

一株南海珊瑚细菌 L-4 抗肿瘤活性次生代谢产物研究*

郭琼¹, 王剑², 姚俊华³, 雷玲芳¹, 陈小洁¹,
邓芸¹, 黄兆胜¹, 张翠仙¹

(1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006;

2. 广州中医药大学基础医学院, 广东 广州 510006;

3. 中山大学分析测试中心, 广东 广州 510275)

摘要: 在研究珊瑚微生物混合共培养时发现: 在混合培养中南海珊瑚内生细菌 L-4 对真菌的次生代谢产物明显产生影响, 甚至产生此二微生物单独培养时所不产生的物质。对 L-4 发酵液进行次生代谢产物研究, 从中分离纯化得到 8 个单体化合物, 通过现代波谱分析 (MS、NMR 等) 和物理常数对照等手段确定其结构依次为: 环 (色-丙) 二肽 (1)、环 (甘-酪) 二肽 (2)、环 (丙-酪) 二肽 (3)、环 (缬-酪) 二肽 (4)、环 (甘-苯丙) 二肽 (5)、环 (甘-脯) 二肽 (6)、环 (丙-缬) 二肽 (7)、环 (甘-丙) 二肽 (8) 均为环二肽类物质, 且均首次从南海珊瑚内生细菌中分离得到, 对进一步研究其可能的代谢机制具有重要意义。

关键词: 珊瑚细菌; 混合培养; 次级代谢产物; 环二肽; 结构鉴定

中图分类号: O629.5; P734.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2013) 03-0077-06

Anti-tumour Secondary Metabolites from the Coral-derived Bacteria L-4 of South China Sea

GUO Qing¹, WANG Jian², YAO Junhua³, LEI Lingfang¹, CHEN Xiaojie¹,
DENG Yun¹, HUANG Zhaosheng¹, ZHANG Cuixian¹

(1. School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine,
Guangzhou 510006, China;

2. Department of Basic Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine,
Guangzhou 510006, China;

3. Instrumental Analysis & Research Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The influence of secondary metabolites on the mix-cultivate marine bacteria and fungus were studied. The result indicated that bacteria obviously affected the secondary metabolites of fungus in the mix-cultivate, and even produce substances that were not found in the fungus or bacteria separately culture by TLC. Eight compounds were obtained from the fermentation broth of coral-derived bacteria L-4 in South China Sea. Their structures were determined to be cyclo (Trp-Ala) (1), cyclo (Gly-Tyr) (2), cyclo (Ala-Tyr) (3), and cyclo (Val-Tyr) (4), cyclo (Gly-Phe) (5), cyclo (Gly-Pro) (6), cyclo (Ala-Val) (7), and cyclo (Gly-Ala) (8) by spectroscopic analysis. The compounds 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 were all cyclo-dipeptides and first obtained from the marine coral-derived bacterium of South China Sea, which attributed to further research metabolism of mix-cultivation.

* 收稿日期: 2012-09-03

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)

作者简介: 郭琼 (1988 年生), 女, 硕士研究生; **通讯作者:** 张翠仙; E-mail: zhangcuixian@yahoo.com.cn

Key words: coral-derived bacteria; mix-cultivate; secondary metabolites; cyclo-dipeptides; structure identification

海洋微生物由于长期生长于高盐、高压、低温和寡营养的特殊生境中, 导致其产生结构独特、新颖并具有高活性、高药效的先导化合物。海洋微生物不仅具有环境友好、可持续发展的特点, 同时也是新颖结构天然产物和活性天然产物的重要来源^[1-8]。本课题组在研究海洋微生物混合共培养过程中细菌对真菌次生代谢产物的影响时, 发现海洋珊瑚内生细菌 L-4 使真菌菌落生长增快; 相反内生细菌 B-2 使真菌生长延迟, 甚至死亡。同时通过 TLC 分析发现混合培养时产生此二者微生物单独培养时所不产生的物质。同时抗肿瘤活性研究表明, L-4 和 B-2 均具有抗肿瘤活性。基于此, 为了阐明混合培养时可能的代谢机制和发现抗肿瘤活性药物先导化合物, 首先对 L-4 的次生代谢产物进行研究, 初步从其发酵液中分离得到 8 个单体化合物, 采用现代波谱技术和物理常数对照确定其结果依次为: 环(色-丙)二肽(1)、环(甘-酪)二肽(2)、环(丙-酪)二肽(3)、环(缬-酪)二肽(4)、环(甘-苯丙)二肽(5)、环(甘-脯)二肽(6)、环(丙-缬)二肽(7)、和环(甘-丙)二肽(8)。所有化合物首次从南海珊瑚内生细菌中分离得到, 且均为环二肽类化合物。

环二肽(cyclic dipeptides)又名 2,5-二氧哌嗪(2,5-dioxopiperazines)或 2,5-二酮哌嗪(2,5-diketopiperazines), 由两个氨基酸通过肽键环合形成, 是自然界中最小的环肽。目前自然界中存在的环二肽一般由 α -L-氨基酸形成相对稳定的六元环。此类物质研究表明具有抑菌、抗肿瘤、心脑血管系统、神经保护及脱瘾解毒方面具有重要的生理活性^[9], 但能否在抗生素、抗肿瘤剂、抗凝血剂、神经保护剂、益智剂以及脱瘾剂等药物的研发中具有一定的应用价值, 仍有待深入研究。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

AVANCE AV 400 核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司), 内标为 TMS, 溶剂为氘代吡啶(Pyr-d₅); DSQ 质谱仪(美国 Thermo); 制备型 HPLC 色谱柱(大连依利特): Kromasil 100-5-18-C18 柱(10 mm × 250 mm, 5 μ m), 葡萄糖、蛋白胨、酵母粉、

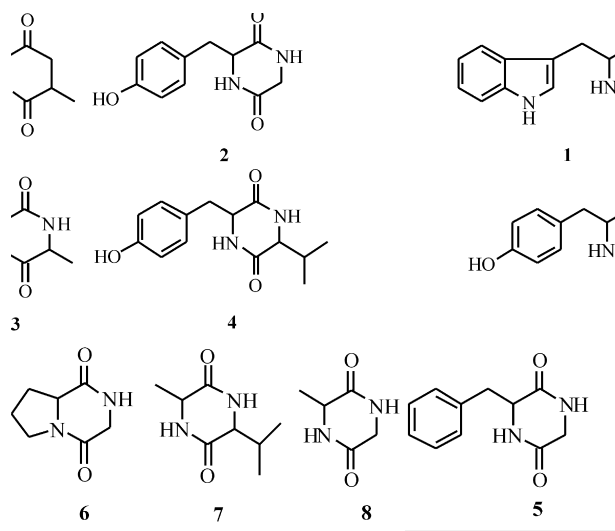


图 1 珊瑚内生细菌 L-4 中的环二肽结构 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8

Fig. 1 Structures of compounds 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 from coral-derived bacteria L-4

蔗糖为生化试剂, 购于广东环凯微生物科技有限公司。石油醚、乙酸乙酯、甲醇、氯仿等为市售 AR 试剂。制备液相中甲醇为色谱级(Merk 公司)。

实验用微生物 L-4 和 B-2 由海南大学提供(种属鉴定中, 样品编号 L-4, B-2 保存于广州中医药大学中药学院海洋微生物实验室)。

1.2 提取分离

内生细菌 L-4 在马铃薯培养基(马铃薯 200 g, 葡萄糖 10 g, 蔗糖 20 g, 蛋白胨 2 g, 人工海水 100 mL, 容至 1 L, 自然 pH)中 28 $^{\circ}$ C 下摇瓶培养 2 d, 加入 5 mL 甲醇停止发酵, 共发酵 200 L。发酵液高速离心得菌丝体和上清液。上清液浓缩后依次用乙酸乙酯(EtOAc)、正丁醇(*n*-BuOH)萃取。乙酸乙酯萃取液减压浓缩, 得黄褐色浸膏(53 g)。将乙酸乙酯浸膏(53 g)经硅胶(200~300 目; 60 g)拌样, 装柱硅胶(200~300 目; 500 g)进行正相硅胶柱层析, 采用极性逐渐增大的石油醚-乙酸乙酯体系(V (PE): V (EtOAc)=10:0、9:1、8:2、7:3、6:4、1:1、4:6、3:7、2:8、1:9、0:10)进行洗脱, TLC 跟踪并合并流分, 共得 16 个流份。具体分离见分离流程图(图 2)。

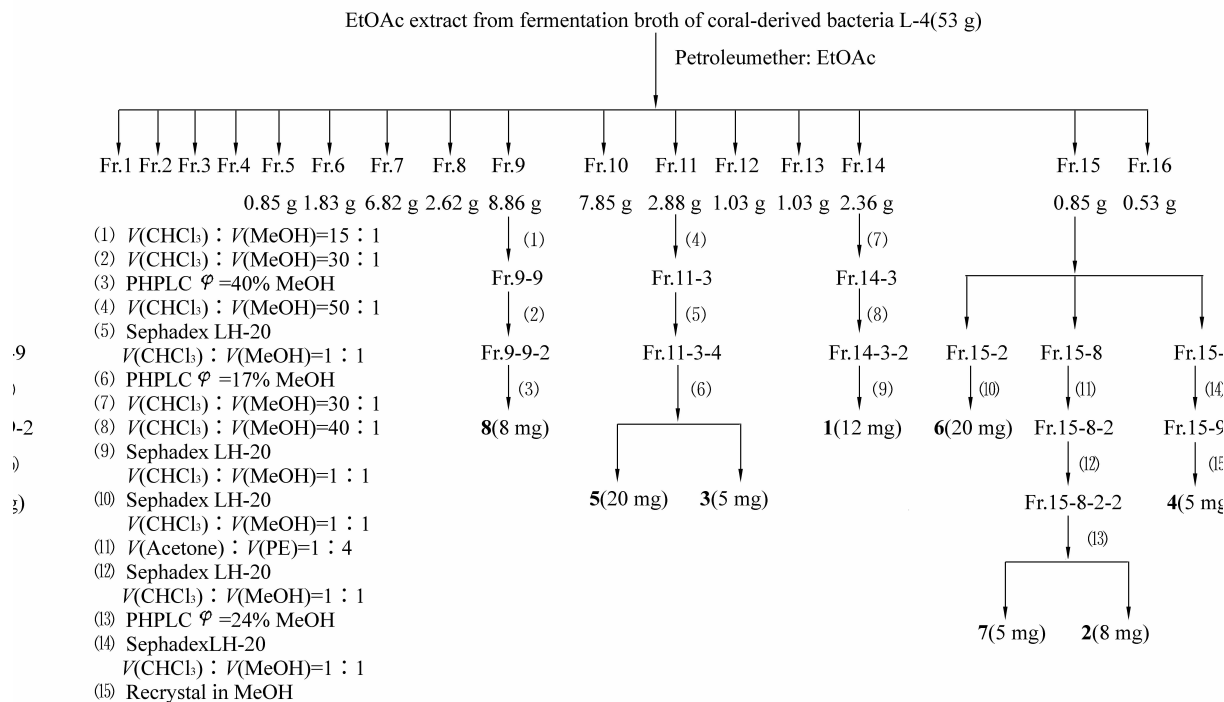


图2 化合物 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 分离流程图

Fig.2 Separation process of EtOAc fraction from coral-derived bacteria L-4

1.3 化合物的物理常数和波谱数据

化合物 1: 淡黄色粉末, $\varphi = 10\%$ 香草醛显色剂显紫红色。分子式 $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$ 。ESI-MS m/z : 256 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H NMR (400 MHz, Pyr- d_5) δ_{H} : 11.79 (1H, s), 9.03 (1H, br s), 8.91 (1H, br s), 8.45 (1H, d, 8.0), 7.53 (1H, d, 8.0), 7.45 (1H, s), 7.23 (1H, q, 8.0), 7.20 (1H, q, 7.2), 4.66 (1H, m), 4.18 (1H, m), 3.69 (2H, m), 1.17 (3H, d, 6.8); ^{13}C NMR (100 MHz, Pyr- d_5) δ_{C} : 169.8 (CH), 168.9 (C), 138.1 (CH), 129.3 (CH), 126.0 (CH), 122.4 (CH), 120.3 (CH), 120.0 (CH), 112.5 (CH), 110.6 (CH), 57.4 (CH), 51.8 (CH₂), 31.7 (CH₂), 21.1 (CH₃)。

化合物 2: 白色粉末。碘熏显色。分子式 $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$ 。ESI-MS m/z : 219 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H NMR (400 MHz, Pyr- d_5) δ_{H} : 11.36 (1H, br s), 9.26 (1H, s), 8.97 (1H, s), 7.38 (2H, d, 8.4), 7.08 (2H, d, 8.4), 4.57 (1H, m), 3.93 (1H, dd, 16.8, 3.2), 3.53 (1H, d, 16.8), 3.44 (1H, dd, 16.2, 5.6), 3.24 (1H, dd, 13.5, 4.2); ^{13}C NMR (100 MHz, Pyr- d_5) δ_{C} : 168.5 (C), 166.7 (C), 157.9 (C), 131.9 (2 \times CH), 126.6 (CH), 116.0 (2 \times CH), 57.3 (CH), 44.8 (CH₂), 39.8 (CH₂)。

化合物 3: 白色粉末, 易溶于甲醇。碘熏显色。分子式 $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ 。ESI-MS m/z : 233 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H NMR (400 MHz, Pyr- d_5) δ_{H} : 11.32 (1H, br s), 9.10 (1H, s), 9.07 (1H, s), 7.40 (2H, d, 8.4), 7.10 (2H, d, 8.4), 4.60 (1H, m), 4.20 (1H, m), 3.51 (1H, dd, 16.0, 5.2), 3.30 (1H, dd, 13.4, 4.2), 1.30 (3H, d, 7.2); ^{13}C NMR (100 MHz, Pyr- d_5) δ_{C} : 169.8 (C), 168.8 (C), 154.5 (C), 132.8 (2 \times CH), 129.3 (CH), 115.6 (2 \times CH), 60.3 (CH), 54.7 (CH₂), 37.4 (CH₂), 17.0 (CH₃)。

化合物 4: 白色粉末, 易溶于甲醇。碘熏显色。分子式 $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$ 。ESI-MS m/z : 261 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H NMR (400 MHz, Pyr- d_5) δ_{H} : 11.26 (1H, br s), 9.05 (1H, s), 9.01 (1H, s), 7.38 (2H, d, 8.0), 7.10 (2H, d, 8.2), 4.60 (1H, m), 4.07 (1H, m), 3.49 (1H, dd, 16.2, 5.4), 3.37 (1H, dd, 13.4, 4.2), 2.42 (1H, m), 1.12 (3H, d, 7.2), 0.97 (3H, d, 6.8); ^{13}C NMR (100 MHz, Pyr- d_5) δ_{C} : 169.1 (C), 168.6 (C), 158.9 (C), 132.7 (2 \times CH), 128.5 (CH), 117.2 (2 \times CH), 62.0 (CH), 58.3 (CH), 41.3 (CH), 33.6 (CH₂), 20.2 (CH₃), 18.2 (CH₃)。

化合物 5: 白色粉末 (甲醇)。碘熏显色。分

子式 $C_{11}H_{12}N_2O_2$ 。ESI-MS m/z : 203 $[M-H]^-$ 。 1H NMR (400 MHz, Pyr- d_5) δ_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), 3.50 (1H, d, 17.2), 3.45 (1H, dd, 13.2, 5.6), 3.29 (1H, dd, 13.2, 4.4); ^{13}C NMR (100 MHz, Pyr- d_5) δ_C : 168.4 (C), 166.7 (C), 136.9 (C), 130.7 (2 \times CH), 128.7 (CH), 127.2 (2 \times CH), 57.3 (CH), 45.0 (CH₂), 40.8 (CH₂)。

化合物 **6**: 无色透明方型结晶 (甲醇), θ_{mp} 205 ~ 208 $^{\circ}C$ 。茚三酮试剂不显色, 高锰酸钾试剂显亮黄色斑点。分子式 $C_7H_{10}N_2O_2$ 。ESI-MS m/z : 153 $[M-H]^-$ 。 1H NMR (400 MHz, Pyr- d_5) δ_H : 9.12 (1H, s), 4.17 (2H, br t, 16.2), 4.09 (1H, td, 16.0, 4.4), 3.60 (1H, dt, 8.2, 3.2, 11.2), 3.45 (1H, td, 10.0, 3.2), 2.26 (1H, m), 2.09 (1H, m), 1.68 (1H, m), 1.62 (1H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, Pyr- d_5) δ_C : 171.3 (C), 165.6 (C), 60.2 (CH), 48.2 (CH₂), 46.6 (CH₂), 30.11 (CH₂), 23.8 (CH₂)。

化合物 **7**: 白色粉末, 易溶于甲醇。TLC 呈: 254 nm 下无暗斑, 香草醛浓硫酸不显色, 茚三酮显色阴性。分子式 $C_8H_{14}N_2O_2$ 。ESI-MS m/z : 169 $[M-H]^-$ 。 1H NMR (400 MHz, Pyr- d_5) δ_H : 9.18 (1H, s), 8.90 (1H, s), 4.34 (1H, q, 6.4), 4.15 (1H, m), 2.65 (1H, m), 1.68 (3H, d, 7.2), 1.16 (3H, d, 6.8), 1.11 (3H, d, 6.8); ^{13}C NMR (100MHz, Pyr- d_5) δ_C : 169.7 (C), 167.8 (C), 60.9 (CH), 51.1 (CH), 32.1 (CH), 21.0 (CH₃), 19.1 (CH₃), 17.0 (CH₃)。

化合物 **8**: 白色粉末, 茚三酮显色阴性。分子式 $C_5H_8N_2O_2$ 。ESI-MS m/z : 127 $[M-H]^-$ 。 1H NMR (400 MHz, Pyr- d_5) δ_H : 9.27 (1H, s), 9.06 (1H, s), 4.25 (1H, q, 6.8), 4.24 (2H, br s), 1.62 (3H, d, 7.8)。 ^{13}C NMR (100 MHz, Pyr- d_5) δ_C : 170.8 (C), 168.1 (C), 51.9 (CH), 46.7 (CH₂), 20.3 (CH₃)。

2 结果与讨论

化合物 **1** 淡黄色粉末, $\varphi = 10\%$ 香草醛显色剂显紫红色。 1H NMR 中 δ_H 9.03 (1H, br s) 和 8.91 (1H, br s) 为氨基上的活泼氢信号, 同时 ^{13}C NMR 谱中 δ_C 169.8 (s), 168.9 (s) 为两个酰胺羰基碳信号, δ_H 4.66 (1H, m) 和 4.18 (1H, m) 为氮杂环中叔碳上的质子信号, 推测 **1** 可能为环二肽类化合

物。其中 δ_H 11.79 (1H, br s)、8.45 (1H, d, 8.0)、7.53 (1H, d, 8.0)、7.45 (1H, s)、7.23 (1H, q, 8.0)、7.20 (1H, q, 7.2)、 δ_H 4.66 (1H, m) 及 3.69 (2H, m) 推断结构中有色氨酸片段, 结合 δ_H 4.18 (1H, m) 及 1.17 (3H, d, 6.8) 推断可能有丙氨酸片段。将化合物 **1** 的 NMR 数据与文献 [10 - 11] 环 (色 - 丙) 二肽对照, 基本一致, 确定 **1** 为环 (色 - 丙) 二肽 (cyclo (Trp-Ala))。

化合物 **2** 白色粉末, 碘熏显色。 1H NMR 中: δ_H 9.26 (1H, s) 和 8.97 (1H, s) 为 2 个氨基上的氢信号; 同时 ^{13}C NMR 中 δ_C 168.5 (s), 166.7 (s) 为两个酰胺羰基碳信号, 说明该化合物可能是一个环二肽类物质。 δ_H 7.38 (2H, d, 8.4) 和 7.08 (2H, d, 8.4) 为典型对位取代芳环上的质子信号, 以及 δ_C 157.9 (s)、131.9 (d)、126.6 (s)、116.0 (d) 信号与酪氨酸的碳信号接近, 同时 δ_H 3.44 (1H, dd, 16.2, 5.6) 和 3.24 (1H, dd, 13.5, 4.2) 为 1 个亚甲基上的 2 个质子信号, 且这 2 个质子信号化学环境不同, 结合 δ_H 4.57 (1H, m) 及 δ_C 57.3 (d)、44.8 (d), 可推断该化合物含酪氨酸残基。 δ_H 3.93 (1H, dd, 16.8, 3.2)、3.53 (1H, d, 16.8) 和 δ_C 166.7 (s)、39.8 (t) 提示该化合物含甘氨酸残基, 由于有芳环支链的环二肽可能存在折叠构象^[12], 折叠构象使甘氨酸片段的亚甲基质子受苯环的屏蔽影响, 化学位移向高场偏移。将化合物 **2** 的 NMR 数据与文献 [13] 环 (甘 - 酪) 二肽对照, 基本一致, 确定 **2** 为环 (甘 - 酪) 二肽 (cyclo (Gly-Tyr))。

化合物 **3**, 白色粉末, 碘熏显色。 1H NMR 谱中: δ_H 9.10 (1H, s) 和 9.07 (1H, s) 为 2 个氨基上的氢信号; 同时 ^{13}C NMR 谱中 δ_C 169.8 (s), 168.8 (s) 为两个酰胺羰基碳信号, 说明为环二肽类物质。 δ_H 7.40 (2H, d, 8.4) 和 7.10 (2H, d, 8.4) 为典型对位取代芳环上的质子信号, 以及 δ_C 154.5 (s)、132.8 (s)、129.3 (s)、115.6 (s) 信号与酪氨酸的碳信号接近, 同时 δ_H 3.51 (1H, dd, 16.0, 5.2) 和 3.30 (1H, dd, 13.4, 4.2) 为 1 个亚甲基上的 2 个质子信号, 且这 2 个质子信号化学环境不同, 结合 δ_H 4.60 (1H, m) 及 δ_C 60.3 (d)、37.4 (d), 可推断该化合物含苯丙氨酸残基。 δ_H 4.20 (1H, m) 和 1.30 (3 H, d, 7.2) 及 δ_C 54.7 (d)、20.3 (q, C - 3) 暗示结构中可能存在丙氨酸残基。将其 NMR 数据与文献 [14 - 15] 环 (丙 - 酪) 二肽对照, 基本一致, 确定 **3** 为环 (丙

- 酪) 二肽 (cyclo (Ala-Tyr))。

化合物 **4**，白色粉末，易溶于甲醇。¹H NMR 中： δ_{H} 9.05 (1H, s) 和 9.01 (1H, s) 为 2 个氨基上的氢信号；同时 ¹³C NMR 中 δ_{C} 169.1 (s), 168.9 (s) 为两个酰胺羰基碳信号，说明其为环二肽类物质。 δ_{H} 7.38 (2H, d, 8.04) 和 7.10 (2H, d, 8.2) 为典型对位取代芳环上的质子信号，以及 δ_{C} 158.9 (s)、132.7 (d)、128.5 (s)、117.2 (d) 信号与酪氨酸残基信号相似，同时 δ_{H} 3.49 (1H, dd, 16.2, 5.4) 和 3.37 (1H, dd, 13.4, 4.2) 为 1 个亚甲基上的 2 个质子信号，且此二质子信号化学环境不同，结合 δ_{H} 4.60 (1H, m) 及 δ_{C} 58.3 (d)、41.3 (d)，可推断该化合物含苯丙氨酸残基。 δ_{H} 2.42 (1H, m)、1.12 (3H, d, 7.2)、0.97 (3H, d, 6.8) 显示结构中含异丙基片段，结合 δ_{H} 4.07 (1H, m) 说明结构中含缬氨酸残基。将其 NMR 数据与文献 [16-17] 环 (缬-酪) 二肽对照，基本一致，确定 **4** 为环 (缬-酪) 二肽 (cyclo (Val-Tyr))。

化合物 **5**，白色粉末，碘熏显色。¹H NMR 中： δ_{H} 9.29 (1H, s) 和 9.01 (1H, s) 为 2 个氨基上氢信号，¹³C NMR 中 δ_{C} 168.4 (s), 166.7 (s) 为两个酰胺羰基碳信号，说明该化合物亦为环二肽类化合物。 δ_{H} 7.24 ~ 7.45 (2H, m), 7.26 ~ 7.19 (3H, m) 为典型单取代芳环上的质子信号，同时 δ_{C} 168.4 (s), 136.9 (s), 130.7 (d, 2C), 128.7 (d, 2C), 127.2 (d) 碳信号与苯丙氨酸的碳信号接近， δ_{H} 3.45 (1H, dd, 13.2, 5.6) 及 3.29 (1H, dd, 13.2, 4.4) 为 1 个亚甲基上的 2 个质子信号，且这 2 个质子信号化学环境不同，结合 δ_{H} 4.59 (1H, m) 及 δ_{C} 57.3 (d), 40.8 (t) 可推断化合物含苯丙氨酸残基； δ_{H} 3.96 (1H, dd, 17.2, 3.2)、3.50 (1H, d, 17.2) 和 δ_{C} 166.7 (s), 45.0 (d)，提示该化合物含甘氨酸残基。将化合物 **5** 的 NMR 数据与文献 [18-19] 环 (甘-苯丙) 对照，基本一致，确定 **5** 为环 (甘-苯丙) 二肽 (cyclo (Gly-Phe))。

化合物 **6**，无色透明方型结晶， θ_{mp} 205 ~ 208 °C。茚三酮试剂不显色，高锰酸钾试剂显亮黄色斑点。ESI-MS m/z 153 [M-H]⁻ 提示相对分子质量为 154。¹H NMR 谱中： δ_{H} 9.12 (1H, brs) 为甘氨酸活泼氨基氢信号 (N-H)， δ_{H} 3.60 (1H, dt, 8.2, 3.2, 11.2)、3.45 (1H, td, 10.0, 3.2)、2.26 (m, 1H)、2.09 (1H, m)、1.68 (1H, m)、1.62 (1H, m) 和 δ_{C} 171.3 (s)、60.2 (d)、46.6 (t)、

30.1 (t)、23.9 (t) 为脯氨酸残基信号， δ_{H} 4.09 (1H, td, 16.0, 4.4) 和 4.17 (2H, br t, 16.2) 及 δ_{C} 165.6 (s) 和 48.2 (t) 暗示结构中有甘氨酸片断。将化合物 **6** 的 NMR 数据与文献环 (甘-脯) 二肽对照 [19-21]，基本一致，确定 **6** 为环 (甘-脯) 二肽 (cyclo (Gly-Pro))。

化合物 **7**，白色粉末，香草醛浓硫酸不显色，茚三酮显色阴性。¹H NMR 中 δ_{H} 9.18 (1H, s) 和 8.90 (1H, s) 为两个氨基活泼氢信号， δ_{H} 2.65 (1H, m)、1.16 (3H, d, 6.80)、1.11 (3H, d, 6.80) 显示结构中含异丙基片段，结合 δ_{H} 4.15 (1H, dd, 6.80, 13.50) 说明结构中含缬氨酸残基。 δ_{H} 4.34 (1H, q, 6.4) 和 1.68 (3H, d, 7.2) 显示结构中含丙氨酸残基。将化合物 **7** 的 NMR 数据与文献 [19, 22-23] 环 (丙-缬) 二肽对照，基本一致，确定 **7** 为环 (丙-缬) 二肽 (cyclo (Ala-Val))。

化合物 **8**，白色粉末，茚三酮显色阴性，薄层原位酸水解后茚三酮显色阳性，提示为环肽类成分。ESI-MS m/z 127 [M-H]⁻ 提示相对分子质量为 128。¹H NMR δ_{H} 9.27 (1H, s), 9.06 (1H, s) 说明存在活泼的氨基质子信息； δ_{H} 4.00 (1H, q, 6.8) 和 1.62 (3 H, d, 6.6) 及 δ_{C} 51.93 (d)、20.26 (q) 暗示结构中存在丙氨酸残基。 δ_{H} 3.91 (2H, br s) 和 ¹³C NMR 中 δ_{C} 46.7 (t) 暗示存在甘氨酸残基。将其 NMR 数据与文献 [24-25] 环 (甘-丙) 二肽对照，基本一致，确定 **8** 为环 (甘-丙) 二肽 (cyclo (Gly-Ala))。

致谢：感谢广州中医药大学中药学院 2009 级本科生蔡剑雄、梁敏、李玉婷、张海霞、曾婷在微生物实验中的帮助；感谢中山大学分析测试中心关山越老师的测试支持。

参考文献：

- [1] MAYER A M S, RODRÍGUEZ A D, BERLINCK R G S, et al. Marine pharmacology in 2007 - 8: Marine compounds with antibacterial, anticoagulant, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the immune and nervous system, and other miscellaneous mechanisms of action[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2011, 153(2): 191 - 222.
- [2] MAYER A M S, RODRÍGUEZ A D, BERLINCK R G S, et al. Marine pharmacology in 2005 - 6: Marine compounds with anthelmintic, antibacterial, anticoagulant, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiprotozo-

- al, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the cardiovascular, immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2009, 1790(5): 283 - 307.
- [3] MAYER A M S, GUSTAFSON K R. Marine pharmacology in 2005 - 6: Anti-tumour and cytotoxic compounds [J]. *European J Cancer*, 2008, 44:2357 - 2387.
- [4] MAYER A M S, GUSTAFSON K R. Marine Pharmacology in 2003 - 4: Antitumor and Cytotoxic Compounds[J]. *European J Cancer*, 2006, 42(14): 2241 - 2270.
- [5] BLUT J W, COPP B R, KEYZERS R A, et al. Marine natural products [J]. *Nat Prod Rep*, 2013, 30: 237 - 323.
- [6] BLUT J W, COPP B R, KEYZERS R A, et al. Marine natural products [J]. *Nat Prod Rep*, 2012, 29: 144 - 222.
- [7] BLUT J W, COPP B R, MUNRO M H G, et al. Marine natural products [J]. *Nat Prod Rep*, 2011, 28: 196 - 289.
- [8] BLUT J W, COPP B R, MUNRO M H G, et al. marine natural products [J]. *Nat Prod Rep*, 2010, 27: 165 - 237.
- [9] 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.
- [10] 孟旭鹏, 田黎, 林文瀚, 等. 海洋细菌 *Roseobacter* sp. 发酵液中化学成分的研究 [J]. *中国海洋药物杂志*, 2009, 28(2): 6 - 10.
- [11] SIEMION Z IGNACY, KONOPINSKA D. Folded conformation in the ground and excited states of cyclic dipeptides containing at rypthophyl residue [J]. *Roczniki Chemii*, 1975, 49 (4): 781.
- [12] KENNETH D K, DAVID H M. Conformations of cyclic peptides. the folding of cyclic dipeptides containing an aromatic sidechain [J]. *J. Am Chem Soc*, 1967, 89 (24): 6193 - 6200.
- [13] MITOVA M, TOMMONARO G, HENTSCHEL U, et al. Exocellular cyclic dipeptides from a ruergeria strain associated with cell cultures of *Suberites domuncula*[J]. *Mar Biotechnol*, 2004, 6(1): 95 - 103.
- [14] XING J, YANG Z J, LÜ B B, et al. Rapid screening for cyclo-dopa and diket opiperazine alkaloids in crude extracts of *Portulaca oleracea* L. using liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22(9): 1415 - 1422.
- [15] 李厚金, 林永成, 刘晓红, 等. 红树林内源真菌 2524 号的肽类成分 [J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 2002, 41(1): 110 - 112.
- [16] 胡永美, 汪豪, 叶文才, 等. 繁缕中的水溶性化学成分 [J]. *中国药科大学学报*, 2005, 36(6): 523 - 525.
- [17] 朱峰, 林永成, 周世宁, 等. 南海红树林内源真菌 2534 号代谢产物的研究 [J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 2003, 42(1): 52 - 54.
- [18] 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.
- [19] 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的分离与鉴定 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2010, 27(5): 345 - 349.
- [20] 赵文英, 朱庆书, 顾谦群. 海洋来源真菌烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*) 次级代谢产物研究 (II) [J]. *青岛科技大学学报: 自然科学版*, 2007, 28 (5): 390 - 393.
- [21] GAO H, HONG K, ZHANG X, et al. New sterylestere of fatty acids from the mangrove fungus *Aspergillus awamori* [J]. *Helv Chim Acta*, 2007, 90(6): 1165 - 1178.
- [22] ZHAO W Y, ZHU T J, FAN G T, et al. Three new di-oxopiperazine metabolites from a marine-derived fungus, *Aspergillus fumigatus* Fres [J]. *Nat Prod Res, Part A: Structure and Synthesis*, 2010, 24(10): 953 - 957.
- [23] 尹文清, 林永成, 周世宁, 等. 南海海洋真菌 2516 号中的环肽成分 [J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 2002, 41(4): 56 - 58.
- [24] 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.
- [25] 高昊, 陈国栋, 唐金山, 等. 海洋细菌 *Bacillus* sp. 次级代谢产物的分离与鉴定 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2010, 21(7): 69 - 74.