

南海海洋真菌 2516 号中的环肽成分^{*}

尹文清¹, 林永成¹, 周世宁², Vrijmoed L. L. P.³

(1. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州, 510275;

2. 中山大学生命科学学院, 广东 广州, 510275;

3. 香港城市大学生物与化学系, 香港)

摘 要: 对中国南海海洋真菌 2516 号的代谢产物进行研究, 发现该真菌能产生丰富的环肽化合物。从培养液中已分离得到 7 个环肽化合物, 其中 3 个为新化合物, 根据 NMR, 2DNMR, FABMS 等光谱数据确定了新化合物的结构, 分别是环(异亮—亮—缬—缬)四肽、环(异亮—亮—亮—缬)四肽和环(异亮—缬—缬—缬)四肽。另 4 个化合物为环二肽。

关键词: 海洋真菌; 环肽; 代谢产物

中图分类号: O629.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2002) 04-0056-03

环肽在自然界中分布广泛, 植物、动物、低等海洋生物、微生物、细菌和真菌等都含有环肽。这些环肽中不少具有明显的生理活性, 因此受到国内外许多化学家、生物学家和药学家的重视。他们从自然界中提取到各种各样有生理活性的环肽。如从真菌 *Penicillium* sp. 中分离的环(色—苯丙)二肽具有植物生长调节剂的作用, 从海鞘 *Trididemnum solidum* 中分离得到的环肽 Didemnin B 具有抗肿瘤活性, 在美国已进入临床试验。

近年来, 作者对南海海洋真菌 2516 号的代谢产物进行研究, 发现该菌中含有丰富的环肽化合物。目前已从培养液中分离得到 7 个环肽化合物, 其中 A、B、C 为环四肽类化合物, 分别是环(异亮—亮—缬—缬)四肽、环(异亮—亮—亮—缬)四肽和环(异亮—缬—缬—缬)四肽, 这 3 个化合物未见有文献报道, 确定为新化合物。另 4 个化合物 D、E、F、G 为环二肽。

1 结果与讨论

化合物 A, 从 ¹³C NMR 和 DEPT 可知分子中含有 23 个碳原子, 其中 4 个季碳, 8 个 CH, 3 个 CH₂, 8 个 CH₃。FABMS 显示它的分子离子峰为 425 [M+1], 因此分子中可能含有偶数个 N。从 ¹H NMR 中 8.08, 7.96, 7.85, 7.85 的 4 个峰显示有 4 个活泼 H,

应为 4 个 NH, 结合 ¹³C NMR 中 168.3, 167.4, 167.3, 166.7 的 4 个羰基碳, 推知分子中存在 4 个酰胺键。由此得出化合物 A 的分子式为 C₂₂H₄₀N₄O₄。再结合 HMQC、HMBC 图谱推出化合物 A 是由异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸组成的环(异亮—亮—缬—缬)四肽, 结构式见图 1, 其 NMR 数据列于表 1, HMBC 见图 2。

化合物 B 和 C, 两者的 NMR 数据与化合物 A 很相似, B 和 C 的 FABMS 分别为 439 [M+1], 227, 213 和 411 [M+1], 213, 199。与 A 相比, B 多一个 CH₂, 而 C 少一个 CH₂, 确定 B 为环(异亮—亮—亮—缬)四肽, C 为环(异亮—缬—缬—缬)四肽。

化合物 D, FABMS 显示它的相对分子质量为 244, 应含有偶数 N。氢谱中可看到 7.24 (5H, m) 左右有一个单取代苯环, 相应碳谱中 136.0, 129.4, 129.1, 127.6 处有单取代苯环碳吸收峰; 氢谱中 4.62 (1H, brs) 有一个活泼氢, 且分子中没有甲基峰, 而碳谱在 170.3 和 165.1 处的有 2 个羰基碳峰, 结合碳谱和氢谱中其他数据, 确定 D 为环(苯丙—脯)二肽。

化合物 E, 氢谱中 6.94 (2H, d) 和 6.65 (2H, d) 结合碳谱得知化合物含有 1 个对位二取代苯环。在 9.11 (H, s), 8.0 (H, d) 和 7.8 (H, d) 有 3 个活泼氢, 其中 1 个是 OH, 另 2 个为 NH,

* 收稿日期: 2002-04-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (0072058); 863 高科技资助项目 (2001AA624010); 广东省自然科学基金资助项目 (980371)

作者简介: 尹文清 (1968—), 女, 博士生, 广西师范大学化学化工系讲师; 通讯联系人: 林永成; E-mail: ceslyc@

zsulink.zsu.edu.cn

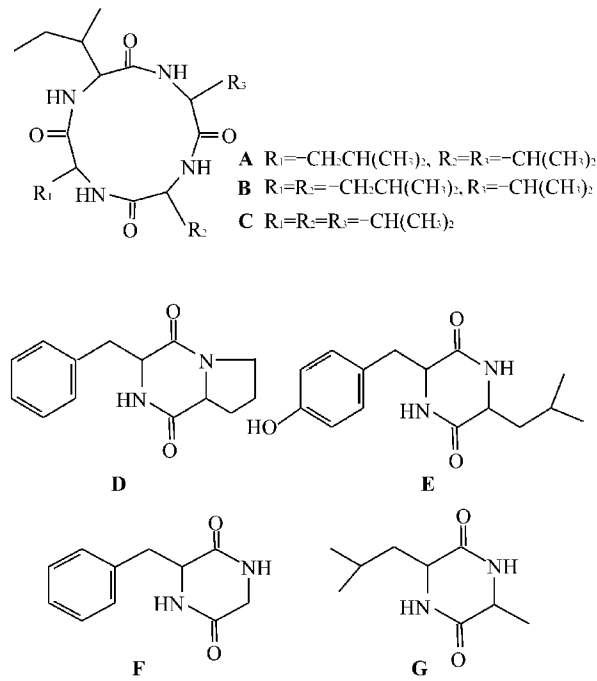


图 1 化合物 A B C D, E F 和 G 的结构式
Fig. 1 structures of compounds
A B C D, E F and G

结合碳谱中 167. 3 和 166. 2 处的羰基碳说明化合物也为环二肽。与已知图谱比较，确定化合物 E 为环（酪—亮）二肽。

化合物 F，氢谱中 7. 82（H，brs）和 7. 62（H，brs）表明分子中存在 2 个活泼氢，结合碳谱中 166. 3 和 165. 1 的羰基碳峰，说明可能有 2 个酰胺。氢谱中 7. 26（5H，m）与碳谱中的 6 个烯碳说明化合物中含有单取代苯环。氢谱中还有 1 个 CH 和 2

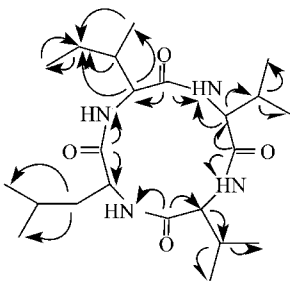


图 2 化合物 A 的 HMBC 相关图
Fig. 2 The correlation pattern of the HMBC of compound A

个 CH₂。确定化合物 F 为环（甘—苯丙）二肽。

化合物 G，氢谱中 8. 11（H，d）和 8. 09（H，d）应为 2 个 NH，3. 86（H，m）和 3. 76（H，m）应是连接在与 N 相连的碳上，由此可知化合物 G 也是环二肽，与已知图谱比较确定化合物 G 为环（亮—丙）二肽。

2 实验部分

2. 1 试剂和仪器

所用试剂均为市售 AR 试剂，2516 号菌株由香港城市大学 Vrijmoed 教授提供。所用仪器有 VG ZABHS 质谱仪，Elementar Vario EL 元素分析仪，Varian 500 Mz 核磁共振仪，北京 X4 型显微熔点仪。

2. 2 提取和分离

2615 号菌以 GYT 为培养基（葡萄糖的质量分数为 1. 0%，酵母膏 0. 1%，蛋白胨 0. 2%，粗海盐 0. 1%），室温下静止培养 28 d，共培养接种 180 L。培养液浓缩至 3 L 后，用乙酸乙酯 3 L×6 提取，提取浓缩液拌硅胶过柱，用乙酸乙酯/石油醚，甲醇/

表 1 化合物 A 的 NMR 数据（DMSO—d₆，TMS）
Tab. 1 NMR data of compound A

	异亮氨酸		亮氨酸		缬氨酸	
	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H	¹³ C	¹ H
CH ₃	18. 5	0. 85(t, 7. 5 Hz)	23. 5	0. 88(d, 7. 0 Hz)	14. 9	0. 96(d, 7. 0 Hz)
	22. 7	0. 85(d, 6. 5 Hz)	11. 7	0. 85(d, 7. 0 Hz)	18. 6	0. 86(d, 6. 5 Hz)
					17. 2	0. 93(d, 7. 0 Hz)
					21. 7	0. 96(d, 7. 0 Hz)
CH ₂	24. 3	1. 43(m)	43. 8	1. 45(m)		
		1. 20(m)		1. 62(m)		
CH	37. 8	1. 85(m)	31. 4	1. 21(m)	31. 0	2. 12(m)
					30. 8	2. 18(m)
CO	58. 4	3. 74(brs)	59. 0	3. 60(brs)	52. 3	3. 76(brs)
					59. 1	3. 66(brs)
	167. 4		166. 7		168. 3	
					167. 3	
NH		8. 08(brs)		7. 85(brs)		7. 85(brs)
						7. 96(brs)

乙酸乙酯梯度洗脱。多次硅胶柱层析和重结晶后, 从培养液中得到化合物 **A**, **B**, **C**, **D**, **E**, **F**, **G**。

2.3 化合物的物理常数和波谱数据

化合物 **A**、**B**、**C**, 均在 230 °C 升华。FABMS 分别为: 425[$M+1$], 227, 213; 439[$M+1$], 227, 213; 411[$M+1$], 213, 199, **A** 的 NMR 见表 1。

化合物 **D**, θ_{mp} : 138 ~ 140 °C。FABMS: 244[M]⁺, 215, 201, 173, 153, 125, 91, 77。¹H NMR (氘代吡啶, TMS): 7.24 (5H, m), 4.62 (1H, brs), 4.13 (1H, t), 3.60 (1H, m), 3.32 (2H, m), 2.14 (2H, m), 1.78 (2H, m)。¹³C NMR (氘代吡啶, TMS): 170.3 (C), 165.1 (C), 136.0 (C), 129.4 (CH), 129.1 (CH), 127.6 (CH), 59.2 (CH), 56.2 (CH), 45.5 (CH₂), 36.9 (CH₂), 28.4 (CH₂), 22.5 (CH₂)。

化合物 **E**, θ_{mp} : > 260 °C。¹H NMR (DMSO-*d*₆, TMS): 9.11 (1H, s), 8.0 (1H, d), 7.8 (1H, d), 6.94 (2H, d), 6.65 (2H, d), 4.78 (1H, m), 4.05 (1H, m), 3.62 (1H, dd), 0.57 (3H, d), 0.51 (3H, d)。¹³C NMR (DMSO-*d*₆, TMS): 167.3 (C), 166.2 (C), 156.3 (C), 131.1 (CH), 125.8 (C), 114.8 (CH), 55.6 (CH), 52.2 (CH), 43.6 (CH₂), 37.7 (CH₂), 22.9 (CH), 22.7

(CH₃), 21.3 (CH₃)。

化合物 **F**, 170 °C 升华。¹H NMR (DMSO-*d*₆, TMS): 7.8 (1H, d), 7.6 (1H, d), 7.3 (5H, m), 4.1 (1H, m), 3.4 (1H, d), 3.2 (1H, d), 2.85 (1H, d)。

化合物 **G**, θ_{mp} : > 260 °C。¹H NMR (DMSO-*d*₆, TMS): 8.11 (1H, d), 8.09 (1H, d), 3.86 (1H, m), 1.82 (1H, m), 1.61 (1H, m), 1.46 (1H, m), 1.27 (3H, d), 0.87 (3H, d), 0.86 (3H, d)。

参考文献:

- [1] FAULKNER D J. Marine natural products[J]. Nat Prod Rep, 2001, 18(1): 1—49.
- [2] LIN Y C, WU X Y, FEN S, et al. A novel N-cinnamoylcyclopeptide containing an allenic ether from the fungus *Xylaria* sp. (strain #2508) from the South China Sea[J]. Tetrahedron Letters, 2001, 42(3): 449—451.
- [3] LIN Y C, SHAO Z Y, JIANG G C, et al. Penicillazine, a unique quinolone derivative with 4H-5,6-dihydro-1,2-oxazine ring system from the marine fungus *Penicillium* sp. (strain #386) from the South China Sea[J]. Tetrahedron, 2000, 56(49): 9607—9609.

The Cyclopeptides from Marine Fungus 2516 from the South China Sea

YIN Wen qing¹, LIN Yong cheng¹, ZHOU Shi ning², VRLIMOED L. L. P.³

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering Sun Yat-sen (Zhongshan) University, Guangzhou 510275, China;

2. School of Life Sciences, Sun Yat-sen (Zhongshan) University, Guangzhou 510275, China;

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

Abstract: Three new compounds **A**, **B** and **C**, together with four known compounds **D**, **E**, **F** and **G** were isolated from the culture of marine fungus 2516 from the South China Sea. By detailed spectroscopic analysis, their structures were determined as cyclo (Ile-Leu-Val-Val), cyclo (Ile-Leu-Leu-Val) and cyclo (Ile-Val-Val-Val), respectively. Compounds **D**, **E**, **F** and **G** were all cyclic dipeptides.

Key words: marine fungus; cyclopeptides; metabolite