

文章编号 1006-8147(2015)03-0217-03

论 著

中国南海海绵 *Axinella* sp. 中化学成分的研究

许娇娇^{1,2}, 顾 琼^{1,2}, 王 佳^{1,2}, 赵 川³, 段宏泉^{1,2,3}, 乔 卫^{1,2}, 唐生安^{1,2}

(1.天津医科大学药学院,天津 300070; 2.天津市临床药物关键技术重点实验室,天津 300070; 3.天津医科大学基础医学研究中心,天津 300070)

摘要 目的:研究中国南海海绵 *Axinella* sp. 的化学成分。方法:用硅胶柱色谱、制备薄层色谱、凝胶柱色谱和半制备 HPLC 等分离纯化,并采用质谱、核磁共振波谱等有机波谱方法鉴定化合物的结构。结果:从海绵 *Axinella* sp. 中分离的 7 个化合物,依次鉴定为 debromohymenialdisine (1), hymenialdisine (2), aldisin (3), 3-bromoaldisin (4), 尼克酰胺 (5), 胸腺嘧啶 (6), 尿嘧啶 (7)。结论:化合物 1~4 是海绵中特有的溴代吡咯烷型生物碱,化合物 5, 6, 7 为首次从该属海绵中分离得到。

关键词 南海海绵; *Axinella* sp.; 结构鉴定; 溴代吡咯烷型生物碱

中图分类号 R282.77

文献标志码 A

Studies on chemical constituents in the South China Sea marine sponge *Axinella* sp.

XU Jiao-jiao^{1,2}, GU Qiong^{1,2}, WANG Jia^{1,2}, ZHAO Chuan³, DUAN Hong-quan^{1,2,3}, QIAO Wei^{1,2}, TANG Sheng-an^{1,2}

(1.School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2.Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), Tianjin 300070, China; 3.Research Center of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To investigate the chemical constituents in the South China Sea marine sponge *Axinella* sp. **Methods:** Various chromatography techniques (silica gel, preparative TLC, Sephadex LH-20 and semi-preparative HPLC) were performed to isolate and purify the extracts. The structures were identified mainly by extensive spectral data analysis. **Results:** Seven compounds were isolated and their structures were identified as debromohymenialdisine (1), hymenialdisine (2), aldisin (3), 3-bromoaldisin (4), niacinamide (5), thymine (6), uracil (7). **Conclusion:** Compounds 1-4 are specific bromopyrrole alkaloids of marine sponges, and compounds 5, 6, 7 are isolated for the first time from the genus *Axinella*.

Key words marine sponge; *Axinella* sp.; structure identification; bromopyrrole alkaloids

在海洋药物的研究中,数量大、品种多的海绵占据着非常重要的地位。*Axinella* 属海绵中含有很多结构新颖、活性独特的有机化合物。这些化合物包括生物碱类^[1]、萜类^[2]、甾体类^[3]等。其中含氮化合物中的溴代吡咯烷型生物碱具有抗菌^[4]、抗肿瘤^[5]、激酶抑制活性^[6]及抗污损活性^[6]等多种生物活性。本文对采自中国南海的海绵 *Axinella* sp. 进行了提取、分离和结构鉴定,用硅胶柱色谱、制备薄层色谱、凝胶柱色谱和半制备 HPLC 等方法对各萃取组分进行系统分离纯化得到单体化合物,采用 ¹H NMR、¹³C NMR、DEPT、HMBC、HSQC、¹H-¹H COSY 等有机波谱方法测试,并与文献资料进行对比确定单体化合物的结构。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂及材料 Brucker AV 400 核磁共振基金项目 国家自然科学基金资助项目 (81102371), 天津市自然科学基金资助项目 (10JCYBJC15000)

作者简介 许娇娇(1989-),女,硕士在读,研究方向:天然产物有效分离、分析研究;通信作者:唐生安, E-mail: tangshengan@tjmu.edu.cn。

仪 (TMS 内标); 旋光仪: MC 241 digital polarimeter (PERKIN-ELMER); 液质联用色谱仪: Alliance2695, Quattro Micro TM ESI (Water); 半制备高效液相色谱仪: 日本分光公司 (JASCO), PU-2089 (泵), RI-2031 和 UV-2075 (检测器); 制备 HPLC 色谱柱, C-18 反相色谱柱: YMC-Pack ODS-ASH-343-5 (20 mm×250 mm); 氘代试剂 (ALDRICH 公司); 柱色谱和薄层色谱用硅胶均系青岛海洋化工生产, 所用试剂均系分析纯。

本文所用海绵采自于中国南海西沙群岛海域, 经天津医科大学药学院唐生安博士鉴定为南海海绵 *Axinella* sp., 标本编号为 NHA-1, 保存于天津医科大学药学院。

1.2 提取分离 将海绵 *Axinella* sp. (湿重 2.5 kg) 均匀剪碎后, 用 95% 乙醇 (3 000 mL) 浸提 3 次, 提取液合并后浓缩得浸膏。浸膏用少量甲醇连续脱盐 3 次, 合并甲醇提取液, 浓缩得总提取物 87.5 g。将总提取物分散于蒸馏水中, 连续用石油醚萃取 3 次, 合

并石油醚层萃取液并浓缩,得石油醚层萃取组分 12.1 g。水层继续加入正丁醇萃取 3 次,然后浓缩最终得正丁醇层萃取组分 30.3 g,水层浓缩后得萃取组分 43.6 g。

取正丁醇层萃取物用硅胶柱色谱进行初步分离,以二氯甲烷-甲醇梯度洗脱(95:5→0:100),得到 0101-0118 个组分,其中 0112 号样品(344.9 mg)经验证为单体化合物,即化合物 1。0108 组分采用半制备 HPLC 色谱分离,用 ODS-A 柱,以甲醇:水=1:9(加 3%的冰醋酸)为流动相洗脱,经分离得到化合物 2(52.1 mg)。0103 组分采用硅胶柱色谱进行分离,以二氯甲烷-甲醇梯度洗脱(20:1→0:100)得到化合物 3(9.4 mg)、4(22.7 mg)、5(4.7 mg)、6(4.0 mg)、7(9.3 mg)。

2 结果

从南海海绵 *Axinella* sp. 提取物中分离得到 7 个化合物,见图 1。

2.1 化合物 1 debromohymenialdisine,浅黄色粉末,ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 246 $[M+H]^+$,结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 光谱推测其分子式为: $C_{11}H_{12}N_5O_2$ 。 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6)中有 2 个烯质子信号, δ_H 7.02(1H, br s, H-2), 6.87(1H, br s, H-3)。3 个 NH 信号 δ_H 11.80(1H, br s, NH-1), 7.95(1H, br s, NH-7), 9.02(1H, br s, NH-15), 2 个 CH_2 信号 δ_H 3.35(2H, br s, CH_2 -9), 3.24(2H, br s, CH_2 -8)。 ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6)共给出 11 个碳原子信号,分别

为: δ_C 122.0 (C-2), 110.5 (C-3), 122.2 (C-4), 125.4 (C-5), 162.3 (C-6), 39.9 (C-8), 29.9 (C-9), 125.7 (C-10), 126.9 (C-11), 170.2 (C-12), 158.7 (C-14)。

2.2 化合物 2 hymenialdisine,浅黄色粉末,ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 326 $[M+H]^+$,结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 光谱推测其分子式为: $C_{11}H_{12}N_5O_2Br$ 。 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6)中有 1 个烯质子信号, δ_H 6.95(1H, br s, H-3), 3 个 NH 信号 δ_H 11.58(1H, br s, NH-1), 7.84(1H, br s, NH-7), 9.40(1H, br s, NH-15), 2 个 CH_2 信号 δ_H 3.35(2H, br s, CH_2 -9), 3.24(2H, br s, CH_2 -8)。 ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6)共给出 11 个碳原子信号,分别为: δ_C 103.9 (C-2), 115.5(C-3), 124.2(C-4), 126.4(C-5), 162.9 (C-6), 40.4 (C-8), 29.0 (C-9), 126.4 (C-10), 127.2 (C-11), 172.0 (C-12), 156.4 (C-14)。

2.3 化合物 3 aldisin,白色粉末,EI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 164 $[M]^+$,结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 光谱推测其分子式为: $C_8H_8N_2O_2$ 。 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6)中有 2 个烯质子信号, δ_H 6.98(1H, d, J =2.0Hz, H-2), 6.55(1H, d, J =2.0Hz, H-3), 2 个 CH_2 信号 δ_H 3.35(2H, m, H-8), 2.70(2H, m, H-9), 2 个 NH 信号 δ_H 12.11(1H, s, NH-1), 8.30(1H, s, NH-7)。 ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6)共给出 8 个碳原子信号,分别 δ_C 122.3(C-2), 109.5(C-3), 123.5 (C-4), 127.9 (C-5), 162.2 (C-6), 43.5 (C-8), 36.5 (C-9), 194.3 (C-10)。

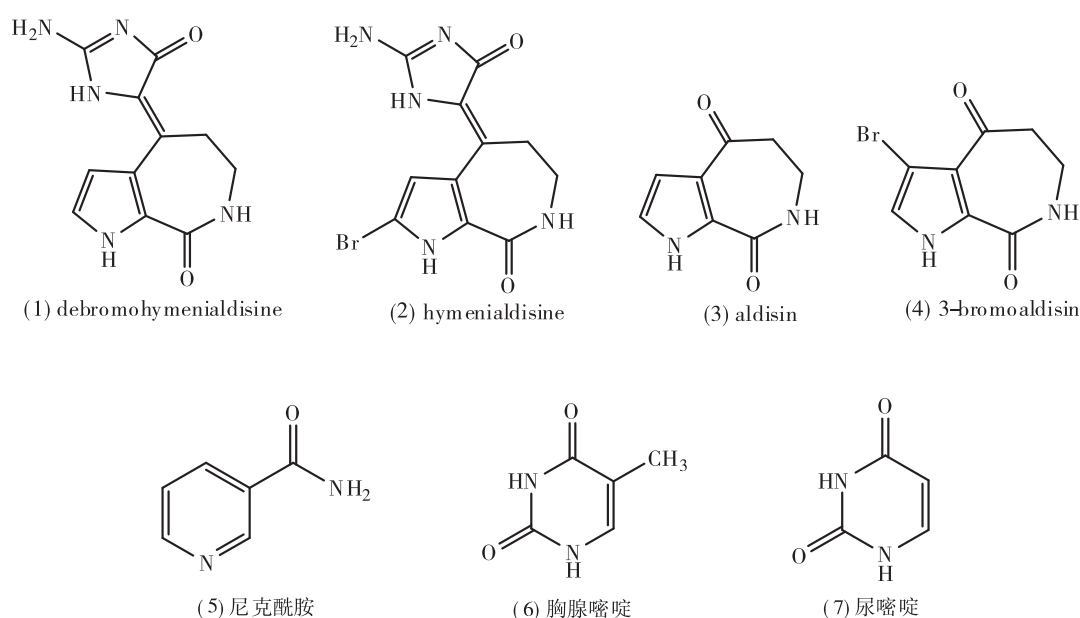


图 1 从中国南海海绵 *Axinella* sp. 中分离得到的化合物

Fig 1 Compounds 1-7 isolated from the South China Sea marine sponge *Axinella* sp.

2.4 化合物 4 3-bromoaldisin, 黄色粉末, EI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 242 $[M]^+$, 结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 光谱推测其分子式为: $C_8H_7N_2O_2Br$ 。 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) 中有 1 个烯质子信号, δ_H 6.57 (1H, s, H-3), 2 个 CH_2 信号 δ_H 2.71 (2H, m, CH_2 -9), 3.29 (2H, m, CH_2 -8), 2 个 NH 信号 δ_H 12.97 (1H, br s, NH-1), 8.39 (1H, br s, NH-7)。 ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) 共给出 8 个碳原子信号, 分别为 δ_C 121.3 (C-2), 110.9 (C-3), 124.6 (C-4), 129.4 (C-5), 161.3 (C-6), 43.4 (C-8), 36.3 (C-9), 193.6 (C-10)。

2.5 化合物 5 尼克酰胺, 白色粉末, ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 123 $[M+H]^+$, 结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 光谱推测其分子式为: $C_6H_6N_2O$ 。 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) 中有 4 个芳香质子信号, δ_H 7.52 (1H, d, J = 8.0Hz, H-5), 8.22 (1H, d, J = 8.0Hz, H-4), 8.70 (1H, d, J = 4.8Hz, H-6), 9.03 (1H, br s, H-2)。 ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) 共给出 6 个碳原子信号, 分别为 δ_C 151.9 (C-2), 130.8 (C-3), 137.7 (C-4), 123.4 (C-5), 148.6 (C-6), 166.5 (3-CONH $_2$)。

2.6 化合物 6 胸腺嘧啶, 浅黄色固体。 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) 中有 1 个烯质子信号, δ_H 7.25 (1H, s, H-6), 1 个 CH_3 信号 δ_H 1.73 (3H, s, CH_3 -5)。 ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) 共给出 5 个碳原子信号, 分别为: δ_C 151.5 (C-2), 107.6 (C-4), 137.7 (C-5), 165.0 (C-6), 11.8 (CH_3)。

2.7 化合物 7 尿嘧啶, 浅黄色固体。 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) 中有 2 个烯质子信号, δ_H 5.45 (1H, d, J = 7.6Hz, H-5), 7.38 (1H, d, J = 7.6Hz, H-6), 2 个 NH 信号 δ_H 11.02 (1H, s, NH-1), 7.95 (1H, s, NH-7)。 ^{13}C NMR (100MHz, DMSO- d_6) 共给出 4 个碳原子信号, 分别为: δ_C 151.5 (C-2), 164.3 (C-4), 100.2 (C-5), 142.2 (C-6)。

3 讨论

本文运用硅胶、凝胶柱色谱以及半制备液相色谱等方法, 对采自中国南海西沙群岛海域的海绵 *Axinella* sp. 进行化学成分提取、分离和纯化, 并通过质谱、核磁共振波谱等方法, 鉴定化合物的结构。结果表明, 从海绵 *Axinella* sp. 中分离的 7 个化合物, 1H

NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文献报道一致, 依次鉴定为 debromohymenialdisine (1)^[2,7]、hymenialdisine (2)^[2,7]、aldisin (3)^[8]、3-bromoaldisin (4)^[1]、尼克酰胺 (5)^[9]、胸腺嘧啶 (6)^[10]、尿嘧啶 (7)^[11]。化合物 5-7 为首次从该属海绵中分离得到。化合物 1-4 为吡咯烷型生物碱, 其中化合物 1-2 是丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 通路的抑制剂^[12]。本研究为该属海绵化合物今后的生物活性研究以及用途提供了基础资料。

参考文献:

- [1] Hassan W, Elkhayat E S, Edrada R A, et al. New bromopyrrole alkaloids from the marine sponges *axinella damicornis* and *stylissa flabelliformis*[J]. Nat Prod Commun, 2007, 2(11):1149
- [2] Dai J, Fishback J A, Zhou Y, et al. Sodwanone and yardenone triterpenes from a South African Species of the marine sponge *Axinella* inhibit hypoxia-Inducible factor-1 (HIF-1) activation in both breast and prostate tumor cells[J]. J Nat Prod, 2006, 69(12):1715
- [3] Gallimore W A, Cabrala C, Kellyb M, et al. A novel D-ring unsaturated A-nor sterol from the Indonesian sponge, *Axinella carteri* Dendy[J]. Nat Prod Res, 2008, 22(15):1339
- [4] Zhang H, Khalil Z, Conte M M, et al. A search for kinase inhibitors and antibacterial agents: bromopyrrole-2-aminoimidazoles from a deep-water Great Australian Bight sponge, *Axinella* sp. [J]. Tetrahedron Lett, 2012, 53(29):3784
- [5] Mason C K, McFarlane S, Johnston P G, et al. Agelastatin A: a novel inhibitor of osteopontin-mediated adhesion, invasion, and colony formation[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7(3):547
- [6] Feng D, Qiu Y, Wang W, et al. Antifouling activities of hymenialdisine and debromohymenialdisine from the sponge *Axinella* sp.[J]. Int Biodeter Biodegr, 2013, 85(1):359
- [7] Sauleau P, Retailleau P, Nogues S, et al. Dihydrohymenialdisines, new pyrrole-2-aminoimidazole alkaloids from the marine sponge *Cymbastela cantharella*[J]. Tetrahedron Lett, 2011, 52(21):2676
- [8] 李文林, 毛士龙, 易杨华, 等. 棕色扁海绵化学成分研究[J]. 中国海洋药物杂志, 2001, 20(1):9
- [9] 袁久志, 吴立军, 陈英杰, 等. 土茯苓化学成分的分离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志, 2004, 14(5):291
- [10] 吴旭东, 梅文莉, 邵长伦, 等. 中国南海蜂海绵 *Haliclona cymaeformis* 的化学成分研究[J]. 中国海洋药物杂志, 2011, 30(5):12
- [11] 李莉娅, 邓志威, 李军, 等. 中国南海海绵 *Cinachyrella australiensis* 化学成分研究[J]. 北京大学学报, 2004, 36(1):12
- [12] 张浩. 海绵及其放线菌天然产物提取、活性诱导研究[D]. 中国科学院研究生院, 2006, 27

(2014-12-15 收稿)