

文章编号 1006-8147(2015)05-0385-03

论 著

中国南海海绵 *Haliclona* sp. 中化学成分的研究

许娇娇¹, 靳德军², 王佳¹, 祁菁¹, 赵川³, 乔卫¹, 段宏泉^{1,3}, 唐生安¹

(1. 天津医科大学药学院, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070; 2. 海南医学院药学院, 海口, 571199; 3. 天津医科大学基础医学研究中心, 天津 300070)

摘要 目的: 对采自中国广西涠洲岛海域海绵 *Haliclona* sp. 的化学成分进行分离和结构鉴定。方法: 采用硅胶柱色谱、制备薄层色谱、凝胶柱色谱、半制备 HPLC、重结晶等方法分离纯化, 通过波谱方法分析, 并对照文献来鉴定化合物的结构。结果: 从海绵 *Haliclona* sp. 中分离的 5 个化合物, 依次鉴定为孕甾烯醇酮(1), 24-亚甲基胆固醇(2), 胆固醇(3), 苯丙酸(4), 邻二苯甲酸丁酯(5)。结论: 4, 5 为首次从该属海绵中分离得到的化合物。

关键词 南海海绵; *Haliclona* sp.; 化学成分

中图分类号 R9

文献标志码 A

Studies on chemical constituents from the South China Sea sponge *Haliclona* sp.

XU Jiao-jiao¹, JIN De-jun², WANG Jia¹, QI Jing¹, ZHAO Chuan³, QIAO Wei¹, DUAN Hong-quan^{1,3}, TANG Sheng-an¹

(1. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), Tianjin 300070, China; 2. School of Pharmaceutical Science, Hainan Medical University, Haikou 571199, China; 3. Research Center of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To study the chemical constituents from the South China Sea sponge *Haliclona* sp.. **Methods:** The isolation and purification of the compounds were performed by column chromatography techniques with silica gel, PTLC, Toyopearl HW-40 and semi-preparative HPLC. Their structures were determined mainly by spectral data analysis and comparison with literatures. **Results:** Five compounds had been isolated and their structures were identified as pregnenolone (1), 24-methylenecholesterol (2), cholesterol (3), phenylpropionic acid (4), dibutylphthalat (5). **Conclusion:** Compounds 4, 5 have been isolated for the first time from the genus *Haliclona*.

Key words marine sponge; *Haliclona* sp.; chemical constituents

在海洋天然药物的研究中, 海绵占据着非常重要的地位。*Haliclona* 属海绵含有化学结构新颖的化合物, 且很多化合物具有抗菌^[1]、抗炎^[2]、抗污损^[3]等生物活性。*Haliclona* 属海绵含有多种成分, 大部分包括甾醇^[4]、生物碱类^[5]、萜类^[6]、大环内酯类^[7]等物质。本文采用各种天然药物化学研究手段, 对采自中国广西涠洲岛海域海绵 *Haliclona* sp. 进行提取、分离和结构鉴定, 通过硅胶柱色谱、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, 采用核磁共振波谱等有机波谱方法分析, 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 AV400 核磁共振仪 (TMS 内标); 旋光仪: MC 241 digital polarimeter (PERKIN-ELMER); 液质联用色谱仪: Alliance

2695, 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广西涠洲岛海域, 经天津医科大学药学院唐生安博士鉴定为南海海绵 *Haliclona* sp., 标本编号为 WZA-11, 保存于天津医科大学药学院。

1.2 提取分离 将海绵 *Haliclona* sp. (干重 95.0 g) 均匀切碎, 加入 95% 乙醇 (500 mL) 浸泡 3 次, 合并浸泡液, 减压浓缩浸泡液得总提取物 3.7 g。

将总提取物通过凝胶 (Toyopearl HW-40) 柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (1:1) 为流动相洗脱, 得到 6 个组分 (0101-0106)。0105 组分采用硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100:1, 9:1, 8:2, 1:1) 为流动相梯度洗脱, 经分离得到化合物 1 (2.3 mg)。

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。

0104 组分(1.5 g)采用硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(98:2)为流动相洗脱,分离得到组分(0401-0408)。0403 组分(70.9 mg)采用硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(96:4)为流动相洗脱,得到化合物 2 (2.1 mg),3 (20.4 mg)。0401 组分(88.0 mg)进一步采用硅胶柱色谱分离,以石油醚-乙酸乙酯(97:3)为流动相洗脱,得到化合物 5(17.4 mg)。

0106 组分(250.0 mg)采用硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(100:1,9:1,8:2,1:1)为流动相梯度洗脱,分离得到组分(1001-1009),其中 1003 组分(12.0 mg)进一步重结晶得到化合物 4(2.1 mg)。

2 结果

从南海海绵 *Haliclona* sp. 提取物中分离得到 5 个化合物,见图 1。

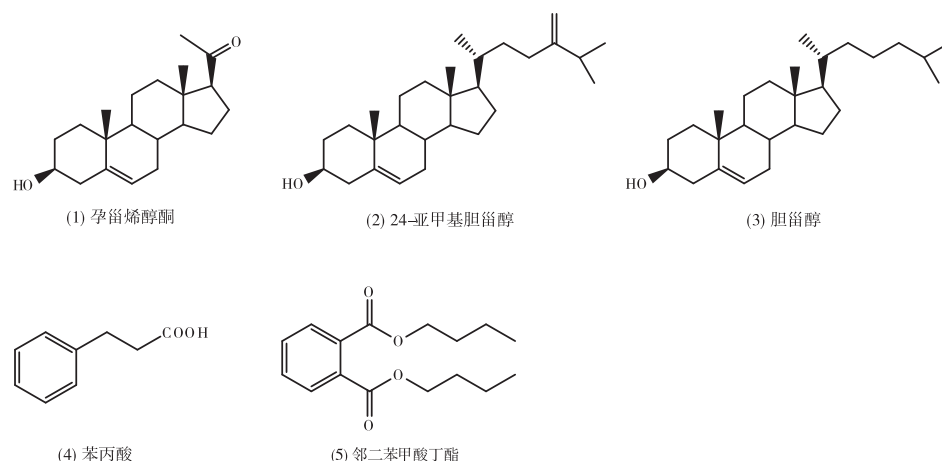


图 1 从中国南海海绵 *Haliclona* sp. 中分离得到的化合物

Fig 1 Compounds 1-5 isolated from *Haliclona* sp.

2.1 化合物 1 孕甾烯醇酮,无色针状晶体,EIMS 给出准分子离子 m/z :316 $[M]^+$,结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 光谱推测其分子式为: $C_{21}H_{32}O_2$ 。 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) 中有 1 个烯质子信号 δ_H 5.36(1H, brs, H-6),1 个羟基信号 δ_H 3.67 (1H, m, H-3),1 个 CH 信号 δ_H 2.53(1H, m, H-17)及 3 个 CH_3 信号 δ_H 0.63 (3H, s, CH_3 -18),1.00 (3H, s, CH_3 -19),2.13(3H, s, CH_3 -21)。 ^{13}C NMR(100 MHz, $CDCl_3$)共给出 21 个碳原子信号,分别为: δ_C 37.3(C-1),31.9(C-2),71.7(C-3),42.2(C-4),140.8(C-5),121.4(C-6),31.9(C-7),31.8(C-8),50.0(C-9),36.5(C-10),21.1(C-11),38.9(C-12),44.0(C-13),56.9(C-14),22.9(C-15),24.5(C-16),63.7(C-17),13.2(C-18),19.4(C-19),209.6(C-20),31.9(C-21)。

2.2 化合物 2 24-亚甲基胆甾醇,白色针状晶体,ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z :399 $[M+H]^+$,结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 光谱推测其分子式为: $C_{28}H_{46}O$ 。 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$)中有 1 个烯质子信号 δ_H 5.36(1H, s, H-6),1 个羟基信号 δ_H 3.53(1H, m, H-3),2 个末端双键信号 δ_H 4.72(1H, brs, H-28a),4.65(1H, brs, H-28b),1 个 CH 信号 δ_H 2.36 (1H, m, H-17) 及 5 个 CH_3 信号 δ_H 0.68 (3H, s, CH_3 -18),1.01

(3H, s, CH_3 -19),0.95(3H, d, J = 6.4 Hz, CH_3 -21),1.03 (6H, m, CH_3 -26, CH_3 -27)。 ^{13}C NMR(100MHz, $CDCl_3$) 共给出 28 个碳原子信号,分别为: δ_C 37.3(C-1),31.6(C-2),71.8(C-3),42.4(C-4),140.7(C-5),121.7(C-6),31.9(C-7),31.6(C-8),50.1(C-9),36.5(C-10),21.2(C-11),39.8(C-12),42.3(C-13),56.8(C-14),24.6(C-15),28.4(C-16),56.0(C-17),12.0(C-18),19.6(C-19),35.8(C-20),18.9(C-21),34.7(C-22),30.1(C-23),157.2(C-24),33.8(C-25),22.0(C-26),22.2(C-27),106.0(C-28)。

2.3 化合物 3 胆甾醇,白色针状晶体,EIMS 给出准分子离子峰 m/z :386 $[M]^+$,结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 光谱推测其分子式为: $C_{27}H_{46}O$ 。 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$)中有 1 个烯质子信号, δ_H 5.28(1H, brs, H-6),1 个羟基信号 δ_H 3.49(1H, m, H-3),1 个 CH 信号 δ_H 2.30(1H, m, H-17)和 5 个 CH_3 信号 δ_H 0.61(3H, s, CH_3 -18),1.01(3H, s, CH_3 -19),0.96(3H, s, CH_3 -21),1.03(3H, m, CH_3 -26),1.02(3H, m, CH_3 -27)。

2.4 化合物 4 苯丙酸,白色腊状物,ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z :173 $[M+Na]^+$,结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 光谱推测其分子式为: $C_9H_{10}O_2$ 。 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) 芳香质子信号 δ_H 7.27 (2H, m, H-2',

6'), 7.22 (3H, m, H-3', 4', 5') 和 2 个 CH₂ 信号 δ_{H} 2.82 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, CH₂-2), 2.52 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, CH₂-3)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) 共给出 6 个碳原子信号, 分别为: δ_{C} 179.4 (C-1), 35.6 (C-2), 30.5 (C-3), 141.0 (C-1'), 128.2 (C-2'), 128.1 (C-3'), 125.8 (C-4'), 128.2 (C-5'), 128.2 (C-6')。

2.5 化合物 5 邻二苯甲酸丁酯, 无色油状物, EIMS 给出准分子离子峰 m/z : 278 [M]⁺, 结合 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 光谱推测其分子式为: C₁₆H₂₂O₄。 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 中 4 个芳香质子信号 δ_{H} 7.66 (2H, dd, $J = 5.5, 3.2$ Hz, H-3, H-6), 7.48 (2H, dd, $J = 5.5, 3.2$ Hz, H-4, H-5), 2 个 CH₂ 信号连氧氢信号, δ_{H} 4.26 (4H, t, $J = 6.8$ Hz, H-1', 1''), 4 个 CH₂ 信号 δ_{H} 1.73 (4H, m, H-2', 2''), δ_{H} 1.42 (4H, m, H-3', 3'') 和 2 个末端 CH₃ 信号 δ_{H} 0.92 (6H, t, $J = 7.3$ Hz, H-4', 4'')。

3 讨论

本文对采自中国广西涠洲岛海域的海绵 *Haliclona* sp. 进行化学成分分离、纯化并得到单体化合物。通过核磁共振波谱、质谱等方法, 确定化合物的平面结构及其立体构型。结果表明, 从海绵 *Haliclona* sp. 中分离的 5 个化合物, ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据与文献报道一致, 依次鉴定为孕甾烯醇酮 (1)^[8]、24-亚甲基胆甾醇 (2)^[9-10]、胆甾醇 (3)^[11]、苯丙酸 (4)^[12]、邻二苯甲酸丁酯 (5)^[13]。当前海绵已经成为海洋药物研究的热点之一, 本文丰富了 *Haliclona* 属海绵化学成分的研究内容。

参考文献:

[1] Fusetani N, Yasumuro K, Matsunaga S. Haliclamines A and B,

cytotoxic macrocyclic alkaloids from a sponge of the genus *Haliclona* [J]. Tetrahedron Lett, 1989, 30(49): 6891

- [2] Randazzo A, Bifulco G, Giannini C, et al. Halipeptins A and B: Two novel potent anti-inflammatory cyclic depsipeptides from the vanuatu marine sponge *Haliclona species* [J]. J Am Chem Soc, 2001, 123(44): 10870
- [3] 刘永宏, 王宾, 刘大有, 等. 蜂海绵属 *Haliclona* 海绵化学成分及生物活性研究综述 [J]. 热带海洋学报, 2008, 27(1): 70
- [4] 陈建涛, 杨帆, 张红军, 等. 海绵 *Haliclona oculata* 化学成分的研究 [J]. 药学实践杂志, 2010, 28(1): 52
- [5] Volk C A, Kock M. Viscosoline: new 3-alkyl pyridinium alkaloid from the arctic sponge *Haliclona viscosa* [J]. Org Biomol Chem, 2004, 2(13): 1827
- [6] Bokesch H R, Stulla A C, Pannell L K, et al. A new pentacyclic sulfated hydroquinone from the marine sponge *Haliclona* sp. [J]. Tetrahedron Lett, 2002, 43(16): 3079
- [7] 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
- [8] 常新亮, 马云保, 张雪梅, 等. 川芎化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(15): 1533
- [9] 匡云艳, 蓝文建, 苏镜娱, 等. 圆形短指软珊瑚化学成分的研究 [J]. 热带海洋学报, 2002, 21(3): 95
- [10] 吴旭东. 南海海绵 *Haliclona cymaeformis* 和 *Topsentia* sp. 化学成分及生物活性研究 [D]. 中国海洋大学, 2011, 33
- [11] 葛洁虹, 高程海, 王萍, 等. 南海二叉黑角珊瑚化学成分研究 [J]. 中药材, 2010, 33(9): 1403
- [12] 吴霞, 于志斌, 叶蕴华, 等. 荜茇化学成分的研究 [J]. 中草药, 2008, 39(2): 178
- [13] 李文林, 毛世龙, 易杨华, 等. 丰头皮海绵化学成分研究 [J]. 中国海洋药物, 2000, 3: 1

(2015-01-22 收稿)

欢迎投稿

欢迎订阅