

海洋链霉菌 B170167 发酵产物中 含氮化合物及其细胞毒活性研究

王宏鹏^{1,2*}, 谢泽平³, 况 焱⁴, 杨胜祥^{4*}, 李 音^{1,2}, 吴元锋^{1,2}, 刘士旺^{1,2}, 毛建卫^{1,2}

¹浙江科技学院生物与化学工程学院; ²浙江省农产品化学与生物加工技术重点实验室, 杭州 310023; ³滨州医学院药学院, 烟台 264003; ⁴浙江省林业生物质化学利用重点实验室, 临安 311300

摘要:利用色谱层析技术从海洋链霉菌 B170167 中分离得到 11 个含氮化合物, 包括 8 个吲哚类和 3 个含氮杂环化合物。经波谱分析分别鉴定为 Turbomycin A (**1**)、3,3-二-(3-吲哚)丙烷-1,2-二醇 (**2**)、N-(2-(1H-Indol-3-yl)-2-oxoethyl)-acetamide (**3**)、N-乙酰基色氨酸 (**4**)、9H-吡啶并[3,4-b]吲哚 (**5**)、吲哚-3-甲醛 (**6**)、3-吲哚丙酸 (**7**)、3-吲哚甲酸 (**8**)、光色素 (**9**)、Ferrioxamine E (**10**)、3-羟基-2-甲基吡啶 (**11**)。其中化合物 **11** 为首次从微生物中分离得到。化合物 **1**、**2**、**5**、**10**、**11** 显示出显著的细胞毒活性, 化合物 **3**、**4**、**6**、**7**、**8** 显示中等程度的细胞毒活性。

关键词:海洋链霉菌; 含氮化学成分; 细胞毒活性; 丰年虾。

中图分类号: Q501; Q503

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.10.010

Nitrogen Containing Chemical Constituents from Marine *Streptomyces* sp. B170167 and Their Cytotoxic Activity

WANG Hong-peng^{1,2*}, XIE Zhe-ping³, KUANG Yi⁴, YANG Sheng-xiang^{4*},

LI Yin^{1,2}, WU Yuan-feng^{1,2}, LIU Shi-wang^{1,2}, MAO Jian-wei^{1,2}

¹Zhejiang University of Science and Technology; ²Zhejiang Provincial Key

Laboratory for Chemistry and Biology Processing Technology of Farm Products, Hangzhou 310023, China; ³Binzhou

Medical University, Yantai 264003, China; ⁴Zhejiang Provincial Key Laboratory of Chemical Utilization of Forestry

Biomass, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, China

Abstract: To study the chemical constituents and their cytotoxic activity from *Streptomyces* sp. B170167, which was isolated from soil of Yantai Beach. 11 Nitrogen-containing compounds were purified by means of chromatographic techniques and their structures were identified on the basis of spectral features. Cytotoxic activity was performed by the brine shrimp (*Artemia salina*) larvae bioassay. 9 Indole derivate compounds, named Turbomycin A (**1**), 3,3-Bis(3-indolyl)propane-1,2-diol (**2**), N-(2-(1H-Indol-3-yl)-2-oxoethyl)-acetamide (**3**), N-Acetyltryptophan (**4**), Harman (**5**), Indole-3-carboxaldehyde (**6**), 3-Indolepropionic acid (**7**), Indole-3-carboxylic acid (**8**), Lumichrome (**9**), Ferrioxamine E (**10**) and 2-Methylpyridin-3-ol (**11**), were isolated from the organic extract of fermentation broths of the *Streptomyces* sp. B170167. Compound **11** was first isolated from the microorganism. Compounds **1**, **2**, **5**, **10** and **11** showed significant cytotoxic activity against the brine shrimp larvae, and compounds **3**, **4**, **6**, **7** and **8** showed moderate activity.

Key words: marine *Streptomyces*; nitrogen-containing compound; cytotoxic activity; *Artemia salina*

收稿日期: 2016-05-12 接受日期: 2016-07-22

基金项目: 第 48 批教育部留学回国人员科研启动基金项目“拟盘多毛泡中具有微管活性的抗肿瘤成分”; 浙江省教育厅一般科研项目(Y201533637); 农产品加工与生物加工技术重点实验室开放项目(2013KF0309); 浙江省自然科学基金资助项目(LQ15C020001); 浙江省重点科技创新团队项目(2013TD17); 浙江农林大学人才启动项目(2014FR066)

* 通讯作者 Tel: 86-571-85070380; E-mail: wanghongpeng@hotmail.com; shengxiangyang2000@163.com

微生物源药物在药物开发中具有很重要的作用, 如广泛应用于临床的紫杉醇、放线菌素 D、丝裂霉素 C、喷司他汀等。随着天然产物中成分研究的发展, 海洋微生物特别是海洋放线菌以其不同于陆生微生物的独特代谢途径和遗传背景, 逐渐成为开发新型药物的理想资源^[1]。外界环境对微生物次生代谢产物的产生有非常明显的影响, 不同的发酵条件可以产生不同结构、不同生物活性的化合

物^[2]。研究表明,含氮的吲哚类化合物具有抗菌、抗肿瘤等多种生物活性^[3],经常作为医药中间体被广泛使用^[4]。

本实验对海洋链霉菌 B170167 发酵产物的化学成分及其生物活性进行了研究,从该菌的发酵产物中分离得到 8 个吲哚类化合物。分别鉴定为三聚吲哚类 Turbomycin A(1)、二聚吲哚类 3,3'-二-(3-吲哚)丙烷-1,2-二醇(2)、N-(2-(1H-Indol-3-yl)-2-oxoethyl)-acetamide(3)、N-乙酰基色氨酸(4)、9H-吡啶

并[3,4-b]吲哚(5)、吲哚-3-甲醛(6)、3-吲哚丙酸(7)、3-吲哚甲酸(8)以及其他 3 个含氮杂环化合物光色素(9)、Ferrioxamine E(10)、3-羟基-2-甲基吡啶(11)(图 1)。其中化合物 11 作为化学合成的原料已有很多相关报道,但尚未有由天然产物尤其是微生物发酵产物中分离获得的报道。研究发现,化合物 1、2、5、10、11 具有显著的细胞毒活性,化合物 3、4、6、7、8 具有中等程度的细胞毒活性。

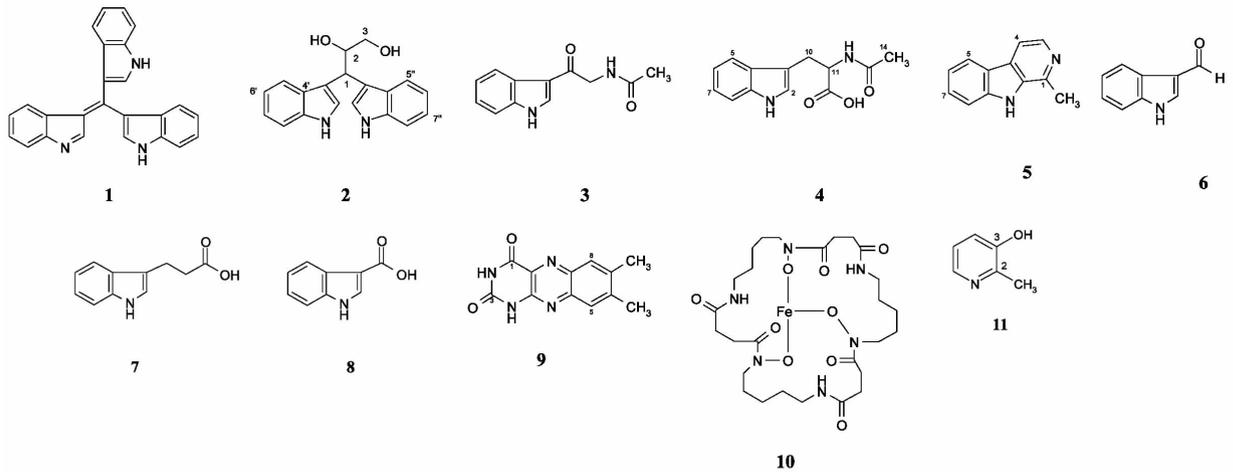


图 1 化合物 1~11 的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of compounds 1-11

1 仪器与材料

核磁用 Varian Inova 500 (499.8 MHz) 型核磁共振仪测定;质谱 EI-MS (70 eV) 用 Finnigan MAT 95; ESI-MS, HPLC-MS 用 Finnigan LCQ 检测器和 Jasco 液相, Phenomenex Synergi Max-RP (150 × 2.00 mm, 4 μm) RP-C12 柱子, 流动相 A: MeOH + 0.05% HCOOH, 流动相 B: H₂O + 0.05% HCOOH, 流速 300 μL/min, UV/VIS-DAD 检测器 (200 ~ 800 nm every 5 nm)。质谱仪上测定;高分辨质谱 (HR-MS) 用 Apex IV 7 Tesla 傅里叶变换离子回旋共振质谱仪 (Bruker Daltonics, Billerica, MA, USA)。制备 HPLC 用岛津 LC-20 液相 RP-C₁₈ 柱 (Welch Ultimate XB-18 250 × 20 mm, 5 μm), 流动相 A: MeOH + 0.05% HCOOH, 流动相 B: H₂O + 0.05% HCOOH, 流速 20 mL/min, UV/VIS-DAD 检测器 (200 ~ 800 nm every 5 nm)。柱色谱用硅胶 (300 ~ 400 目) 和薄层色谱用硅胶 G 均由青岛海洋化工厂生产。反相用材料 RP-C₁₈ 为 Merck 公司产品。大孔吸附树脂为罗

门哈斯 XAD-16 大孔吸附树脂。显色方法为 254 nm 紫外、365 nm 荧光, 以及浸泡大茴香醛显色剂 (85:14:1:1, 甲醇:醋酸:硫酸:大茴香醛) 后加热显色。旋转蒸发器为 EYELA N-1100 和上海亚荣 RE5220。薄层色谱板为浙江台州路桥四甲生化塑料厂生产的 GF254 层析硅胶铝基薄板。薄层制备板为烟台市芝罘黄务硅胶开发试验厂生产的 20 × 20 cm 制备板。实验用试剂均为分析纯溶剂。

本实验所用的海洋链霉菌 B170167 为采自烟台海滩的海洋菌, 经纯化分离获得单一菌落, 并利用前列腺癌 PC-3 肿瘤细胞模型对各纯化得到菌落进行筛选, 最终得到强活性菌株 B170167。经 16S rDNA 分析结合形态鉴定法确定该菌种为链霉菌属 (*Streptomyces* sp.), 并通过卤虫致死模型筛选证实了该菌株代谢产物的细胞毒活性。

2 液体发酵

发酵培养基 (麦芽提取物 10 g/L, 葡萄糖 4 g/L, 酵母提取物 4 g/L, pH 8)。在 1000 mL 的三角瓶

中加入 200 mL 液体培养基,灭菌。无菌条件下取 8 ~ 10 mm² 大小的菌苔 2 ~ 3 块接入液体培养基中,先在 28 °C 的摇床上静置培养 1 d,然后 200 rpm 旋转震荡培养 4 d,共发酵 20 L,经过过滤分别获得菌丝体滤饼和发酵液。

3 提取与分离

将发酵产物过滤后分别得到发酵液和菌丝体滤饼,发酵液用大孔吸附树脂吸附后用 10 升甲醇洗脱富集得到 6 g 粗提物,菌丝体滤饼用乙酸乙酯超声萃取获得 2 g 粗提物,经过 TLC 对照,二者成分基本相同,故将它们合并起来加工。合并后的提取物,加水悬浮后,用环己烷脱脂后再用乙酸乙酯萃取得到 6.5 g 浸膏。乙酸乙酯提取部分用等质量硅胶拌样后进行柱层析分离,用氯仿:甲醇(10:0→0:10)梯度洗脱,通过薄层层析检测合并相同的部分,获得 4 个组分(Fr. 1-Fr. 4)。所得组分经过反复的硅胶柱层析、RP-C18、制备薄层、Sephadex LH-20 凝胶色谱进行分离纯化。其中化合物 **3**、**4**、**9** 从 Fr. 1 经凝胶色谱和反相色谱分离得到,化合物 **2**、**5**、**6** 从 Fr. 2 经凝胶色谱和制备薄层色谱分离得到,化合物 **1**、**7**、**8**、**11** 从 Fr. 3 经凝胶色谱、制备薄层色谱和反相色谱分离得到,化合物 **10** 从 Fr. 4 经凝胶色谱和制备薄层色谱分离得到。

4 结构鉴定

化合物 1 红色固体(甲醇)。¹H NMR (Acetone-*d*₆, 500 MHz) δ: 7.88 (s, 3H, CH-2, 2', 2''), 7.59 (d, *J* = 8.1 Hz, 3H, CH-5, 5', 5''), 7.16 (t, *J* = 7.8 Hz, 3H, CH-6, 6', 6''), 6.94 (d, *J* = 7.8 Hz, 3H, CH-8, 8', 8''), 6.88 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H, CH-7, 7', 7''); HPLC-MS: *m/z* 360 [M + H]⁺ at the retention time 13.06 min (梯度洗脱: 0-20 min 10%-100% A; 20 ~ 30 min 保持 100% A; 30-32 min 100%-10% A, 详细条件见仪器部分); HR-(+)-ESI MS: *m/z* 360.14948 [M + H]⁺ (calcd. 360.14952 for C₂₅H₁₈N₃)。以上数据与文献报道一致^[5],故鉴定化合物 **1** 为 Turbomycin A。

化合物 2 淡黄色油(氯仿/甲醇 = 1:1)。¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.55 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H-4'), 7.54 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, H-4''), 7.30 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-7''), 7.29 (s, 1H, H-2'), 7.28 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-7'), 7.14 (s, 1H, H-

2''), 7.02 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-6'), 7.01 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-6''), 6.92 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-5'), 6.89 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-5''), 4.69 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H, H-1), 4.48 (dt, *J* = 6.7, 3.8 Hz, 1H, H-2), 3.60 (dd, *J* = 10.0, 3.8 Hz, 1H, H-3a), 3.48 (dd, *J* = 11.0, 6.4 Hz, 1H, H-3b); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 138.0 (C-7a'), 137.9 (C-7a''), 129.2 (C-3a'), 128.4 (C-3a''), 124.0 (C-2'), 123.8 (C-2''), 122.1 (C-6'), 122.0 (C-6''), 120.1 (C-4'), 120.0 (C-4''), 119.4 (C-5'), 119.3 (C-5''), 117.9 (C-3'), 116.4 (C-3''), 112.1 (C-7'), 112.0 (C-7''), 76.3 (C-2), 66.4 (C-3), 38.1 (C-1); (+)-ESI MS: *m/z* 329 [M + Na]⁺, 345 [M + K]⁺, 635 [2M + Na]⁺, 651 [2M + K]⁺; (-)-ESI MS: *m/z* 305 [M-H]⁻, 351 [M + HCOO]⁻, 611 [2M-H]⁻, 657 [2M + HCOO]⁻。以上数据与文献报道一致^[6],故鉴定化合物 **2** 为 3,3-二-(3-吲哚)丙烷-1,2-二醇(3,3-Bis(3-indolyl)propane-1,2-diol)。

化合物 3 白色固体(氯仿/甲醇 = 1:1)。¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 8.21 (s, 1H, H-2), 8.19 (m, 1H, H-5), 7.43 ~ 7.46 (m, 1H, H-8), 7.19 ~ 7.23 (m, 2H, H-6, 7), 4.58 (s, 2H, CH₂-11), 2.07 (s, 3H, CH₃-14)。以上数据与文献报道一致^[7],故鉴定化合物 **3** 为 N-(2-(1H-Indol-3-yl)-2-oxoethyl)-acetamide。

化合物 4 淡黄色油状(氯仿/甲醇 = 1:1)。¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.55 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, CH-5), 7.29 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, CH-8), 7.07 (s, 1H, CH-2), 7.05 (dd, *J* = 8.1 Hz, 1.0 Hz, 1H, CH-6), 6.95 ~ 7.01 (m, 1H, CH-7), 4.64 (dd, *J* = 7.8 Hz, 5.0 Hz, 1H, CH-11), 3.35 (dd, *J* = 10.7 Hz, 4.2 Hz, 1H, CH₂-10a), 3.13 (dd, *J* = 14.5 Hz, 7.8 Hz, 1H, CH₂-10b), 1.88 (s, 3H, CH₃-14); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 173.0 (C-11'), 137.9 (C-9), 129.0 (C-4), 124.2 (C-2), 122.2 (C-7), 119.6 (C-6), 119.3 (C-5), 112.2 (C-8), 111.5 (C-3), 55.9 (C-11), 28.6 (C-10), 22.5 (C-14); HPLC-MS: *m/z* 247 [M + H]⁺, 269 [M + Na]⁺, 531 [2M + K]⁺ and 245 [M-H]⁻ at the retention time 9.20 min (梯度洗脱: 0 ~ 20 min 10% ~ 100% A; 20 ~ 30 min 保持 100% A; 30 ~ 32 min 100% ~ 10% A, 详细条件见仪器部分)。以上数据与文献报道一致^[8],故鉴定化合物 **4** 为 N-乙酰基色氨酸(N-Acetyltrypto-

phan)。

化合物 5 黄色固体(氯仿/甲醇 = 1:1)。¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ : 8.14 ~ 8.15 (m, 2H, CH-3, 5), 7.93 (d, J = 5.5 Hz, 1H, CH-4), 7.58 (dt, J = 8.2, 1.0 Hz, 1H, CH-8), 7.54 (ddd, J = 8.2, 7.0, 1.2 Hz, 1H, CH-7), 7.24 (ddd, J = 8.0, 7.0, 1.0 Hz, 1H, CH-6), 2.80 (s, 3H, CH₃-1); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ : 142.9 (C-1), 142.7 (C-8a), 137.5 (C-3), 129.9 (C-4a), 129.5 (C-7), 122.7 (C-5), 122.5 (C-5a), 120.9 (C-6), 114.1 (C-4), 112.9 (C-8), 19.5 (C-1); (+)-ESI MS: m/z 183 [M + H]⁺, 205 [M + Na]⁺, 387 [2M + Na]⁺; (-)-ESI MS: m/z 181 [M-H]⁻, 217 [M + Cl]⁻; HR-ESIMS: m/z 183.0927 [M + H]⁺ (calcd. 183.0917 for C₁₂H₁₁N₂)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **5** 为 9H-吡啶并[3,4-b]吲哚(Harman)。

化合物 6 白色固体(甲醇)。¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 12.16 (1H, bs, -NH), 9.96 (1H, s, -CHO), 8.29 (1H, s, H-2), 8.12 (1H, d, J = 2.8 Hz, H-5), 7.52 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-7), 7.21 ~ 7.29 (2H, m, H-6, 8); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 185.4 (-CHO), 138.8 (C-2), 137.5 (C-9), 124.6 (C-4), 123.9 (C-7), 122.6 (C-6), 121.3 (C-5), 118.6 (C-3), 112.9 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[10,11], 故鉴定化合物 **6** 为吲哚-3-甲醛(Indole-3-carboxaldehyde)。

化合物 7 白色固体(甲醇)。¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ : 7.54 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 7.34 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-8), 7.08 ~ 7.12 (1H, m, H-7), 7.04 (1H, s, H-2), 7.00 ~ 7.04 (1H, m, H-6), 3.32 ~ 3.29 (2H, m, CH₂-10), 2.34 ~ 2.42 (2H, m, CH₂-11); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ : 176.1 (-COOH), 136.7 (C-9), 127.1 (C-4), 121.4 (C-2), 120.9 (C-7), 118.1 (C-5), 117.7 (C-6), 113.6 (C-3), 110.8 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **7** 为 3-吲哚丙酸(3-Indolepropionic acid)。

化合物 8 白色固体(甲醇)。¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ : 8.09 ~ 8.11 (1H, m, H-5), 7.97 (1H, s, H-2), 7.44 ~ 7.46 (1H, m, H-8), 7.17 ~ 7.23 (2H, m, H-6, 7); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ : 167.9 (C-COOH), 136.8 (C-9), 132.0 (C-2), 126.1 (C-4), 122.2 (C-7), 121.0 (C-6), 120.6

(C-5), 111.5 (C-8), 107.3 (C-3)。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **8** 为 3-吲哚甲酸(Indole-3-carboxylic acid)。

化合物 9 黄色固体(甲醇)。¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ : 7.88 (s, 1H, CH-8), 7.67 (s, 1H, CH-5), 2.50 (s, 3H, CH₃-6), 2.48 (s, 3H, CH₃-7); ESI MS: m/z 243 [M + Na]⁺, 507 [2M + Na]⁺; HRESIMS: m/z 243.08776 [M + H]⁺ (calcd. 243.08765 for C₁₂H₁₁N₄O₂), 265.06976 and [M + Na]⁺ (calcd. 265.06959 for C₁₂H₁₀N₄O₂Na); UV (MeOH) λ_{\max} (%): 385 (24), 350 (32), 250 (100) nm。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **9** 为光色素(Lumichrome)。

化合物 10 红色固体(甲醇)。由于含有顺磁性三价铁基团, 氢谱和碳谱均无法得到很好的信号, 在 LC-MS 图谱中有很明显的 m/z 654 [M + H]⁺, 676 [M + Na]⁺ 以及 1329 [2M + Na]⁺ 信号。高分辨 HR-(+)-ESI MS: m/z 654.26653 [M + H]⁺ (calcd. 654.26702 for C₂₇H₄₆FeN₆O₉)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **10** 为 Ferrioxamine E。

化合物 11 白色固体(甲醇)。¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ : 7.84 (dd, J = 4.8, 1.0 Hz, 1H, CH-6), 7.13 (dd, J = 8.0, 1.2 Hz, 1H, CH-4), 7.07 (dd, J = 8.0, 4.8 Hz, 1H, CH-5), 2.38 (s, 3H, CH₃-2); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ : 153.9 (C-3), 147.7 (C-2), 139.5 (C-6), 123.7 (C-5), 123.2 (C-4), 18.3 (C-2); EI: m/z (%) 109 (100), 81 (10), 80 (46)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **11** 为 3-羟基-2-甲基吡啶(2-Methylpyridin-3-ol)。

5 卤虫致死活性筛选

5.1 活性测定

卤虫致死活性是目前科学家们最为信赖的细胞毒活性测试方法之一^[17]。在 24 孔板的孔中装入 0.2 mL 的人造海水, 以及刚孵化的活体丰年虾(*Artemiasalina*) 幼虫 25 ~ 30 只。用 DMSO 将化合物 **1** ~ **11** 溶解培养孔中稀释至 10 μ g/mL, 空白对照只加 DMSO。此外, 以 10 μ g/mL 浓度的标准品放线菌素 D (Actinomycin D) 作为阳性对照, 做三次平行试验。在室温下黑暗培养 24 h 后, 在显微镜下计算每个孔中死亡的丰年虾幼虫个数, 最后用以下公式计

算致死率 (M)。

$$M = \left[\frac{(A - B - N)}{(G - N)} \right] \times 100 \%$$

其中:M = 24 h 后的致死率;A = 24 h 后的死亡总数;B = 24 h 后对照孔中的死亡总数;N = 在加入药剂之前的死亡数;G = 挑选用于测试的丰年

虾幼虫总数。

5.2 测定结果

化合物 **1**、**2**、**5**、**10**、**11** 显示显著的细胞毒活性, 化合物 **3**、**4**、**6**、**7**、**8** 显示中等程度的细胞毒活性。

表 1 化合物 **1** ~ **11** 的细胞毒活性

Table 1 Toxicity of compounds **1-11** with mortality rates (%)

Sample	Toxicity											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Actinomycin D
Mortality	100	98.6	66.1	68.2	94.6	51.3	46.3	51.3	15.3	100	97.3	100

参考文献

- 1 Yao N (姚楠). Research on chemical constituents and biological of *Bacillus marinus* GS-5. Hangzhou; Zhejiang Gongshang University, MSc. 2014.
- 2 Zhu XD (朱旭东), Zhou Q (周全). 浅谈利用微生物生产抗癌药紫杉醇的技术优势. *Biotechnol Business* (生物产业技术), 2011, 2; 33-35.
- 3 Ma HL (麻红利), Yan XJ (闫晓静), Xiao YM (肖玉梅), et al. Synthesis and fungicidal activities of azaindoly thiazoline compounds. *Organ Chem* (有机化学), 2016, 36; 158-164.
- 4 Zhang Y (张屹), Meng X (孟霞), Qin DW (秦大伟), et al. Study on indole-based antitumor drugs. *Chemical Intermediate* (化工中间体), 2011, 7; 15-18.
- 5 Gillespie DE, Brady SF, Bettermann AD, et al. Isolation of antibiotics turbomycin A and B from a metagenomic library of soil microbial DNA. *Appl Environmental Microbiol*, 2012, 9 (1); 48-54.
- 6 Chakrabarty M, Ghosh N, Basak R, et al. A facile and efficient synthesis of 2, 2-Bis (3'/2'-indolyl) ethylamines and three bisindolic natural products. *Cheminform*, 2004, 35; 421-434.
- 7 Chen Y, Zeeck A, Chen Z, et al. Metabolic products of microorganisms. 222. beta-Oxotryptamine derivatives isolated from *Streptomyces ramulosus*. *J Antibiot*, 1983, 36; 913-915.
- 8 Haihong S, Eric O. Tryptophan chemical shift in peptides and proteins; a solid state carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopic and quantum chemical investigation. *J Am Chem Soc*, 2004, 126; 4726-4734.
- 9 Coune CA, Angenot L JG, Denoel J. Carbon-13 NMR of Strychnos alkaloids: harmine and usambarensine derivatives. *Phytochemistry*, 1980, 19; 2009-2011.
- 10 Evidente A. Isolation of indole-3-aldehyde from *Pseudomonas syringae* PV. Savastanoi. *J Nat Prod*, 1986, 49; 938-939.
- 11 Yang T (杨涛), Cheng XM (程雪梅), Yu FS (于富生), et al. The chemical constituents of *Capparis spinosa* L. fruits. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 2010, 25; 260-263.
- 12 Lee HJ, Kim WC, Jeon SY, et al. Growth inhibitors of soybean seedling from *Bacillus* sp. IJ-31. *J Appl Biol Chem*, 2003, 46; 100-104.
- 13 Burton G, Ghini AA, Gros EG. ¹³C NMR spectra of substituted indoles. *Magn Reson Chem*, 1986, 24; 829-831.
- 14 Li LY (李莉娅), Deng ZW (邓志威), Li J (李军), et al. Chemical constituents from Chinese marine sponge *Cinchyrella australiensis*. *J Peking Univ* (北京大学学报), 2004, 36; 12-17.
- 15 Ueki M, Suzuki R, Takamatsu S, et al. Nocardamin production by *Streptomyces avermitilis*. *Actinomycetologica*, 2009, 23 (23); 34-39.
- 16 Jida M, Ollivier J. Convergent and selective synthesis of pyrrolidinones, piperidinones, sihydropyridinones and pyridinols from a common intermediate-potential precursors of bioactive products. *Eur J Org Chem*, 2008, 23; 4041-4049.
- 17 Huang XJ (黄筱娟), Chen WH (陈文豪), Ji MH (纪明慧), et al. Chemical constituents from leaves of *Ananas comosus* and their biological activities. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2015, 46; 949-954.