

# 南海珊瑚内生细菌 *Pelomonas puraquae* sp. nov (B-2) 中环二肽类次生代谢产物研究\*

邓 芸<sup>1</sup>, 胡谷平<sup>2</sup>, 陈小洁<sup>1</sup>, 刘炳新<sup>1</sup>, 代树文<sup>1</sup>, 何细新<sup>1</sup>, 张翠仙<sup>1</sup>  
(1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006;  
2. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

**摘要:** 为了研究珊瑚内生细菌 *Pelomonas puraquae* sp. nov (B-2) 次生代谢产物, 采用现代分离纯化方法对其发酵液和菌丝体的次生代谢产物进行分离、纯化, 得到8个单体化合物。通过现代波谱分析(1D NMR和MS等)和物理常数对照等方法对其进行结构鉴定, 均为环二肽类物质, 依次为: 环(羟脯-苯丙)二肽(1)、环(脯-酪)二肽(2)、环(苯丙-甘)二肽(3)、环(苯丙-丙)二肽(4)、环(丙-酪)二肽(5)、环(亮-甘)二肽(6)、环(甘-缬)二肽(7)、环(丙-缬)二肽(8)。所有化合物均首次从该细菌中分离得到。

**关键词:** 珊瑚内生细菌; *Pelomonas puraquae* sp. nov (B-2); 次生代谢产物; 环二肽; 结构鉴定  
**中图分类号:** O629.72 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579(2015)03-0080-05

## Research on Cyclo-Dipeptides from the Coral-Derived Endophytic Bacteria *Pelomonas puraquae* sp. nov of South China Sea

DENG Yun<sup>1</sup>, HU Guping<sup>2</sup>, CHEN Xiaojie<sup>1</sup>, LIU Bingxin<sup>1</sup>, DAI Shuwen<sup>1</sup>, HE Xixin<sup>1</sup>, ZHANG Cuixian<sup>1</sup>  
(1. School of Chinese Material Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine,  
Guangzhou 510006, China;  
2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

**Abstract:** Eight compounds 1-8 were obtained from the fermentation broth and mycelium of B-2 through modern methods for isolation and purification in order to research secondary metabolites from coral-derived endophytic bacteria *Pelomonas puraquae* sp. nov (B-2). Their structures were analyzed by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR, MS and physical methods. The results indicated that they were composed of 8 compounds including cyclo(Hyp-Phe) (1), cyclo(Pro-Tyr) (2), cyclo(Phe-Gly) (3), cyclo(Phe-Ala) (4), cyclo(Ala-Tyr) (5), cyclo(Leu-Gly) (6), cyclo(Gly-Val) (7) and cyclo(Ala-Val) (8). They were all cyclo-dipeptides and first acquired from the coral-derived endophytic bacteria *Pelomonas puraquae* sp. nov (B-2).

**Key words:** coral-derived endophytic bacteria; *Pelomonas puraquae* sp. nov (B-2); secondary metabolites; cyclo-dipeptides; identification

海洋微生物由于其生存环境的特异性(高盐、高压、低温、无光照)激活了其某些沉默基因<sup>[1]</sup>,

诱导其产生独特的生物代谢途径, 致使其产生结构各异、具有显著生理活性的次生代谢产物, 为海洋

\* 收稿日期: 2014-11-06

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(81001370); 中国科学院海洋生物资源可持续利用重点实验室联合基金资助项目(LMB101002); 广东省大学生创新实验资助项目(1057211002); 广东省自然科学基金资助项目(2014年立项)

**作者简介:** 邓芸(1990年生), 女; **研究方向:** 天然药物化学; **通讯作者:** 张翠仙; E-mail: zhangcuixian@aliyun.com

药物先导化合物的发现提供重要来源。在前期实验研究中发现珊瑚内生细菌 *Pelomonas puraquae* sp. nov(B-2) 使真菌生长延迟, 甚至死亡, 同时药理活性研究表明该菌株具有较好的抗肿瘤活性<sup>[2]</sup>。基于此, 对 B-2 的次生代谢产物进行研究, 通过柱层析(硅胶、ODS 和 Sephadex LH-20 等)和 HPLC 分离纯化, 得到 8 个单体化合物, 经过 NMR 和 MS 及物理常数对照确定其结果依次为: 环(羟脯-苯丙)二肽(**1**)、环(脯-酪)二肽(**2**)、环(苯丙-甘)二肽(**3**)、环(苯丙-丙)二肽(**4**)、环(丙-酪)二肽(**5**)、环(亮-甘)二肽(**6**)、环(甘-缬)二肽(**7**)、环(丙-缬)二肽(**8**)。所有化合物均为环二肽类且首次从该菌株中分离得到。研究表明此类物质具有抑菌、抗肿瘤, 心脑血管系统及神经保护、脱瘾解毒等方面的重要生理活性<sup>[3]</sup>。

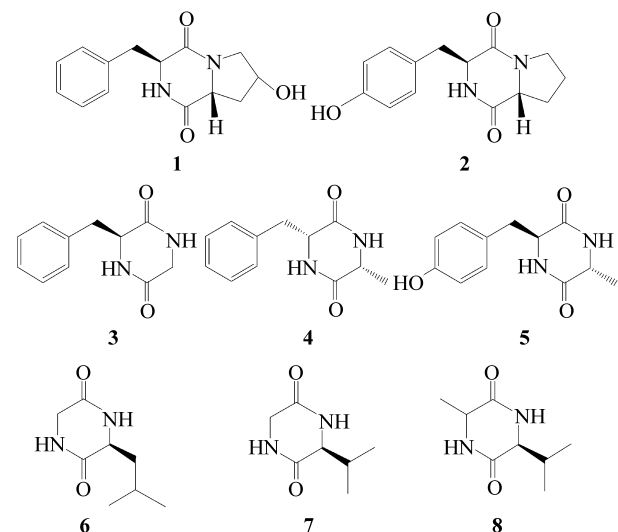


图1 珊瑚内生细菌 *Pelomonas puraquae* sp. nov(B-2) 中的环二肽化合物 **1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **6**, **7**, **8**

Fig. 1 Chemical structures of compounds **1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **6**, **7**, **8** from coral-derived bacteria *Pelomonas puraquae* sp. nov (B-2)

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与材料

仪器: GZX-9070MBE 恒温培养箱(上海博迅实业有限公司); 超净工作台(苏州净化设备厂); ER-120A 电子天平(日本 A&D 公司); HH-ZK6 水浴锅(巩义市予华仪器有限责任公司); DZ-900 振荡器(太仓市强乐实验设备厂); LX-B75L 型立式自动电热压力蒸汽灭菌器(合肥华泰医疗设备有限公司); HYG-A 全温摇瓶柜(江苏常

州三盛仪器制造有限公司)。AVANCE AV400 超导核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司); Varian INOVA500NB 超导核磁共振仪(美国 Varian 公司); VG ZABHS 质谱仪(美国 Finnigan 公司); Orbitrap Elite 高分辨质谱仪(Thermo Scientific 公司); LCQDE-CAXP 高效液相色谱-质谱联用仪(美国 Finnigan 公司); QuikSep 制备型高效液相色谱仪(北京慧德易科技有限责任公司)。

试剂: 蛋白胨、酵母膏、牛肉浸膏(BR, 广东环凯微生物科技有限公司); 葡萄糖(CP, 天津市大茂化学试剂厂); 海盐(广州市荔水族科技有限公司); 石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、甲醇(AR, 天津市富宇精细化工有限公司); 柱层析硅胶(200~300 目, 青岛海洋化工厂)。

菌种: 实验用微生物 *Pelomonas puraquae* sp. nov(B-2) 由海南大学谢珍玉教授提供, 中国科学院南海海洋研究所张长生研究员进行种属鉴定, 样品保存于广州中医药大学中药学院海洋微生物实验室。

### 1.2 B-2 细菌活化与发酵

将 B-2 接种到装有 40 mL 液体 LB 培养基(牛肉浸膏  $w = 3.0\%$ 、葡萄糖  $w = 2.0\%$ 、酵母膏  $w = 1.0\%$ 、蛋白胨  $w = 0.05\%$ 、人工海水 500 mL, 加蒸馏水定容至 1 000 mL,  $\text{pH} = 7.0$ )的 100 mL 三角瓶中, 在 28 °C 摇床中 150 r/min 培养 2 d 得种子培养液。吸取该种子液(1.5 mL)于培养瓶中(每升加 500 mL 液体 LB 培养基), 28 °C 摇床培养 7 d 至菌株生长成熟, 停止发酵(共发酵培养 200 L)。

### 1.3 提取分离

将菌液和菌体高速离心分离。发酵液浓缩至 18 L, 依次用等体积的乙酸乙酯(EtOAc)、正丁醇( $n\text{-BuOH}$ )进行萃取, 减压回收有机溶剂得到发酵液的 EtOAc 浸膏(72.6 g)和  $n\text{-BuOH}$  浸膏(131 g)。菌体用甲醇浸泡提取 3 次(每次浸 1 d), 所得甲醇提取液减压浓缩共得到浸膏 69 g; 该浸膏用水湿溶至 1 L, 依次用等量的 EtOAc 和  $n\text{-BuOH}$  进行水分配萃取, 减压浓缩提取液, 得到菌体的 EtOAc 浸膏 12.8 g 和  $n\text{-BuOH}$  浸膏 22 g。经 TLC 追踪发现发酵液与菌体的 EtOAc 二者成分相似, 合并得 EtOAc 相浸膏(85.4 g)。

EtOAc 浸膏(85.4 g)经硅胶柱层析分离, 以 PE/EtOAc 体系( $V(\text{PE})/V(\text{EtOAc}) = 1:0, 9:1, 4:1, 7:3, 3:2, 1:1, 2:3, 3:7, 3:17, 0:1$ )洗脱, 得到 10 个组分(Fr1~Fr10)。其中 Fr10(8.0 g)用硅胶柱层析以 PE/EtOAc 体系( $V(\text{PE})/V(\text{EtOAc}) =$

6:1, 4:1, 2:1, 1:1, 2:3, 1:3, 1:5, 0:10) 洗脱得到 6 个组分(Fr10-1 ~ Fr10-6)。Fr10-2(1.0 g) 用硅胶柱层析以 PE/EtOAc 体系 ( $V(\text{PE})/V(\text{EtOAc}) = 17:3, 4:1, 3:1, 3:2, 1:1, 2:3, 1:4, 0:1$ ) 洗脱得到 8 个组分(Fr10-2-1 ~ Fr10-2-8)。Fr10-2-3(85 mg) 以 HPLC ( $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12:88$ ,  $t = 9.041$  s) 分离纯化, 得到化合物 **8** (10 mg); Fr10-5 (2.0 g) 用硅胶柱层析以 PE/EtOAc 体系 ( $V(\text{PE})/V(\text{EtOAc}) = 4:1, 7:3, 3:2, 1:1, 2:3, 1:3, 3:17, 0:1$ ) 洗脱得到 7 个组分(Fr10-5-1 ~ Fr10-5-7)。Fr10-5-2(105 mg) 以 HPLC ( $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12:88$ ,  $t = 6.506, 12.389, 16.838, 18.155, 20.922, 32.554$  s) 分离得到化合物 **1** (15 mg), **2** (14 mg), **3** (10 mg), **4** (5 mg), **6** (5 mg), **7** (10 mg); Fr-10-6(0.8 g) 用硅胶柱层析以 PE/EtOAc 体系 ( $V(\text{PE})/V(\text{EtOAc}) = 4:1, 3:2, 1:1, 2:3, 1:4, 3:17, 0:1$ ) 洗脱得到 4 个组分 (Fr10-6-1 ~ Fr10-6-4), 其中 Fr10-6-2 (75 mg) 以 HPLC ( $V(\text{MeOH})/V(\text{H}_2\text{O}) = 12:88$ ,  $t = 10.291$  s) 分离得到化合物 **5** (5 mg)。

#### 1.4 物理常数和波谱数据

化合物 **1**: 白色粉末 (甲醇), 紫外灯 254 nm 下无暗斑, 碘蒸气显棕黄色, 分子式  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$ ,  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{MeOD-}d_4$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 7.31 ~ 7.15 (5H, m), 4.46 (1H, d, 4.2 Hz), 4.33 (1H, dt, 18.0, 8.9 Hz), 4.26 (1H, t, 4.7 Hz), 3.75 ~ 3.60 (1H, m), 3.21 ~ 3.08 (1H, m), 3.19 ~ 3.08 (2H, m), 2.05 (1H, dd, 13.1, 5.9 Hz), 1.42 ~ 1.30 (1H, m)。

化合物 **2**: 白色粉末 (甲醇), 紫外灯 254 nm 下有暗斑, 碘蒸气显棕黄色, 分子式  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$ , ESI-MS  $m/z$ : 259  $[\text{M} - \text{H}]^-$ 。  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{Pyr-}d_5$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 9.36 (1H, d, 3.1 Hz), 7.27 (2H, d, 8.3 Hz), 7.09 (2H, d, 8.3 Hz), 4.51 (1H, dd, 10.1, 4.2 Hz), 3.66 (1H, dt, 11.6, 8.5 Hz), 3.41 (2H, ddd, 17.2, 10.1, 4.9 Hz), 3.30 (1H, dd, 13.6, 6.3 Hz), 3.16 (1H, dd, 13.6, 4.2 Hz), 2.20 ~ 2.08 (1H, m), 1.91 ~ 1.76 (1H, m), 1.66 ~ 1.55 (1H, m), 1.52 ~ 1.37 (1H, m)。

化合物 **3**: 白色粉末 (甲醇), 碘蒸气显棕黄色, 分子式  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ , ESI-MS  $m/z$ : 203  $[\text{M} - \text{H}]^-$ 。  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{Pyr-}d_5$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 9.29 (1H, s), 9.01 (1H, s), 7.24 ~ 7.45 (2H, m), 7.26 ~ 7.19 (3H, m), 4.59 (1H, m), 3.96 (1H, dd, 17.2, 3.2 Hz), 3.50 (1H, 17.2 Hz), 3.45 (1H, dd, 13.2, 5.6 Hz), 3.29 (1H, dd, 13.2, 4.4

Hz);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{Pyr-}d_5$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 168.4 (C), 166.7 (C), 136.9 (C), 130.7 (2 CH), 128.7 (CH), 127.2 (2 CH), 57.3 (CH), 45.0 (CH<sub>2</sub>), 40.8 (CH<sub>2</sub>)。

化合物 **4**: 白色粉末 (甲醇), 碘蒸气显棕黄色, 分子式  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$ , ESI-MS  $m/z$ : 217  $[\text{M} - \text{H}]^-$ 。  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{Pyr-}d_5$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 7.67 (1H, d, 7.6 Hz), 7.39 (1H, d, 8.0 Hz), 7.14 (2H, t, 7.6 Hz), 7.07 (1H, t, 6.8 Hz), 4.34 (1H, t, 5.2 Hz), 3.78 (1H, dt, 14.4, 8.0 Hz), 3.52 (1H, dd, 10.8, 4.0 Hz), 3.22 (1H, dd, 10.8, 3.6 Hz), 0.45 (3H, d, 3.6 Hz);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{Pyr-}d_5$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 170.7 (C), 169.7 (C), 129.3 (C), 125.9 (CH), 122.6 (CH), 120.3 (CH), 116.3 (CH), 109.4 (CH), 57.6 (CH), 51.5 (CH), 30.9 (CH<sub>2</sub>), 20.2 (CH<sub>3</sub>)。

化合物 **5**: 白色粉末 (甲醇), 碘蒸气显棕黄色, 分子式  $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ , ESI-MS  $m/z$ : 233  $[\text{M} - \text{H}]^-$ 。  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{Pyr-}d_5$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 11.32 (1H, br s), 9.10 (1H, s), 9.07 (1H, s), 7.40 (2H, d, 8.4 Hz), 7.10 (2H, d, 8.4 Hz), 4.60 (1H, m), 4.20 (1H, m), 3.51 (1H, dd, 16.0, 5.2 Hz), 3.30 (1H, dd, 13.4, 4.2 Hz), 1.30 (3H, d, 7.2 Hz);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{Pyr-}d_5$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 169.8 (C), 168.8 (C), 154.5 (C), 132.8 (2 CH), 129.3 (CH), 115.6 (2 CH), 60.3 (CH), 54.7 (CH<sub>2</sub>), 37.4 (CH<sub>2</sub>), 17.0 (CH<sub>3</sub>)。

化合物 **6**: 白色粉末 (甲醇), 碘蒸气显棕黄色, 分子式  $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ , ESI-MS  $m/z$ : 169  $[\text{M} - \text{H}]^-$ 。  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{MeOD-}d_4$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 3.98 (1H, d, 17.8 Hz), 3.88 (1H, s), 3.81 (1H, d, 17.8 Hz), 1.85 ~ 1.75 (1H, m), 1.66 (2H, m, 4.1 Hz), 0.95 (6H, t, 6.9 Hz);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{MeOD-}d_4$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 171.7 (C), 169.1 (C), 55.1 (C), 45.5 (CH), 44.0 (CH<sub>2</sub>), 25.5 (CH), 23.5 (CH<sub>3</sub>), 22.3 (CH<sub>3</sub>)。

化合物 **7**: 白色粉末 (甲醇), 碘蒸气显棕黄色, 分子式  $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ , ESI-MS  $m/z$ : 155  $[\text{M} - \text{H}]^-$ 。  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{Pyr-}d_5$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 9.13 (1H, s), 8.98 (1H, s), 4.29 (1H, d, 17.5 Hz), 4.18 (1H, dd, 17.5, 2.4 Hz), 4.06 (1H, t, 3.1 Hz), 2.56 ~ 2.47 (1H, m), 1.11 (3H, d, 7.0 Hz), 1.05 (3H, d, 6.8 Hz)。

化合物 **8**: 白色粉末 (甲醇), 碘蒸气显棕黄色, 分子式  $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ , ESI  $m/z$ : 170。  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{Pyr-}d_5$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 9.18 (1H, d, 4.8 Hz), 8.95

(1H, s), 4.33(1H, s), 4.17(1H, m), 2.66(1H, m), 1.69(1H, d, 6.8 Hz), 1.17(1H, d, 6.8 Hz), 1.13(1H, d, 7.2 Hz)。

## 2 结果与讨论

1) 化合物**1**: 白色粉末(甲醇), 紫外灯254 nm下无暗斑, 碘蒸气显棕黄色。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, MeOD-*d*<sub>4</sub>)谱中 $\delta_{\text{H}}$  7.31~7.15(5H, m)为1个单取代芳环上的氢信号, 结合 $\delta_{\text{H}}$  4.46(1H, d, 4.2 Hz)、3.75~3.60(1H, m)、3.21~3.08(1H, m), 显示有苯丙氨酸片段; $\delta_{\text{H}}$  4.33(1H, dt, 18.0, 8.9 Hz)为连有羟基的叔碳上的氢信号, 结合 $\delta_{\text{H}}$  4.26(1H, t, 4.7 Hz)、3.19~3.08(2H, m)、2.05(1H, dd, 13.1, 5.9 Hz)、1.42~1.30(1H, m)显示含有羟脯氨酸片段。将**1**的NMR数据与文献cyclo(Hyp-Phe)数据对照<sup>[4]</sup>, 基本一致。故确定**1**为cyclo(Hyp-Phe), 即环(羟脯-苯丙)二肽。

2) 化合物**2**: 白色粉末(甲醇), 紫外灯254 nm下有暗斑, 碘蒸气显棕黄色。ESI-MS  $m/z$ : 259 [M-H]<sup>-</sup>, 相对分子质量为260。<sup>1</sup>H NMR中 $\delta_{\text{H}}$  7.85(1H, s)为1个酰胺氮氢质子信号, 结合 $\delta_{\text{H}}$  4.51(1H, dd, 10.1, 4.2 Hz)、3.66(1H, dt, 11.6, 8.5 Hz)2个叔碳上的氢信号。与**1**的NMR数据对照发现**2**含有比**1**少了1个连氧碳质子, 而增加了 $\delta_{\text{H}}$  3.30(1H, dd, 13.6, 6.3 Hz)、3.16(1H, dd, 13.6, 4.2 Hz)亚甲基信号, 推断**2**含有脯氨酸片段。将**2**的NMR数据与文献cyclo(Pro-Tyr)数据对照<sup>[5]</sup>, 基本一致。故确定**2**为cyclo(Pro-Tyr), 即环(脯-酪)二肽。

3) 化合物**3**: 白色粉末(甲醇), 碘蒸气显棕黄色。<sup>1</sup>H NMR谱中 $\delta_{\text{H}}$  9.29(1H, s)和9.01(1H, s)为2个氮上的氢信号, 同时<sup>13</sup>C NMR谱中 $\delta_{\text{C}}$  168.4(C)、166.7(s)也证实结构中存在两个肽键, 说明**3**可能是环二肽类化合物。7.24~7.45(2H, m)和7.26~7.19(3H, m)为典型单取代芳环上的质子信号, 同时 $\delta_{\text{C}}$  168.4(C)、136.9(C)、130.7(2CH)、128.7(2CH)、127.2(CH)碳信号提示**3**同样含有苯丙氨酸片段; 同时 $\delta_{\text{H}}$  3.96(1H, dd, 17.2, 3.2 Hz)、3.50(1H, d, 17.2 Hz)和 $\delta_{\text{C}}$  166.7(C)、45.0(CH<sub>2</sub>)提示该化合物含甘氨酸片段。将**3**的NMR数据与文献cyclo(Phe-Gly)数据对照<sup>[6-7]</sup>, 基本一致。故确定**3**为cyclo(Phe-Gly), 即环(苯丙-甘)二肽。

4) 化合物**4**: 白色粉末(甲醇), 碘蒸气显棕

黄色。<sup>13</sup>C NMR(100 MHz, Pyr-*d*<sub>5</sub>)谱中 $\delta_{\text{C}}$  170.7(C)、169.7(C)为两个酰胺羰基碳信号, 说明该化合物可能是环二肽类化合物。将**4**的NMR与**3**对照, 发现低场质子信息基本一致, 故确定苯丙氨酸残基存在。同时NMR  $\delta_{\text{H}}$  3.78(1H, dt, 14.4, 8.0 Hz)和0.45(3H, d, 3.6 Hz)和 $\delta_{\text{C}}$  57.6(CH)和20.2(CH<sub>3</sub>)提示**4**含丙氨酸片段。将**4**的NMR数据与文献cyclo(Phe-Ala)数据对照<sup>[7-10]</sup>, 基本一致。故确定**4**为cyclo(Phe-Ala), 即环(苯丙-丙)二肽。

5) 化合物**5**: 白色粉末(甲醇), 碘蒸气显棕黄色。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, Pyr-*d*<sub>5</sub>)谱中 $\delta_{\text{H}}$  9.10(1H, s)和9.07(1H, s)为2个氮上的氢信号, 同时<sup>13</sup>C NMR(100 MHz, Pyr-*d*<sub>5</sub>)谱中 $\delta_{\text{C}}$  169.8(C)、168.8(C)为两个酰胺羰基碳信号, 说明其可能为环二肽类物质。其NMR数据与**2**对比发现十分相似, 均存在酪氨酸残基。而 $\delta_{\text{H}}$  4.20(1H, m)和1.30(3H, d, 7.2 Hz)及 $\delta_{\text{C}}$  54.7(CH<sub>2</sub>)、17.0(CH<sub>3</sub>)说明结构中还存在丙氨酸片段。将**5**的NMR数据与文献cyclo(Ala-Tyr)数据对照<sup>[11]</sup>, 基本一致。故确定**5**为cyclo(Ala-Tyr), 即环(丙-酪)二肽。

6) 化合物**6**: 白色粉末(甲醇), 碘蒸气显棕黄色。ESI-MS  $m/z$ : 169 [M-H]<sup>-</sup>, 结合NMR数据推断其分子式为C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 不饱和度为3。<sup>1</sup>H NMR中 $\delta_{\text{H}}$  9.38(1H, br s)和9.16(1H, br s)为氮上的活泼氢信号, 存在酰胺的活泼氢质子信息,  $\delta_{\text{H}}$  4.34(1H, d, 15.2 Hz)和4.25(2H, m)为氮杂环中叔碳上的质子信号, 推测可能为环二肽类化合物。 $\delta_{\text{H}}$  4.25(2H, m)的峰可知氨基酸片段中在六元环上含有亚甲基, 推测可能含有甘氨酸片段。 $\delta_{\text{H}}$  2.03(1H, m)和1.92(1H, m)为1个亚甲基上的2个质子信号且化学环境不同, 结合 $\delta_{\text{H}}$  1.80(1H, m)和0.89(3H, q, 6.4, 4.0 Hz), 可推断该化合物含异丙基片断。将**6**的NMR数据与文献cyclo(Leu-Gly)数据对照<sup>[12]</sup>, 基本一致。故确定**6**为cyclo(Leu-Gly), 即环(亮-甘)二肽。

7) 化合物**7**: 白色粉末(甲醇), 碘蒸气显棕黄色。ESI-MS  $m/z$ : 155 [M-H]<sup>-</sup>, 结合NMR数据推断其分子式为C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 不饱和度为3。与**6**相比, 其分子质量相差14(一个CH<sub>2</sub>); 且含有与**6**<sup>1</sup>H NMR基本一致的甘氨酸片段信号。而 $\delta_{\text{H}}$  1.11(3H, d, 7.0 Hz)和1.05(3H, d, 6.8 Hz)为两个相邻的甲基信号, 而2.56~2.47(1H, m)

为一个支链上的叔碳信号,推断可能含缬氨酸片段。将 **7** 的 NMR 数据与文献 cyclo (Gly-Val) 数据对照<sup>[13]</sup>,基本一致。故确定 **7** 为 cyclo (Gly-Val),即环(甘-缬)二肽。

8) 化合物 **8**: 白色粉末(甲醇),香草醛浓硫酸不显色,茚三酮显色阴性。ESI  $m/z$ : 170,与 **7** 相比相对分子质量相差 15 ( $\text{CH}_3$ );<sup>1</sup>H NMR 数据与 **7** 对比显示结构中含有缬氨酸残基。4.33 (1H, s)、1.69 (1H, d, 6.8 Hz) 显示结构中有丙氨酸残基。将化合物的 NMR 数据与文献 cyclo (Ala-Val) 对照<sup>[14-16]</sup>,基本一致。确定 **8** 为 cyclo (Ala-Val),即环(丙-缬)二肽。

### 参考文献:

- [1] 盛楠,顾觉奋. 激活沉默基因的方法及在微生物制药领域的新进展[J]. 中国新药杂志, 2014, 23(18): 2165-2168.
- [2] 郭琼,王剑,姚骏骅,等. 一株南海珊瑚细菌 L-4 抗肿瘤活性次生代谢产物研究[J]. 中山大学学报:自然科学版, 2013, 52(3): 77-82.
- [3] 杨子娟,向兰,邢杰,等. 环二肽的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2009, 24(2): 73-81.
- [4] 李德海,顾谦群,朱伟明,等. 海洋放线菌 11014 中抗肿瘤活性成分的研究(I)环二肽[J]. 中国抗生素杂志, 2005, 30(8): 449-452.
- [5] 熊江,周俊,戴好富,等. 多蕊商陆的化学成分[J]. 云南植物研究, 2001, 24(3): 401-405.
- [6] 吴雄宇,林永成,冯爽,等. 南海红树林内生真菌 1356#代谢产物的研究[J]. 热带海洋学报, 2001, 20(4): 80-85.
- [7] 王彧博,郑立,李文,等. 海洋细菌 NJ6-3-1 次级代谢产物化学成分分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(5): 345-349.
- [8] 刘涛,李占林,王宇,等. 海洋来源真菌 *Hypocrea virens* 的次级代谢产物研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(2): 93-97.
- [9] 高程海,易湘茜,方燕,等. 柳珊瑚共生细菌 *Bacillus subtilis* 发酵液化学成分研究[J]. 广西科学, 2011, 18(3): 222-225.
- [10] 刘睿,朱天骄,朱伟明,等. 海洋放线菌 S1001 中抗肿瘤活性成分的研究[J]. 中国抗生素杂志, 2006, 31(1): 36-38.
- [11] 高昊,陈国栋,唐金山,等. 海洋细菌 *Bacillus* sp. 次生代谢产物的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 21(7): 69-74.
- [12] 秦文娟,孔庆芬,范志同,等. 掌叶半夏化学成分的研究(III)[J]. 中草药, 1984, 15: 11-15.
- [13] 宫俊,汤华,耿婉丽,等. 仿刺参共附生放线菌 *Brevibacterium* sp. 中的环二肽成分的分离和鉴定[J]. 第二军医大学学报, 2012, 33(12): 1284-1287.
- [14] 王彧博,郑立,李文,等. 海洋细菌 NJ6-3-1 次级代谢产物化学成分分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学, 2010, 27(5): 345-349.
- [15] ZHAO W Y, ZHU T J, FAN G T, et al. Three new dioxopiperazine metabolites from a marine-derived fungus, *Aspergillus fumigatus* Fres[J]. Nat Prod Res, Part A: Structure and Synthesis, 2010, 24(10): 953-957.
- [16] 尹文清,林永成,周世宁,等. 南海海洋真菌 2561 号中的环肽成分[J]. 中山大学学报:自然科学版, 2002, 41(4): 56-58.