维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:1001-6880(2007)Suppl-0049-02

滇池优势水华蓝藻微囊藻的环肽成分

李 波[1*],叶贵鹏[1],刘吉开[1],沈银武[2],刘永定[2]

[1] 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室,昆明 650204;

[2] 中国科学院水生生物研究所,武汉 430072

摘 要:从滇池优势水华蓝藻微囊藻的干藻粉中分离出一环肽化合物,经光谱数据分析鉴定为 Anabeanopeptin F (1),其结构为 cyclo (Phe-MeAla-Hty-Ile-Lys)-NH-CO-NH-Arg。

关键词:Anabeanopeptin F;微囊藻;蓝藻;水华;环肽;滇池

中图分类号:Q946.8;Q949.22 **文献标识码**:A

Cyclic Peptide from a Water Bloom of the Cyanobacterium *Microcystis sp.* in Dianchi Lake

LI Bo[1*], YE Gui-peng[1], LIU Ji-kai[1], SHEN Yin-wu[2], LIU Yong-ding[2]

[1] *State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China;*

[2] *Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China*

Abstract: A cyclic peptide was isolated from a water bloom of the cyanobacterium *Microcystis sp.* in Dianchi Lake, Yunnan, China. Its structure was elucidated as Anabaenopeptin F (1), namely cyclo (Phe - MeAla - Hty - Ile - Lys) - NH - CO - NH - Arg, on the basis of NMR and MS spectra data analysis.

Key words: Anabaenopeptin F; *Microcystis*; cyanobacterium; water bloom; cyclic peptide; Dianchi Lake

微囊藻属于色球藻科微囊藻属(*Microcystis*)蓝藻,从上世纪80年代开始,由于陆续从包括微囊藻在内的一些蓝藻中发现了很多具有各种生物活性的次生代谢产物,如具有抗肿瘤活性的大环化合物,具有肝毒素活性的环肽类化合物微囊藻毒素(Microcystins),具有蛋白酶抑制活性的脂肽类化合物等,现在蓝藻已成为人们寻找具有生物活性天然化合物的重要来源之一[1]。蓝藻水华是由于自然水体富营养化而导致水中蓝藻大量繁殖的一种现象,云南滇池是我国蓝藻水华发生最严重的湖泊之一,微囊藻则是其中的优势水华蓝藻[2]。从滇池优势水华蓝藻微囊藻的干藻粉中我们分离鉴定了一个环肽,经鉴定为一已知化合物 Anabeanopeptin F,该化合物系首次从滇池蓝藻中分离得到。

1 实验仪器与材料

VG Autospec-3000 型质谱仪,Bruker AM-400 和 DRX-500 型核磁共振仪(TMS 为内标,CD_3OD 为溶剂)。青岛海洋化工厂柱层析用硅胶(200 ~ 300 目),青岛美高集团有限公司硅胶薄层层析板,Pharmacia 公司 Sephadex LH-20 凝胶,Merck 公司 C_{18} 反相柱层析硅胶。样品于2001年4月~2002年11月由中科院水生生物所滇池工作站用机械法收集后干燥粉碎而得[3]。

2 提取与分离

蓝藻干藻粉 1.5 kg 用95%乙醇加热回流提取四次,减压蒸干乙醇提取物溶剂后加入适量水再依次用石油醚、氯仿和正丁醇各萃取三次,分别得氯仿浸膏 20.2 g,正丁醇浸膏 19.2 g。正丁醇部分经硅胶柱层析,以氯仿-甲醇-水梯度洗脱(9:1:0.08 ~ 7:3:0.3)得6个流份(Fr1 ~ 6),Fr6 上反相硅胶柱层析以甲醇-水(1:1)洗脱得13个流份(Fr1 ~ 13),Fr6 ~ 10 经硅胶柱层析,以氯仿-甲醇-水(8:2:0.2)洗脱得10个流份(Fr1 ~ 10),Fr6 ~ 7 继续上反相硅胶柱层析,以甲醇-水梯度(1:1 ~ 10:0)洗脱得10个流份(Fr1 ~ 10),Fr2 ~ 5 进一步上 Sephadex LH-20 柱层析,以甲醇洗脱,得化合物 **1**(43 mg)。

收稿日期:2006-11-07 接受日期:2006-12-27

基金项目:中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室开放基金项目

* 通讯作者 Tel:86-871-5223321;E-mail:libo@mail.kib.ac.cn

维普资讯 http://www.cqvip.com

3 结构鉴定

化合物1 白色粉末,EI-MS m/z:745,677 (M + H-Arg)$^+$,676 (M-Arg)$^+$,650 (M + 2H-Arg-CO)$^+$,557,556,555,465,368,256,139,111,69。FAB-MS m/z:851 (M + H)$^+$;HRESI-MS m/z:851.4766 (M + H)$^+$,calcd for $C_{42}H_{63}N_{10}O_9$ (851.4779, △ + 1.3 mmu);^{1}H、^{13}C NMR 见表1。

表1 化合物1的氢谱和碳谱数据

Table 1 ^{1}H and ^{13}C NMR data of **1** in CD_3OD

单位 Unit	序号 No.	^{13}C (DEPT)	^{1}H (mult, J_{Hz})
Phe	1	174.16 (C)	
	2	56.9 (CH)	4.57 (dd,2.7,10.1)
	3	38.9 (CH_2)	2.84 (br. t,10.1)
			3.39 (br. d,10.1)
	4	139.1 (C)	
	5,9	130.1 (CH)	7.09 (d,6.0)
	6,8	129.7 (CH)	7.22 (t,6.0)
	7	127.6 (CH)	7.16 (t,6.0)
MeAla	1	172.4 (C)	
	2	56.6 (CH)	4.64 (q,5.3)
	3	14.3 (CH_3)	1.10 (d,5.3)
	N-Me	28.3 (CH_3)	1.81 (s)
Hty	1	173.8 (C)	
	2	50.2 (CH)	4.67 (dd,4.2,6.7)
	3	34.6 (CH_2)	1.75 (m)
			2.08 (m)
	4	32.1 (CH_2)	2.54 (m)
			2.72 (m)
	5	132.8 (C)	
	6,10	130.5 (CH)	7.07 (d,6.8)
	7,9	116.4 (CH)	6.74 (d,6.8)
	8	156.9 (C)	
Ile	1	176.1 (C)	
	2	60.1 (CH)	4.01 (d,7.4)
	3	37.6 (CH)	1.91 (m)
	4	26.6 (CH_2)	1.23 (m)
			1.75 (m)
	5	12.1 (CH_3)	0.98 (t,5.8)
	6	16.3 (CH_3)	0.97 (d,5.1)
Lys	1	174.8 (C)	
	2	56.4 (CH)	4.12 (t,5.6)
	3	31.95 (CH_2)	1.30 (m)
			1.45 (m)
	4	21.8 (CH_2)	1.62 (m)
			1.74 (m)
	5	29.3 (CH_2)	1.61 (m)
	6	40.3 (CH_2)	2.97 (m)
			3.66 (m)
Arg	1	176.2 (C)	
	2	55.6 (CH)	4.11 (t,4.0)
	3	32.6 (CH_2)	1.59 (m)
			1.77 (m)
	4	26.2 (CH_2)	1.63 (m)
			1.74 (m)
	5	42.0 (CH_2)	3.18 (m)
	6	156.1 (C)	
	CO	158.6 (C)	

Assignments are based on HSQC, HMBC, COSY, and TOCSY spectra analysis.

以上光谱数据和文献值[4]比较一致,故将化合物**1**确认为 Anabaenopeptin F,结构式为 cyclo (Phe-MeAla-Hty-Ile-Lys)-NH-CO-NH-Arg,既5个氨基酸组成一个环肽,一个精氨酸的α-氨基和环肽中赖氨酸的α-氨基通过酰脲基相连形成侧链(图1)。从蓝藻中迄今已分离鉴定了18个具有类似结构的 Anabaenopeptin 类型化合物,活性筛选发现这类化合物都具有显著蛋白酶抑制活性[5]。

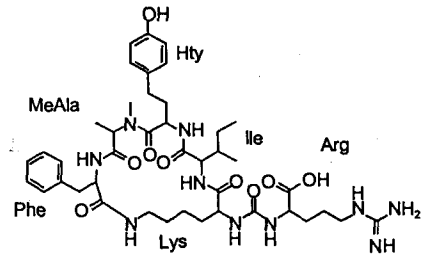

图1 化合物1的结构

Fig. 1 The structure of compound **1**

参考文献

1 Shimizu Y, Li B(李波). Frontiers in Marine Biotechnology. Norwich, UK: Horizon Scientific Press, 2006. 145-174.

2 Song LR(宋立荣), Lei LM(雷腊梅), He ZR(何振荣), *et al*. Growth and toxin analysis in two toxic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* and *Microcystis viridis* isolated from Dianchi Lake. *Acta Hydrobiologica Sinica*(水生生物学报), 1999, 23: 402-408.

3 Shen YW(沈银武), Liu YD(刘永定), Wu GJ(吴国樵), *et al*. Mechanical removal of heavy cyanobacterial bloom in the hyper-eutrophic Lake Dianchi. *Acta Hydrobiologica Sinica* (水生生物学报), 2004, 28: 131-136.

4 Shin HJ, Matsuda H, Murakami M, *et al*. Anabaenopeptin E and F, two new cyclic peptides from the cyanobacterium *Oscillatoria agardhii* (NIES-204). *J Nat Prod*, 1997, 60: 139-141.

5 Reshef V, Carmeli S. Schizopeptin 791, A New anabeanopeptin-like cyclic peptide from the cyanobacterium *Schizothrix sp*. *J Nat Prod*, 2002, 65: 1187-1189.