) 與 δ_C 36.4 (Phe1-C_β) 和 δ_C 137.6 (Phe1-C_γ) 有連接關係， δ_C 137.6 (Phe1-C_γ) 與 δ_C 129.2 (Phe1-C_δ)、 δ_C 128.1 (Phe1-C_ε) 和 δ_C 126.4 (Phe1-C_ξ) 為相連的苯環質子訊號，經比對得知此胺基酸為苯丙胺酸 (Phenylalanine)，胺基 (amine) 在 δ_H 8.39 (Phe1-NH) 上，與 δ_C 55.3 (Phe1-C_α) 相關。 δ_H 8.39 (Phe1-NH) 與 δ_C 170.4 (Ac-C') 相關， δ_H 1.83 (Ac-H_{Me}) 與 δ_C 170.4 (Ac-C') 相關，此官能基為乙醯基 (acetyl)，與苯丙胺酸 (Phenylalanine) 相連。目前能推測化合物片段含七個胺基酸組成：Ac-Phe-Aib-Aib-Aib-Iva-Gly-Leu。

根據 HMBC 實驗顯示 δ_H 7.70 (Aib8-NH) 與 δ_C 171.8 (Leu7-C') 相關，推測 δ_H 7.70 (Aib8-NH) 接在 δ_C 171.8 (Leu7-C') 上； δ_H 1.45 (Aib8-H_{βMe1}) 與 δ_C 56.2 (Aib8-C_α)、 δ_C 175.9 (Aib8-C') 相關， δ_H 1.34 (Aib8-H_{βMe2}) 與 δ_C 56.2 (Aib8-C_α)、 δ_C 175.9 (Aib8-C') 相關，推測 δ_C 56.2 與 δ_C 25.3、 δ_C 25.7 和 δ_C 175.9 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，羰基在 δ_C 175.9 (Aib8-C')。 δ_H 7.56 (Aib9-NH) 與 δ_C 175.9 (Aib8-C') 和 δ_C 56.3 (Aib9-C_α) 相關，推測 δ_H 7.56 (Aib9-

NH) 接在 δ_C 175.9 (Aib8-C') 上。 δ_H 1.46 (Aib9-H $_{\beta Me1}$) 與 δ_C 56.3 (Aib9-C $_{\alpha}$) 和 δ_C 173.5 (Aib9-C') 相關， δ_H 1.34 (Aib9-H $_{\beta Me2}$) 與 δ_C 56.3 (Aib3-C $_{\alpha}$) 和 δ_C 173.5 (Aib9-C') 相關，推測 δ_C 56.3 與 δ_C 23.3、 δ_C 25.7 和 δ_C 173.5 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，胺基 (amine) 在 δ_H 7.56 (Aib9-NH) 上。此胺基酸片段為：Aib-Aib。

COSY 實驗顯示 δ_H 4.39 (Hyp10-H $_{\alpha}$) 與 δ_H 1.78 (Hyp10-H $_{\beta}$)、 δ_H 4.29 (Hyp10-H $_{\gamma}$)、 δ_H 3.48 (Hyp10-H $_{\delta}$) 和 δ_H 5.09 (Hyp10-OH) 相關，配合 HMBC 實驗顯示 δ_H 3.48 (Hyp10-H $_{\delta}$) 與 δ_C 69.1 (Hyp10-C $_{\gamma}$) 相關； δ_H 1.78 (Hyp10-H $_{\beta}$) 與 δ_C 69.1 (Hyp10-C $_{\gamma}$)、 δ_C 61.0 (Hyp10-C $_{\alpha}$) 相關，推測 δ_C 61.0 (Hyp10-C $_{\alpha}$) 與 δ_C 36.8 (Hyp10-C $_{\beta}$)、 δ_C 69.1 (Hyp10-C $_{\gamma}$) 和 δ_C 56.1 (Hyp10-C $_{\delta}$) 有連接關係， δ_C 56.1 (Hyp10-C $_{\delta}$) 旁邊可能接有異原子，同時 HMBC 實驗顯示 δ_H 4.39 (Hyp10-H $_{\alpha}$) 與 δ_C 171.8 (Hyp10-C') 相關，經比對得知此胺基酸為羥脯胺酸 (Hydroxyproline)。 δ_H 7.85 (Gln11-NH) 與 δ_C 171.8 (Hyp10-C') 和 δ_C 52.5 (Gln11-C $_{\alpha}$) 相關，推測 δ_H 7.85 (Gln11-NH) 接在 δ_C 171.8 (Hyp10-C') 上； δ_H 4.18 (Gln11-H $_{\alpha}$) 與 δ_C 172.2 (Gln11-C') 相關； δ_H 1.87 (Gln11-H $_{\gamma}$) 與 δ_C 26.6 (Gln11-C $_{\beta}$) 和 δ_C 173.2 (Gln11-C $_{\delta}$) 相關； δ_H 6.66 (Gln11-NH $_2$) 與 δ_C 173.2 (Gln11-C $_{\delta}$) 和 δ_H 2.09 (Gln11-H $_{\gamma}$) 相關，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 7.81 (Gln11-NH) 與 δ_H 4.23 (Gln11-H $_{\alpha}$)、 δ_H 1.82 (Gln11-H $_{\beta}$) 和 δ_H 1.87 (Gln11-H $_{\gamma}$) 相關，推測 δ_C 52.5 (Gln11-C $_{\alpha}$) 與 δ_C 26.6 (Gln11-C $_{\beta}$)、 δ_C 31.5 (Gln11-C $_{\gamma}$) 與 δ_C 173.2 (Gln11-C $_{\delta}$) 的連接關係，經比對得知此胺基酸為麩醯胺酸 (Glutamine)，羰基 (carbonyl) 在 δ_C 172.2 (Gln11-C') 上。 δ_H 7.75 (Aib12-NH) 與 δ_C 172.1 (Gln11-C') 相關，推測 δ_H 7.75 (Aib12-NH) 接在 δ_C 172.1 (Gln11-C') 上。 δ_H 7.47 (Iva12-NH) 與 δ_C 172.1 (Gln11-C') 相關，推測 δ_H 7.47 (Iva12-NH) 接在 δ_C 172.1 (Gln11-C') 上；根據 HMBC 實驗顯示甲基 (methyl) δ_H 0.75 (Iva12-H $_{\gamma Me}$) 與 δ_C 28.1 (Iva12-C $_{\beta}$)、 δ_C 58.5 (Iva12-C $_{\alpha}$) 相關， δ_H 1.42 (Iva12-H $_{\beta Me}$) 與 δ_C 28.1 (Iva12-C $_{\beta}$)、 δ_C 58.5 (Iva12-C $_{\alpha}$) 相關，推測 δ_C 7.1 (Iva12-C $_{\gamma Me}$) 與 δ_C 28.1 (Iva12-C $_{\beta}$)、 δ_C 58.5 (Iva12-C $_{\alpha}$) 和 δ_C 20.4 (Iva12-C $_{\beta Me}$) 有連

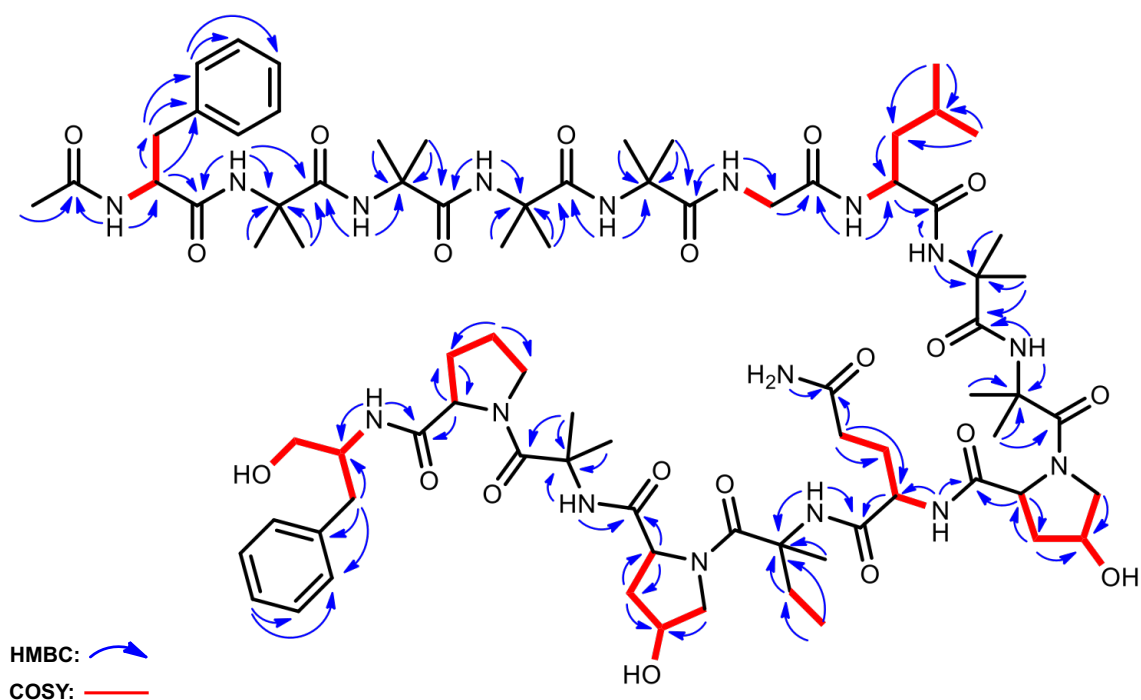
接關係，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 0.75 (Iva12- $H_{\gamma Me}$) 與 δ_H 1.78 (Iva12- H_β) 相關，推測 δ_C 7.1 (Iva12- $C_{\gamma Me}$) 接在 δ_C 28.1 (Iva12- C_β) 上，經比對得知此胺基酸為異纈胺酸 (Isovaline)，羰基在 δ_C 172.9 (Iva12- C')。此胺基酸片段為：Hyp-Gln-Iva。

COSY 實驗顯示 δ_H 4.54 (Hyp13- H_α) 與 δ_H 1.68 (Hyp13- H_β)、 δ_H 4.22 (Hyp13- H_γ)、 δ_H 3.35 (Hyp13- H_δ) 和 δ_H 5.11 (Hyp13-OH) 相關，配合 HMBC 實驗顯示 δ_H 3.37 (Hyp13- H_δ) 與 δ_C 69.1 (Hyp13- C_γ) 相關； δ_H 1.68 (Hyp13- H_β) 與 δ_C 69.1 (Hyp13- C_γ)、 δ_C 60.6 (Hyp13- C_α) 相關，推測 δ_C 60.6 (Hyp13- C_α) 與 δ_C 37.4 (Hyp13- C_β)、 δ_C 69.1 (Hyp13- C_γ) 和 δ_C 56.5 (Hyp13- C_δ) 有連接關係， δ_C 56.5 (Hyp13- C_δ) 旁邊可能接有異原子，同時 HMBC 實驗顯示 δ_H 4.54 (Hyp13- H_α) 與 δ_C 172.9 (Hyp13- C') 相關，經比對得知此胺基酸為羥脯胺酸 (Hydroxyproline)。 δ_H 7.94 (Aib14-NH) 與 δ_C 172.9 (Hyp13- C') 和 δ_C 55.7 (Aib14- C_α) 相關，推測 δ_H 7.94 (Aib14-NH) 接在 δ_C 172.9 (Hyp13- C') 上； δ_H 1.40 (Aib14- $H_{\beta Me1}$) 與 δ_C 55.7 (Aib14- C_α)、 δ_C 171.8 (Aib14- C') 相關， δ_H 1.35 (Aib14- $H_{\beta Me2}$) 與 δ_C 55.7 (Aib14- C_α)、 δ_C 171.8 (Aib14- C') 相關，推測 δ_C 55.7 與 δ_C 23.5、 δ_C 25.6 和 δ_C 171.8 的連接關係，經比對得知此胺基酸為異丁胺酸 (α -aminoisobutyric acid)，羰基 (carbonyl) 在 δ_C 171.8 (Aib14- C') 上，與 δ_C 55.7 (Aib14- C_α) 相關。此胺基酸片段為：Hyp-Aib。

COSY 實驗顯示 δ_H 4.14 (Pro15- H_α) 與 δ_H 1.18 (Pro15- H_β)、 δ_H 1.49 (Pro15- H_γ) 和 δ_H 3.51 (Pro15- H_δ) 相關，配合 HMBC 實驗顯示 δ_H 1.18 (Pro15- H_β) 與 δ_C 47.4 (Pro15- C_δ) 相關； δ_H 4.14 (Pro15- H_α) 與 δ_C 28.4 (Pro15- C_β) 和 δ_C 24.9 (Pro15- C_γ) 相關，推測 δ_C 61.9 (Pro15- C_α) 與 δ_C 28.4 (Pro15- C_β)、 δ_C 24.9 (Pro15- C_γ) 和 δ_C 47.4 (Pro15- C_δ) 有連接關係， δ_C 47.5 (Pro15- C_δ) 旁邊可能接有異原子，同時 HMBC 實驗顯示 δ_H 4.14 (Pro15- H_α) 與 δ_C 170.8 (Pro15- C') 相關，經比對得知此胺基酸為脯胺酸 (Proline)。 δ_H 7.15 (Phe16-NH) 與 δ_C 170.8 (Pro15- C') 和 δ_C 52.7 (Phe16- C_α) 相關，推測 δ_H 7.15 (Phe16-NH) 接在 δ_C 170.8 (Pro15- C') 上； δ_H 2.59 (Phe16- H_β) 與 δ_C 52.7 (Phe16- C_α)、 δ_C 139.6 (Phe16- C_γ) 和 δ_C 129.4 (Phe16- C_δ) 相關； δ_H 7.14 (Phe16-

H_ϵ) 與 δ_C 128.0 (Phe16- C_ϵ) 和 δ_C 129.4 (Phe1- C_δ) 相關，配合 COSY 實驗顯示 δ_H 7.15 (Phe16-NH) 與 δ_H 3.85 (Phe16- H_α)、 δ_H 2.59 (Phe16- H_β)、 δ_H 3.26 (Phe16- CH_2) 與 δ_H 4.56 (Phe16-OH) 相關，推測 δ_C 52.7 (Phe16- C_α) 與 δ_C 36.5 (Phe16- C_β) 和 δ_C 139.6 (Phe16- C_γ) 和 δ_C 63.5 (Phe16- CH_2) 有連接關係， δ_C 139.6 (Phe16- C_γ) 與 δ_C 129.4 (Phe16- C_δ)、 δ_C 128.0 (Phe16- C_ϵ) 和 δ_C 125.7 (Phe16- C_ϵ) 為相連的苯環質子訊號，經比對得知此胺基酸為 Phenylalaninol。此胺基酸片段為：Pro-Pheol。

最後由 HMBC 連結此 16 個胺基酸的結構如圖所示，將以上解析所得數據詳列於表 8，並輔以高解析電灑電離質譜佐證胺基酸片段結構，再比對文獻確認化合物的結構為已知物 cephaibol E [147]，其立體組態的解析上經由比對文獻 [148]，確認各胺基酸的相對立體。



HMBC and COSY correlations of 4



表 8、化合物 4 之氫、碳譜數據。[δ in ppm, mult. (J in Hz)]

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$	
Acetyl (Ac)	CH ₃	22.3	1.83 (3H, s)	
	C'	170.4		
Phenylalanine (Phe1)	NH		8.39 (1H, d, 5.9)	
	C _{α} (CH)	55.3	4.34 (1H, m)	
	C _{β} (CH ₂)		36.4	2.85 (1H, m)
				2.98 (1H, m)
	C _{γ} (C)	137.6		
	C _{δ} (CH)	129.2	7.29 (1H, m)	
	C _{ϵ} (CH)	128.1	7.29 (1H, m)	
	C _{ξ} (CH)	126.4	7.22 (1H, m)	
C' (C = O)	172.6			
α -Aminoisobutyric acid (Aib2)	NH		8.72 (1H, s)	
	C _{α} (C)	55.9		
	C _{βMe1} (CH ₃)	23.7	1.27 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	25.3	1.28 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.1		
α -Aminoisobutyric acid (Aib3)	NH		7.73 (1H, s)	
	C _{α} (C)	55.9		
	C _{βMe1} (CH ₃)	24.1	1.32 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	24.7	1.30 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.2		
α -Aminoisobutyric acid (Aib4)	NH		7.69 (1H, s)	
	C _{α} (C)	56.0		
	C _{βMe1} (CH ₃)	24.9	1.38 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	25.1	1.38 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.7		
α -Aminoisobutyric acid (Aib5)	NH		7.59 (1H, s)	
	C _{α} (C)	55.9		
	C _{βMe1} (CH ₃)	24.6	1.38 (3H, s)	
	C _{βMe2} (CH ₃)	24.9	1.40 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.7		
Glycine (Gly6)	NH		7.98 (1H, m)	
	C _{α} (CH ₂)		3.66 (1H, m)	
		43.4	3.72 (1H, m)	

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$	
	C' (C = O)	170.5		
Leucine (Leu7)	NH		7.68 (1H, m)	
	C $_{\alpha}$ (CH)	52.7	4.05 (1H, m)	
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)		39.3	1.55 (1H, m)
				1.67 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH)	24.1	1.67 (1H, m)	
	C $_{\delta}$ (CH $_3$)	22.7	0.91 (3H, d, 6.1)	
	C $_{\delta}'$ (CH $_3$)	21.7	0.85 (3H, d, 6.1)	
C' (C = O)	171.8			
α -Aminoisobutyric acid (Aib8)	NH		7.70 (1H, s)	
	C $_{\alpha}$ (C)	56.2		
	C $_{\beta\text{Me}1}$ (CH $_3$)	25.3	1.45 (3H, s)	
	C $_{\beta\text{Me}2}$ (CH $_3$)	25.7	1.34 (3H, s)	
	C' (C = O)	175.9		
α -Aminoisobutyric acid (Aib9)	NH		7.56 (1H, s)	
	C $_{\alpha}$ (C)	56.3		
	C $_{\beta\text{Me}1}$ (CH $_3$)	23.3	1.46 (3H, s)	
	C $_{\beta\text{Me}2}$ (CH $_3$)	25.7	1.34 (3H, s)	
	C' (C = O)	173.5		
Hydroxyproline (Hyp10)	C $_{\alpha}$ (CH)	61.0	4.39 (1H, m)	
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)		36.8	1.78 (1H, m)
				2.16 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH)	69.1	4.29 (1H, m)	
	C $_{\delta}$ (CH $_2$)		56.1	3.48 (1H, m)
				3.75 (1H, m)
	C' (C = O)	171.8		
	γ -OH		5.09 (1H, m)	
Glutamine (Gln11)	NH		7.85 (1H, d, 8.9)	
	C $_{\alpha}$ (CH)	52.5	4.18 (1H, m)	
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)		26.3	1.89 (1H, m)
				2.16 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH $_2$)		31.3	1.89 (1H, m)
				2.12 (1H, m)
C $_{\delta}$ (C = O)	173.2			
	ϵ -NH $_2$		6.66 (1H, s)	
			7.19 (1H, m)	

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$
	C' (C = O)	172.2	
Isovaline (Iva12)	NH		7.47 (1H, s)
	C $_{\alpha}$ (C)	58.5	
	C $_{\beta\text{Me}}$ (CH $_3$)	20.4	1.42 (3H, s)
	C $_{\gamma\text{Me}}$ (CH $_3$)	7.1	0.75 (3H, m)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	28.1	1.78 (1H, m)
			2.15 (1H, m)
	C' (C = O)	172.9	
Hydroxyproline (Hyp13)	C $_{\alpha}$ (CH)	60.6	4.54 (1H, t, 8.8)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	37.4	1.68 (1H, m) 2.17 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH)	69.1	4.22 (1H, m)
	C $_{\delta}$ (CH $_2$)	56.5	3.37 (1H, m) 3.68 (1H, m)
	C'	172.9	
	γ -OH		5.09 (1H, m)
α -Aminoisobutyric acid (Aib14)	NH		7.94 (1H, s)
	C $_{\alpha}$ (C)	55.7	
	C $_{\beta\text{Me}1}$ (CH $_3$)	23.5	1.40 (3H, s)
	C $_{\beta\text{Me}2}$ (CH $_3$)	25.6	1.35 (3H, s)
	C' (C = O)	171.8	
Proline (Pro15)	C $_{\alpha}$ (CH)	61.8	4.14 (1H, m)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	28.4	1.18 (1H, m) 1.84 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (CH $_2$)	24.9	1.49 (1H, m) 1.59 (1H, m)
	C $_{\delta}$ (CH $_2$)	47.4	3.51 (1H, m) 3.79 (1H, m)
	C' (C = O)	170.8	
Phenylalaninol (Phe-ol16)	NH		7.15 (1H, m)
	C $_{\alpha}$ (CH)	52.7	3.85 (1H, m)
	C $_{\beta}$ (CH $_2$)	36.5	2.59 (1H, m) 2.98 (1H, m)
	C $_{\gamma}$ (C)	139.6	
	C $_{\delta}$ (CH)	129.4	7.26 (1H, m)
	C $_{\epsilon}$ (CH)	128.0	7.26 (1H, m)

Amino acid	Position	$^{13}\text{C}^a$	$^1\text{H}^{b,c}$
	C_ξ (CH)	125.7	7.14 (1H, m)
Hydroxy (-ol)	CH_2	63.5	3.26 (1H, m) 3.39 (1H, m)
	OH		4.56 (1H, m)

^aMeasured in dimethyl sulfoxide- d_6 (125 MHz); ^bMeasured in dimethyl sulfoxide- d_6 (500 MHz).

^cSignals without multiplicity were overlapped, and picked from COSY or HMBC spectra.

WXH1-24-2-10ppm #249-279 RT: 5.59-6.26 AV: 31 NL: 2.73E8
T: FTMS + p ESI Full ms [150.00-2000.00]

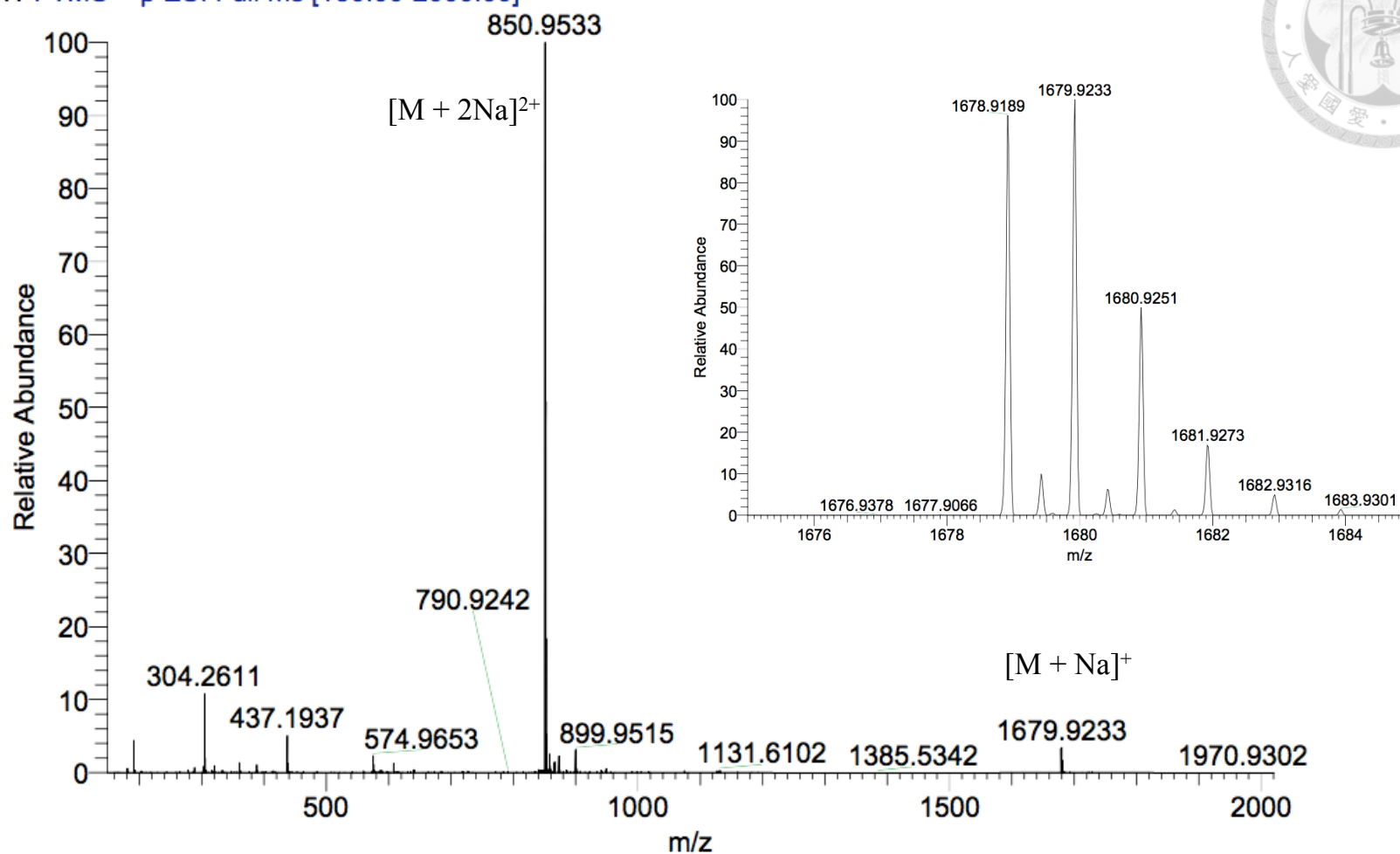


圖 26、化合物 4 之高解析電灑游離質譜。

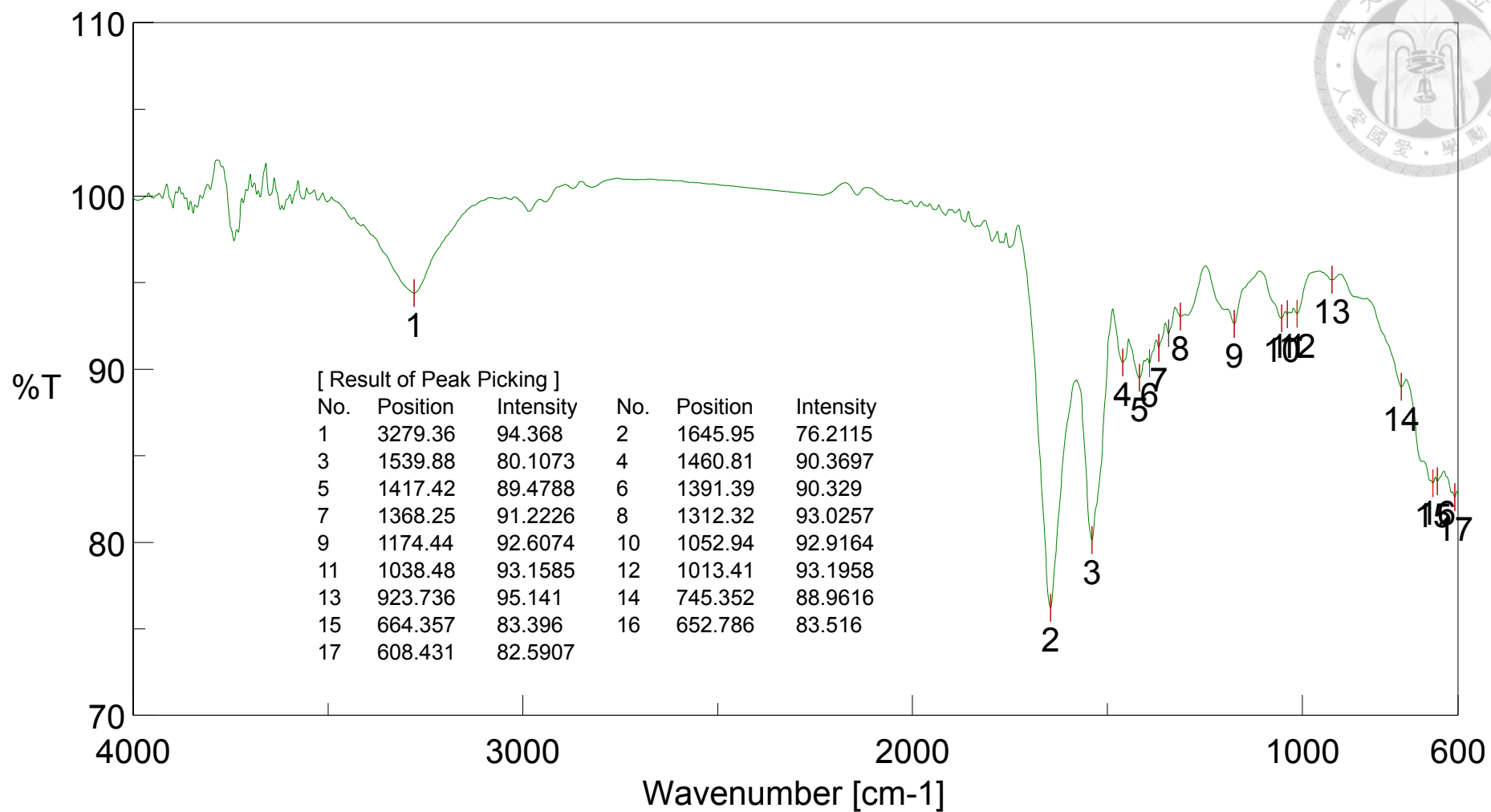


圖 27、化合物 4 之紅外光譜 (ZnSe)。

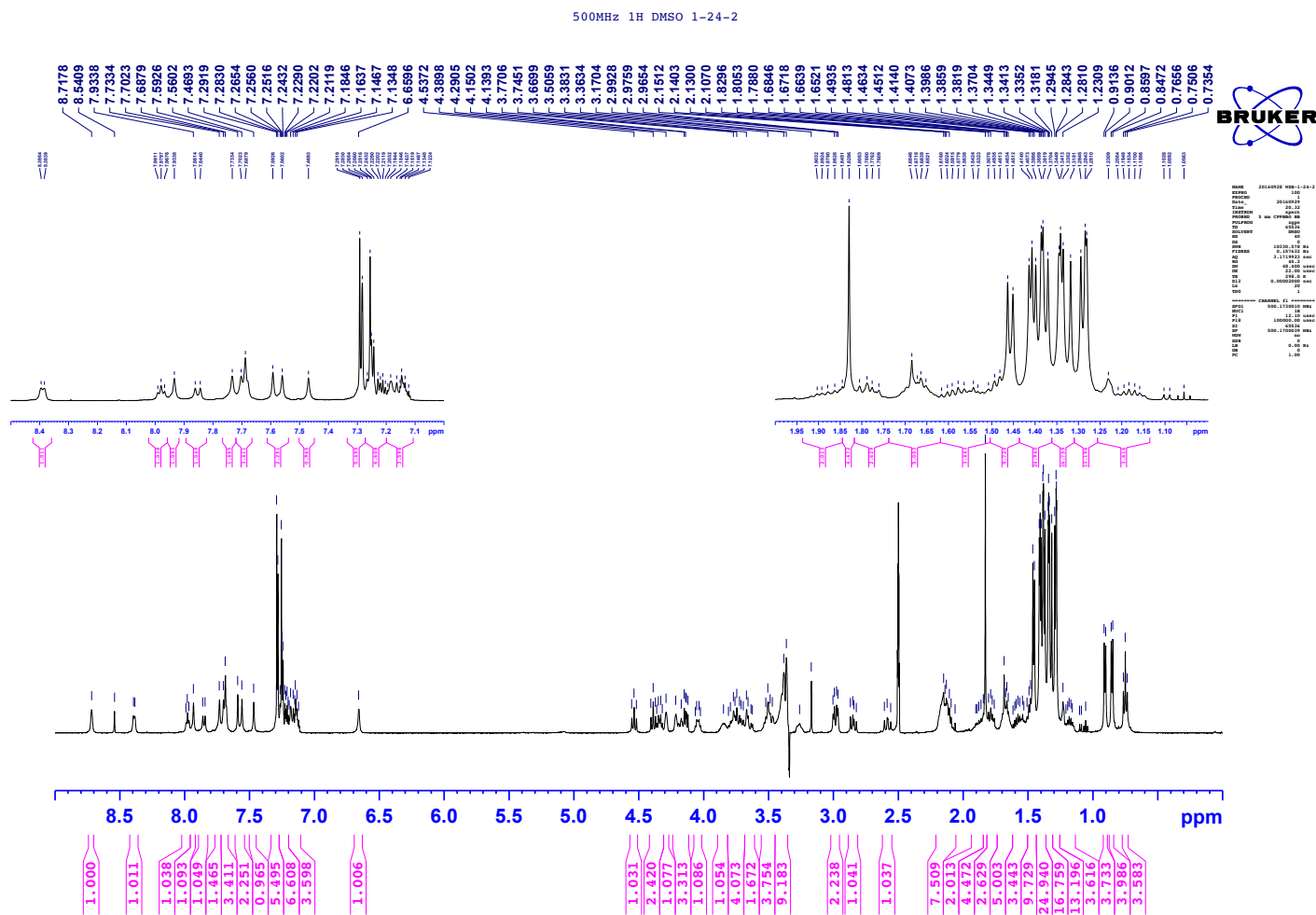


圖 28、化合物 4 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 500 MHz)。

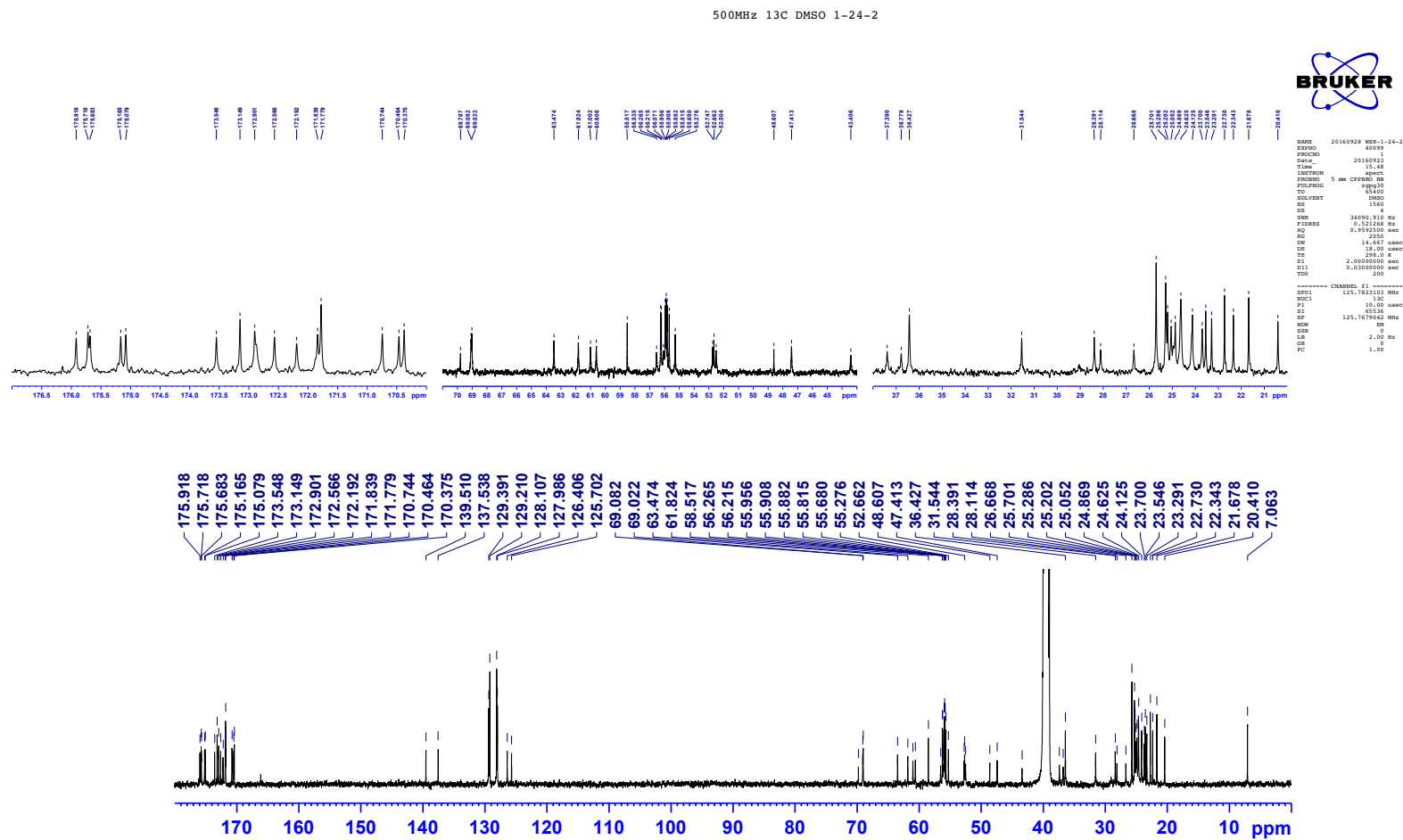


圖 29、化合物 4 之碳譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 125 MHz)。

500 MHz HSQC DMSO 1-24-2

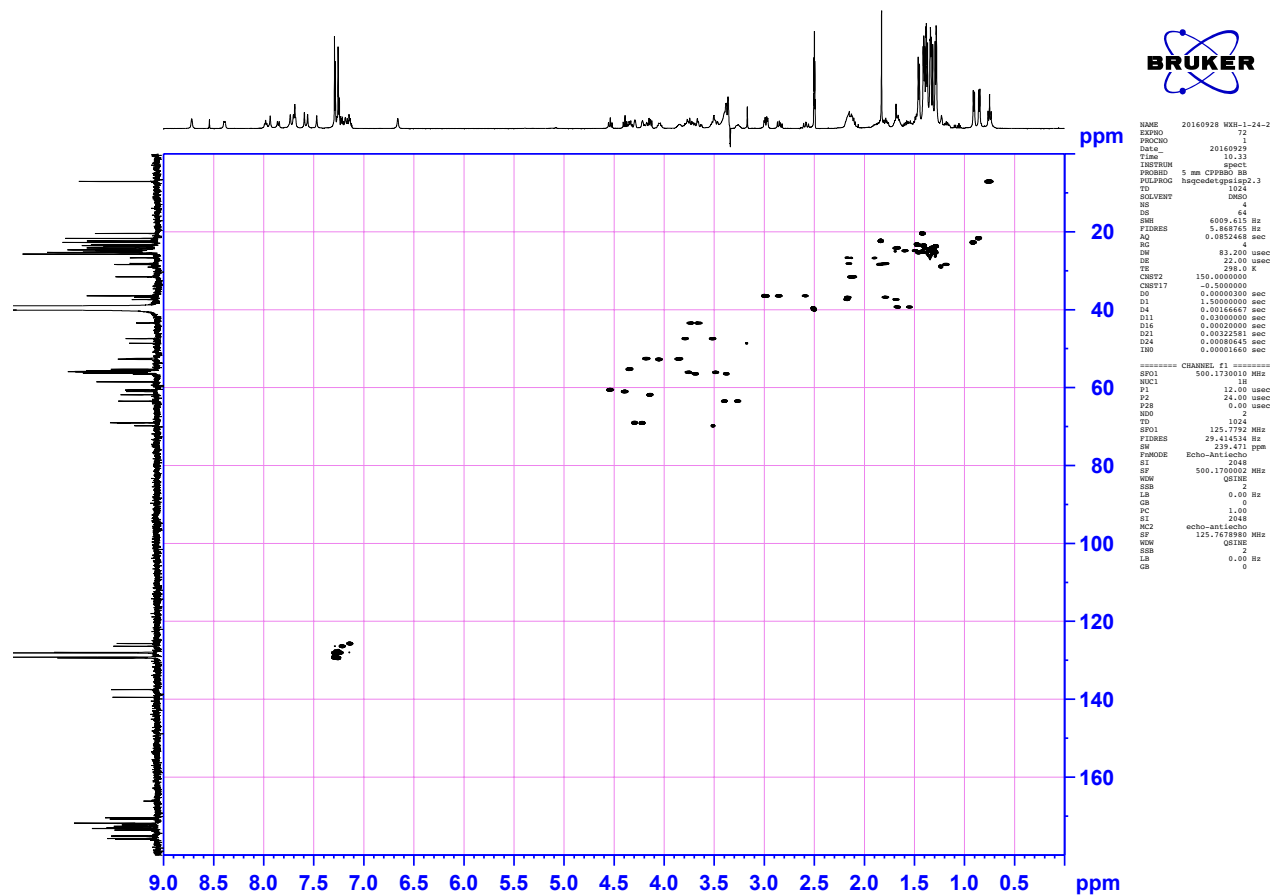


圖 30、化合物 4 之 HSQC 圖譜。

500 MHz COSY DMSO 1-24-2

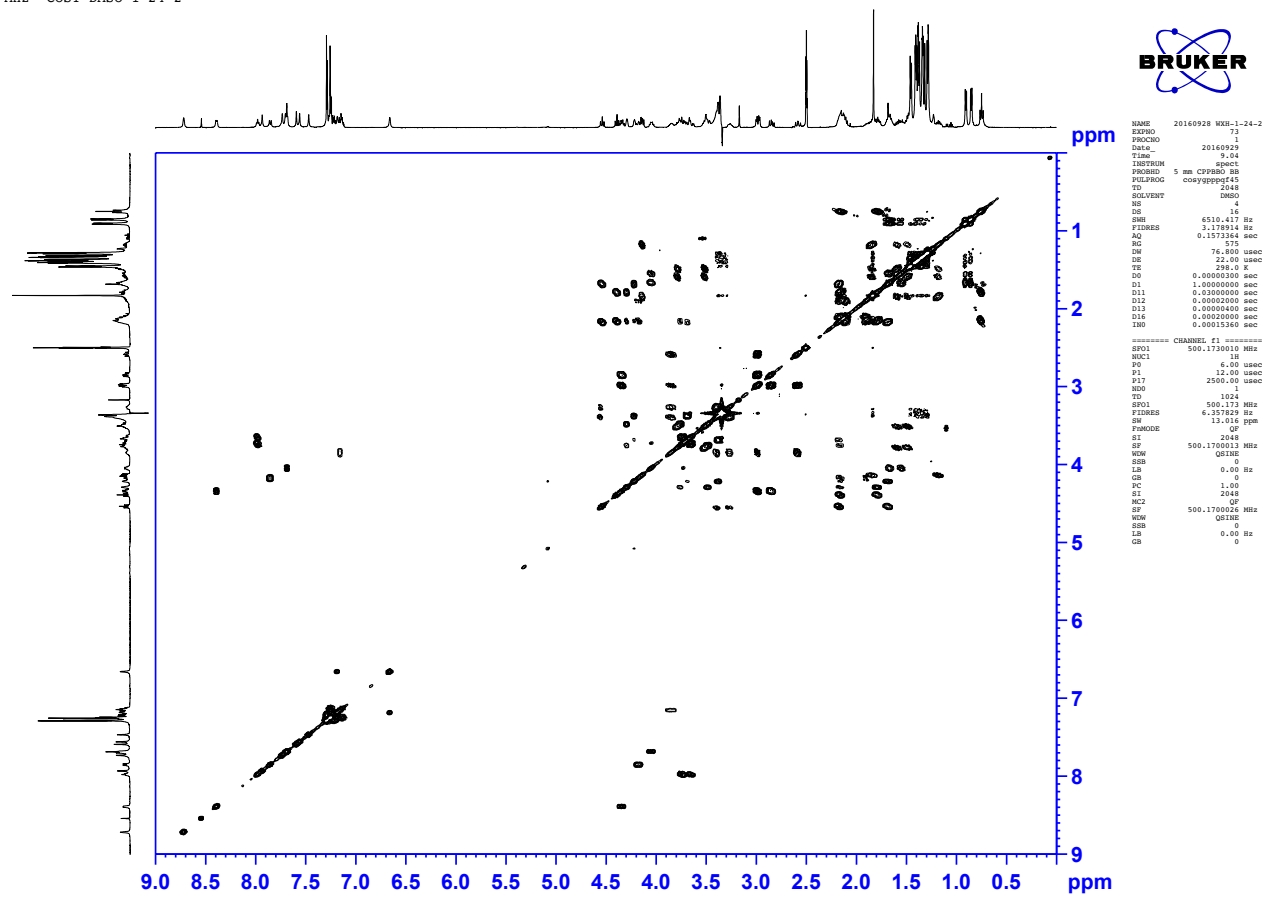


圖 31、化合物 4 之 COSY 圖譜。

500MHz HMBC DMSO 1-24-2

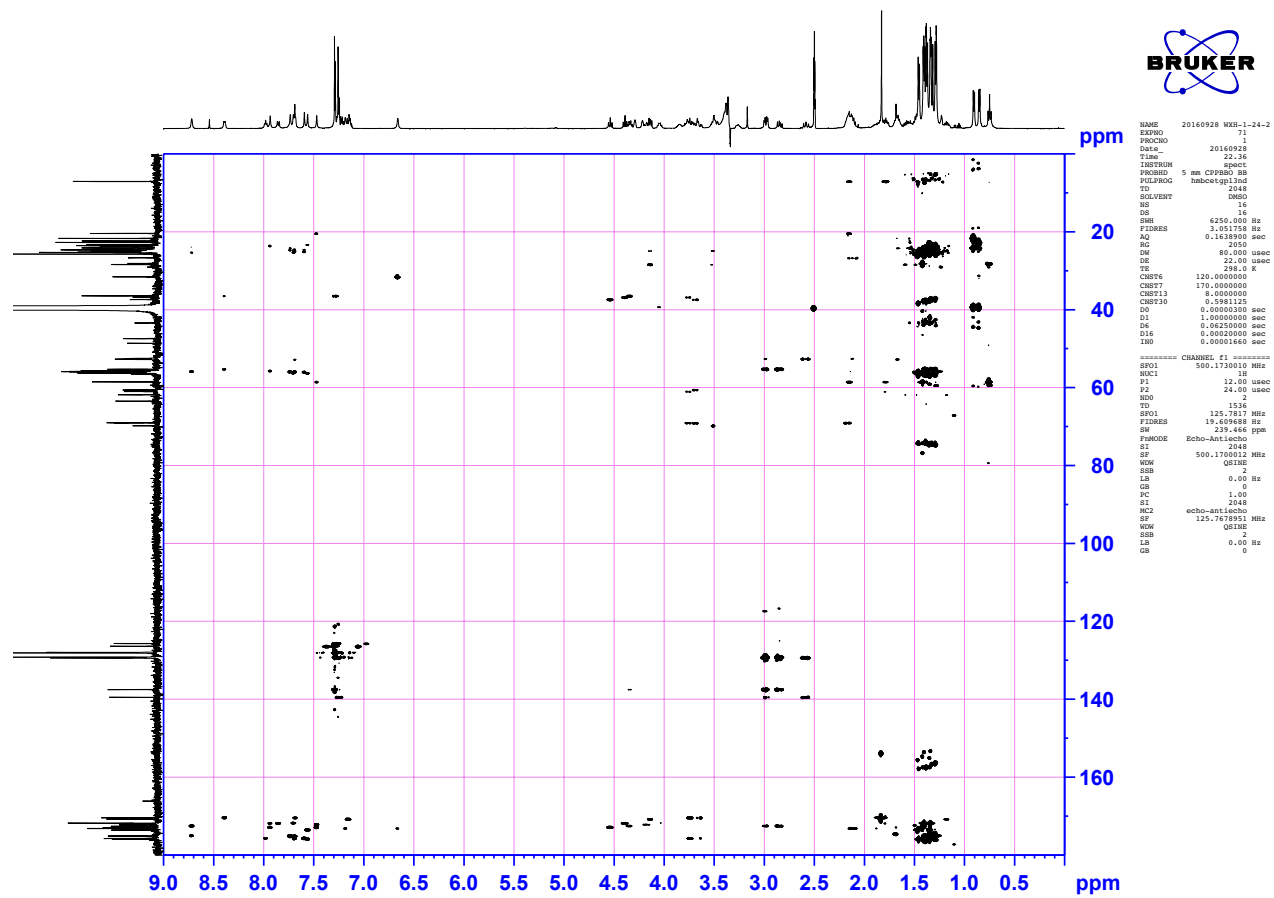
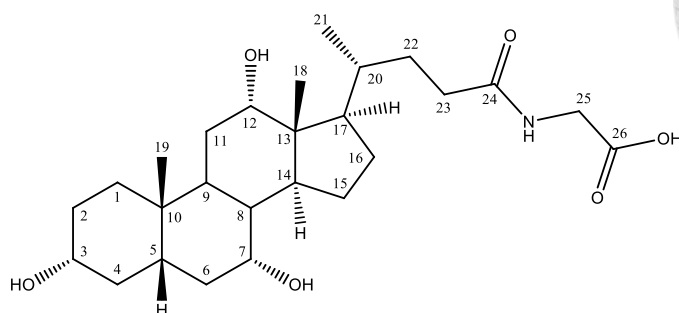


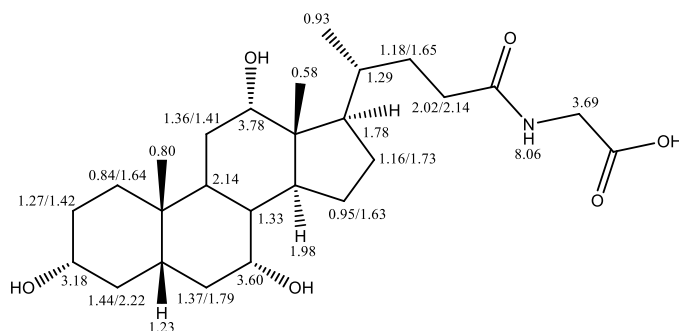
圖 32、化合物 4 之 HMBC 圖譜。



3.2.5 Glycocholic acid (5) 之結構解析



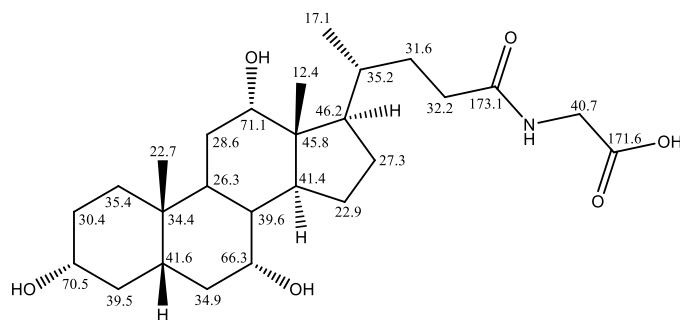
化合物 5 為無色無晶粉末，比旋光度 $[\alpha]_D^{27} = +4.8$ (c 0.1, MeOH)，高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其 $[M + H]^+$ 離子峰 m/z 466.3176 (calcd. for $C_{26}H_{44}NO_6$, m/z 466.3169)，推測分子式為 $C_{26}H_{43}NO_6$ (圖 33)。紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 (3361cm^{-1}) 官能基的存在 (圖 34)。



$^1\text{H-NMR}$ data of 5

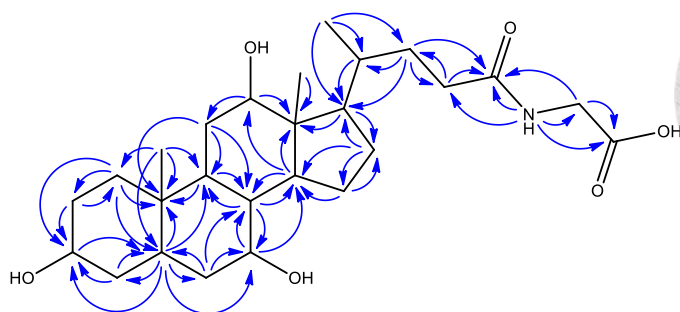
由氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 500 MHz) (圖 35) 配合 HSQC (圖 37) 解析，顯示在高場區域中 δ_H 0.58 (3H, s, H₃-18)、 δ_H 0.80 (3H, s, H₃-19) 和 δ_H 0.93 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H₃-21) 有三組甲基 (methyls) 質子訊號，其中 δ_H 0.93 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-21) 推測為一組接於次甲基 (methine) 之甲基 (methyl) 質子訊號； δ_H 0.84 (1H, m, H₂-1)、 δ_H 1.27 (1H, m, H₂-2)、 δ_H 1.44 (1H, m, H₂-4)、 δ_H 1.37 (1H, m, H₂-6)、 δ_H 1.36 (1H, m, H₂-11)、 δ_H 0.95 (1H, m, H₂-15)、 δ_H 1.16 (2H, m, H₂-16)、 δ_H 1.18 (2H, m, H₂-22)、 δ_H 2.02 (2H, m, H₂-23) 和 δ_H 3.69 (2H, d, $J = 5.9$ Hz, H₂-25) 十組亞甲基 (methylenes) 質子訊號，其中 δ_H 2.02 (2H, m, H₂-23) 亞甲基 (methylenes) 質子訊

號，根據其化學位移推測臨近接有羰基 (carbonyl) 造成各向異性效應 (anisotropic effect) 的影響，其氫譜化學位移較為低場 (downfield)， δ_{H} 3.69 (2H, d, $J = 5.9$ Hz, H₂-25) 推測其旁邊接有異原子； δ_{H} 3.18 (1H, m, H-3)、 δ_{H} 1.23 (1H, m, H-5)、 δ_{H} 3.60 (1H, brs, H-7)、 δ_{H} 1.33 (1H, m, H-8)、 δ_{H} 2.14 (1H, m, H-9)、 δ_{H} 3.78 (1H, brs, H-12)、 δ_{H} 1.98 (1H, m, H-14)、 δ_{H} 1.78 (1H, m, H-17) 和 δ_{H} 1.29 (1H, m, H-20) 為九組次甲基 (methines) 質子訊號，其中 δ_{H} 3.18 (1H, m, H-3)、 δ_{H} 3.60 (1H, brs, H-7) 和 δ_{H} 3.78 (1H, brs, H-12) 推測旁邊接有異原子；在 δ_{H} 8.06 (1H, t, $J = 5.8$ Hz, NH) 推測接有異原子。



¹³C-NMR data of **5**

碳譜 (Dimethyl sulfoxide-*d*₆, 125 MHz)(圖 36)顯示化合物 **5** 總共有 26 個碳，配合 HSQC (圖 37) 的解析，含有三個甲基 (methyls) 訊號位於 δ_{C} 12.4 (C-18)、 δ_{C} 22.7 (C-19) 和 δ_{C} 17.1 (C-21)；十個亞甲基 (methylenes) 訊號位於 δ_{C} 35.4 (C-1)、 δ_{C} 30.4 (C-2)、 δ_{C} 39.5 (C-4)、 δ_{C} 34.9 (C-6)、 δ_{C} 28.6 (C-11)、 δ_{C} 22.9 (C-15)、 δ_{C} 27.3 (C-16)、 δ_{C} 31.6 (C-22)、 δ_{C} 32.2 (C-23) 和 δ_{C} 40.7 (C-25)；九個次甲基 (methines) 位於 δ_{C} 70.5 (C-3)、 δ_{C} 41.6 (C-5)、 δ_{C} 66.3 (C-7)、 δ_{C} 39.6 (C-8)、 δ_{C} 26.3 (C-9)、 δ_{C} 71.1 (C-12)、 δ_{C} 41.4 (C-14)、 δ_{C} 46.2 (C-17) 和 δ_{C} 35.2 (C-20)，其中 δ_{C} 70.5 (C-3)、 δ_{C} 66.3 (C-7) 和 δ_{C} 71.1 (C-12) 三組較為低場 (downfield) 推測接有異原子；四個四級碳 (quaternary carbons) 訊號位於 δ_{C} 34.4 (C-10)、 δ_{C} 45.8 (C-13)、 δ_{C} 173.1 (C-24) 和 δ_{C} 171.6 (C-26)，其中 δ_{C} 73.9 (C-6) 和 δ_{C} 73.6 (C-11) 兩組較為低場 (downfield) 推測為接有氧原子的碳 (carbinoyl carbon)， δ_{C} 173.1 (C-24) 和 δ_{C} 171.6 (C-26) 配合紅外光譜 (1638 cm^{-1}) 推測為羧酸及醯胺之羰基訊號。



HMBC correlations of **5**

根據 HMBC 實驗顯示 H₃-1/C-2、C-3、C-5 和 C-10；H₂-2/C-1 和 C-3；H-3/C-5；H₂-4/C-3、C-5 和 C-10；H-5/C-4、C-5、C-6 和 C-10；H₂-6/C-5、C-7 和 C-8；H-7/C-8 和 C-14；H-8/C-7、C-9 和 C-14；H-9/C-7、C-8、C-10 和 C-11；H₂-11/C-8、C-9、C-12 和 C-13；H-12/C-9、C-11、C-13 和 C-14；H-14/C-7、C-8、C-13 和 C-15；H₂-15/C-2、C-3、C-5 和 C-10；H₂-16/C-13、C-14、C-15 和 C-17；H-17/C-13、C-16、C-20 和 C-22，初步推測化合物 **5** 的結構 3 個六圓環和 1 個五圓環，五圓環上接有側鏈之固醇類骨架。H₃-18/C-12、C-13、C-14 和 C-17；H₃-19/C-1、C-5、C-9 和 C-10；H₃-21/C-17、C-20 和 C-22，推測甲基 δ_H 0.58 (3H, s, H₃-18) 接在 δ_C 45.8 (C-13) 上，δ_H 0.80 (3H, s, H₃-19) 接在 δ_C 34.4 (C-10) 上，δ_H 0.93 (3H, d, J=6.5 Hz, H₃-21) 接在 δ_C 35.2 (C-20) 上。H-20/C-17、C-21 和 C-22；H₂-22/C-17、C-23 和 C-24；H₂-25/C-24 和 C-26；H-NH/C-23、C-24、C-25 和 C-26，推測 C-20、C-22、C-23 和 C-24 有連接關係，NH 連接 C-24 與 C-25，C-25 末端連接一個羧酸 (carboxylic acid)，此結構片段為一組甘胺酸 (glycine) 的結構。

最後化合物 **5** 如圖所示，將以上解析所得數據詳列於表 9，並輔以高解析電灑電離質譜佐證結構分子量正確性，立體位向部分的解析上經由比對文獻 [149]，確定化合物的絕對立體，化合物 **5** 的結構為已知物 Glycocholic acid。

表 9、化合物 **5** 之氫、碳譜數據。 [δ in ppm, mult. (J in Hz)]

No.	^{13}C , type	$^{13}\text{C}^b$	5^a		
			$^1\text{H}^c$	$^1\text{H}^b$	HMBC
1	35.4, CH ₂	38.2	0.84 (1H, m)	0.98	2, 3, 5, 9, 10
			1.64 (1H, m)	1.81	
2	30.4, CH ₂	32.0	1.27 (1H, m)	1.42	1, 3, 4, 10
			1.42 (1H, m)	1.69	
3	70.5, CH	74.2	3.18 (1H, m)	3.63	1, 5
4	39.5, CH ₂	38.0	1.44 (1H, m)	1.54	2, 3, 5, 6, 10
			2.22 (1H, m)	1.81	
5	41.6, CH	45.0	1.23 (1H, m)	1.44	1, 3, 4, 6, 7, 9, 10
6	34.9, CH ₂	30.0	1.37 (1H, m)	1.34	4, 5, 7, 8, 10
			1.79 (1H, m)	1.85	
7	66.3, CH	29.0	3.60 (1H, brs)	1.23	5, 6, 8, 9, 14
8	39.6, CH	38.9	1.33 (1H, m)	1.44	6, 7, 9, 14
9	26.3, CH	36.2	2.14 (1H, m)	1.85	5, 7, 8, 10, 11, 14
10	34.4, C	36.8			
11	28.6, CH ₂	31.1	1.36 (1H, m)	1.55	8, 9, 10, 12
			1.41 (1H, m)	1.55	
12	71.1, CH	75.9	3.78 (1H, brs)	4.05	9, 11, 13, 14
13	45.8, C	49.1			
14	41.4, CH	50.6	1.98 (1H, m)	1.61	7, 8, 12, 13, 15
15	22.9, CH ₂	26.6	0.95 (1H, m)	1.07	8, 13, 14, 16, 17
			1.63 (1H, m)	1.67	
16	27.3, CH ₂	30.4	1.16 (1H, m)	1.27	13, 14, 15, 17



			1.73 (1H, m)	1.95	
17	46.2, CH	49.1	1.78 (1H, m)	1.77	12, 13, 14, 15, 16, 18, 20, 21, 22
18	12.4, CH ₃	15.4	0.58 (3H, s)	0.72	12, 13, 14, 17
19	22.7, CH ₃	25.8	0.80 (3H, s)	0.94	1, 5, 9, 10
20	35.2, CH	38.4	1.29 (1H, m)	1.44	17, 21, 22, 23
21	17.1, CH ₃	19.5	0.93 (3H, d, 6.8)	1.02	17, 20, 21, 22
22	31.6, CH ₂	34.4	1.18 (1H, m)	1.46	17, 20, 23, 24
			1.65 (1H, m)	1.74	
23	32.2, CH ₂	35.3	2.02 (1H, m)	2.21	20, 23, 24
			2.14 (1H, m)	2.39	
24	173.1, C	179.7			
25	40.7, CH ₂	46.2	3.69 (2H, m)	3.75	24, 26
26	171.6, C	179.4			
24'-NH			8.06 (1H, t, 5.8)	7.83	23, 24, 25, 26

^aMeasured in dimethyl sulfoxide-*d*₆, (500 MHz); ^b compared with reference [150]; ^cSignals without multiplicity were overlapped, and picked from HSQC or HMBC spectra.

WXH 1-23-1 #57-122 RT: 0.19-0.31 AV: 66 NL: 4.94E5
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-700.00]

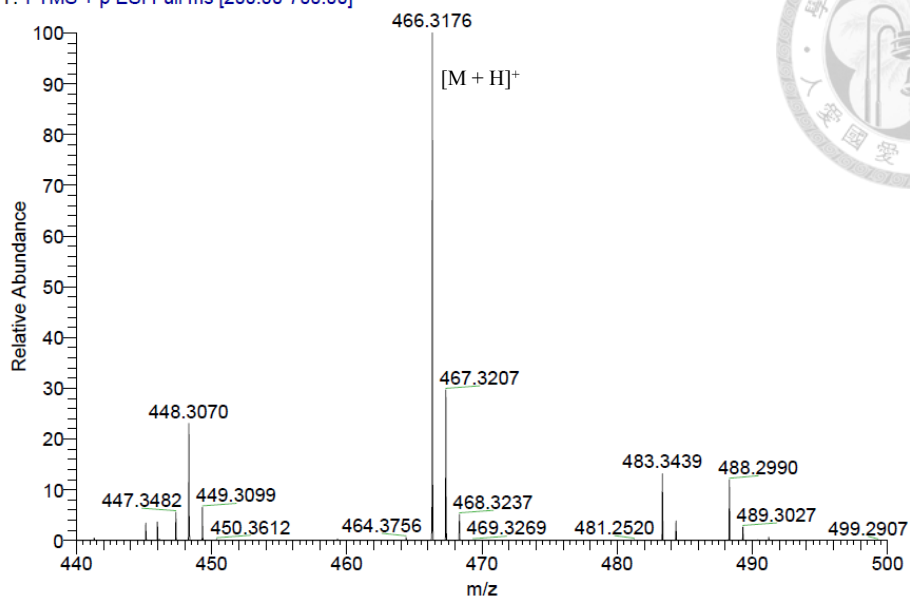


圖 33、化合物 5 之高解析電灑游離質譜。

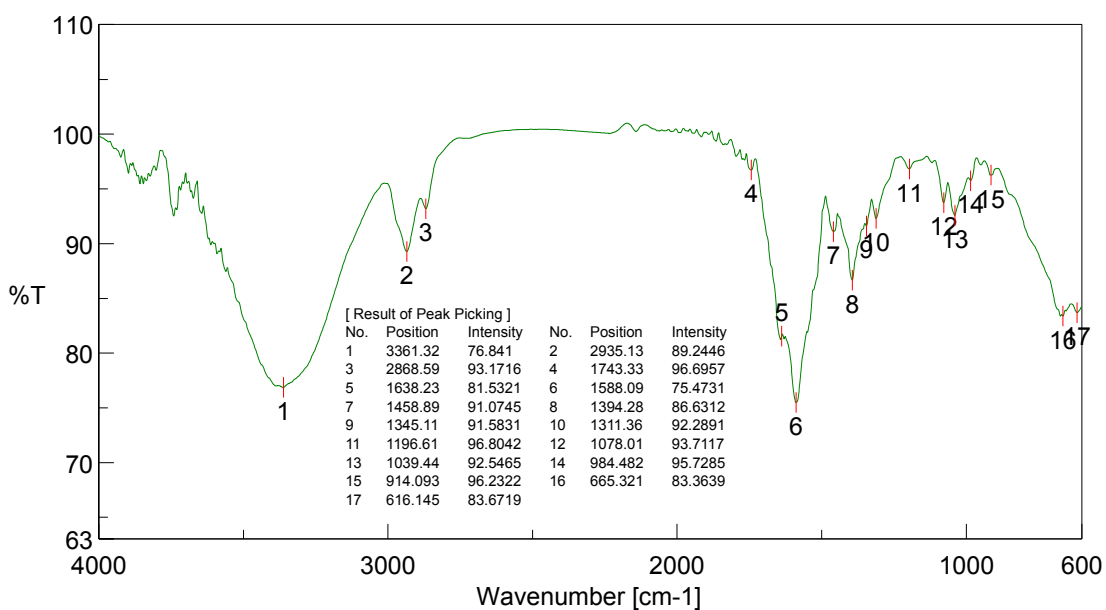


圖 34、化合物 5 之紅外光譜 (ZnSe)。

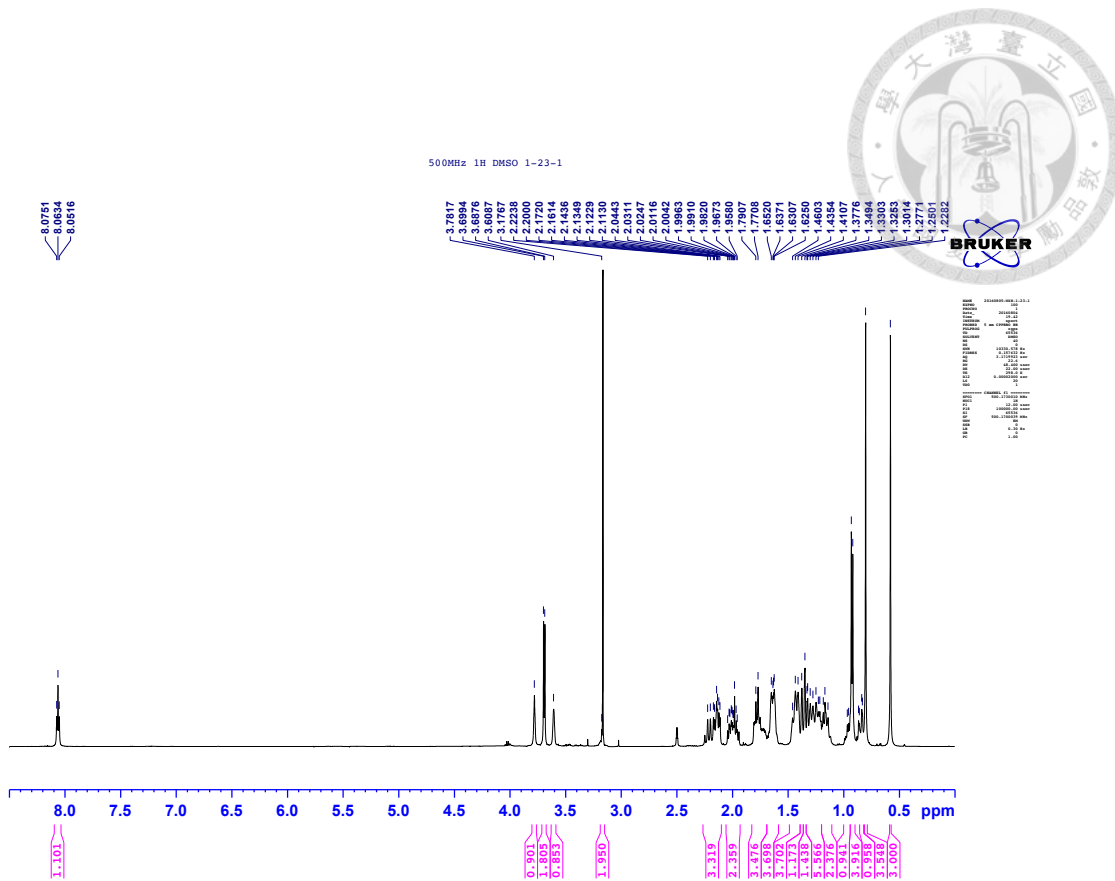


圖 35、化合物 5 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 500 MHz)。

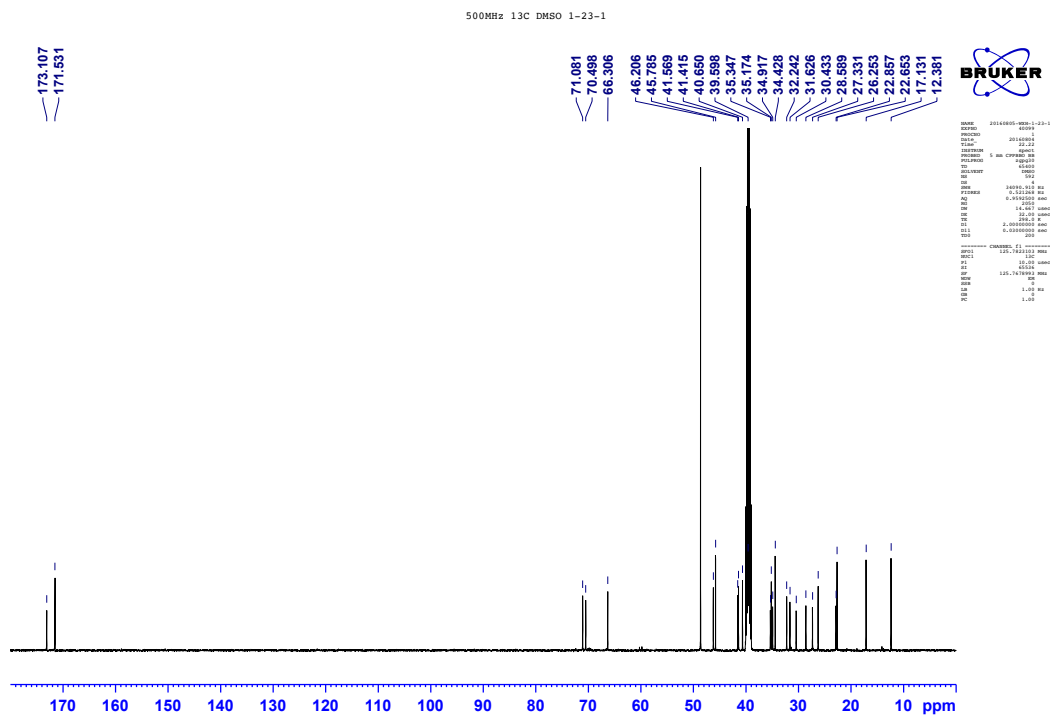


圖 36、化合物 5 之碳譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 125 MHz)。

500MHz HSQC DMSO 1-23-1

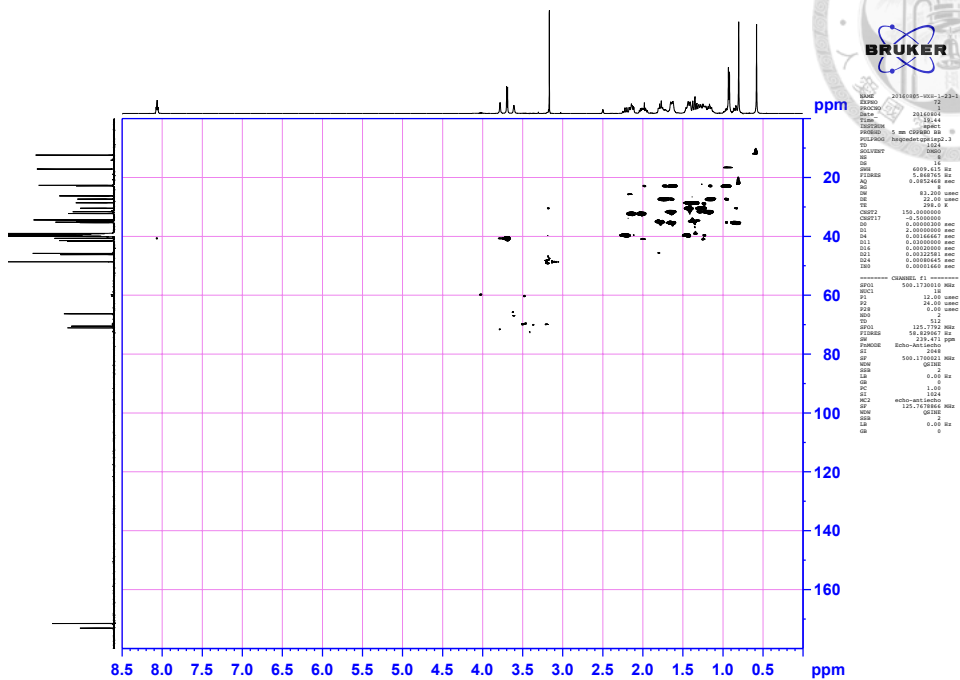


圖 37、化合物 5 之 HSQC 圖譜。

500MHz HMBC DMSO 1-23-1

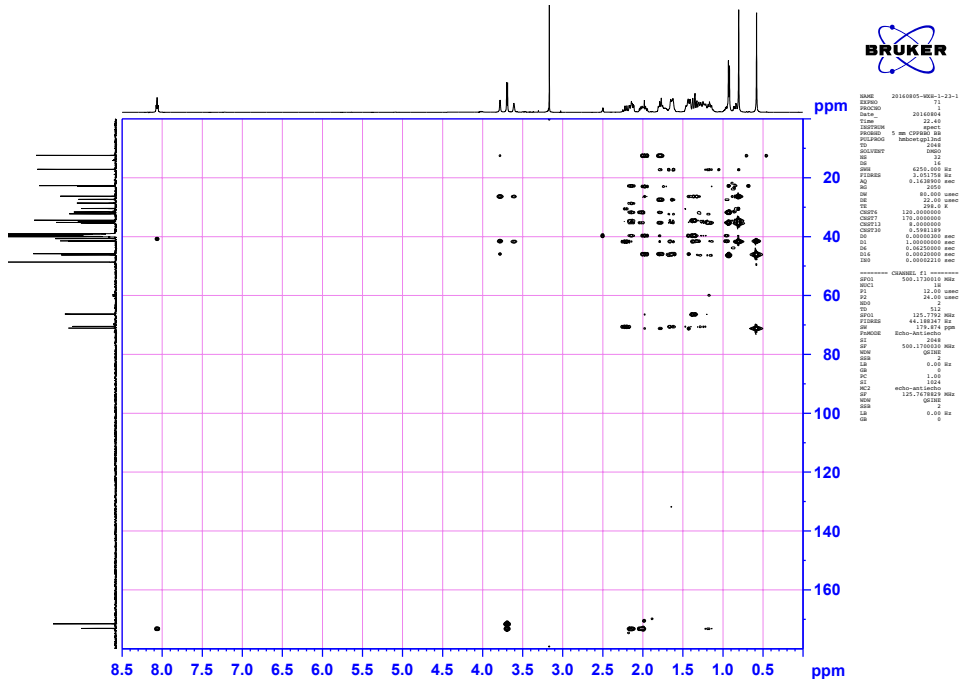
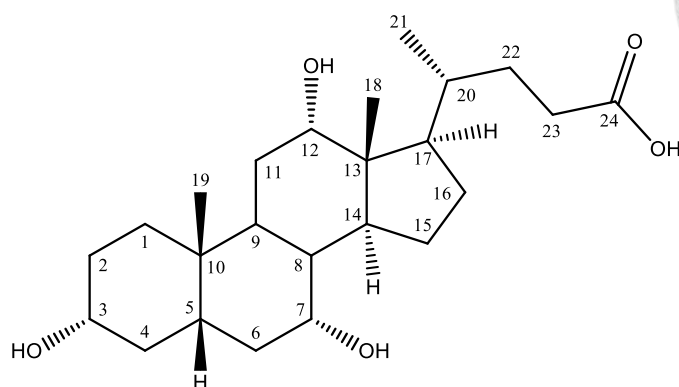


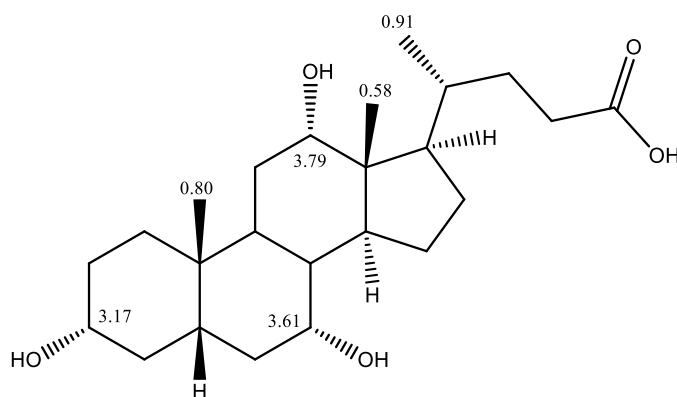
圖 38、化合物 5 之 HMBC 圖譜。



3.2.6 Cholic acid (6) 之結構解析



化合物 **6** 為無色無晶粉末，比旋光度 $[\alpha]_D^{27} = +0.4$ (c 0.1, MeOH)，高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其 $[M + NH_4]^+$ 離子峰 m/z 426.3228 (calcd. for $C_{24}H_{44}NO_5$, m/z 426.3219)，推測分子式為 $C_{24}H_{40}O_5$ (圖 39)。紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 (3333cm^{-1}) 及羧酸羰基 (1706cm^{-1}) 等官能基的存在 (圖 40)。



$^1\text{H-NMR}$ data of **6**

氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 300 MHz) (圖 41) 實驗顯示，在高場區域中 δ_{H} 0.58 (3H, s, H_3 -18)、 δ_{H} 0.80 (3H, s, H_3 -19) 和 δ_{H} 0.91 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H_3 -21) 有三組甲基 (methyls) 質子訊號； δ_{H} 3.61 (1H, brs, H-7) 和 δ_{H} 3.79 (1H, brs, H-12) 推測旁邊接有異原子。

由氫譜初步判斷，化合物 **6** 為 glycocholic acid (**5**) 的結構類似物，化合物 **6** 少了在 δ_{H} 3.69 (2H, d, $J = 5.9$ Hz, H_2 -25) 與 δ_{H} 8.06 (1H, t, $J = 5.8$ Hz, NH) 的質子訊號，推測化合物 **6** 結構為固醇類似物，五圓環上的側鏈少了胺基 (amino)。從紅外



光實驗顯示，化合物 **6** 顯示少了醯胺羰基 (1638 cm^{-1}) 的光譜訊號，多了羧酸羰基 (1706 cm^{-1}) 的光譜訊號，再經由高解析電灑電離質譜佐證結構分子量正確性，經與文獻 [149] 比對化合物 **6** 的結構為已知物 Cholic acid。

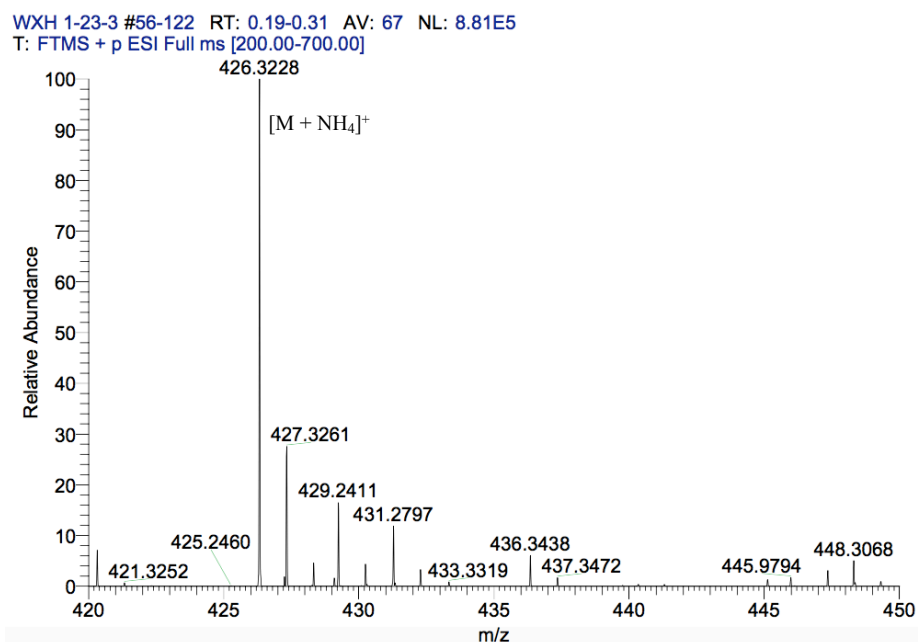


圖 39、化合物 **6** 之高解析電灑游離質譜。

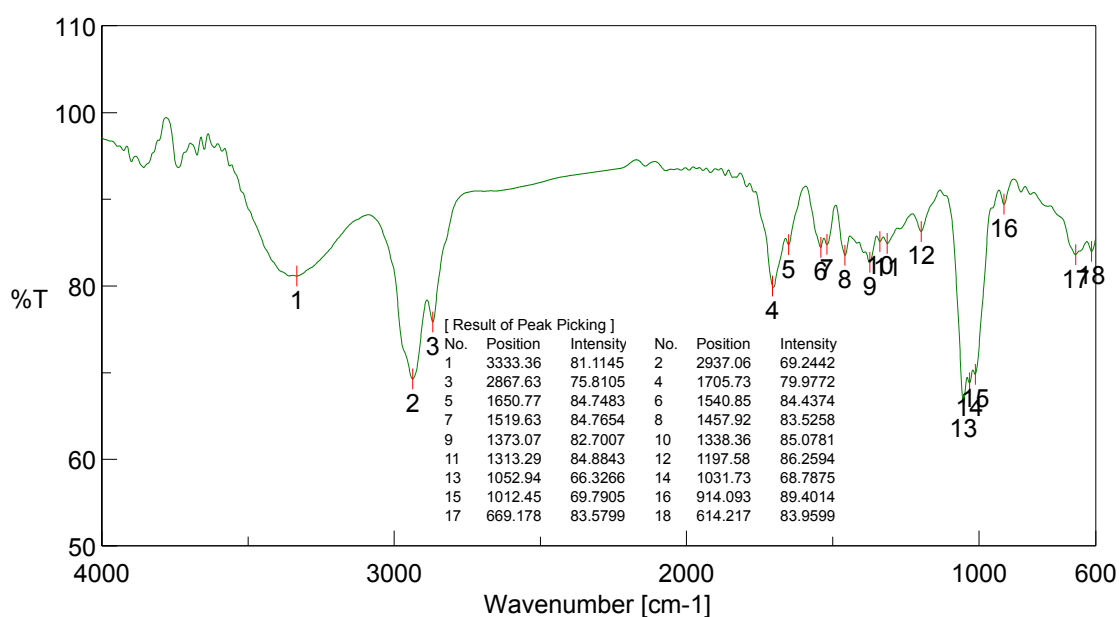


圖 40、化合物 **6** 之紅外光譜 (ZnSe)。

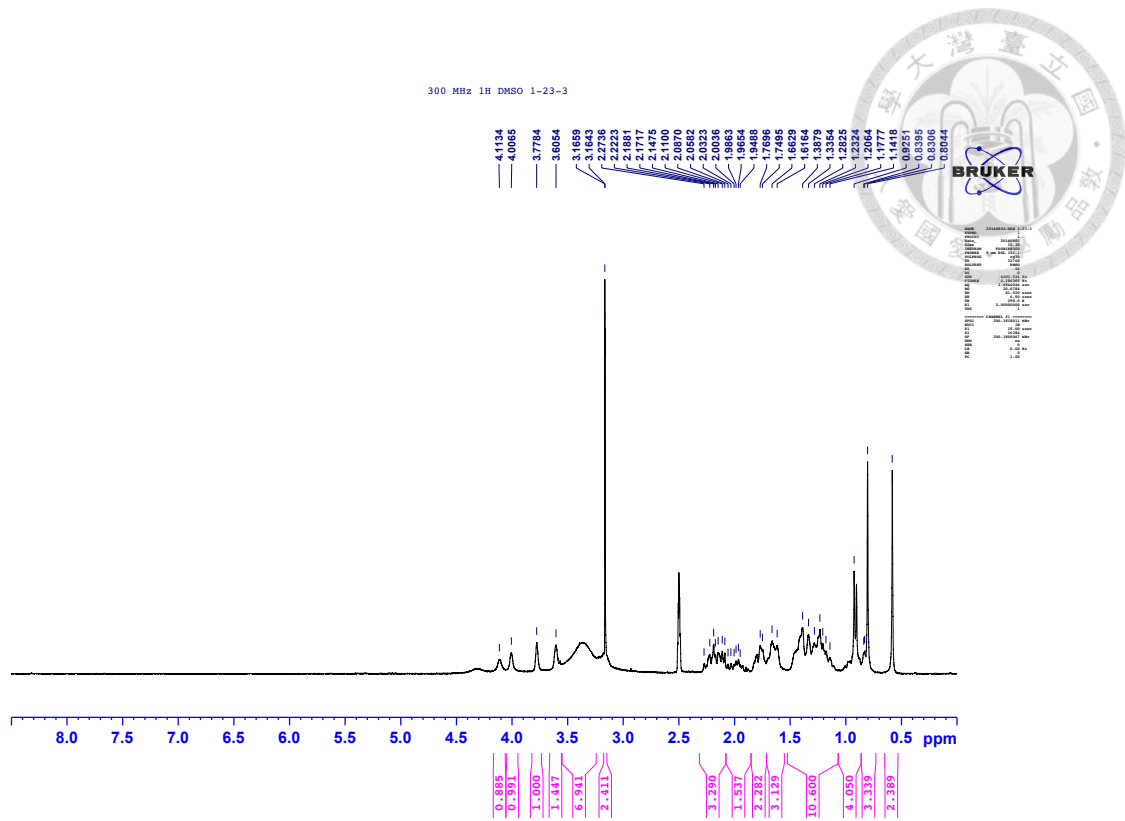
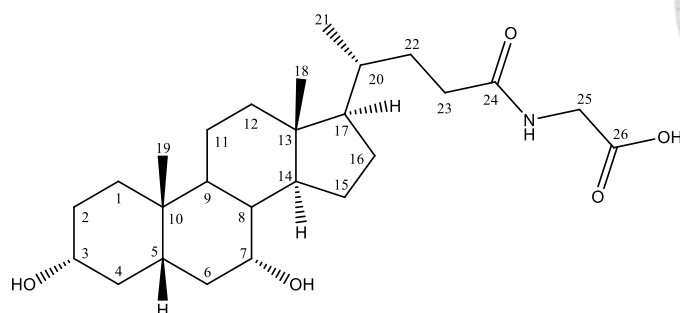


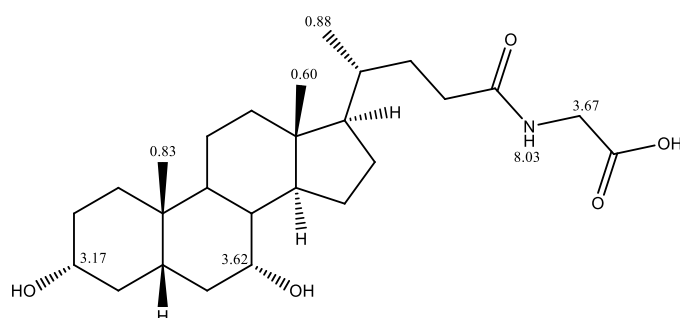
圖 41、化合物 6 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 300 MHz)。



3.2.7 Glycochenodeoxycholate (7) 之結構解析



化合物 7 為無色無晶粉末，比旋光度 $[\alpha]_D^{27} = +4.0$ (c 0.1, MeOH)，高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其 $[M + H]^+$ 離子峰 m/z 450.3224 (calcd. for $C_{26}H_{44}NO_6$, m/z 450.3219)，推測分子式為 $C_{26}H_{43}NO_5$ (圖 42)。紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 (3363cm^{-1}) 官能基的存在 (圖 43)。



$^1\text{H-NMR}$ data of 7

氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 300 MHz) (圖 44) 實驗顯示，在高場區域中 δ_H 0.60 (3H, s, H₃-18)、 δ_H 0.83 (3H, s, H₃-19) 和 δ_H 0.88 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H₃-21) 有三組甲基 (methyls) 質子訊號； δ_H 3.62 (1H, brs, H-7) 和 δ_H 3.67 (2H, d, $J = 5.8$ Hz, H₂-25) 推測旁邊接有異原子；在 δ_H 8.03 (1H, t, $J = 5.7$ Hz, NH) 推測為胺基 (amino) 質子訊號。

由氫譜初步判斷，化合物 7 為 glycocholic acid (5) 的結構類似物，紅外光譜中也顯示兩者具有相似的光譜訊號。比較兩者的氫譜發現，化合物 7 少了在 δ_H 3.78 位置上的訊號，推測化合物 7 在 C-12 上少了一組羥基 (hydroxyl)，經由高解析電



灑電離質譜佐證結構分子量正確性，經與文獻 [149]比對化合物 7 的結構為已知物

Glycochenodeoxycholate。

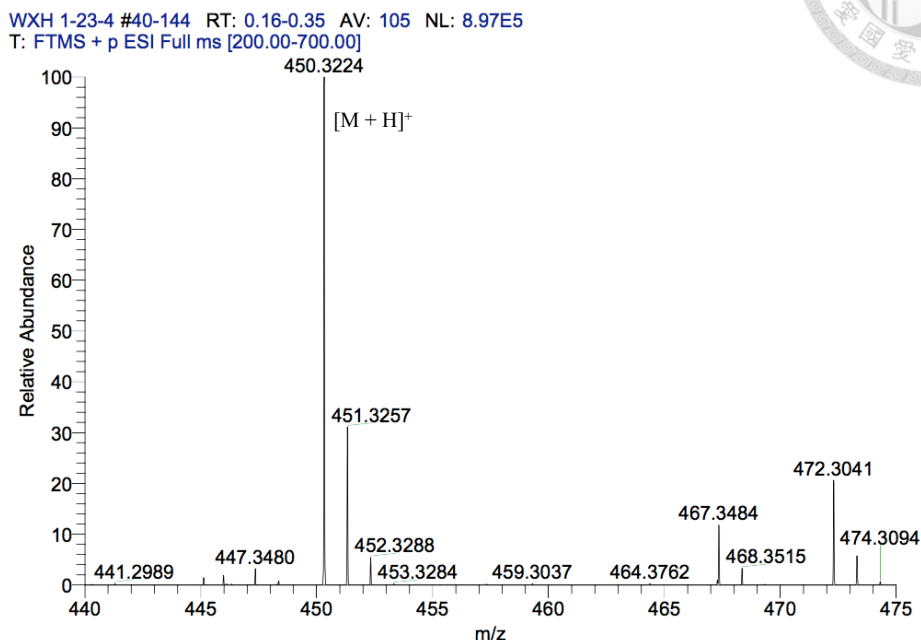


圖 42、化合物 7 之高解析電灑游離質譜。

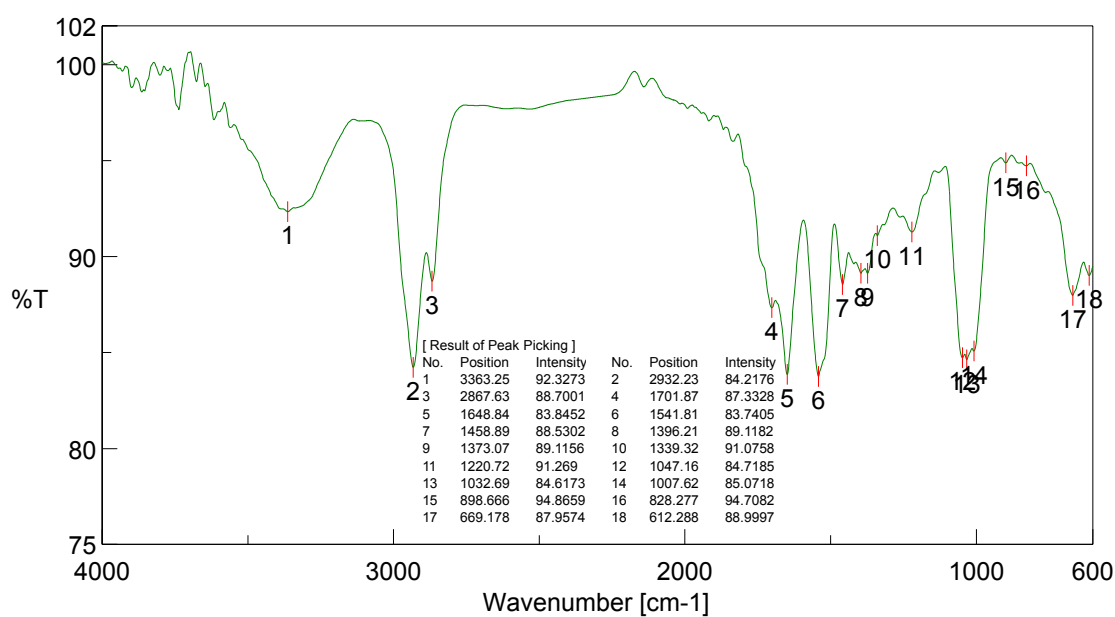


圖 43、化合物 7 之紅外光譜 (ZnSe)。

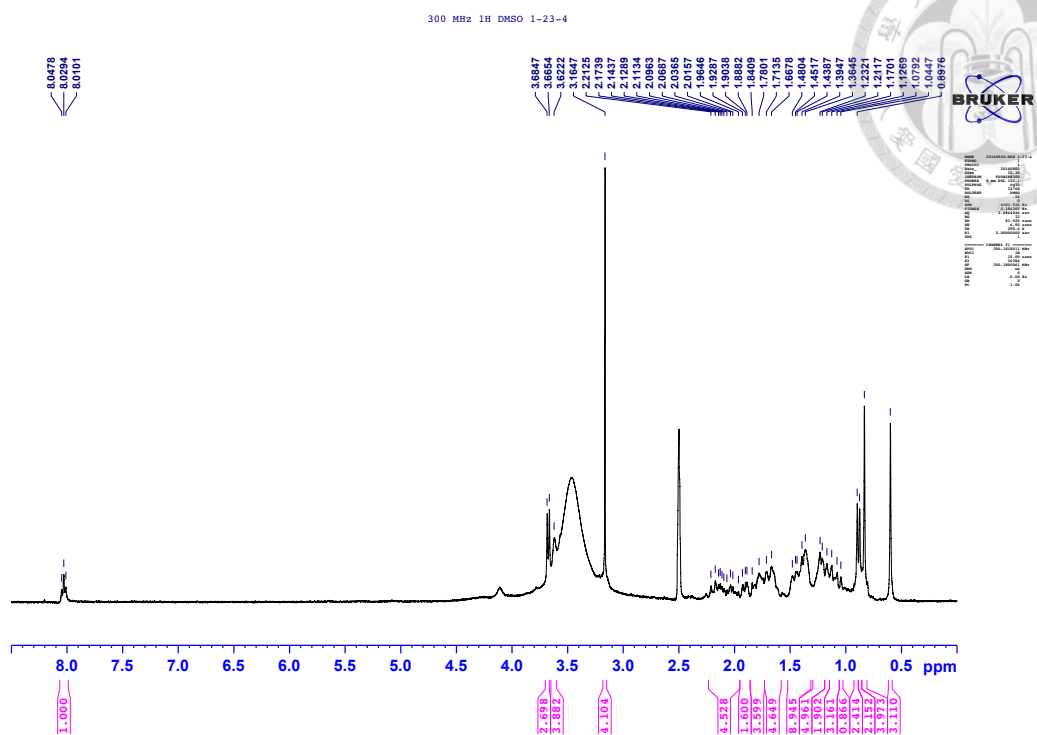
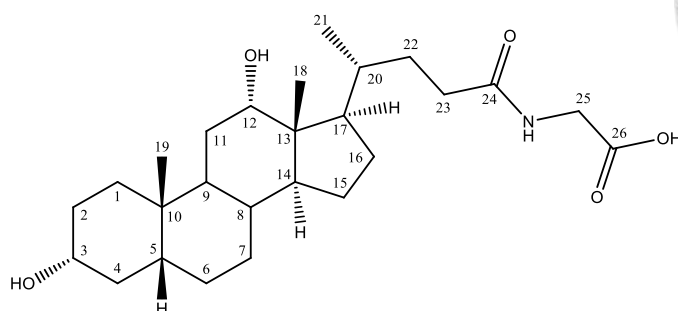


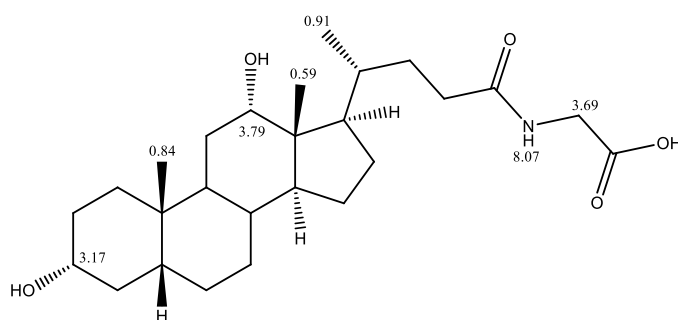
圖 44、化合物 7 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 300 MHz)。



3.2.8 Glycodeoxycholsaeure (**8**) 之結構解析



化合物 **8** 為無色無晶粉末，比旋光度 $[\alpha]_D^{27} = +1.3$ (c 0.1, MeOH)，高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其 $[M + H]^+$ 離子峰 m/z 450.3223 (calcd. for $C_{26}H_{44}NO_5$, m/z 450.3219)，推測分子式為 $C_{26}H_{43}NO_5$ (圖 45)。紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 (3329cm^{-1}) 官能基的存在 (圖 46)。



$^1\text{H-NMR}$ data of **8**

氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 300 MHz) (圖 47) 實驗顯示，在高場區域中 δ_{H} 0.59 (3H, s, H₃-18)、 δ_{H} 0.84 (3H, s, H₃-19) 和 δ_{H} 0.91 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, H₃-21) 有三組甲基 (methyls) 質子訊號； δ_{H} 3.69 (2H, d, $J = 5.8$ Hz, H₂-25) 和 δ_{H} 3.79 (1H, brs, H-12) 推測旁邊接有異原子；在 δ_{H} 8.07 (1H, t, $J = 5.8$ Hz, NH) 推測為胺基 (amino) 質子訊號。

由氫譜初步判斷，化合物 **8** 為 glycocholic acid (**5**) 的結構類似物，紅外光譜中也顯示兩者具有相似的光譜訊號。比較兩者的氫譜發現，化合物 **8** 少了在 δ_{H} 3.60 位置上的訊號，推測化合物 **8** 在 C-7 上少了一組羥基 (hydroxyl)，經由高解析電灑

電離質譜佐證結構分子量正確性，經與文獻 [149], [151] 比對化合物 **8** 的結構為已知物 Glycochenodeoxycholate。

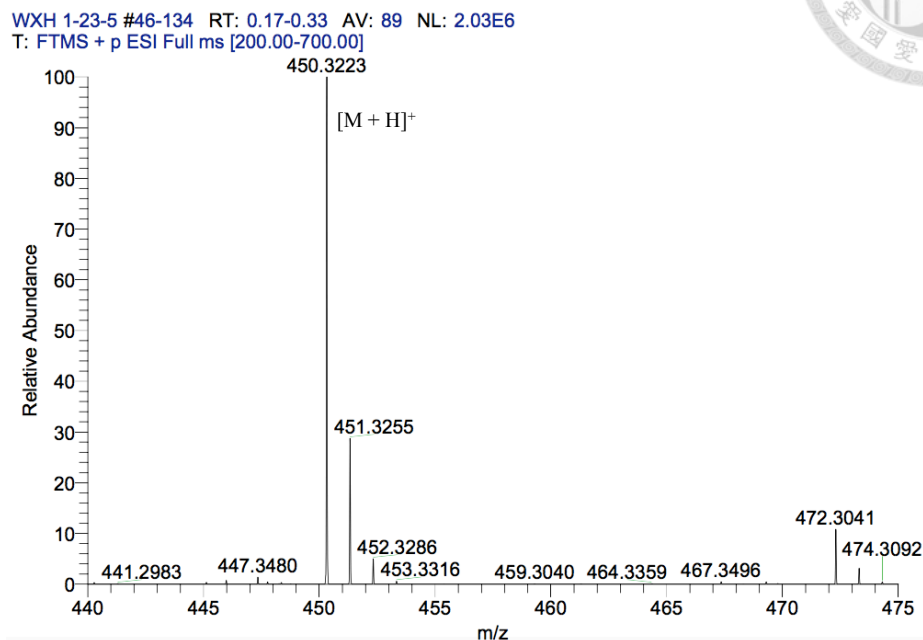


圖 45、化合物 **8** 之高解析電灑游離質譜。

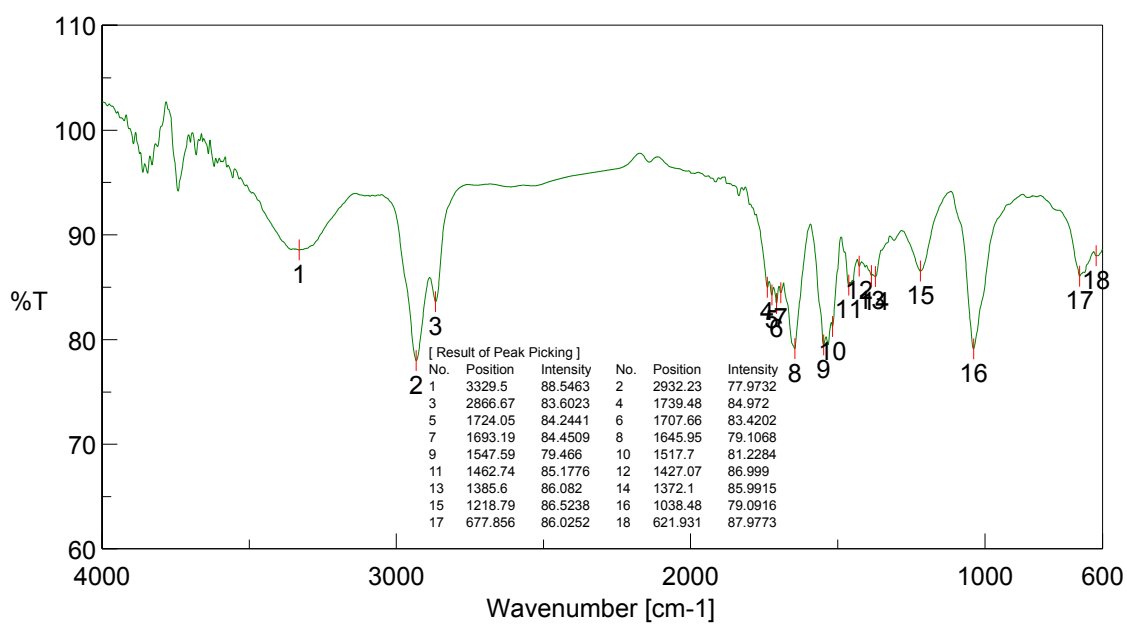


圖 46、化合物 **8** 之紅外光譜 (ZnSe)。

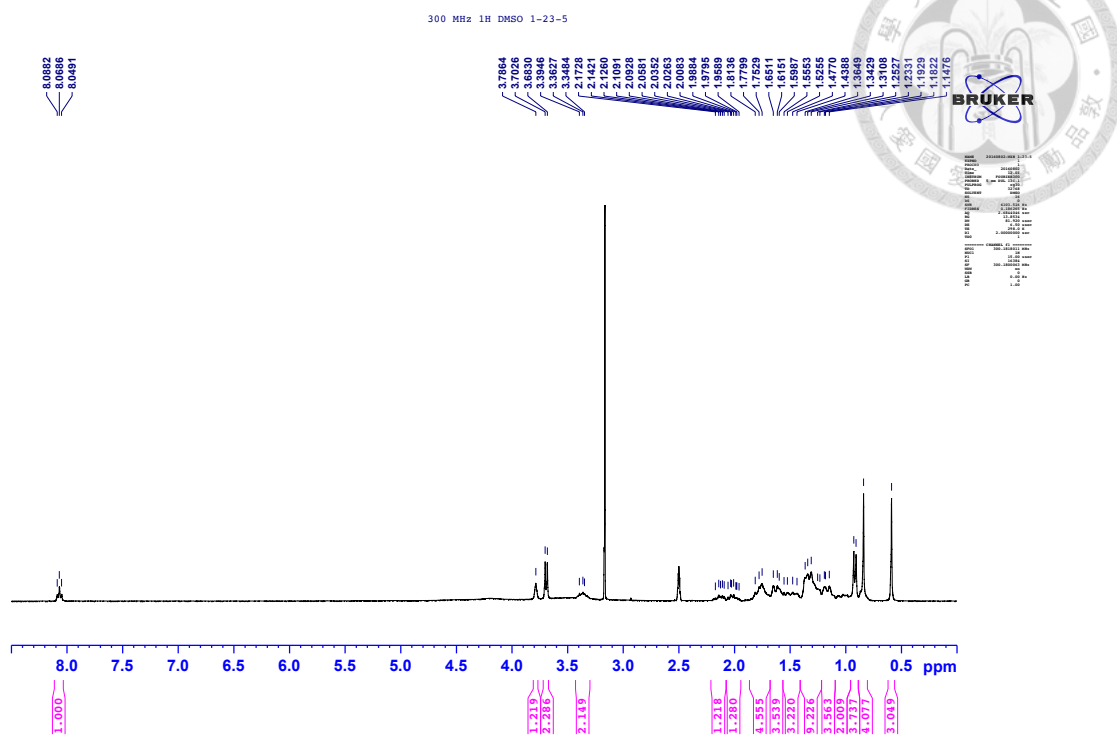
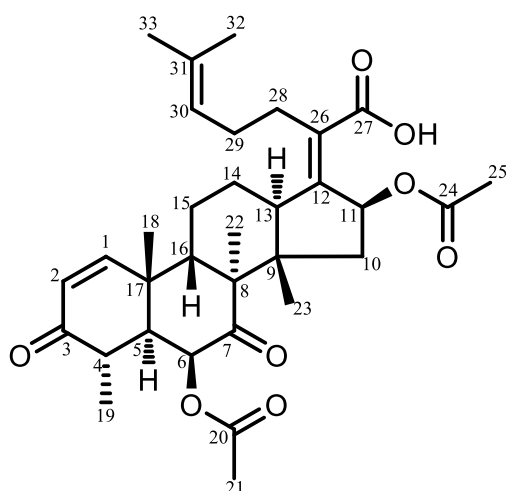


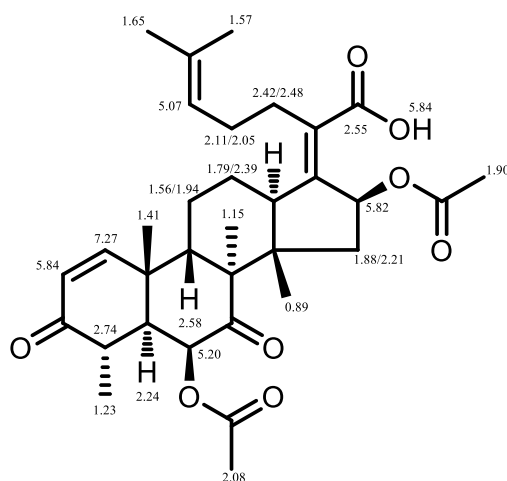
圖 47、化合物 **8** 之氫譜 (Dimethyl sulfoxide- d_6 , 300 MHz)。



3.2.9 Helvolic acid (9) 之結構解析



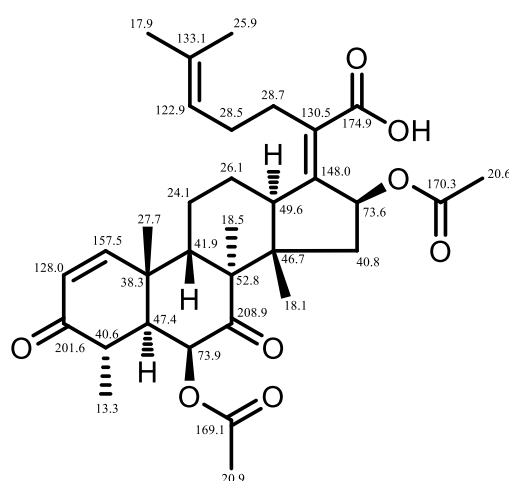
化合物 **9** 為白色粉末，比旋光度 $[\alpha]_D^{27} = -4.8$ (c 0.1, MeOH)，高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其 $[M + Na]^+$ 離子峰 m/z 591.2932 (calcd. for $C_{33}H_{44}O_8Na$, m/z 591.2934)，推測分子式為 $C_{33}H_{44}O_8$ (圖 48)。紅外光譜 (IR) 顯示有酯羰基 (1722 cm^{-1}) 與共軛羰基 (1676 cm^{-1}) 等官能基的存在 (圖 49)。



$^1\text{H-NMR}$ data of **9**

氫譜 (Chloroform- d , 500 MHz) (圖 50) 配合 HSQC (圖 52) 解析，推測在 δ_H 0.89 (3H, s, H₃-23) 和 δ_H 1.15 (3H, s, H₃-22)、 δ_H 1.23 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-19)、 δ_H 1.41 (3H, s, H₃-18)、 δ_H 1.57 (3H, s, H₃-33)、 δ_H 1.65 (3H, s, H₃-32)、 δ_H 1.90 (3H, s, H₃-

25)、 δ_{H} 2.08 (3H, s, H₃-21) 有八組甲基 (methyls) 質子訊號，其中 δ_{H} 1.23 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H₃-19) 推測為一組接於次甲基 (methine) 之甲基 (methyl) 質子訊號， δ_{H} 5.07 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-30) 與 δ_{H} 7.27 (1H, d, $J = 10.1$ Hz, H-1) 為雙鍵上質子 (olefinic protons) 訊號。推測 δ_{H} 5.20 (1H, d, $J = 0.8$ Hz, H-6) 與 δ_{H} 5.82 (1H, m, H-11) 旁邊接有異原子。

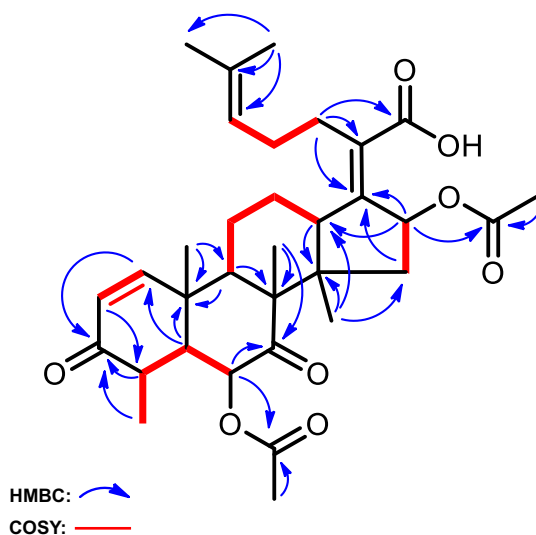


¹³C-NMR data of 9

碳譜 (Chloroform-*d*, 125 MHz) (圖 51) 顯示化合物 9 總共有 33 個碳，配合 HSQC (圖 52) 的解析，含有八個甲基 (methyls) 訊號位於 δ_{C} 27.7 (C-18)、 δ_{C} 13.3 (C-19)、 δ_{C} 20.9 (C-21)、 δ_{C} 18.5 (C-22)、 δ_{C} 18.1 (C-23)、 δ_{C} 20.6 (C-25)、 δ_{C} 25.9 (C-32) 和 δ_{C} 17.9 (C-33)；四個亞甲基 (methylenes) 訊號位於 δ_{C} 40.8 (C-10)、 δ_{C} 26.1 (C-14)、 δ_{C} 24.1 (C-15) 和 δ_{C} 28.7 (C-28)；九個次甲基 (methines) 位於 δ_{C} 157.5 (C-1)、 δ_{C} 128.0 (C-2)、 δ_{C} 40.6 (C-4)、 δ_{C} 47.4 (C-5)、 δ_{C} 73.9 (C-6)、 δ_{C} 73.6 (C-11)、 δ_{C} 49.6 (C-13)、 δ_{C} 41.9 (C-16) 和 δ_{C} 122.9 (C-30)；十一個四級碳 (quaternary carbons) 訊號位於 δ_{C} 201.6 (C-3)、 δ_{C} 208.9 (C-7)、 δ_{C} 52.8 (C-8)、 δ_{C} 46.7 (C-9)、 δ_{C} 148.0 (C-12)、 δ_{C} 38.3 (C-17)、 δ_{C} 169.1 (C-20)、 δ_{C} 170.3 (C-24)、 δ_{C} 130.5 (C-26)、 δ_{C} 174.9 (C-27) 和 δ_{C} 133.1 (C-31)。其中 δ_{C} 73.9 (C-6) 和 δ_{C} 73.6 (C-11) 兩組較為低場 (downfield) 推測為接有氧原子的碳 (carbonyl carbon)； δ_{C} 122.9 (C-30) 與 δ_{C} 133.1 (C-31) 推測為雙鍵的訊號； δ_{C} 169.1 (C-20) 和 δ_{C} 170.3 (C-24) 配合紅外光譜 (1718



cm^{-1}) 推測為 acetoxyl carbonyl 的訊號。 $\delta_{\text{C}} 201.6$ (C-3)、 $\delta_{\text{C}} 208.9$ (C-7)、 $\delta_{\text{C}} 169.1$ (C-20) 和 $\delta_{\text{C}} 170.3$ (C-24) 配合紅外光譜 (1676 cm^{-1}) 推測為共軛羧基 (conjugated carbonyl) 的訊號。



HMBC and COSY correlations of **9**

根據上述氫、碳譜的初步判讀，配合 COSY (圖 53) 的相關訊號包括：H-1/H-2；H₃-19/H-4；H-4/H-5；H-5/H-6；H-6/H-7；H₂-10/H-11；H-13/H₂-14；H₂-14/H₂-15；H₂-15/H-16；H₂-28/H₂-29；H₂-29/H-30 以及 HMBC (圖 54) 的相關訊號包括：H-1/C-2 和 C-3；H-2/C-4；H-4/C-3；H-5/C-4 和 C-17；H-6/C-5 和 C-7；H₂-10/C-9 和 C-11 及 C-12；H-11/C-12 和 C-24；H-13/C-9 和 C-14；H-16/C-15 和 C-8 及 C-17；H₃-18/C-17 和 C-1 及 C-16；H₃-19/C-3 和 C-4。初步推測化合物 **9** 的結構 3 個六圓環和 1 個五圓環及五圓環上接有側鏈之固醇類骨架。


HMBC 實驗顯示 H₃-18/C-17 和 C-1 及 C-16；H₃-19/C-3 和 C-4；H₃-21/C-20；H₃-22/C-8 和 C-9 及 C-16；H₃-23/C-8 和 C-9、C-10 及 C-13；H₃-25/C-24；H₂-28/C-26 和 C-27 及 C-29；H₂-29/C-28 和 C-30；H₃-32/C-30 和 C-31 及 C-33；H₃-33/C-30 和 C-31 及 C-32；OH/C-26 和 C-27。可以推測在 C-4、C-8、C-9、C-17、C-20、C-24 和 C-31 上接有甲基 (methyls)，在 C-26 上接有羧酸 (carboxylic acid)，在 C-6 與

C-11 上接有乙醯氧基 (acetoxys), δ_c 148.0 (C-12)、 δ_c 130.5 (C-26) 與 δ_c 122.9 (C-30)、 δ_c 133.1 (C-31) 為兩組雙鍵。

最後化合物 **9** 如圖所示，將以上解析所得數據詳列於表 9，並輔以高解析電灑電離質譜佐證結構分子量正確性，再比對文獻確認化合物的結構為已知物 Helvolic acid [56]，立體位向部分的解析上經由比對文獻 [56]，確定化合物的相對立體。

表 10、化合物 **9** 之氫、碳譜數據。 [δ in ppm, mult. (J in Hz)]

9^a				
No.	¹³ C ^b , type	¹ H	COSY	HMBC
1	157.5, CH	7.27 (1H, d, 10.1)	2	3
2	128.0, CH	5.84 (1H, d, 10.1)	1	4
3	201.6, C=O			
4	40.6, CH	2.74 (1H, m)	5, 19	3
5	47.4, CH	2.24 (1H, m)	4, 6	1, 4, 17
6	73.9, CH	5.20 (1H, d, 0.9)	5	5, 7, 8, 17, 20
7	208.9, C=O			
8	52.8, C			
9	46.7, C			
10	40.8, CH ₂	1.88 (1H, m) 2.21 (1H, m)	11	9, 11, 12, 13, 23
11	73.6, CH	5.82 (1H, m)	10	9, 12, 13, 24
12	148.0, C			
13	49.6, CH	2.55 (1H, m)	14	9, 14
14	26.1, CH ₂	1.79 (1H, m) 2.39 (1H, m)	13, 15	13, 15, 16
15	24.1, CH ₂	1.56 (1H, m) 1.94 (1H, m)	14, 16	13, 14, 16
16	41.9, CH	2.58 (1H, m)	15	1, 5, 18, 22
17	38.3, C			
18	27.7, CH ₃	1.41 (1H, s)		1, 5, 16
19	13.3, CH ₃	1.23 (1H, s)	4	3, 4, 5



No.	$^{13}\text{C}^b$, type	^1H	COSY	HMBC
20	169.1, C=O			
21	20.9, CH ₃	2.08 (1H, s)		20
22	18.5, CH ₃	1.15 (1H, s)		7, 8, 9, 16, 22
23	18.1, CH ₃	0.89 (1H, s)		8, 9, 10, 13, 23
24	170.3, C=O			
25	20.6, CH ₃	1.90 (1H, s)		24
26	130.5, C			
27	174.9, C=O			
28	28.7, CH ₂	2.42 (1H, m) 2.48 (1H, m)	29	12, 26, 27, 29, 30
29	28.5, CH ₂	2.05 (1H, m) 2.11 (1H, m)	28, 30	26, 28, 30, 31
30	122.9, CH	5.07 (1H, d, 7.2)	29	29, 32, 33
31	133.1, C			
32	25.9, CH ₃	1.65 (1H, s)		30, 31, 33
33	17.9, CH ₃	1.57 (1H, s)		
27'-OH		5.84 (1H, s)		26, 27

^aMeasured in chloroform-*d* (500 MHz); ^bSignals without multiplicity were overlapped, and picked from COSY or HMBC spectra.

17-WXH-38-2 #12-28 RT: 0.05-0.12 AV: 17 NL: 6.20E6
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-700.00]

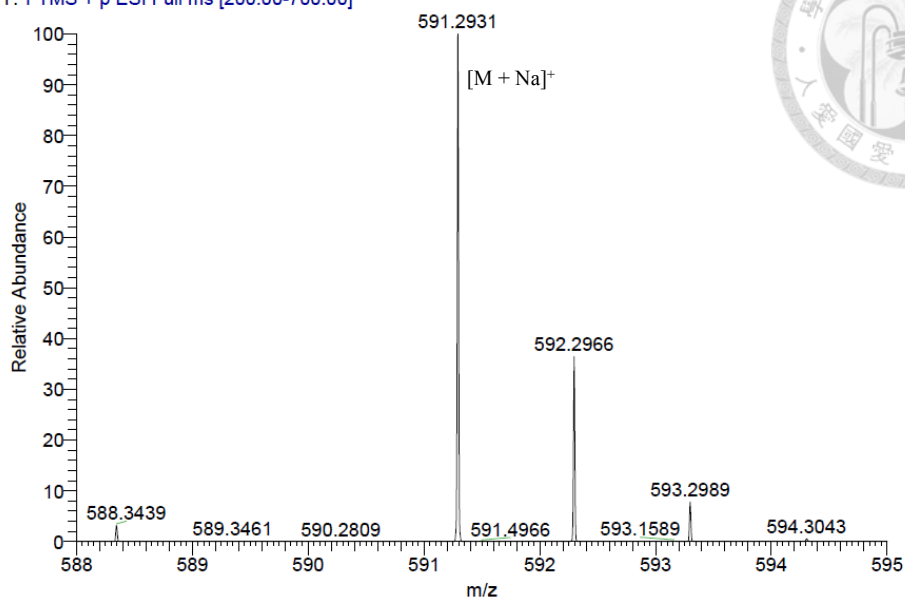


圖 48、化合物 9 之高解析電灑游離質譜。

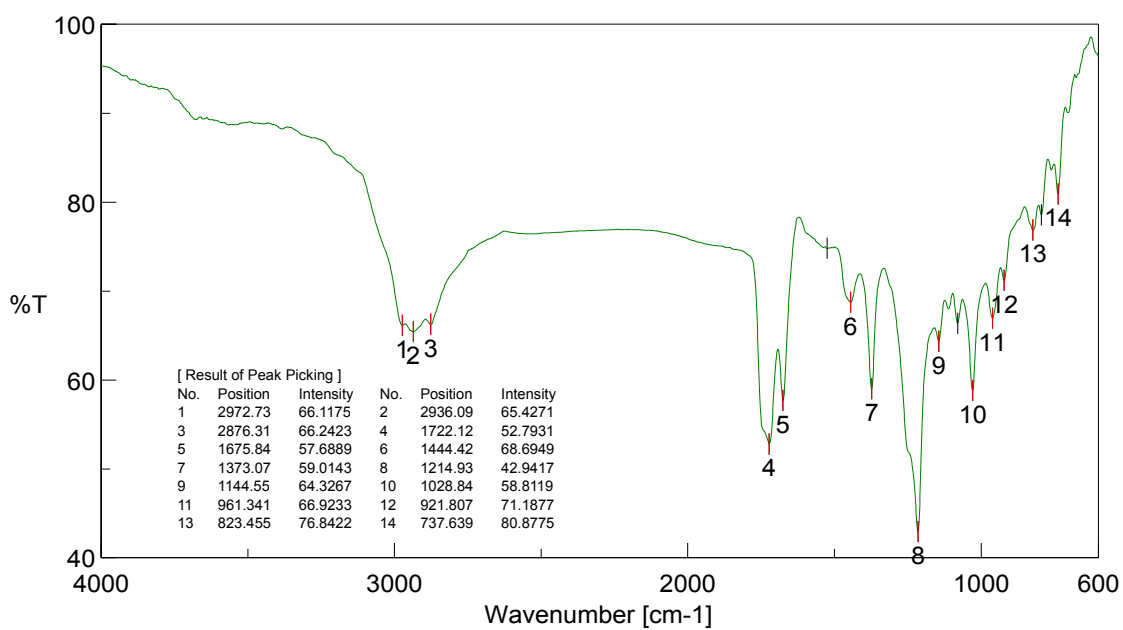


圖 49、化合物 9 之紅外光譜 (ZnSe)。

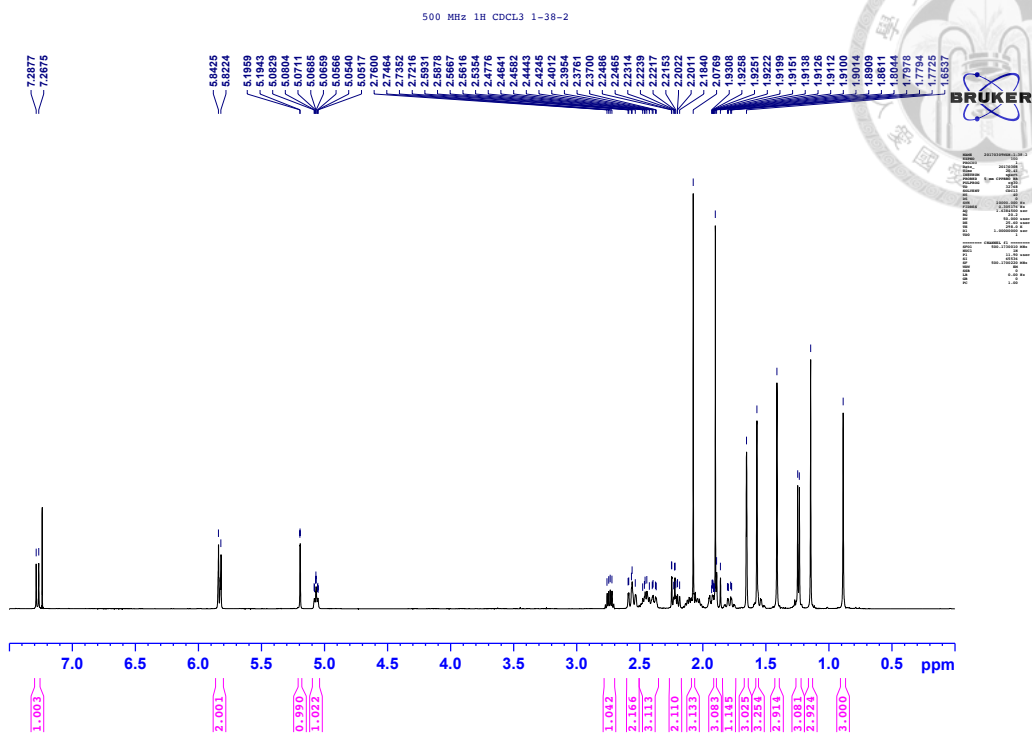


圖 50、化合物 9 之氫譜 (Chloroform-*d*, 500 MHz)。

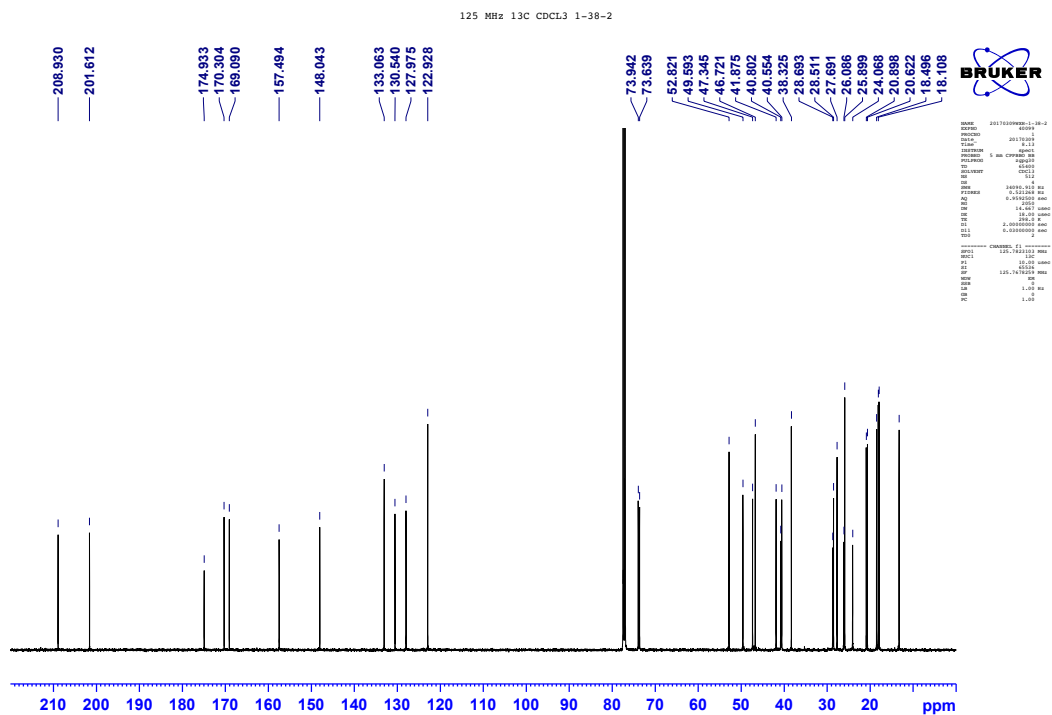


圖 51、化合物 9 之碳譜 (Chloroform-*d*, 125 MHz)。

500MHz HSQC CDCL3 1-38-2

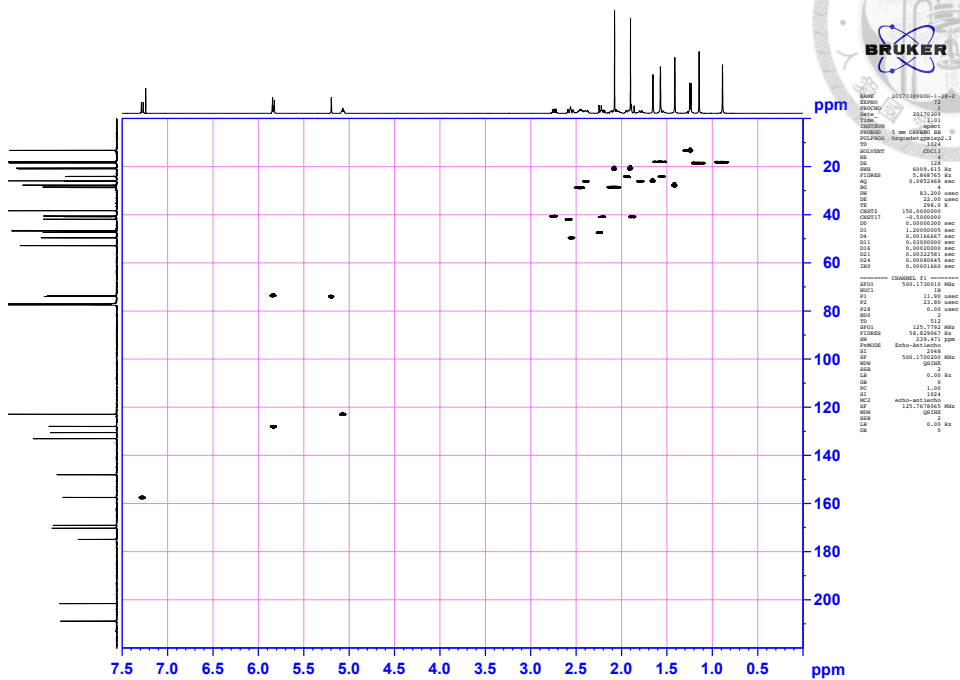


圖 52、化合物 9 之 HSQC 圖譜。

500MHz COSY CDCL3 1-38-2

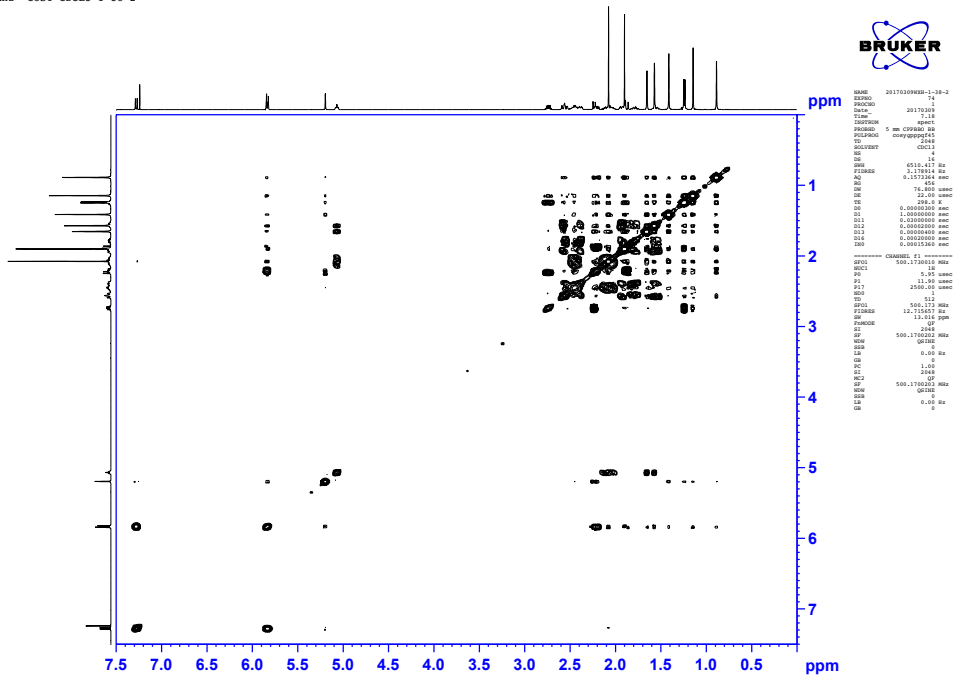
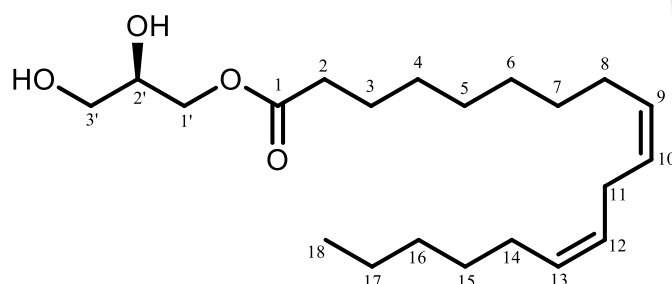


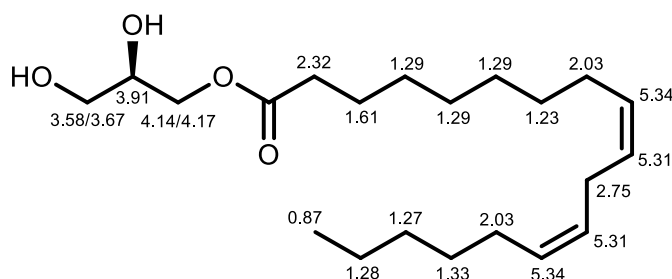
圖 53、化合物 9 之 COSY 圖譜。



3.2.10 1-Linoleoyl glycerol (**10**) 之結構解析

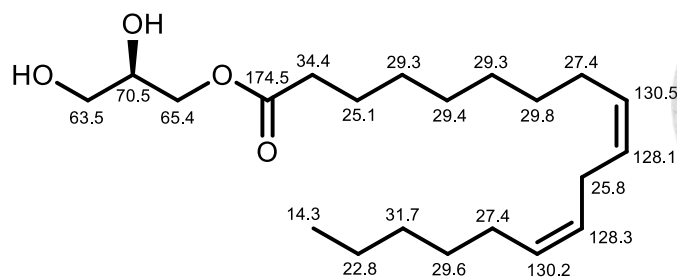


化合物 **10** 為黃色油狀物，比旋光度 $[\alpha]_D^{27} = -3.7$ (c 0.1, MeOH)，高解析電灑游離質譜 (HRESIMS) 顯示其 $[M + Na]^+$ 離子峰 m/z 377.2663 (calcd. for $C_{21}H_{38}O_4Na$, m/z 377.2668)，推測分子式為 $C_{21}H_{38}O_4$ (圖 55)。紅外光譜 (IR) 顯示有羥基 (3388 cm^{-1}) 與羧基 (1730 cm^{-1}) 等官能基的存在 (圖 56)。



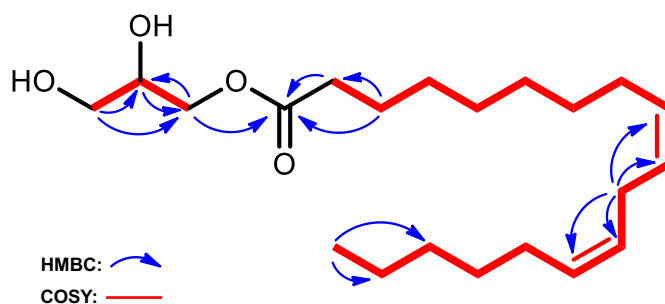
$^1\text{H-NMR}$ data of **10**

氫譜 (Chloroform- d , 500 MHz) (圖 57) 推測在 δ_H 0.87 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, H₃-18) 為一組甲基 (methyl) 質子訊號； δ_H 1.23 – 1.33 (16H, H₂-3, -4, -5, -6, -7, -15, -16, -17) 為八組亞甲基 (methylenes) 質子訊號； δ_H 2.32 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, H₂-2) 為一組亞甲基 (methylenes) 質子訊號，根據其化學位移推測臨近接有羰基 (carbonyl) 造成各向異性效應 (anisotropic effect) 的影響，其氫譜化學位移較為低場 (downfield)； δ_H 3.58 (2H, dd, $J = 11.5, 5.8$ Hz, H₂-3') 與 δ_H 4.14 (2H, dd, $J = 11.7, 6.2$ Hz, H₂-1') 為兩組接於次甲基 (methine) 上之接氧亞甲基 (oxymethylenes) 質子訊號； δ_H 5.31 (1H, m, H-9)、 δ_H 5.34 (1H, m, H-10) 與 δ_H 5.31 (1H, m, H-12)、 δ_H 5.34 (1H, m, H-13) 為兩組雙鍵上質子 (olefinic protons) 訊號。



¹³C-NMR data of **10**

碳譜 (Chloroform-*d*, 500 MHz) (圖 58) 顯示化合物 **10** 有 21 個碳，配合 HSQC (圖 59) 的解析，含有一個甲基 (methyl) 訊號位於 δ_C 14.3 (C-18)；十四個亞甲基 (methylenes) 訊號位於 δ_C 34.4 (C-2)、 δ_C 25.1 (C-3)、 δ_C 29.3 (C-4)、 δ_C 29.4 (C-5)、 δ_C 29.3 (C-6)、 δ_C 29.8 (C-7)、 δ_C 27.4 (C-8)、 δ_C 25.8 (C-11)、 δ_C 27.7 (C-14)、 δ_C 29.6 (C-15)、 δ_C 31.7 (C-16)、 δ_C 22.8 (C-17)、 δ_C 65.4 (C-1') 和 δ_C 63.5 (C-3')；五個次甲基 (methines) 訊號位於 δ_C 130.5 (C-9)、 δ_C 128.1 (C-10)、 δ_C 128.3 (C-12)、 δ_C 130.2 (C-13) 和 δ_C 70.5 (C-2')；一個四級碳 (quaternary carbon) 訊號位於 δ_C 174.5 (C-1)。其中 δ_C 65.4 (C-1') 與 δ_C 70.5 (C-2') 和 δ_C 63.5 (C-3') 較為低場推測為接有氧原子的碳 (quaternary carbons)； δ_C 130.5 (C-9)、 δ_C 128.1 (C-10)、 δ_C 128.3 (C-12)、 δ_C 130.2 (C-13) 推測為雙鍵的訊號。




HMBC and COSY correlations of **10**

根據上述氫、碳譜的初步判讀，配合 COSY (圖 60) 的相關訊號包括： H_2-2/H_2-3 ； H_2-3/H_2-4 ； H_2-4/H_2-5 ； H_2-5/H_2-6 ； H_2-6/H_2-7 ； H_2-7/H_2-8 ； $H_2-8/H-9$ ； $H-9/H-10$ ； $H-10/H_2-11$ ； $H_2-11/H-12$ ； $H-12/H-13$ ； $H-13/H_2-14$ ； H_2-14/H_2-15 ； H_2-15/H_2-16 ； H_2-16/H_2-17 ； H_2-17/H_2-18 ； H_2-1'/H_2-2' 和 H_2-2'/H_2-3' ，可以初步推斷化合物 **10** 為脂肪

酸 (fatty acid) 結構類似物。配合 HMBC (圖 61) 實驗顯示 $H_2-3'/C-1'$ 和 $C-2'$; $H_2-2'/C-1'$; $H_2-1'/C-2'$ 、 $C-3'$ 和 $C-1$ ，推測為甘油之結構片段接在化合物 $C-1$ 上。

HMBC 實驗顯示 δ_C 130.5 (C-9)、 δ_C 128.1 (C-10) 與 δ_C 128.3 (C-12)、 δ_C 130.2 (C-13) 有連接關係推測為兩組雙鍵的訊號，並與文獻 [152] 碳譜進行比較，可以確認雙鍵 $\Delta^{9,12}$ 皆為 *Z* form。在立體位向部分，參考文獻 [153] 可以確認化合物的絕對立體。最後化合物 **10** 如圖所示，將以上解析所得數據詳列於表 11，並輔以高解析電灑電離質譜佐證結構分子量正確性，再比對文獻 [154] 確認化合物的結構為已知物 1-Linoleoyl glycerol。

表 11、化合物 **10** 之氫、碳譜數據。[δ in ppm, mult. (*J* in Hz)]



No.	10^a	
	¹³ C, type	¹ H
1	174.5, C	
2	34.4, CH ₂	2.32 (2H, t, 6.6)
3	25.1, CH ₂	1.61 (2H, m)
4	29.3, CH ₂	1.29 (2H, m)
5	29.4, CH ₂	1.29 (2H, m)
6	29.3, CH ₂	1.29 (2H, m)
7	29.8, CH ₂	1.23 (2H, m)
8	27.4, CH ₂	2.03 (2H, m)
9	130.5, CH	5.34 (1H, m)
10	128.1, CH	5.31 (1H, m)
11	25.8, CH ₂	2.75 (2H, m)
12	128.3, CH	5.31 (1H, m)
13	130.2, CH	5.34 (1H, m)
14	27.4, CH ₂	2.03 (2H, m)
15	29.6, CH ₂	1.33 (2H, m)
16	31.7, CH ₂	1.27 (2H, m)
17	22.8, CH ₂	1.28 (2H, m)
18	14.3, CH ₃	0.87 (3H, t, 6.9)
1'	65.4, CH ₂	4.14 (1H, m) 4.17 (1H, m)
2'	70.5, CH	3.91 (1H, m)
3'	63.5, CH ₂	3.58 (1H, m) 3.67 (1H, m)

^aMeasured in chloroform-*d* (500 MHz)



19-WXH-38-4 #14-28 RT: 0.06-0.12 AV: 15 NL: 1.25E7
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-700.00]

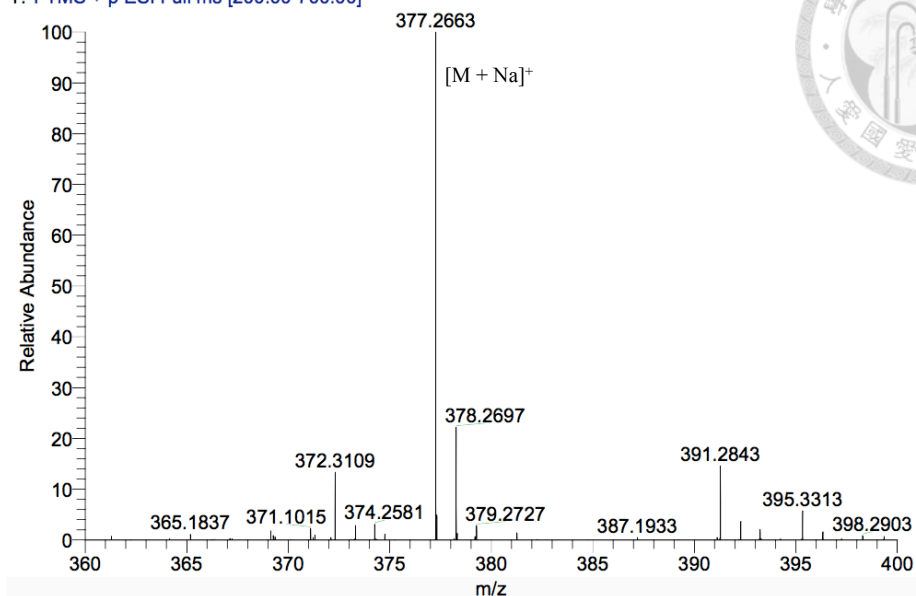


圖 55、化合物 10 之高解析電灑游離質譜。

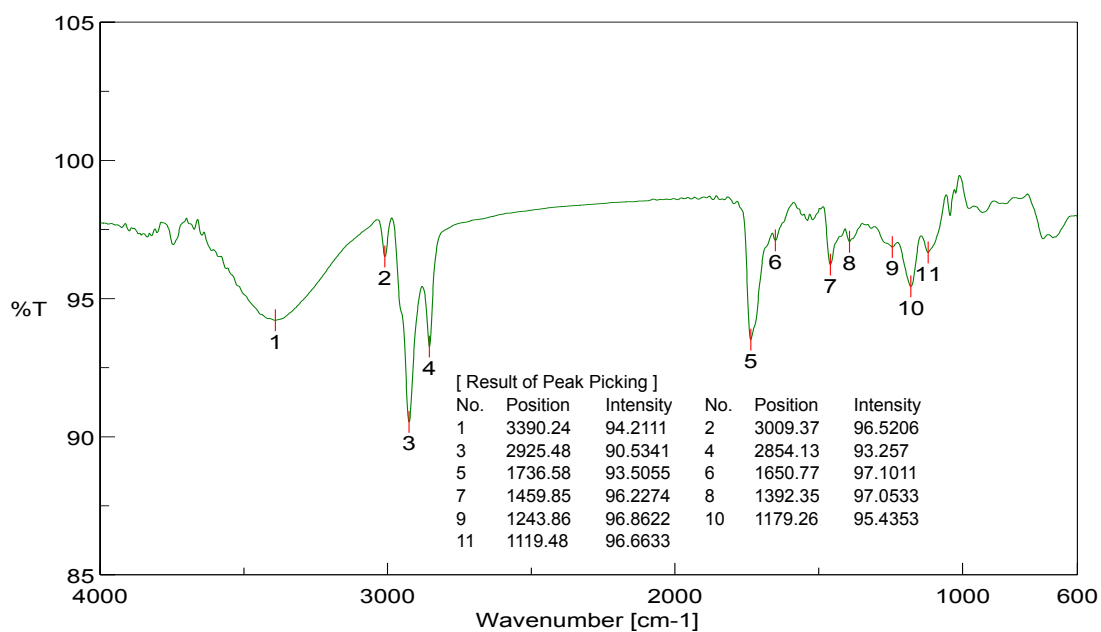


圖 56、化合物 10 之紅外光譜 (ZnSe)。

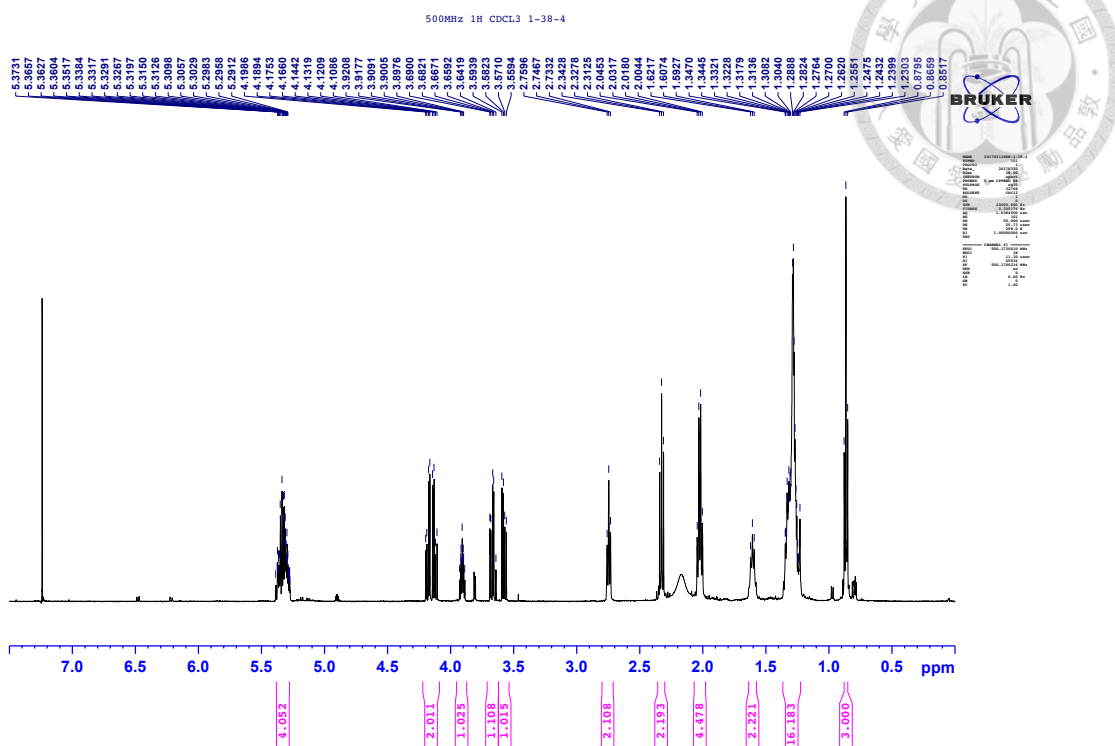


圖 57、化合物 10 之氫譜 (Chloroform-*d*, 500 MHz)。

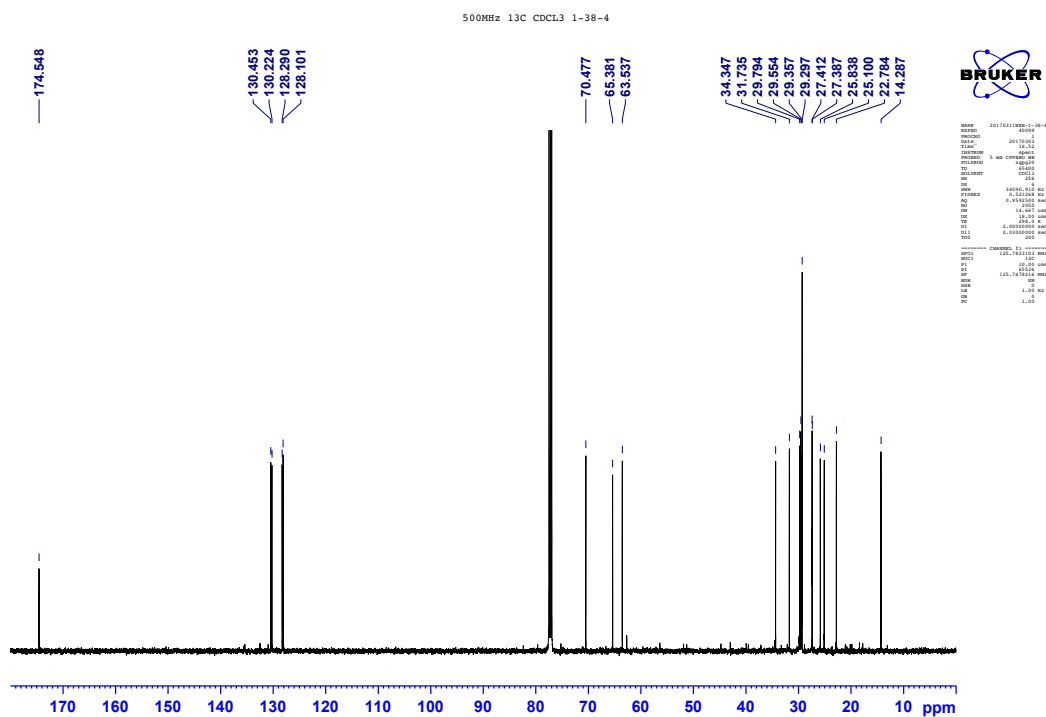


圖 58、化合物 10 之碳譜 (Chloroform-*d*, 125 MHz)。



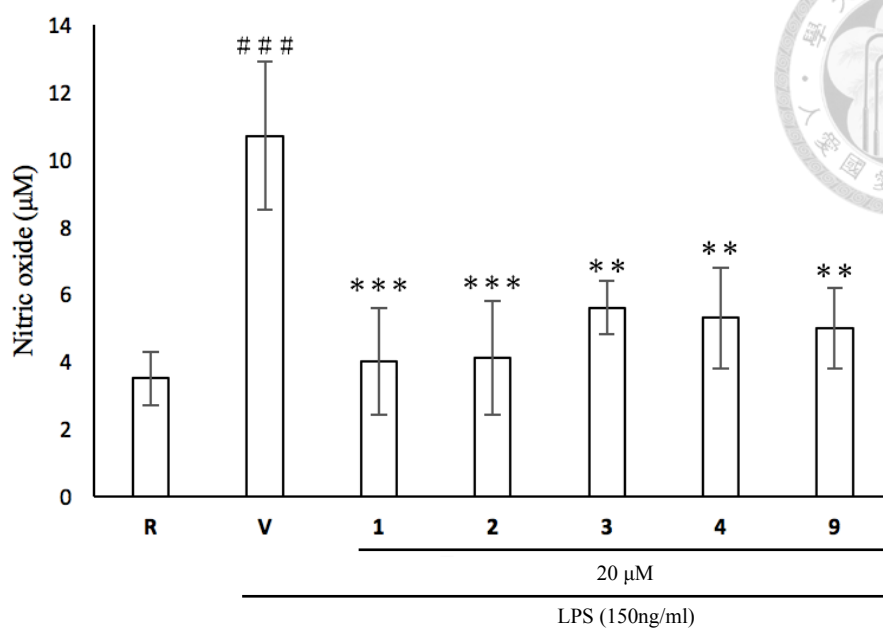
3.3 化合物活性平臺測試

3.3.1 一氧化氮抑制與細胞存活率之實驗結果

利用 Griess reagent assay 分析一氧化氮的濃度，來評估真菌中所產生的次級代謝物是否對小鼠小膠質細胞株 (murine microglial cell line; BV-2) 細胞產生的 NO 具有抑制作用 [155]，本實驗和臺北醫學大學藥理學研究所蕭哲志教授合作進行。

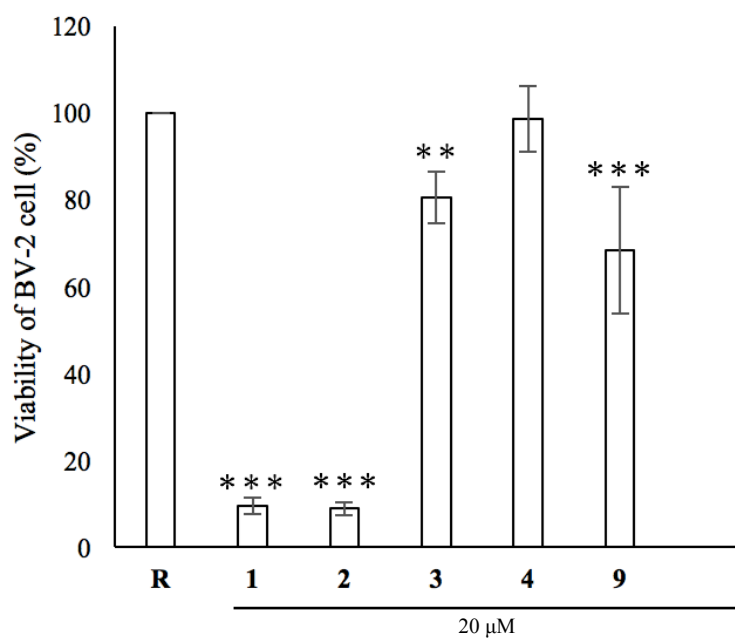
由圖 62 顯示，在 20 μ M 濃度下，化合物 1、2、3、4 與 9 有明顯一氧化氮產生的抑制，其中 R 為一般狀態下細胞含有的 NO 量，V 為經由 LPS (150 ng/ml) 刺激後細胞所產生的 NO 量。

圖 63 顯示，化合物 1、2 和 9 具有強的細胞毒性，可推測其對於 BV-2 細胞之一氧化氮生成抑制，可能是化合物本身的細胞毒殺作用。化合物 3 與 4 對於 BV-2 細胞之一氧化氮生成抑制效果非來自於細胞毒殺作用，可能為對一氧化氮合成酶之抑制，詳細機制仍須進一步證實。



###P < 0.001, **P < 0.01, ***P < 0.001

圖 62、化合物 1-4 與 9 對 BV-2 產生一氧化氮之抑制結果。



*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001

圖 63、化合物 1-4 與 9 對於 BV-2 細胞之存活率影響。



3.3.2 抑菌試驗結果

本實驗與臺大植物病理與微生物學系陳穎練老師合作進行，將化合物進行抗細菌與真菌病原的測試，結果如表 12 所列。實驗顯示化合物 **1**、**2**、**3** 和 **4** 有對於新型隱球菌 (*Cryptococcus neoformans*) 的抑制活性，為前人未研究活性，其中以化合物 **1** 效果最為突出。化合物 **1**、**2** 和 **9** 具有抑制金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 的活性，以化合物 **9** 效果最強。化合物 **1**、**2** 則表現出抑制白色念珠菌的活性。化合物 **1**、**2**、**4** 和 **9** 分別能抑制新型隱球菌 (*Cryptococcus neoformans*) 與金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)，能回應在菌株初篩時的結果，確認分離出具有活性潛力的化合物。

表 12、化合物 **1**—**4** 與 **9** 對於病原菌的抑菌測試結果

Compounds	MIC ^d (µg/mL)			MFC ^e / MBC ^f (µg/mL)		
	<i>C.a.</i> ^a	<i>C.n.</i> ^b	<i>S.a.</i> ^c	<i>C.a.</i> ^a	<i>C.n.</i> ^b	<i>S.a.</i> ^c
Cephaibol A (1)	32	8	32	64	16	32
Cephaibol B (2)	32	16	16	64	16	32
Cephaibol C (3)	>64	32	>64	>64	64	>64
Cephaibol E (4)	>64	32	>64	>64	64	>64
Helvolic acid (9)	>64	>64	4	>64	>64	32

^a*Candida albicans* SC5314, ^b*Cryptococcus neoformans* H99, ^c*Staphylococcus aureus* YC981, ^dminimum inhibitory concentration,

^eminimal fungicidal concentration, ^fminimum bactericidal concentration



3.3.3 細胞毒性試驗

細胞毒活性測試以 Sulforhodamine B colorimetric assay 來評估 *Acremonium tubakii* NTU60 所分離到的化合物 **1–4** 與 **9** 對於癌細胞是否具有抑制細胞增生或是毒殺細胞之作用。本實驗與馬偕醫學院醫學系王士維老師合作進行，使用細胞株為人類抗藥性卵巢癌細胞 (Paclitaxel-resistant ovarian cancer cells; TOV-21G-RT) 與人類肝細胞癌細胞 (Hepatocellular carcinoma cells; SK-Hep-1)。

實驗顯示 (表 13) 在 10 μM 與 30 μM 的濃度下，化合物 **1** 和 **2** 具有癌細胞株毒殺活性，化合物 **3**、**4**、**9** 沒有毒殺癌細胞活性表現。

化合物 **1** 對 TOV-21G-RT 和 SK-Hep-1 細胞株有毒殺活性，其 IC_{50} 分別為 7.3 與 5.9 μM (表 14)；化合物 **2** 對 TOV-21G-RT 和 SK-Hep-1 細胞株有毒殺活性，其 IC_{50} 分別為 6.2 與 3.1 μM (表 14)。

表 13、化合物 **1–4** 與 **9** 對癌細胞株毒殺活性

Compounds	Cell survival (%)			
	TOV-21G-RT ^a		SK-Hep-1 ^b	
	10 μM	30 μM	10 μM	30 μM
Cephaibol A (1)	14 \pm 8	0	21 \pm 1	0
Cephaibol B (2)	0	0	0	0
Cephaibol C (3)	105 \pm 7	101 \pm 2	98 \pm 3	44 \pm 6
Cephaibol E (4)	105 \pm 6	94 \pm 4	103 \pm 1	75 \pm 4
Helvolic acid (9)	106 \pm 5	79 \pm 11	98 \pm 5	95 \pm 8

^aPaclitaxel-resistant ovarian cancer cells, ^bHepatocellular carcinoma cells, ^cpositive control

表 14、化合物 **1** 與 **2** 對於癌細胞株之半抑制濃度

Compounds	IC_{50} (μM)	
	TOV-21G-RT ^a	SK-Hep-1 ^b
Cephaibol A (1)	7.3 \pm 0.4	5.9 \pm 0.1
Cephaibol B (2)	6.2 \pm 0.1	3.1 \pm 0.5
8-Deoxy-trichothecin ^c	1.8 \pm 0.1	2.1 \pm 0.1

^aPaclitaxel-resistant ovarian cancer cells, ^bHepatocellular carcinoma cells, ^cpositive control

肆、實驗部分 (Experimental)



4.1 儀器設備與試劑

4.1.1 化合物之物理性質測定儀器

IR: JASCO FT/IR 4100 spectrometer (JASCO, Tokyo, Japan)

UV: Thermo UV-Visible Helios α Spectrophotometer (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)

HRESIMS: Thermo Scientific™ Q Exactive™ Hybrid Quadrupole-Orbitrap Mass

Spectrometer and THERMO Q Exactive Plus (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany)

NMR: Bruker Fourier 300 and DPX-400 and AVIII-500 and AV600_L spectrometer

(Bruker, Ettlingen, Germany)

Optical rotation: JASCO P-2000 Digital Polarimeter (JASCO, Tokyo, Japan)



4.1.2 高效液相層析系統

偵檢儀：

UV: Hitachi L-7400 (Tokyo, Japan)

RI: Bischoff (Leonberg, Germany)

幫浦：

Hitachi L-7100 (Tokyo, Japan)

管柱：

Thermo Hypersil HS C₁₈, 5 μ , 10 × 250 mm (Bellefonte, PA, USA)

Phenomenex Luna PFP, 5 μ , 10 × 250 mm (Torrance, CA, USA)

4.1.3 管柱色層層析膠體

Silica gel 60 (0.063 - 0.200 mm) (Merck, Darmstadt, Germany)

Sephadex LH-20 (Amersham Biosciences, Filial Sverige, Sweden)

4.1.4 薄層層析系統

層析片：

TLC aluminum sheets, silica gel 60 F254 plates (0.2 mm, Merck, Darmstadt, Germany)

展開溶媒組成：

A: Chloroform/Methanol (15:1, v/v)

B: Chloroform/Methanol (10:1, v/v)

C: Dichloromethane/Methanol (20:1, v/v)

顯色劑：

Vanillin (0.5 g) in 250 mL H₂SO₄/MeOH (1:4, v/v)

4.1.5 試劑耗材與溶劑

Methanol (ACS, Merck, Darmstadt, Germany)

Chloroform (Reag. Ph. Eur., SIGMA-ALDRICH, St. Louis, MO, USA)

Dichloromethane (ACS, Avantor Performance Materials Inc., PA, USA)

Acetonitrile (L.C., Merck, Darmstadt, Germany)

Methanol (L.C., Avantor Performance Materials Inc., PA, USA)

n-hexane (ACS, Avantor Performance Materials Inc., NJ, USA)

Ethyl acetate (ACS, Avantor Performance Materials Inc., PA, USA)

Trifluoroacetic acid (HPLC Grade, Alfa Aesar, Heysham, Lancs, UK)

Chloroform-*d* (Cambridge Isotope Laboratories Inc., Andover, MA, USA)

DMSO-*d*₆ (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, MO, USA)





4.2 真菌單離

4.2.1 真菌來源

本實驗於 2016 年 4 月至臺灣東北角海科館附近 (25°08'52.3"N 121°47'44.3"E) 海岸進行藻體採樣，在腸石髮 (*Ulva intestinalis*) 中單離出菌株 *Acremonium tubakii* NTU60。

4.2.2 真菌培養基

Bacto™ Peptone (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Bacto™ Malt Extract (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Bacto™ Yeast Extract (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Difco™ Agar (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Difco™ Dextrose (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Difco™ YPD Broth (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Difco™ Saccharose Sucrose (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Difco™ Potato Dextrose Agar (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Difco™ Potato Dextrose Broth (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Difco™ LB Broth, Miller (Luria-Bertani) (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)

Starch (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, MO, USA)

Calcium Carbonate, Powder (ACS, Avantor Performance Materials Inc., PA, USA)

Maltodextrin (DE10-12) (永信藥品工業股份有限公司)

日式有機發芽玄米 (聖德科斯, 亞洲瑞思生物科技股份有限公司)



表 15、真菌液態醱酵種源成分

Composition (g/L)	
NaCl	30
Peptone	1
Yeast extract	4
Dextrose	20
Starch	10
Soybean flour	40
Calcium Carbonate	5
Element solution ^a	1 (mL)

^a0.5% MnSO₄, 0.5% ZnSO₄, 5% CuSO₄

表 16、各種培養基配方

Composition (g/L)	YES	YPD	MEA	MDS	1/2 PDB	MY
Yeast extract	10	10	—	—	—	5
Malt extract	—	—	30	—	—	20
Sucrose	30	—	—	—	—	—
Peptone	—	20	5	—	—	—
Dextrose	—	20	—	—	—	—
Maltodextrin	—	—	—	30	—	—
Soybean flour	—	—	—	10	—	—
Potato Dextrose Broth	—	—	—	—	12	—

4.2.3 藻體單離菌株

用滅菌過的海水沖洗採樣回來的藻體 [156]，以去除藻體表面的微生物，接著將藻體切成小塊 (0.5 cm²) 後貼到選擇性培養基 (1/2 PDA + 100 ppm chloramphenicol) 上，期望抑制並降低細菌的影響，使其長出的菌落多為真菌菌絲，逐日觀察培養基，將長出的菌絲接種至新的培養基 (1/2 PDA) 上。



4.2.4 菌株培養與萃取

將單離後的真菌培養皿以石蠟膜封口，放置於 35°C 恆溫箱培養，為期十四天。以 20 mL 的管狀小瓶的瓶蓋面積為單位，將等面積菌塊挖入小瓶並加入甲醇進行萃取，加入量為每菌塊 1 mL 甲醇。

4.2.5 粗萃物抗菌活性評估

利用紙錠擴散法 (disk-diffusion method)，可以快速評估各真菌粗萃物對於病原菌的抑制能力。準備病原菌菌液及可供病原菌生長的培養基，將兩者混和搖勻後倒入培養皿，待其冷卻凝固。將待測菌液粗萃物 (40 μ L) 滴在紙錠 (8 mm) 上，使其陰乾，避免因有機溶劑殘留而影響實驗結果，把紙錠放置於此培養基上，以 37°C 培養 24 小時，觀察其抑制活性。真菌粗萃物隨時間滲透入培養基，若含有抑制病原菌生長之化合物，紙錠周圍會產生一環抑菌圈 (zone of inhibition)，可用此抑菌圈直徑作為評估粗萃物指標，本研究選用菌種為革蘭氏陽性金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 與革蘭氏陰性大腸桿菌 (*Escherichia coli*) 及新型隱球菌 (*Cryptococcus neoformans*) 和白色念珠菌 (*Candida albicans*)。



4.2.6 菌株鑑種

真菌菌株之 DNA 鑑定結果委請臺灣大學植物病理與微生物研究所余浚維博士協助菌株 ITS (Internal Transcribed Spacer) 序列分子鑑定與 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 資料庫比對 (圖 64) 及顯微型態鑑定 (圖 65)。

4.2.6.1 菌株 NTU60 之 DNA 萃取與定序

將已培養於 PDA 培養基上之 *Acremonium tubakii* NTU60 刮取少量孢子與菌絲，置入 1.5 mL 之離心管並加入 50 μ L 之氫氧化鈉 (0.5 N)，用滅菌過之均質棒將孢子與菌絲磨碎均質化，而後將離心管放入離心機，轉速為 16000 g，持續一分鐘。取一個新的 1.5 mL 之離心管加入 255 μ L 的 Tris buffer，並將剛離心完的上清液取 5 μ L 加入已含有 255 μ L 的 Tris buffer 的 1.5 mL 之離心管中，此部分為本實驗之 template，以下將以 template 稱呼之。使用於 PCR machine 的樣品內容物為 10 mM 的 Forward Internal Transcribed Spacer 為 ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCAAGG-3') 1 μ L、10 mM 的 Reverse Internal Transcribed Spacer 為 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 1 μ L、template 1 μ L、2X Taq 25 μ L 和 ddH₂O 23 μ L，共 50 μ L。放入條件為 1. 變性：94°C、20 秒 2. 接合：55°C、20 秒 3. 延伸：72°C、60 秒，循環 25 次。PCR 結束後將樣品取 3 μ L 載入 Agarose 並放置於環境為 2 % TAE 的電泳槽中跑膠，確認 PCR 步驟是否成功，若成功就將 PCR 產物送至源資國際生物科技股份有限公司 (Tri-I Biotech, Inc.) 進行 DNA 序列定序。

4.2.6.2 菌株 NTU60 序列比對與顯微鏡檢

將菌株 NTU60 定序結果上傳至 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 網站，與資料庫進行 ITS 序列比對，並且使用 MEGA 6.0.6 軟體製作真菌親緣演化樹，發現 NTU60 與已記錄菌株 *Acremonium tubakii* 的相似度

(identities) 達 99%。NTU60 經顯微鏡檢觀察，其產孢構造不呈掃帚狀而為不具瓶梗 (phialide) 的分生孢子枝，鑑定 NTU60 為 *Acremonium* 屬而非 *Penicillium* 屬 [157]。



Acremonium tubakii NTU60 其部分序列如下：

```
1  CCGTTTGGGT  GACGGCGGAG  GGACATTACT  GAGTTATCCA
41 ACTCCCAAAC  CCCTGTGAAC  ATACCTATGT  TGCTTCGGCG
81  GACCGTCCCG  CGGCGCGCCC  TCGTGGCGTG  ACCCGGATCC
121 AGGCGCCCGC  CGGGGAACCA  AACTCTTGTT  TTCTAGTGTC
161 TCCTCTGAGT  GGCATAAGCA  AAAATAAACA  AAACTTTCAG
201 CAACGGATCT  CTTGGTTCTG  GCATCGATGA  AGAACGCAGC
241 GAAATGCGAT  AAGTAATGTG  AATTGCAGAA  TTCAGTGAAT
281 CATCGAATCT  TTGAACGCAC  ATTGCGCCCG  CCAGTATTCT
321 GCGGGGCATG  CCTGTCTGAG  CGTCATTTCA  ACCCTCAGCC
361 CCCGTTGCGG  GGGCGCTGGC  GTTGGGGCCC  GGCCGTCCTC
401 GCGGCGGCCG  TCCCCGAAAC  ACAGTGGCGG  TCTCCCACAG
441 ACTCCCCTGC  GTAGTAACAC  TACCTCGCAG  AAGGGACGAG
481 CGGGCTGGCC  ACGCCGTAAA  ACACCCCACT  TCTCAAGGTT
521 GACCTCAGAT  CAGGTAGGAA  TACCCGCTGA  ACTTAAGCAT
561 ATCAAAAGCC  GGAGGAAGA
```

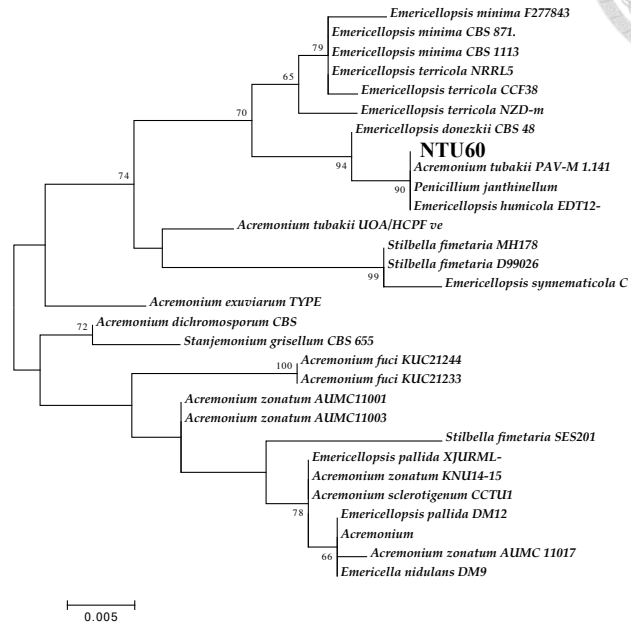
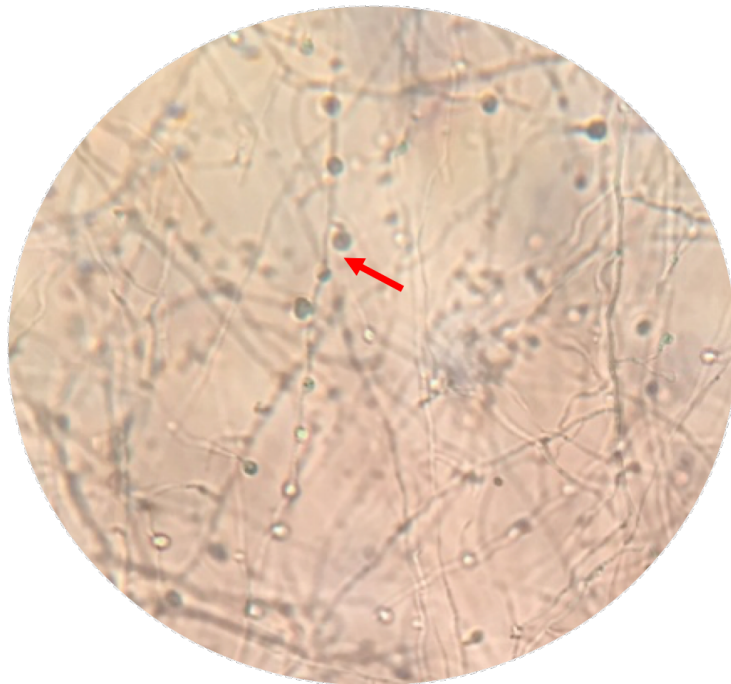


圖 64、真菌親緣關係演化樹。



箭頭為頂孢黴菌屬 (*Acremonium*) 產孢構造

圖 65、*Acremonium tubakii* NTU60 之產孢構造顯微型態。



4.3 真菌培養

4.3.1 多種培養基測試

培養基內碳源、氮源的改變，真菌產生的二次代謝產物也不盡相同，藉由不同的培養基進行發酵培養，可以放大活性代謝物的產量，減少成本並提高效率。

4.3.2 液態曝氣培養

4.3.2.1 培養基配置

每公升去離子水中含 30 公克麥芽抽出物 (Bacto™ Malt Extract) 與 5 公克蛋白胨(Bacto™ Peptone)，接著於每個 5 公升血清瓶中注入 2.5 公升培養基，在 121°C 滅菌 30 分鐘，待冷卻後，即可作為培養真菌的簡易發酵槽。

4.3.2.2 菌液發酵與萃取

菌株 *Acremonium tubakii* NTU60 接種到培養基中每升含 2 公克馬鈴薯抽出物及 10 公克葡萄糖與 15 公克洋菜膠 (1/2 PDA) 的培養皿中，待其菌絲生長大約一星期後，確認沒有其他微生物及蟲蟎的汙染，再將長有菌絲的洋菜膠塊，轉移到含 50 毫升種源 (表 15) 的 250 毫升三角錐瓶內，置於轉速 180 rpm 的迴轉式震盪器上。經 4 天後轉入上述 5 公升血清瓶曝氣培養，並藉由觀察菌絲量的多寡及發酵液澄清度作為推測培養時間的依據。

培養 6 天的菌絲體發酵液，以抽氣過濾分開發酵液及菌絲體。其中發酵液以乙酸乙酯進行等體積分配萃取三次後，經減壓濃縮後秤重得 4.3 公克，以備後續化合物的分離純化。



4.3.3 固態糙米醱酵

4.3.3.1 糙米處理

糙米選自聖德科斯的日式有機發芽玄米。以 500 毫升的三角錐瓶裝 50 公克的糙米，並加入 20 毫升的 MEA (表 15) 培養液，使其浸泡數小時至糙米將培養液完全吸收，在 121°C 滅菌 30 分鐘，待冷卻後，即可作為培養真菌的醱酵瓶，本實驗共培養了 900 公克的糙米。

4.3.3.2 穀物培養與萃取

菌株 *Acremonium tubakii* NTU60 接種到培養基中每升含 2 公克馬鈴薯抽出物及 10 公克葡萄糖與 15 公克洋菜膠 (1/2 PDA) 的培養皿中，待其菌絲生長大約一星期後，確認沒有其他微生物及蟲蟎的汙染，再將長有菌絲的洋菜膠塊，轉移到含 50 毫升種源 (表 15) 的 250 毫升三角錐瓶內，置於轉速 180 rpm 的迴轉式震盪器上。經 4 天後轉入上述三角錐瓶內，並與糙米充分搖勻混合，靜至兩天後再次將糙米菌塊搖鬆，放置於紙箱內避光室溫培養 21 天。

將 100 毫升的甲醇倒入三角錐瓶內，以超音波震盪 15 分鐘，進行三次萃取，用抽氣過濾將菌液與菌塊分離，經減壓濃縮後將粗萃液加些少許二次去離子水，分別以正己烷及乙酸乙酯等體積分配萃取三次，再分別經減壓濃縮秤重後，得到正己烷萃取物 5.4 公克與乙酸乙酯萃取物 6.1 公克，以備接下來的化合物分離純化。

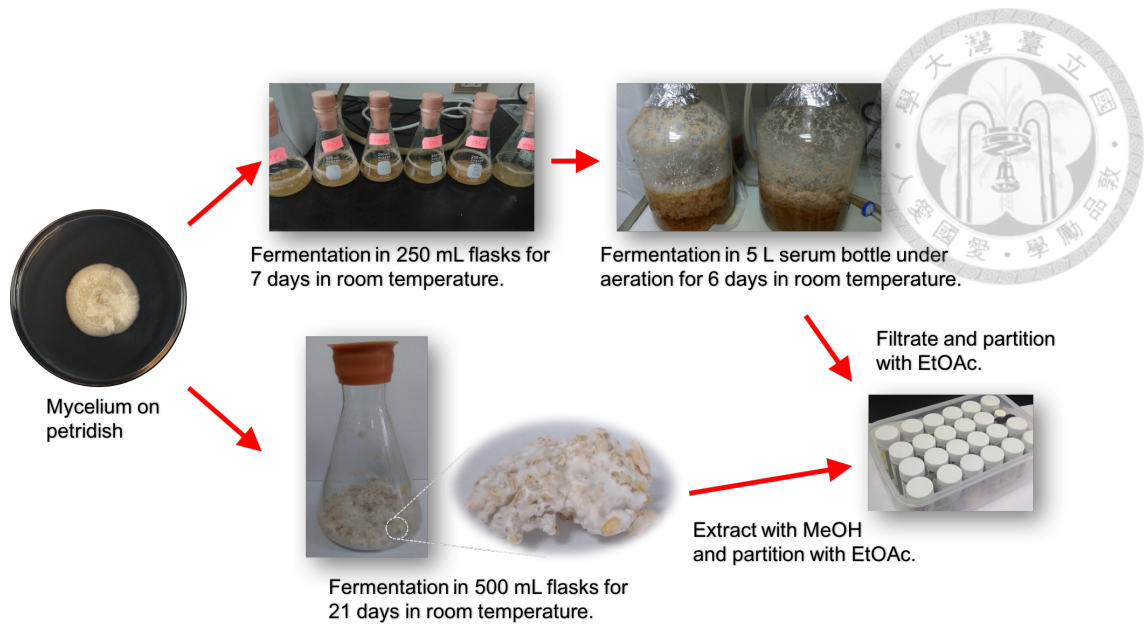


圖 66、真菌醱酵過程示意圖。



4.4 *Acremonium tubakii* NTU60 之成分分離、純化

4.4.1 液態醱酵萃取出物分離流程

取 *Acremonium tubakii* NTU60 液態培養之乙酸乙酯萃取出物 4.3 g，以膠濾管柱 (Sephadex LH-20, 2.5 cm i.d. × 66 cm) 進行分離，流動相為甲醇，流速 2.5 mL/min，每 30 mL 收集為一管，共收集 42 管。以正相薄層層析 (展開溶媒 A) 檢測，依其組成的相似性合併為 11 個分液 (Fr. 1–Fr. 11，如表 17 所示)。之後 Fr. 2 與 Fr. 5 經 HPLC 以不同沖提條件分離後得到化合物 **1–8**，其分離、純化之步驟分述如後。

表 17、*Acremonium tubakii* NTU60 液態培養之乙酸乙酯萃取出物以膠濾管柱層析分離的結果

Fr. ^a	Tube (No.)	Contents
1	1–11	-
2	12–16	1, 2, 3, 4
3	17–19	-
4	20	-
5	21–22	5, 6, 7, 8
6	23	-
7	24–26	-
8	27–31	-
9	32–34	-
10	35–38	-
11	39–42	-

^a Fractions obtained from Sephadex LH-20 column separation.



Cephaibol A (1)

取 Fr. 2 以逆相 HPLC 進行純化，使用 Thermo Hypersil HS C₁₈ 半製備管柱 (10 × 250 mm)，配合 RI 偵測儀進行檢測，流動相為 60% ACN + 0.03% TFA，流速為 2 mL/min，於滯留時間為 12.47 min，得到化合物 **1** (44.6 mg)。

Cephaibol B (2)

取 Fr. 2 以逆相 HPLC 進行純化，使用 Thermo Hypersil HS C₁₈ 半製備管柱 (10 × 250 mm)，配合 RI 偵測儀進行檢測，流動相為 60% ACN + 0.03% TFA，流速為 2 mL/min，於滯留時間為 14.48 min，得到化合物 **2** (17.2 mg)。

Cephaibol C (3)

取 Fr. 2 以逆相 HPLC 進行純化，使用 Thermo Hypersil HS C₁₈ 半製備管柱 (10 × 250 mm)，配合 RI 偵測儀進行檢測，流動相為 60% ACN + 0.03% TFA，流速為 2 mL/min，收集滯留時間為 10.80 min 的圖峰，接著改使用 Thermo Hypersil HS C₁₈ 半製備管柱 (10 × 250 mm)，流動相為 75% MeOH，流速為 2 mL/min，於滯留時間為 33.64 min，得到化合物 **3** (17.8 mg)。

Cephaibol E (4)

取 Fr. 2 以逆相 HPLC 進行純化，使用 Thermo Hypersil HS C₁₈ 半製備管柱 (10 × 250 mm)，配合 RI 偵測儀進行檢測，流動相為 60% ACN + 0.03% TFA，流速為 2 mL/min，收集滯留時間為 10.80 min 的圖峰，接著改使用 Thermo Hypersil HS C₁₈ 半製備管柱 (10 × 250 mm)，流動相為 75% MeOH，流速為 2 mL/min，於滯留時間為 37.01 min，得到化合物 **4** (9.3 mg)。



Glycocholic acid (**5**)

取 Fr. 5 以逆相 HPLC 進行純化，使用 Phenomenex Luna PFP 半製備管柱 (10 × 250 mm)，配合 RI 偵測儀進行檢測，流動相為 45% ACN + 0.03% TFA，流速為 2 mL/min，於滯留時間為 9.09 min，得到化合物 **5** (21.1 mg)。

Cholic acid (**6**)

取 Fr. 5 以逆相 HPLC 進行純化，使用 Phenomenex Luna PFP 半製備管柱 (10 × 250 mm)，配合 RI 偵測儀進行檢測，流動相為 45% ACN + 0.03% TFA，流速為 2 mL/min，於滯留時間為 13.34 min，得到化合物 **6** (8.6 mg)。

Glycochenodeoxycholate (**7**)

取 Fr. 5 以逆相 HPLC 進行純化，使用 Phenomenex Luna PFP 半製備管柱 (10 × 250 mm)，配合 RI 偵測儀進行檢測，流動相為 45% ACN + 0.03% TFA，流速為 2 mL/min，於滯留時間為 14.35 min，得到化合物 **7** (5.8 mg)。

Glycodeoxycholsaeure (**8**)

取 Fr. 5 以逆相 HPLC 進行純化，使用 Phenomenex Luna PFP 半製備管柱 (10 × 250 mm)，配合 RI 偵測儀進行檢測，流動相為 45% ACN + 0.03% TFA，流速為 2 mL/min，於滯留時間為 15.57 min，得到化合物 **8** (16.3 mg)。



4.4.2 固態糙米萃取物分離流程

取 *Acremonium tubakii* NTU60 固態糙米醱酵之乙酸乙酯萃出物 4.3 g，以 Silica 管柱 (4.5 cm i.d. × 30 cm) 進行分離，流動相為 100% Dichloromethane (DCM) 到 100% MeOH 的梯度沖提，流速 5 mL/min，每 100 mL 收集為一瓶，共收集 30 瓶如表 18 所示。使用正相薄層層析 (展開溶媒 C) 檢測，依其組成的相似性合併為 5 個分液 (Fr. 1–Fr. 5，如表 19 所示)。之後 Fr. 3 經 HPLC 以不同沖提條件分離後得到化合物 **9-10**，其分離、純化之步驟分述如後。

表 18、*Acremonium tubakii* NTU60 糙米萃出物經 Silica gel 管柱層析沖提的條件

Tube (No.) ^a	Flask (DCM-MeOH)
1–3	100%DCM
4–6	99%DCM, 1%MeOH
7–9	98%DCM, 2%MeOH
10–12	95%DCM, 5%MeOH
13–15	90%DCM, 10%MeOH
16–18	85%DCM, 15%MeOH
19–21	80%DCM, 20%MeOH
22–24	75%DCM, 25%MeOH
25–27	70%DCM, 30%MeOH
28–30	50%DCM, 50%MeOH

^a Fractions obtained from Silica gel column separation.

表 19、NTU60 糙米培養萃出物經 Silica gel 管柱層析沖提併管結果

Fr.	Contents
1 (No.1–12)	-
2 (No.13–18)	-
3 (No.19–22)	9, 10
4 (No.23–28)	-
5 (No.29–30)	-

Helvolic acid (**9**)

取 Fr. 3 以逆相 HPLC 進行純化，使用 Phenomenex Luna PFP 半製備管柱 (10 × 250 mm)，配合 RI 偵測儀進行檢測，流動相為 85% MeOH + 0.03% TFA，流速為 2 mL/min，於滯留時間為 16.71 min，得到化合物 **9** (37.1 mg)。

1-Linoleoyl glycerol (**10**)

取 Fr. 3 以逆相 HPLC 進行純化，使用 Phenomenex Luna PFP 半製備管柱 (10 × 250 mm)，配合 RI 偵測儀進行檢測，流動相為 85% MeOH + 0.03% TFA，流速為 2 mL/min，於滯留時間為 27.77 min，得到化合物 **10** (9.9 mg)。



4.5 一氧化氮抑制試驗 (NO production inhibitory activity)

利用 Griess reagent assay 分析一氧化氮的濃度，來評估真菌中所生產的次級代謝物是否對離體 BV-2 細胞產生的 NO 具有抑制作用。本實驗和臺北醫學大學藥理學研究所蕭哲志教授合作進行。

4.4.1 細胞培養

將小鼠小膠質細胞株 (murine microglial cell line; BV-2) 細胞培養在 6 well plate 上，每個 well 含有 $6 \times 10^5/2$ mL 的細胞量，且培養於含有 0.5% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 之 DMEM (Dullbecco's modified Eagle medium) 內。靜置 17 小時後再換一次含有 0.5% FBS 之 DMEM，培養條件維持在 37°C 與 5% 二氧化碳/95% 空氣中。

15 分鐘後在每個 well 中分別加入化合物 1-4 和 9，含有 10% 和 L-glutamine、penicillin、streptomycin、HEPES 與 NaHCO_3 的 DMEM (Dullbecco's modified Eagle medium) 培養液中，

4.4.2 Griess reagent assay

一氧化氮 (nitric oxide, NO) 是一種訊息分子，和抗發炎反應有關，其可利用 *Escherichia coli* lipopolysaccharide (LPS) 誘導 BV-2 細胞產生。NO 在血液中會經由氧基血紅素 (oxyhemoglobin) 轉換成亞硝酸鹽 (nitrite, NO_2^-) 及硝酸鹽 (nitrate, NO_3^-)，而 Griess reagent assay 可用來分析水溶液中 NO_2^- 的量，進而定量 NO，其試驗是依據 NO_2^- 和 sulphanilamide 及 N-(1-naphthyl)ethylene-diamine 反應生成紫紅色的偶氮化合物 (azo-dye product)，並可經由分光光度計檢測 (圖 67) [158]。

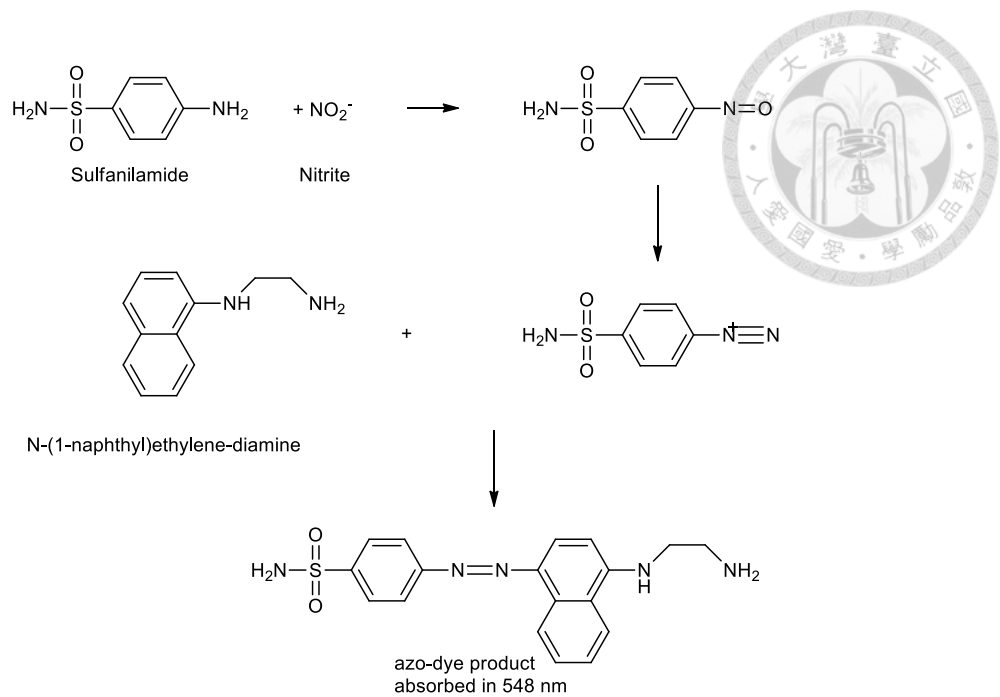


圖 67、Griess reagent assay 之反應流程。

將定量好的 BV-2 細胞 (5×10^5 cells/well) 分置於 24 wells 培養盤中，於恆溫箱內培養 16 小時後，移除培養液後，加入不含酚紅的 DMEM 新培養液，並加入溶於 DMSO 中的化合物包含：空白對照組 (dimethyl sulfoxide; 0.1%)、compounds (1–4 and 9)，30 分鐘後給予 LPS 150 ng/mL，反應 24 小時。取出細胞培養液之上清液，再加入同體積的 Griess reagent (1% sulfanilamide 接著 0.1% naphthyl-ethylenediamine dihydrochloride)，在室溫下反應 10 分鐘，利用 ELISA reader 於螢光波長 548 nm 下，測其吸光強度 (Optical density: O.D.)，並計算化合物對於離體 BV-2 細胞產生一氧化氮之抑制強度。



4.6 抑菌試驗 (Antimicrobial activity)

使用真菌型病原菌兩株：白色念珠菌 (*Candida albicans* SC5314)、新型隱球菌 (*Cryptococcus neoformans* H99) 與細菌型病原菌一株：金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* YC981)，三種病原菌作為化合物的活性篩選平臺，以上菌株由臺灣大學植物病理與微生物學系應用生物學實驗室提供，本實驗與陳穎練老師合作進行。

4.6.1 細胞培養

使用 Nutrient agar or broth (Biocorp Polska Ltd.) 作為金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* YC981) 的培養基。白色念珠菌 (*Candida albicans* SC5314) 與新型隱球菌 (*Cryptococcus neoformans* H99) 的培養基：YPD (1% yeast extract, 2% peptone, 2% glucose)、defined medium 199 (Invitrogen) 與 yeast carbon base-bovine serum albumin。以上菌株皆維持在 37°C 進行 24 小時培養，將病菌濃度調成 0.5 McFarland Standard 供後續實驗所用 [159]。

4.6.2 最小抑制濃度試驗 (Minimal inhibition concentration)

將待測樣品用 Mueller-Hinton 培養基進行微量稀釋 (microdilution method) [160]，最終濃度範圍為 $19 - 2500 \mu\text{g cm}^{-3}$ 。而後把病原菌液 (20 – 180 μL , 0.5 McFarland) 注入稀釋後的樣品，而空白對照組為 Mueller-Hinton 培養基，正對照組使用加水的病原菌液。將樣品維持 37°C 靜置 24 小時，以 600 nm 波長測試其吸光強度 (Optical density: O.D.)，並計算其最小抑制濃度 (MIC)。



4.7 細胞毒性試驗 (Cytotoxic activity)

利用 sulforhodamine B (SRB) 蛋白質分析法 [161]來評估 *Acremonium tubakii* NTU60 所分離到的化合物對於癌細胞株是否具有抑制細胞增生或毒殺細胞之作用。本實驗和馬偕醫學院醫學系王士維老師合作進行。

4.7.1 原理與目的

sulforhodamine B (SRB) 蛋白質分析法藉由測量細胞內蛋白質的含量來測定細胞的密度，可表示細胞的增生與存活率，其原理是利用染劑 sulforhodamine B (圖 68) 中的磺酸基，於弱酸性環境下與細胞內蛋白質的鹼性氨基酸結合，之後使用弱鹼溶液萃取細胞內的 SRB 並測量其吸光值，藉由 SRB 的含量即可得知細胞內蛋白質的含量，以此代表細胞存活率。

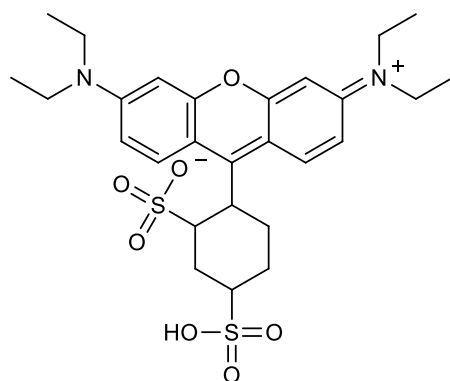


圖 68、Sulforhodamine B (SRB) 結構。



4.7.2 細胞培養

本實驗所使用的細胞株肝癌細胞 (human liver cancer cells, SK-Hep-1)，購自美國模式菌種收集中心 (American Type Culture Collection, ATCC)。而抗藥性卵巢癌細胞 (human paclitaxel-resistant ovarian cancer cells, TOV-21G-Tx) 則是由王士維老師實驗室經馴化獲得，取 TOV-21G 細胞株以 paclitaxel 2 nM 的起始濃度進行處理及培養，篩選存活的細胞並逐漸增加 paclitaxel 的濃度至 20 nM 為 TOV-21G-Tx 細胞之培養濃度。TOV-21G-Tx 及 SK-Hep-1 細胞株皆培養於含 10%胎牛血清 (fetalbovine serum, FBS) 及抗生素 (100 U/mL penicillin、10 µg/mL streptomycin 和 0.025 µg/mL amphotericin B) 的 DMEM 培養液。所有細胞株培養於恆溫箱，培養條件維持在 37°C 與 5%二氧化碳/95%潮濕空氣中。實驗中細胞培養所需之耗材皆採購自 Gibco BRL life technologies (Grand Island, NY, USA)。

4.7.3 Sulforhodamine B (SRB) assay

將上述細胞株以 5×10^3 cells/well 的密度分置於 96 孔盤中，待隔夜細胞貼附後，以 10% trichloroacetic acid (TCA) 固定細胞，將蛋白質沉澱，此代表藥物處理時 (T_0) 細胞之數目。在藥物處理 48 小時後加入 10% TCA 固定細胞並中止實驗，接著加入含有 0.4% SRB (w/v) 之 1% acetic acid 染劑溶液於 96 孔盤中，於室溫中靜置 15 分鐘後，將未結合至細胞的染料利用 1% acetic acid 沖洗並陰乾，已結合染料的細胞則以 10 mM trizma base 溶解，利用 ELISA reader 讀取 515 nm 吸光值，經換算分析後求取半抑制濃度 (IC_{50})。



伍、討論 (Discussions)

以選擇性 1/2 PDA 培養基單離出 198 株藻源真菌株，經醱酵培養基後，萃液初步以病原菌活性平臺進行測試，篩選出 11 株 (表 1) 具有活性真菌 NTU59、NTU60、NTU64、NTU172、NTU183、NTU185、NTU187、NTU189、NTU200 和 NTU220，其中 NTU59 與 NTU60 的抑菌圈最顯著，抑菌圈的大小除了受化合物的抑菌能力強弱影響之外，推測與化合物水溶性相關，因培養基含水，會影響化合物在培養基內擴散的速度。NTU59 抑菌圈隨時間變淡幾至消失，且透過外觀型態與顯微鏡鏡檢其產孢構造，判斷 NTU59、NTU60、NTU183、NTU185、NTU186 和 NTU187 皆為同屬真菌，故針對具有明顯抑制活性的 NTU60 進行後續擴大培養，進行一系列的分析、分離、純化與構造解析，計分離出十個已知化合物，包括：四個線型肽類 (linear peptide) 的 Cephaibol A (1)、Cephaibol B (2)、Cephaibol C (3)、Cephaibol E (4)；四個類固醇 (steroids) Glycocholic acid (5)、Cholic acid (6)、Glycochenodeoxycholate (7)、Glycodeoxycholsaeure (8)；一個類三萜 (triterpenoid) Helvolic acid (9)；一個脂質 (lipid) 1-Linoleoyl glycerol (10)。其中的化合物 1、2、3、4 與 9 經抑菌試驗證實有抑菌活性；化合物 1 與 2 在細胞毒性試驗中表現顯著的癌細胞毒殺活性，此結果可對應其粗萃物所具有抑菌與癌細胞毒殺效果。

Cephaibol A-C (1-3) 和 Cephaibol E (4) 這類線型肽化合物在 2001 年被發表 [139]，這類化合物結構非常相似，但是活性效果卻有巨大差異。觀察這四個化合物發現，具有較強細胞毒性的化合物 Cephaibol A (1) 與 Cephaibol B (2)，極性較低，而 Cephaibol C (3) 與 Cephaibol E (4)，極性相較於前兩者高，細胞毒性也較弱，推測四個線型肽化合物的活性強弱可能來自於極性的差異。

Cephaibol A-C (1-3) 和 Cephaibol E (4) 均表現出對經 LPS 刺激之 BV-2 細胞株產生一氧化氮有抑制效果，其中 Cephaibol E (4) 在細胞毒性試驗中細胞存活

率達到 98.6%，而此類化合物是 *Acremonium tubakii* NTU60 在液態培養的主要成份之一，有其後續應用的潛力。

抑菌試驗結果顯示 Cephaibol A (1) 和 Cephaibol B (2) 具有抑制金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* YC981)、白色念珠菌 (*Candida albicans* SC5314) 與新型隱球菌 (*Cryptococcus neoformans* H99) 的活性，為廣效型的抗生素；實驗顯示 Helvolic acid (9) 對於金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus* YC981) 有顯著的活性，同時經由資料搜索，文獻指出其對於抗藥性金黃色葡萄球菌 (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 有顯著的效果 MIC = 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ [56]。在固態穀物醱酵培養粗萃物中是主要成份之一，有放大生產的可能，可進行其他活性平臺應用及藥理機制研究。

陸、各成分之物理數據 (Physical data)



Cephaibol A (1)

White powder

$[\alpha]_D^{28} = +1.5$ (*c* 0.1, MeOH)

IR ν_{\max} : 3284, 1646, 1541, 1457, 1436, 1418, 1387, 1364, 1300, 1199, 1173, 1148,
1080, 801, 781, 748, 702, 649

UV (MeOH) λ_{\max} ($\log \epsilon$): 258 (2.6) nm

$^1\text{H-NMR}$ 及 $^{13}\text{C-NMR}$ 如表 5

HRESIMS: m/z 1692.9373 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$

calcd for $\text{C}_{82}\text{H}_{127}\text{N}_{17}\text{O}_{20}\text{Na}$, 1692.9341

Cephaibol B (2)

White powder

$[\alpha]_D^{28} = +1.2$ (*c* 0.1, MeOH)

IR ν_{\max} : 3280, 1776, 1755, 1650, 1540, 1463, 1421, 1393, 1313, 1174, 1058, 1006, 928,
861, 744, 633

UV (MeOH) λ_{\max} ($\log \epsilon$): 258 (2.6) nm

$^1\text{H-NMR}$ 及 $^{13}\text{C-NMR}$ 如表 6



HRESIMS: m/z 1706.9480 $[M + Na]^+$

calcd for $C_{83}H_{129}N_{17}O_{20}Na$, 1706.9497

Cephaibol C (3)

White powder

$[\alpha]_D^{28} = + 3.0$ (c 0.1, MeOH)

IR ν_{max} : 3280, 1647, 1540, 1464, 1418, 1392, 1367, 1343, 1292, 1176, 1056, 1010, 870,

746, 664, 651, 616

UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$): 258 (2.5) nm

1H -NMR 及 ^{13}C -NMR 如表 7

HRESIMS: m/z 1678.9180 $[M + Na]^+$

calcd for $C_{81}H_{125}N_{17}O_{20}Na$, 1678.9184

Cephaibol E (4)

White powder

$[\alpha]_D^{28} = - 2.1$ (c 0.1, MeOH)

IR ν_{max} : 3279, 1646, 1540, 1391, 1368, 1312, 1174, 1053, 1038, 1013, 923, 745, 664,

653, 608

UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$): 258 (2.4) nm



$^1\text{H-NMR}$ 及 $^{13}\text{C-NMR}$ 如表 8

HRESIMS: m/z 1678.9194 $[\text{M} + \text{Na}]^+$

calcd for $\text{C}_{81}\text{H}_{125}\text{N}_{17}\text{O}_{20}\text{Na}$, 1678.9184

Glycocholic acid (**5**)

Colorless solid

$[\alpha]_{\text{D}}^{28} = +4.8$ (c 0.1, MeOH)

IR ν_{max} : 3361, 2935, 2868, 1743, 1638, 1588, 1459, 1394, 1345, 1311, 1197, 1078,

1039, 984, 914, 665, 616

$^1\text{H-NMR}$ 及 $^{13}\text{C-NMR}$ 如表 9

HRESIMS: m/z 466.3176 $[\text{M} + \text{H}]^+$

calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{NO}_6$, 466.3169

Cholic acid (**6**)

Colorless solid

$[\alpha]_{\text{D}}^{28} = +0.4$ (c 0.1, MeOH)

IR ν_{max} : 3333, 2937, 2867, 1705, 1651, 1541, 1520, 1458, 1373, 1338, 1313, 1197,

1053, 1031, 1012, 914, 669, 614

HRESIMS: m/z 426.3228 $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$



calcd for $C_{24}H_{44}NO_5$, 426.3219

Glycochenodeoxycholate (**7**)

Colorless solid

$[\alpha]_D^{28} = +4.0$ (*c* 0.1, MeOH)

IR ν_{\max} : 3363, 2932, 2867, 1702, 1649, 1542, 1459, 1396, 1373, 1339, 1221, 1047,

1033, 1008, 899, 828, 669, 612

HRESIMS: m/z 450.3224 $[M + H]^+$

calcd for $C_{26}H_{44}NO_5$, 450.3219

Glycodeoxycholsaeure (**8**)

Colorless solid

$[\alpha]_D^{28} = +1.3$ (*c* 0.1, MeOH)

IR ν_{\max} : 3330, 2932, 2867, 1739, 1724, 1708, 1693, 1646, 1548, 1518, 1463, 1427,

1386, 1372, 1219, 1038, 678, 622

HRESIMS: m/z 450.3223 $[M + H]^+$

calcd for $C_{26}H_{44}NO_5$, 450.3219



Helvolic acid (**9**)

Colorless solid

$[\alpha]_{\text{D}}^{28} = -4.8$ (*c* 0.1, MeOH)

IR ν_{max} : 2972, 2936, 2876, 1722, 1676, 1444, 1373, 1215, 1145, 1029, 961, 922, 823,

738

UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$): 225 (2.1) nm

HRESIMS: m/z 591.2932 $[\text{M} + \text{Na}]^+$

calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{O}_8\text{Na}$, 591.2934

1-Linoleoyl glycerol (**10**)

Yellow oil

$[\alpha]_{\text{D}}^{28} = -3.7$ (*c* 0.1, MeOH)

IR ν_{max} : 3390, 3009, 2925, 2854, 1737, 1651, 1460, 1392, 1243, 1179, 1119


HRESIMS: m/z 377.2663 $[\text{M} + \text{Na}]^+$

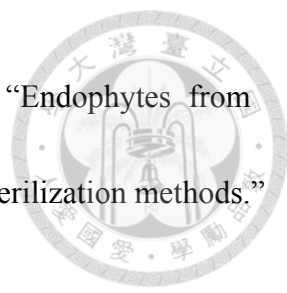
calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_4\text{Na}$, 377.2668


參考文獻 (Reference)

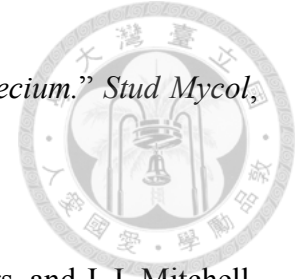


- [1] D. J. Newman, G. M. Cragg, and K. M. Snader, "Natural products as sources of new drugs over the period 1981 – 2002." *J Nat Prod*, 66, 1022–1037, 2003.
- [2] P. Castro and M. E. Huber, *MARINE BIOLOGY*, 5 ed. McGraw-Hill, Dubuque, 1–3, 2005.
- [3] M. Sibuet and K. Olu, "Biogeography, biodiversity and fluid dependence of deep-sea cold-seep communities at active and passive margins." *Deep-Sea Research II*, 45, 517–567, 1998.
- [4] J. C. Venter, K. Remington, J. F. Heidelberg, A. L. Halpern, D. Rusch, J. A. Eisen, D. Y. Wu, I. Paulsen, K. E. Nelson, W. Nelson, D. E. Fouts, S. Levy, A. H. Knap, M. W. Lomas, K. Nealson, O. White, J. Peterson, J. Hoffman, R. Parsons, H. Baden-Tillson, C. Pfannkoch, Y. H. Rogers, and H. O. Smith, "Environmental genome shotgun sequencing of the sargasso sea." *Science*, 304, 66–74, 2004.
- [5] J. D. Gage, "Why are there so many species in deep-sea sediments?" *J Exp Mar Biol Ecol*, 200, 257–286, 1996.
- [6] J. Be´rdy, "Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading." *J Antibiot*, 65, 385–395, 2012.

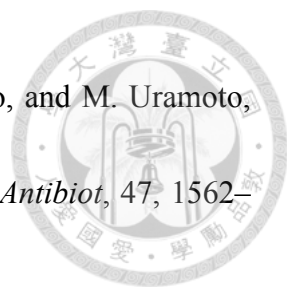
- 
- [7] L. Xu, W. Meng, C. Cao, W. Wang, W. Shan, and Q. Wang, “Antibacterial and Antifungal Compounds from Marine Fungi.” *Marine Drugs*, 13, 3479–3513, 2015.
- [8] Y. Luo, R. E. Cobb, and H. Zhao, “Recent advances in natural product discovery.” *Curr Opin Biotechnol*, 30, 230–237, 2014.
- [9] A. M. S. Mayer, K. B. Glaser, C. Cuevas, R. S. Jacobs, W. Kem, R. D. Little, J. M. McIntosh, D. J. Newman, B. C. Potts, and D. E. Shuster, “The odyssey of marine pharmaceuticals: a current pipeline perspective.” *Trends Pharmacol Sci*, 31, 255–265, 2010.
- [10] K. T. Shao, Catalogue of life in Taiwan. Web electronic publication. version 2009, <http://taibnet.sinica.edu.tw>.
- [11] Y. Roskov, L. Abucay, T. Orrell, D. Nicolson, N. Bailly, P. M. Kirk, R. E. DeWalt, W. Decock, A. De Wever, E. V. Nieukerken, J. Zarucchi, and L. Penev, “Species 2000 & ITIS Catalogue of Life.” 2017.
- [12] P. Kleinwächter, B. Schlegel, H. Dörfelt, and U. Gräfe, “Spirobenzofuran, a new bioactive metabolite from *Acremonium* sp. HKI 0230.” *J Antibiot*, 54, 256–257, 2001.


- 
- [13] B. Schulz, U. Wanke, S. Draeger, and H. J. Aust, “Endophytes from herbaceous plants and shrubs: effectiveness of surface sterilization methods.” *Mycol Res*, 97, 1447–1450, 1993.
- [14] Z. Chen, Y. Song, Y. Chen, H. Huang, W. Zhang, and J. Ju, “Cyclic heptapeptides, cordyheptapeptides C–E, from the marine-derived fungus *Acremonium persicinum* SCSIO 115 and their cytotoxic activities.” *J Nat Prod*, 75, 1215–1219, 2012.
- [15] E. Julianti, H. Oh, K. H. Jang, J. K. Lee, S. K. Lee, D. C. Oh, K. B. Oh, and J. Shin, “Acremostriectin, a highly oxygenated metabolite from the marine fungus *Acremonium strictum*.” *J Nat Prod*, 74, 2592–2594, 2011.
- [16] A. Abdel-Lateff, G. M. König, K. M. Fisch, U. Höllner, P. G. Jones, and A. D. Wright, “New antioxidant hydroquinone derivatives from the algicolous marine fungus *Acremonium* sp.” *J Nat Prod*, 65, 1605–1611, 2002.
- [17] J. Guarro, W. Gams, I. Pujol, and J. Gene, “*Acremonium* species: new emerging fungal opportunists—in vitro antifungal susceptibilities and review.” *Clin Infect Dis*, 25, 1222–1229, 1997.
- [18] A. E. Glenn, C. W. Bacon, R. Price, and R. T. Hanlin, “Molecular phylogeny of *Acremonium* and its taxonomic implications.” *Mycologia*, 88, 369–383, 1996.

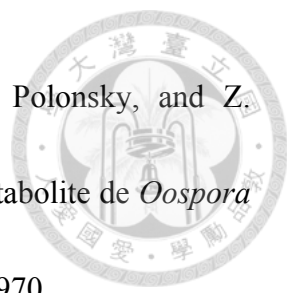
- 
- [19] R. M. Fincher, J. F. Fisher, R. D. Lovell, C. L. Newman, A. Espinel-Infroff, and H. J. Shadomy, "Infection due to the fungus *Acremonium*." *Medicine*, 70, 398–409, 1991.
- [20] 謝廷芳, "菌核類真菌之鑑定" 檢疫防疫植物病原真菌鑑定研討會專刊 239–251, 1998.
- [21] 沈原民, "菌核病菌的分類及PCR鑑定技術" 台中區農業改良場101年專題討論專集特刊116號, 1–5, 2013.
- [22] H. F. Link, "Observationes in ordines plantarum naturales." *Mag Ges Naturf Fr Berlin*, 3, 3–42, 1809.
- [23] W. Gams, "Was ist *Cephalosporium acremonium*?" *Symposium Werningerode 1967*, 3, 27-41, 1968.
- [24] W. Gams, "*Cephalosporium*-artige Schimmelpilze (*Hyphomycetes*)." *J Basic Microbiol*, 13, 280, 1973.
- [25] W. Gams, "Connected and disconnected chains of *Phialoconidia* and *Sagenomella* gen.nov. segregated from *Acremonium*." *Persoonia*, 10, 97–112, 1978.
- [26] R. C. Summerbell, C. Gueidan, H. J. Schroers, G. S. de Hoog, M. Starink, Y. A. Rosete, J. Guarro, and J. A. Scott, "*Acremonium* phylogenetic overview

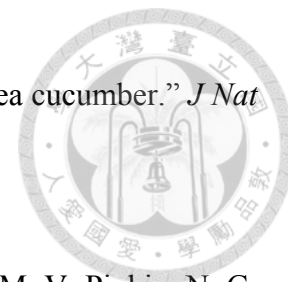


- and revision of *Gliomastix*, *Sarocladium*, and *Trichothecium*.” *Stud Mycol*, 68, 139–162, 2011.
- [27] A. Zuccaro, R. C. Summerbell, W. Gams, H. J. Schroers, and J. I. Mitchell, “A new *Acremonium* species associated with *Fucus* spp., and its affinity with a phylogenetically distinct marine *Emericellopsis* clade.” *Stud Mycol*, 50, 283–297, 2004.
- [28] P. Ceccherelli, R. Fringuelli, G. F. Madurzza, and M. Ribaldi, “Cerevisterol and ergosterol peroxide from *Acremonium luzulae*.” *Phytochemistry*, 14, 1434, 1975.
- [29] H. Hussain, K. Krohn, Z. Ullah, S. Draeger, and B. Schulz, “Bioactive chemical constituents of two endophytic fungi.” *Biochem Syst Ecol*, 35, 898–900, 2007.
- [30] Y. Nozawa, N. Sakai, K. Matsumoto, and K. Mizoue, “A novel neuritogenic compound, NGA0187.” *J Antibiot*, 55, 629–634, 2008.
- [31] A. N. Yurchenko, O. F. Smetanina, Y. V. Khudyakova, N. N. Kirichuk, and S. S. Afiyatullo, “Metabolites of marine isolate of the fungus *Acremonium roseum*.” *Chem Nat Compd*, 48, 1113–1114, 2013.

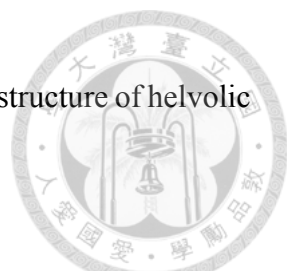
- 
- [32] J. Kawashima, F. Ito, T. Kato, M. Niwano, H. Koshino, and M. Uramoto, “Antitumor activity of heptelidic acid chlorohydrin.” *J Antibiot*, 47, 1562–1563, 1994.
- [33] P. Zhang, B. Bao, H. T. Dang, J. Hong, H. J. Lee, E. S. Yoo, K. S. Bae, and J. H. Jung, “Anti-inflammatory sesquiterpenoids from a sponge-derived Fungus *Acremonium* sp.” *J Nat Prod*, 72, 270–275, 2009.
- [34] V. Rukachaisirikul, A. Rodglin, Y. Sukpondma, S. Phongpaichit, J. Buatong, and J. Sakayaroj, “Phthalide and isocoumarin derivatives produced by an *Acremonium* sp. isolated from a mangrove *Rhizophora apiculata*.” *J Nat Prod*, 75, 853–858, 2012.
- [35] D. Laurent, G. Guella, M. F. Roquebert, F. Farinole, I. Mancini, and F. Pietra, “Cytotoxins, mycotoxins and drugs from a new deuteromycete, *Acremonium neo-caledoniae*, from the southwestern lagoon of New Caledonia.” *Planta medica*, 66, 63–66, 2000.
- [36] E. T. Glaz, E. Scheiber, J. Gyimesi, I. Horvath, K. Steczek, A. Szentirmai, and G. Bohus, “A new trichothecin-like antifungal antibiotic.” *Nature*, 184, 908, 1959.
- [37] J. Gyimesi, “On the structure of crotocin, an antifungal antibiotic.” *Tetrahedron Lett*, 8, 1665–1673, 1967.

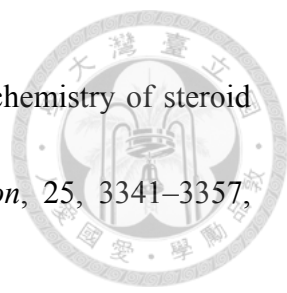
- 
- [38] E. T. Glaz, E. Csanyi, and J. Gyimesi, “Supplementary data on crotocin--an antifungal antibiotic.” *Nature*, 212, 617–618, 2004.
- [39] Z. Cheng, J. Zhao, D. Liu, P. Proksch, Z. Zhao, and W. Lin, “Eremophilane-type sesquiterpenoids from an *Acremonium* sp. fungus isolated from deep-sea sediments.” *J Nat Prod*, 79, 1035–1047, 2016.
- [40] N. Cagnoli, P. Ceccherelli, M. Curini, G. F. Madruzzo, and M. Ribaldi, “Isopimara-7, 15-dien-19-ol: a new diterpenoid from *Acremonium luzulae* (Fuckel) Gams.” *J Chem Res Synop*, 9, 254, 1982.
- [41] N. Cagnoli, P. Ceccherelli, M. Curini, N. Spagnoli, and M. Ribaldi, “19-norisopimara-7, 15-dien-3-one: a new norditerpenoid from *Acremonium Luzulae* (Fuckel).” *J Chem Res*, 8, 276, 1980.
- [42] N. Cagnoli-Bellavita, P. Ceccherelli, M. Ribaldi, J. Polonsky, and Z. Baskevitch, “Virescenoside A and virescenoside B, new altroside metabolites of *Oospora virescens*.” *Gazzetta Chimica Italiana*, 99, 1354–1363, 1969.
- [43] S. S. Afiyatullo, T. A. Kuznetsova, V. V. Isakov, M. V. Pivkin, N. G. Prokofev, and G. B. Elyakov, “New diterpenic altrosides of the fungus *Acremonium striatisporum* isolated from a sea cucumber.” *J Nat Prod*, 63, 848–850, 2000.

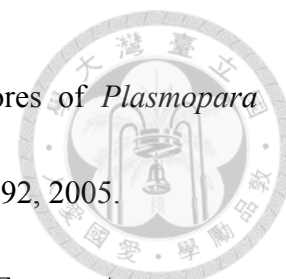
- 
- [44] N. Cagnoli-Bellavita, P. Ceccherelli, R. Mariani, J. Polonsky, and Z. Baskevitch, “Structure du virescenoside C, nouveau métabolite de *Oospora virescens* (Link) Wallr.” *Eur J Biochem*, 15, 356–359, 1970.
- [45] N. Cagnoli-Bellavita, P. Ceccherelli, M. Ribaldi, J. Polonsky, Z. Baskevitch-Varon, and J. Varenne, “Structures of virescenosides D and H, new metabolites of *Acremonium luzulae*(Fuckel) Gams.” *J Chem Soc*, 1, 351–4, 1977.
- [46] “The structures of virescenosides E and L, new metabolites of *Acremonium luzulae*(Fuckel) Gams.” *Gazzetta Chimica Italiana*, 107, 51–53, 1977.
- [47] P. Ceccherelli, N. Cagnoli-Bellavita, R. Mariani, J. Polonsky, and Z. Baskevitch, “Structures des virescenosides F et G, nouveaux métabolites de *Oospora virescens* (Link) Wallr.” *Tetrahedron*, 29, 449–454, 2001.
- [48] S. S. Afiyatullo, T. A. Kuznetsova, V. V. Isakov, M. V. Pivkin, N. G. Prokofev, and G. B. Elyakov, “New diterpenic altrosides of the fungus *Acremonium striatisporum* isolated from a sea cucumber.” *J Nat Prod*, 68, 1308, 2005.
- [49] S. S. Afiyatullo, A. I. Kalinovsky, T. A. Kuznetsova, V. V. Isakov, M. V. Pivkin, P. S. Dmitrenok, and G. B. Elyakov, “New diterpene glycosides of



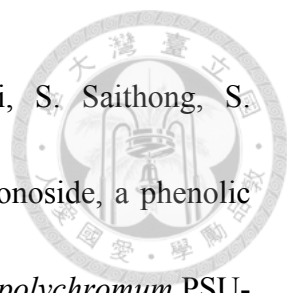
- the fungus *Acremonium striatisporum* isolated from a sea cucumber.” *J Nat Prod*, 65, 641–644, 2002.
- [50] S. S. Afiyatullo, A. I. Kalinovsky, T. A. Kuznetsova, M. V. Pivkin, N. G. Prokofev, P. S. Dmitrenok, and G. B. Elyakov, “New glycosides of the fungus *Acremonium striatisporum* isolated from a sea cucumber.” *J Nat Prod*, 67, 1047–1051, 2004.
- [51] S. S. Afiyatullo, A. I. Kalinovsky, M. V. Pivkin, P. S. Dmitrenok, and T. A. Kuznetsova, “New diterpene glycosides of the fungus *Acremonium striatisporum* isolated from a sea cucumber.” *Nat Prod Res*, 20, 902–908, 2006.
- [52] S. S. Afiyatullo, A. I. Kalinovsky, and A. S. Antonov, “New virescenosides from the marine-derived fungus *Acremonium striatisporum*.” *Nat Prod Commun*, 6, 1063–1068, 2011.
- [53] S. S. Afiyatullo, A. I. Kalinovsky, A. S. Antonov, O. I. Zhuravleva, Y. V. Khudyakova, D. L. Aminin, A. N. Yurchenko, and M. V. Pivkin, “Isolation and structures of virescenosides from the marine-derived fungus *Acremonium striatisporum*.” *Phytochemistry Lett*, 15, 66–71, 2016.
- [54] W. O. Godtfredsen, S. Jahnsen, H. Lorck, K. Roholt, and L. Tybring, “Fucidin, a new antibiotic.” *Can Med Assoc J*, 86, 1122–1123, 1962.

- 
- [55] S. A. Wacksman, E. S. Horning, and E. L. Spencer, “The structure of helvolic acid.” *Chem Pharm Bull*, 12, 121–124, 1943.
- [56] P. B. Ratnaweera, D. E. Williams, E. D. Silva, R. L. C. Wijesundera, D. S. Dalisay, and I. Sies, “Helvolic acid, an antibacterial nortriterpenoid from a fungal endophyte, *Xylaria* sp. of orchid *Anoectochilus setaceus* endemic to Sri Lanka.” *Mycology*, 5, 23–28, 2014.
- [57] S. Okuda, Y. Nakayama, and K. Tsuda, “Studies on microbial products. I. helvolic acid and related compounds. I. 7-desacetoxyhelvolic acid helvolinic acid.” *Chem Pharm Bull*, 14, 436–441, 1966.
- [58] S. Okuda, Y. Sato, T. Hattori, and M. Wakabayashi, “Isolation and structural elucidation of 3-oxo-16B-acetoxymusida-1,17(20)[16,21-cis],24-trien-21-oic acid.” *Tetrahedron Lett*, 9, 4847–4850, 1968.
- [59] H. S. Burton and E. P. Abraham, “Isolation of antibiotics from a species of *Cephalosporium*. Cephalosporins P1, P2, P3, P4 and P5.” *Biochem J*, 50, 168–174, 1951.
- [60] T. S. Chou and E. J. Eisenbraun, “The chemistry of cephalosporin P1.” *Tetrahedron*, 25, 3341–3357, 1967.

- 
- [61] T. S. Chou, E. J. Eisenbraun, and R. T. Rapala, “The chemistry of steroid acids from *Cephalosporium acremonium*.” *Tetrahedron*, 25, 3341–3357, 1969.
- [62] L. Evans, J. N. Hedger, D. Brayford, M. Stavri, E. Smith, G. O'Donnell, A. I. Gray, G. W. Griffith, and S. Gibbons, “An antibacterial hydroxy fusidic acid analogue from *Acremonium crotochinigenum*.” *Phytochemistry*, 67, 2110–2114, 2006.
- [63] V. R. Hegde, P. Dai, M. Chu, M. Patel, R. Bryant, J. Terracciano, P. R. Das, and M. S. Puar, “Neurokinin receptor inhibitors: fermentation, isolation, physico-chemical properties, structure and biological activity.” *J Antibiot*, 50, 983–991, 1997.
- [64] Y. Ogura, F. Nara, and T. Hosoya, “Sphingomyelinase-inhibiting F 11263 and its manufacture with *Acremonium* species.” *Jpn Kokai Tokkyo Koho* 08053387, 1996.
- [65] M. Tanaka, F. Nara, Y. Yamasato, Y. Ono, and T. Ogita, “F-11334s, new inhibitors of membrane-bound neutral sphingomyelinase.” *J Antibiot*, 52, 1–4, 1999.
- [66] G. Assante, S. Dallavalle, L. Malpezzi, G. Nasini, S. Burruano, and L. Torta, “Acremines A-F, novel secondary metabolites produced by a strain of an




- endophytic *Acremonium*, isolated from sporangiophores of *Plasmopara viticola* in grapevine leaves.” *Tetrahedron*, 61, 7686–7692, 2005.
- [67] Suciati, “Secondary Metabolites of the Sponge-Derived Fungus *Acremonium persicinum*.” *J Nat Prod*, 1–9, 2013.
- [68] A. Arnone, G. Assante, A. Bava, S. Dallavalle, and G. Nasini, “Acremines H-N, novel prenylated polyketide metabolites produced by a strain of *Acremonium byssoides*.” *Tetrahedron*, 65, 786–791, 2009.
- [69] Suciati, J. A. Fraser, L. K. Lambert, G. K. Pierens, P. V. Bernhardt, and M. J. Garson, “Secondary Metabolites of the sponge-derived fungus *Acremonium persicinum*.” *J Nat Prod*, 76, 1432–1440, 2013.
- [70] P. Wu, J. Xue, L. Yao, L. Xu, H. Li, and X. Wei, “Bisacremines E–G, three polycyclic dimeric acremines produced by *Acremonium persicinum* SC0105.” *Org Lett*, 17, 4922–4925, 2015.
- [71] P. Wu, L. Yao, L. Xu, J. Xue, and X. Wei, “Bisacremines A–D, dimeric acremines produced by a soil-derived *Acremonium persicinum* strain.” *J Nat Prod*, 78, 2161–2166, 2015.
- [72] J. HJang, K. Kanoh, K. Adachi, and Y. Shizuri, “New dihydrobenzofuran derivative, awajanoran, from marine-derived *Acremonium* sp. AWA16-1.” *J Antibiot*, 59, 428–431, 2006.

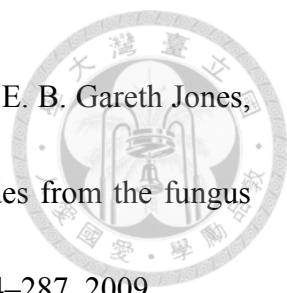
- 
- [73] N. Khamthong, V. Rukachaisirikul, C. Pakawatchai, S. Saithong, S. Phongpaichit, S. Preedanon, and J. Sakayaroj, “Acremonoside, a phenolic glucoside from the sea fan-derived fungus *Acremonium polychromum* PSU-F125.” *Phytochemistry Lett*, 10, 50–54, 2014.
- [74] A. Amone, G. Nasini, W. Panzeri, O. V. D. Paca, and L. Malpezzi, “Acremine G, dimeric metabolite from cultures of *Acremonium byssoides* A20.” *J Nat Prod*, 71, 146–149, 2008.
- [75] M. Izumikawa, S. T. Khan, H. Komaki, A. Nagai, S. Inaba, M. Takagi, and K. SHIN-YA, “JBIR-37 and -38, novel glycosyl benzenediols, isolated from the sponge-derived fungus, *Acremonium* sp. SpF080624G1f01.” *Biosci Biotechnol Biochem*, 73, 2138–2140, 2009.
- [76] N. Cagnoli-Bellavita, P. Ceccherelli, and R. Fringuelli, “Ascochlorin- A terpenoid metabolite from *Acremonium luzulae*.” *Phytochemistry*, 14, 807, 1975.
- [77] A. A. L. Gunatilaka, “10'-deoxy-10' α -hydroxyascochlorin, a new cell migration inhibitor and other metabolites from *Acremonium* sp., a fungal endophyte in *Ephedra trifurca*.” *Nat Prod Commun*, 8, 601–604, 2013.
- [78] S. Tsuboya, M. Shirasaki, and T. Ishimaru, “Terpene glycosides TAN-2355 A and B of *Acremonium* and preparation of their derivatives as agonists of



thyrotropin releasing hormone (TRH) receptor.” Jpn Kokai Tokkyo Koho 09157286, 1997.

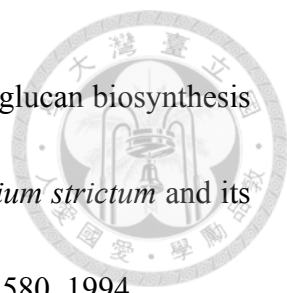
- [79] L. Hammerschmidt, A. Debbab, T. D. Ngoc, V. Wray, C. P. Hemphil, W. Lin, H. Broetz-Oesterhelt, M. U. Kassack, P. Proksch, and A. H. Aly, “Polyketides from the mangrove-derived endophytic fungus *Acremonium strictum*,” *Tetrahedron Lett*, 55, 3463–3468, 2014.
- [80] A. M. Ainsworth, M. I. Chicarelli-Robinson, B. R. Copp, U. Fauth, P. J. Hylands, J. Holloway, M. Latif, G. B. OBeirne, and N. Porter, “Xenovulene A, a novel GABA-benzodiazepine receptor binding compound produced by *Acremonium stvictum*,” *J Antibiot*, 48, 568–573, 1995.
- [81] T. FukudaYSudo, “Novel sesquiterpene, fungicide containing the same, and production thereof from *Acremonium* TAMA116.” Jpn Kokai Tokkyo Koho 2011196458, 2011.
- [82] B. Engel, G. Erkel, T. Anke, and O. Sterner, “Sesquicillin, an inhibitor of glucocorticoid mediated signal transduction.” *J Antibiot*, 51, 518–521, 1998.
- [83] S. Toki, K. Ando, and M. Yoshida, “PS-990, a novel neuritogenic compound from *Acremonium* sp.” *J Antibiot*, 47, 1175–1181, 1994.

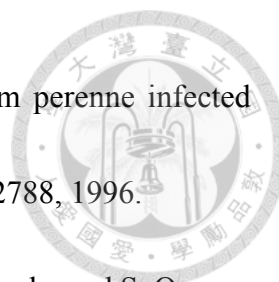
- 
- [84] H. R. Ko, B. Y. Kim, W. K. Oh, D. O. Kang, H. S. Lee, H. Koshino, H. Osada, T. I. Mheen, and J. S. Ahn, “CRM646-A and -B, novel fungal metabolites that inhibit heparinase.” *J Antibiot*, 53, 211–214, 2006.
- [85] S. H. Shim, A. A. Sy, J. B. Gloer, and D. T. Wicklow, “Isolation of an isocoumarin and an isobenzofuran derivatives from a fungicolous isolate of *Acremonium crocinigenum*,” *Bull Korean Chem Soc*, 29, 863–865, 2008.
- [86] T. Sassa, T. Ooi, and H. Kinoshita, “Isolation and structures of acremolactones B and C, novel plant-growth inhibitory -lactones from *Acremonium roseum* I4267.” *Biosci Biotechnol Biochem*, 68, 2633–2636, 2004.
- [87] K. Roy, S. Chatterjee, S. K. Deshmukh, E. K. S. Vijayakumar, B. N. Ganguli, and H. W. Fehlhauer, “Orbuticin, a new secondary metabolite from *Acremonium butyri*.” *J Antibiot*, 49, 1186–1187, 1996.
- [88] S. M. Poling, D. T. Wicklow, K. D. Rogers, and J. B. Gloer, “*Acremonium zaeae*, a protective endophyte of maize, produces dihydroresorcylic acid and 7-hydroxydihydroresorcylic acid.” *J Agric Food Chem*, 56, 3006–3009, 2008.
- [89] H. He, R. Bigelis, E. H. Solum, M. Greenstein, and G. T. Carter, “Acremonidins, new polyketide-derived antibiotics produced by *Acremonium* sp., LL-Cyan 416.” *J Antibiot*, 56, 923–930, 2003.

- 
- [90] M. Isaka, S. Palasarn, P. Auncharoen, S. Komwijit, and E. B. Gareth Jones, “Acremoxanthonones A and B, novel antibiotic polyketides from the fungus *Acremonium* sp. BCC 31806.” *Tetrahedron Lett*, 50, 284–287, 2009.
- [91] C. Melendez-Gonzalez, M. J. Muria-Gonzalez, A. L. Anaya, B. E. Hernandez-Bautista, S. Hernandez-Ortega, M. C. Gonzalez, A. E. Glenn, R. T. Hanlin, M. L. Macias-Rubalcava, “Acremoxanthone E, a novel member of heterodimeric polyketides with a bicyclo[3.2.2]nonene ring, produced by *Acremonium camptosporum* W. Gams (Clavicipitaceae) endophytic fungus.” *Chem Biodiversity*, 12, 133–147, 2015.
- [92] R. Ratnayake, L. J. Fremlin, E. Lacey, J. H. Gill, and R. J. Capon, “Acremolides A–D, lipodepsipeptides from an Australian marine-derived fungus, *Acremonium* sp.” *J Nat Prod*, 71, 403–408, 2008.
- [93] A. Pontius, I. Mohamed, A. Krick, S. Kehraus, and G. M. König, “Aromatic polyketides from marine algicolous fungi.” *J Nat Prod*, 71, 272–274, 2008.
- [94] T. Bunyapaiboonsri, S. Yoiprommarat, A. Khonsanit, and S. Komwijit, “Phenolic glycosides from the filamentous fungus *Acremonium* sp. BCC 14080.” *J Nat Prod*, 71, 891–894, 2008.
- [95] S. Clough, M. E. Raggatt, T. J. Simpson, C. L. Willis, A. Whiting, and S. K. Wrigley, “Structure elucidation and synthesis of (4S,5S,6Z,8E)-5-



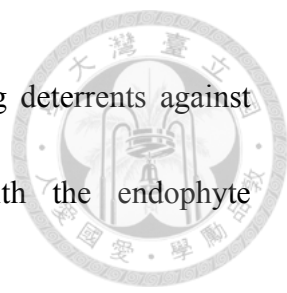
- hydroxydeca-6,8-dien-4-olide [(S,S)-sapinofuranone B] a novel gamma-lactone metabolite of *Acremonium strictum*.” *J Chem Soc*, 1, 2475–2481, 2000.
- [96] T. Sassa, H. Kinoshita, M. Nukina, and T. Sugiyama, “Acremolactone A, a novel herbicidal epoxydihydropyranyl γ -lactone from *Acremonium roseum* I4267.” *J Antibiot*, 51, 967–969, 1998.
- [97] R. F. Vesonder, F. H. Stodola, and W. K. Rohwedder, “Formation of the δ -lactone of 3,5-dihydroxydecanoic acid by the fungus *Cephalosporium recifei*,” *Can J Biochem*, 50, 363–365, 1972.
- [98] R. F. Vesonder, F. H. Stodola, L. J. Wickerham, J. J. Ellis, and W. K. Rohwedder, “11-Hydroxy-trans-8-dodecenoic acid lactone, a 12-membered-ring compound from a fungus.” *Can J Biochem*, 49, 2029–2032, 1971.
- [99] A. Berg, J. Notni, H. Dörfelt, and U. Gräfe, “Acremonol and acremodiol, new fungal bislactones,” *J Antibiot*, 55, 660–662, 2002.
- [100] M. Kawada, I. Usami, T. Someno, T. Watanabe, H. Abe, H. Inoue, S.-I. Ohba, T. Masuda, Y. Tabata, S.-I. Yamaguchi, and D. Ikeda, “NBRI17671, a new antitumor compound, produced by *Acremonium* sp. CR17671.” *J Antibiot*, 63, 237–243, 2010.


- 
- [101] M. Kontani, Y. Sakagami, and S. Marumo, “First β -1,6-glucan biosynthesis inhibitor, bisvertinolone isolated from fungus, *Acremonium strictum* and its absolute stereochemistry.” *Tetrahedron Lett*, 35, 2577–2580, 1994.
- [102] C. Chen, N. Imamura, M. Nishijima, K. Adachi, M. Sakai, and H. Sano, “Halymecins, new antimicroalgal substances produced by fungi isolated from marine algae.” *J Antibiot*, 49, 998–1005, 1996.
- [103] S. C. Munday, C. O. Miles, A. L. Wilkins, and A. D. Hawkes, “Isolation and structure elucidation of lolitrem A, a tremorgenic mycotoxin from perennial ryegrass infected with *Acremonium lolii*.” *J Agric Food Chem*, 43, 1283–1288, 1995.
- [104] R. M. Ede, C. O. Miles, L. P. Meagher, S. C. Munday, and A. L. Wilkins, “Relative stereochemistry of the A/B rings of the tremorgenic mycotoxin lolitrem B.” *J Agric Food Chem*, 42, 231–233, 1994.
- [105] C. O. Miles, S. C. Munday, A. L. Wilkins, and R. M. Ede, “Large-Scale isolation of lolitrem B and structure determination of lolitrem E,” *J Agric Food Chem*, 42, 1488–1492, 1994.
- [106] S. C. Munday, A. L. Wilkins, C. O. Miles, R. M. Ede, and R. A. Thomson, “Structure elucidation of lolitrem F, a naturally occurring stereoisomer of the




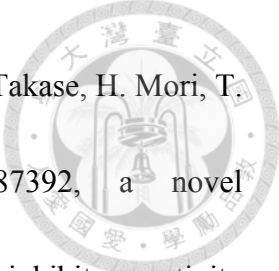
tremorgenic mycotoxin lolitrem B, isolated from *lolium perenne* infected with *Acremonium lolii*,” *J Agric Food Chem*, 44, 2782–2788, 1996.

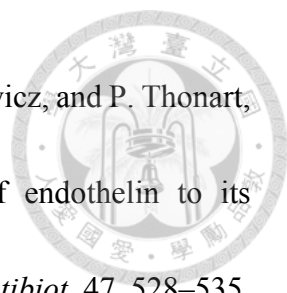
- [107] S. C. Munday-Finch, A. L. Wilkins, C. O. Miles, H. Tomada, and S. Omura, “Isolation and structure elucidation of lolilline, a possible biosynthetic precursor of the lolitrem family of tremorgenic mycotoxins.” *J Agric Food Chem*, 45, 199–204, 1997.
- [108] C. O. Miles, A. L. Wilkins, R. T. Gallagher, A. D. Hawkes, S. C. Munday, and N. R. Towers, “Synthesis and tremorgenicity of paxitriols and lolitriol: possible biosynthetic precursors of lolitrem B,” *J Agric Food Chem*, 40, 234–238, 1992.
- [109] C. M. Weedon and P. G. Mantle, “Paxilline biosynthesis by *Acremonium loliae*; a Paxilline biosynthesis by *Acremonium loliae*; a step towards defining the origin of lolitrem neurotoxins.” *Phytochemistry*, 26, 969–971, 1987.
- [110] D. D. Rowan, M. B. Hunt, and D. L. Gaynor, “Peramine, a novel insect feeding deterrent from ryegrass infected with the endophyte *Acremonium loliae*,” *J Chem Soc Chem Commun*, 12, 935–936, 1986.


- 
- [111] D. D. Rowan and D. L. Gaynor, “Isolation of feeding deterrents against argentine stem weevil from ryegrass infected with the endophyte *Acremonium loliae*.” 12, 647–658, 1986.
- [112] R. Nakai, H. Ogawa, A. Asai, K. Ando, T. Agatsuma, S. Matsumiya, S. Akinaga, Y. Yamashita, and T. Mizukami, “UCS1025A, a novel antibiotic produced by *Acremonium* sp.” 53, 294–296, 2000.
- [113] T. Agatsuma, T. Akama, S. Nara, S. Matsumiya, R. Nakai, H. Ogawa, S. Otaki, S.-I. Ikeda, Y. Saitoh, and Y. Kanda, “UCS1025A and B, new antitumor antibiotics from the Fungus *Acremonium* Species,” *Org Lett*, 4, 4387–4390, 2002.
- [114] D. T. Wicklow, S. Roth, S. T. Deyrup, and J. B. Gloer, “A protective endophyte of maize: *Acremonium zeae* antibiotics inhibitory to *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*.” *Mycol Res*, 109, 610–618, May 2005.
- [115] H. He, H. Y. Yang, R. Bigelis, E. H. Solum, M. Greenstein, and G. T. Carter, “Pyrrocidines A and B, new antibiotics produced by a filamentous fungus.” *Tetrahedron Lett*, 43, 1633–1636, 2002.
- [116] T. Sassa, N. Yoshida, and E. Haruki, “Isolation and structural elucidation of acremoauxin A, a novel auxin derivative produced by *Acremonium roseum* I 4267,” *Agric Biol Chem*, 3105–3107, 1989.

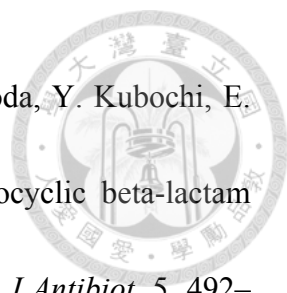
- 
- [117] M. Sakurai, H. Hoshino, J. Kohno, M. Nishio, N. Kishi, T. Okuda, K. Kawano, T. Ohnuki, “TMC-260, a new inhibitor of IL-4 signal transduction produced by *Acremonium kiliense* Grütz TC 1703.” *J Antibiot*, 56, 787–791, 2003.
- [118] J.-H. Jang, K. Kanoh, K. Adachi, and Y. Shizuri, “Awajanomycin, a cytotoxic γ -Lactone- δ -lactam metabolite from marine-derived *Acremonium* sp. AWA16-1.” *J Nat Prod*, 69, 1358–1360, 2006.
- [119] Y. Teshima, K. Shin-ya, A. Shimazu, K. Furihata, H. S. Chul, Y. Hayakawa, K. Nagai, and H. Seto, “Isolation and structural elucidation of pyridoxatin, a free radical scavenger of microbial origin.” *J Antibiot*, 44, 685–687, 1991.
- [120] Y. Mswuoka, K. Shin-ya, K. Furihata, K. Nagai, K. I. Hayakawa, and H. Seto, “Phoenistatin, a new gene expression- enhancing substance produced by *Acremonium fusigerum*.” *J Antibiot*, 54, 187–190, 2001.
- [121] C. M. Boot, T. Amagata, K. Tenney, J. E. Compton, H. Pietraszkiewicz, F. A. Valeriote, and P. Crews, “Four classes of structurally unusual peptides from two marine- derived fungi: structures and bioactivities.” *Tetrahedron*, 63, 9903–9914, 2007.

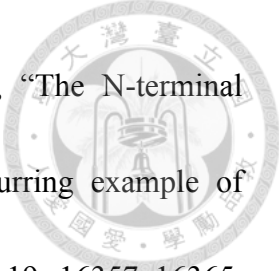
- 
- [122] J. C. Liermann, E. Thines, H. Anke, and T. Optaz, “Anthranicine, an unusual cyclic hexapeptide from *Acremonium* sp. A29-2004.” *Chem Sci*, 64, 727–730, 2009.
- [123] H. Mori, F. Abe, S. Furukawa, F. Sakai, M. Hino, and T. Fujii, “FR235222, a fungal metabolite, is a novel immunosuppressant that inhibits mammalian histone deacetylase (HDAC). I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities,” *J Antibiot*, 56, 72–79, 2003.
- [124] H. Mori, F. Abe, S. Furukawa, F. Sakai, M. Hino, and T. Fujii, “FR235222, a fungal metabolite, is a novel immunosuppressant that inhibits mammalian histone deacetylase (HDAC) II. biological activities in animal models.” *J Antibiot*, 56, 80–86, 2003.
- [125] H. Mori, Y. Urano, T. Kinoshita, S. Yoshimura, S. Takase, and M. Hino, “FR235222, a fungal metabolite, is a novel immunosuppressant that inhibits mammalian histone deacetylase III. structure determination,” *J Antibiot*, 56, 181–185, 2003.
- [126] S. Sasamura, K. Sakamoto, S. Takagaki, T. Yamada, S. Takase, H. Mori, T. Fujii, M. Hino, and M. Hashimoto, “AS1387392, a novel immunosuppressive cyclic tetrapeptide compound with inhibitory activity against mammalian histone deacetylase.” *J Antibiot*, 65, 227–227, 2012.

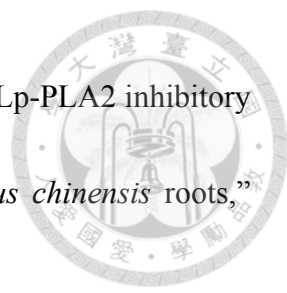
- 
- [127] S. Sasamura, K. Sakamoto, S. Takagaki, T. Yamada, S. Takase, H. Mori, T. Fujii, M. Hino, and M. Hashimoto, “AS1387392, a novel immunosuppressive cyclic tetrapeptide compound with inhibitory activity against mammalian histone deacetylase.” *J Antibiot*, 63, 633–636, 2010.
- [128] J. F. Borel, F. D. Padova, J. Mason, V. Quesniaux, B. Ryffel, and R. Wenger, “Pharmacology of Cyclosporine (Sandimmune). I. Introduction.” *Pharmacol Rev*, 41, 239–242, 1990.
- [129] J. F. Borel, “History of the discovery of cyclosporin and of its early pharmacological development.” *Wien Klin Wochenschr*, 114, 433–437, 2002.
- [130] M. Moussaif, P. Jacques, P. Schaarwachter, H. Budzikiewicz, and P. Thonart, “Cyclosporin C is the main antifungal compound produced by *Acremonium luzulae*.” *Appl Environ Microbiol*, 63, 1739–1743, 1997.
- [131] R. Traver and M. M. Dreyfuss, “Occurrence of cyclosporins and cyclosporin-like peptolides in fungi.” *J Ind Microbiol*, 17, 397–401, 1996.
- [132] M. Jackson, N. S. Burres, J. P. Karwowski, L. A. Alder, P. E. Humphrey, W. L. Kohl, and J. B. McAlpine, “Aselacins, novel compounds that inhibit binding of endothelin to its receptor. I. The producing organism, fermentation and biological activity.” *J Antibiot*, 47, 523–527, 1994.

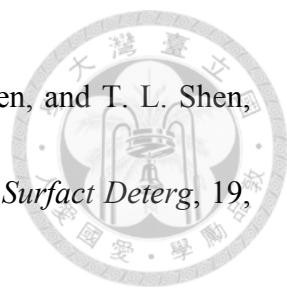
- 
- [133] M. Moussaif, P. Jacques, P. Schaarwachter, H. Budzikiewicz, and P. Thonart, “Aselacins, novel compounds that inhibit binding of endothelin to its receptor. II. Isolation and elucidation of structures.” *J Antibiot*, 47, 528–535, 1994.
- [134] P. Vongvilai, M. Isaka, P. Kittakoo, P. Srikitikulchai, P. Kongsaree, S. Prabpai, and Y. Thebtaranonth, “Isolation and structure elucidation of enniatins L, M₁, M₂, and N: novel hydroxy analogs.” *Helv Chim Acta*, 87, 2066–2073, 2006.
- [135] M. Isaka, A. Yangchum, M. Sappan, R. Suvannakad, and P. Srikitikulchai, “Cyclohexadepsipeptides from *Acremonium* sp. BCC 28424.” *Tetrahedron*, 67, 7929–7935, 2011.
- [136] T. Bunyapaiboonsri, P. Vongvilai, P. Auncharoen, M. Isaka, “Cyclohexadepsipeptides from the Filamentous Fungus *Acremonium* sp. BCC 2629,” *Helv Chim Acta*, 95, 963–972, 2012.
- [137] G. J. Sharman, A. C. Try, D. H. Williams, A. M. Ainseorth, R. Beneyto, T. M. Gibson, C. McNicholas, D. V. Renno, N. Robinson, K. A. Wood, and S. K. Wrigley, “Structural elucidation of XR586, a peptaibol-like antibiotic from *Acremonium persicinum*.” *Biochem J*, 320, 723–728, 1996.

- 
- [138] G. A. Strobel, R. Torczynski, and A. Bollon, “*Acremonium* sp.—a leucinostatin A producing endophyte of European yew (*Taxus baccata*).” *Plant Science*, 128, 97–108, 1997.
- [139] M. Schiell, J. Hofmann, M. Kurz, F. R. Schmidt, L. Vértesy, M. Vogel, J. Wink, and G. Seibert, “Cephaibols, new peptaibol antibiotics with anthelmintic properties from *Acremonium tubakii* DSM 12774.” *J Antibiot*, 54, 220–233, 2001.
- [140] T. Degenkolb, S. Heinze, B. SCHLEGEL, G. Strobel, and U. Gräfe, “Formation of new lipoaminopeptides, Acremostatins A, B, and C, by co-cultivation of *Acremonium* sp. Tbp-5 and *Mycogone rosea* DSM 12973.” *Biosci, Biotechnol Biochem*, 66, 883–886, 2002.
- [141] C. M. Boot, K. Tenney, F. A. Valeriote, and P. Crews, “Highly N-methylated linear peptides produced by an atypical sponge-derived *Acremonium* sp.” *J Nat Prod*, 69, 83–92, 2006.
- [142] R. V. Ullan, J. Casqueiro, O. Banuelos, F. J. Fernandez, S. Gutierrez, and J. F. Martin, “A novel epimerization system in fungal secondary metabolism involved in the conversion of isopenicillin N into penicillin N in *Acremonium chrysogenum*.” *J Biol Chem*, 277, 46216–46225, 2002.

- 
- [143] H. Aoki, H. I. Sakai, M. Kohsaka, T. Konomi, J. Hosoda, Y. Kubochi, E. Iguchi, and H. Imanaka, “Nocardicin A, a new monocyclic beta-lactam antibiotic. I. Discovery, isolation and characterization.” *J Antibiot*, 5, 492–500, 1976.
- [144] S. E. Jensen, D. W. S. Westlake, and S. Wolfe, “Cyclization of δ -(L- α -Aminoadipyl)-L-cysteinyl-D-valine to penicillins by cell-free extracts of *Streptomyces clavuligerus*.” *J Antibiot*, 35, 483–490, 1982.
- [145] A. Gehrt, G. Erkel, T. Anke, and O. Sterner, “Thiacremonone, A New Inducer of Differentiation of Mammalian Cells from an *Acremonium* sp,” *Nat Prod Lett*, 14, 281–284, 2000.
- [146] R. Sugiura, A. Kita, N. Tsutsui, O. Muraoka, K. Hagihara, N. Umeda, T. Kunoh, H. Takada, and D. Hirose, “Acremomannolipin A, the potential calcium signal modulator with a characteristic glycolipid structure from the filamentous fungus *Acremonium strictum*.” *Bioorg Med Chem Lett*, 22, 6735–6739, 2012.
- [147] M. Schiell, J. Hofmann, M. Kurz, F. R. Schmidt, L. Vértesy, M. Vogel, J. Wink, and G. Seibert, “Cephaibols, new peptaibol antibiotics with anthelmintic properties from *Acremonium tubakii* DSM 12774.” *J Antibiot*, 54, 220–233, 2001.

- 
- [148] U. Orcel, M. D. Poli, M. D. Zotti, and J. Clayden, “The N-terminal nonapeptide of cephaibols A and C: a naturally occurring example of mismatched helical screw-sense control.” *Chem Eur J*, 19, 16357–16365, 2013.
- [149] F. Venturoni, A. Gioiello, R. Sardella, B. Natalini, and R. Pellicciari, “Continuous flow synthesis and scale-up of glycine- and taurine-conjugated bile salts.” *Org Biomol Chem*, 10, 4109–4115, 2012.
- [150] O. B. Ijare, B. S. Somashekar, Y. Jadegoud, and G. A. Nagana Gowda, “¹H and ¹³C NMR characterization and stereochemical assignments of bile acids in aqueous media.” *Lipids*, 40, 1031–1041, 2005.
- [151] B. Dayal, J. Bhojawala, K. R. Rapole, B. N. Pramanik, N. H. Ertel, S. Shefer, and G. Salen, “Chemical synthesis, structural analysis, and decomposition of N-nitroso bile acid conjugates.” 4, 885–890, 1996.
- [152] R. E. McDonald, D. J. Armstrong, and G. P. Kreishman, “Identification of trans -diene isomers in hydrogenated soybean oil by gas chromatography, silver nitrate thin-layer chromatography, and ¹³C NMR spectroscopy.” *J Agric Food Chem*, 637–642, 1989.

- 
- [153] W. S. Lee, M. J. Kim, Y. Beck, Y. Park, and T. Jeong, “Lp-PLA2 inhibitory activities of fatty acid glycerols isolated from *Saururus chinensis* roots,” *Bioorg Med Chem Lett*, 15, 3573–3575, 2005.
- [154] D. Kim, M. J. Kang, S. S. Hong, Y. Choi, and J. H. Shin, “Antiinflammatory effects of functionally active compounds isolated from aged black garlic.” *Phytother Res*, 31, 53–61, 2016.
- [155] G. Hsiao, T. H. Fong, N. H. Tzu, K. H. Lin, D. S. Chou, and J. R. Sheu, “A potent antioxidant, lycopene, affords neuroprotection against microglia activation and focal cerebral ischemia in rats.” *in vivo*, 18, 351–356, 2004.
- [156] R. D. Felício, G. B. Pavão, A. L. Oliveira, C. Erbert, R. Conti, M. T. Pupo, N. A. J. C. Furtado, E. G. Ferreira, L. V. Costa-Lotufo, M. C. M. Young, N. S. Yokoya, and H. M. Deboni, “Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities exhibited by endophytic fungi from the Brazilian marine red alga *Bostrychia tenella* (Ceramiales).” *Rev Bras Farmacogn*, 25, 641–650, 2015.
- [157] D. Moore, G. D. Robson, and A. P. J. Trinci, *21st Century Guidebook to Fungi*. Cambridge University Press, 1–626, 2011.
- [158] E. M. Hetrick and M. H. Schoenfisch, “Analytical chemistry of nitric oxide.” *Annual Rev Anal Chem*, 2, 409–433, 2009.

- 
- [159] D. Wieczorek, D. Gwiazdowska, K. Staszak, Y. L. Chen, and T. L. Shen, “Surface and antimicrobial activity of sulfobetaines.” *J Surfact Deterg*, 19, 813–822, 2016.
- [160] P. Luber, E. Bartelt, E. Genschow, J. Wagner, and H. Hahn, “Comparison of broth microdilution, E test, and agar dilution methods for antibiotic susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*.” *J Clin Microbiol*, 41, 1062–1068, 2003.
- [161] V. Wieland, “Sulforhodamine B assay and chemosensitivity.” *Methods Mol Med*, 110, 39–48, 2005.