

文章编号 1006-8147(2018)06-0489-03

论 著

中国广西涠洲岛海域海绵 *Callyspongia* sp. 的化学成分研究

徐宝娟¹, 王世玉², 唐生安², 王雪²

(1. 天津医科大学第二医院药学部, 天津 300211; 2. 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)

摘要 目的: 对采自中国广西涠洲岛海域海绵 *Callyspongia* sp. 的化学成分进行分离和结构鉴定。方法: 采用硅胶薄层色谱、柱色谱、凝胶渗透色谱 LH-20, 半制备 HPLC 等方法对采自中国广西涠洲岛海域海绵 *Callyspongia* sp. 的次生代谢产物进行化学分离, 并通过核磁共振谱(1D、2D NMR)、质谱(ESI-MS)等方法, 确定化合物的结构。结果: 共分离得到 8 个化合物, 分别为牛磺酸(1)、乙酰牛磺酸(2)、N-甲基吡啶-2-羧酸盐(3)、zooanemonin(4)、N-丁基乙酰胺(5)、尿嘧啶(6)、3-甲基尿嘧啶(7)、苯甲酸(8)。结论: 化合物 1-5 和 7-8 均为首次从该属海绵中分离得到。

关键词 *Callyspongia* sp.; 色谱分离

中图分类号 R914

文献标志码 A

Study on the chemical components of the marine sponge *Callyspongia* sp. collected from the Weizhou island in Guangxi

XU Bao-juan¹, WANG Shi-yu², TANG Sheng-an², WANG Xue²

(1. Department of pharmacy, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; 2. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To study the chemical constituents from the marine sponge *Callyspongia* sp. collected from the Weizhou island in Guangxi. **Methods:** Various chromatography techniques were performed for the isolation and purification of the MeOH extracts. Their structures were determined mainly by extensive 1D and 2D NMR, MS analysis. **Results:** The isolated 8 compounds were elucidated as follows: taurine (1), N-acetyltaurine (2), N-methylpyridine-2-carboxylic salt (3), zooanemonin (4), N-butylacetamide (5), uracil (6), 3-methyluracil (7), and benzoic acid (8). **Conclusion:** Compounds 1-5, 7-8 have been isolated from the genus *Callyspongia* for the first time.

Key words marine sponge; *Callyspongia* sp.; chromatographic separation

海洋是天然产物的宝库,从海洋中已经发现了许多与陆地植物具有显著结构差异的新颖独特并具有良好的生物学活性的化合物。美丽属海绵(*Callyspongia* sp.)是寻常海绵纲,简骨海绵目,蜂海绵科动物,在中国、日本、印度等国海域均有分布^[1]。海绵中有大量的具有抗微生物、抗炎、抗肿瘤、抗病毒和免疫调节等活性的化学成分^[2]。海绵的化学成分主要有脂类^[3-4]、生物碱类^[5]、肽类^[6]、甾醇类^[7]、大环内酯类^[8-9]、和萜类^[10-12]等。本文对美丽属海绵进行了提取、分离和结构鉴定。用硅胶色谱、制备薄层色谱、凝胶色谱和半制备 HPLC 等方法对各组分进行

分离得到单体化合物,采用核磁共振谱(1D、2D NMR)、质谱(ESI-MS)等方法,确定化合物的结构。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂及材料 核磁共振仪:Bruker AV 400 (TMS 内标);液质联用色谱仪:Alliance 2695, Quattro Micro TM ESI(Waters);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:YMC-Pack SIL SL12S05-2510WT(10 mm × 250 mm);氘代试剂(ALDRICH 公司);高速逆流色谱仪(HSCCC):上海同田 TBE1000A;柱色谱和薄层色谱用硅胶均系青岛海洋化工厂生产,所用试剂均系分析纯。

美丽属海绵(*Callyspongia* sp.)采自于我国广西涠洲岛海域,经天津医科大学药学院唐生安副教授鉴定,标本(WZA-12)保存于天津医科大学药学院。

1.2 提取分离 将 *Callyspongia* sp. 甲醇提取物 14 g,

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重点项目(16JCZDJC32600);中国博士后基金资助项目(2016M591399)

作者简介 徐宝娟(1989-),女,药师,学士,研究方向:中药学;通信作者:王雪, E-mail: wangxue@tmu.edu.cn。

用水和二氯甲烷萃取。将二氯甲烷层提取物用 HSCCC 以石油醚-乙酸乙酯-甲醇-水 (4:3:2:1) 为流动相洗脱得到 9 个组分(0101-0109)。

组分 0105、0106 合并通过凝胶渗透色谱 (GPC), 以甲醇为流动相洗脱得到组分 0201-0208。将 0203 经制备 HPLC 纯化, 甲醇-水(8:2)为流动相洗脱得到组分 0401-0410。将 0402 经制备 HPLC 纯化, 甲醇-水(6:4)为流动相洗脱得到化合物 8(1.0 mg)。

将水层提取物凝胶柱 Toyopearl HW-40 柱分离, 以甲醇为流动相洗脱得到 8 个组分 (2101-2108)。将 2104 经硅胶柱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (4:1, 2:1, 1:1, 0.5:1) 为流动相梯度洗脱得到 12 个组分(2201-2212)。将 2205 经制备 HPLC 纯化, 甲醇-水(4:6)为流动相洗脱得到化合物 2(242.8 mg), 化合物 1(16.3 mg)。将 2210 经制备 HPLC 纯化, 甲醇为流动相洗脱得到化合物 4(15.6 mg)。将 2204 经制备 HPLC 纯化, 甲醇-水(6:4)为流动相洗脱得到化合物 5(90.8 mg)。将 2206 经制备 HPLC 纯化, 甲醇-水(4:6)为流动相洗脱得到 3 个组分(2501-2503)。将 2501 经制备 HPLC 纯化, 二氯甲烷-甲醇(2:1)为流动相洗脱得到化合物 3(25.8 mg)。将 2105 经硅胶柱分离, 二氯甲烷-甲醇(2:1)、甲醇为流动相洗脱得到 8 个组分(2901-2908)。将 2902 经制备 HPLC 纯化, 甲醇为流动相洗脱得到化合物 6(5.4 mg), 化合物 7(6.0 mg)。

2 结果

从海绵中分离得到 8 个化合物。

2.1 化合物 1 牛磺酸, 白色无定形粉末。ESI-MSm/z 126.02 [M+H]⁺(分子式 C₂H₇NO₃S)。¹H NMR(D₂O, 400 MHz)δ: 3.66 (2H, t, J = 6.4 Hz), 3.85 (2H, t, J = 6.4 Hz); ¹³C-NMR(D₂O, 100 MHz)δ: 37.3, 49.2。

2.2 化合物 2 乙酰牛磺酸, 白色粉末。ESI-MSm/z 166.03 [M-H]⁻(分子式 C₄H₉NO₄S)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz)δ: 1.76 (3H, s, -CH₃), 2.57 (2H, t, J = 7.4 Hz, -CH₂-SO₃⁻), 3.27 (2H, m, N-CH₂-C), 7.79 (1H, s, -NH-); ¹³C-NMR(DMSO-d₆, 100 MHz)δ: 22.8 (-CH₃), 35.5 (N-CH₂-C), 50.6 (-CH₂-SO₃⁻), 168.9 (C=O)。

2.3 化合物 3 N-甲基吡啶-2-羧酸盐, 无色针晶。ESI-MSm/z 138.07 [M+H]⁺(分子式 C₇H₇NO₂)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz)δ: 4.30 (3H, s, N-CH₃), 7.84 (1H, t, J = 6.0 Hz, 5-H), 7.90 (1H, d, J = 7.6 Hz, 3-H), 8.41 (1H, t, J = 7.6 Hz, 4-H), 8.72 (1H, d, J = 6.0 Hz, 6-H); ¹³C-NMR(DMSO-d₆, 100 MHz)δ: 46.0 (N-CH₃), 125.0 (C-5), 125.5 (C-3), 144.5 (C-6), 145.2 (C-4), 156.2 (C-2), 161.3 (COO⁻)。

2.4 化合物 4 zooanemonin, 黄色油状。ESI-MSm/z 155.07 [M+H]⁺(分子式 C₇H₁₀N₂O₂)。¹H NMR(D₂O, 400 MHz)δ: 3.65 (2H, s, 6-H), 3.77 (3H, s, 9-H), 3.87 (3H, s, 8-H), 7.26 (2H, s, 5-H), 8.60 (1H, s, 2-H); ¹³C-NMR(D₂O, 100 MHz)δ: 32.4 (C-6), 33.5 (C-9), 36.0 (C-8), 122.0 (C-5), 132.1 (C-4), 136.8 (C-2), 176.0 (COO⁻)。

2.5 化合物 5 N-丁基乙酰胺, 无色油状。ESI-MSm/z 116.10 [M+H]⁺(分子式 C₆H₁₃NO)。¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz)δ: 0.70 (3H, t, J = 7.4 Hz, -CH₃), 1.09-1.18 (2H, m, -CH₂), 1.24-1.32 (2H, m, -CH₂), 1.77 (3H, s, -CH₃), 2.99 (2H, q, J = 7.0 Hz, -NCH₂), 6.94 (1H, s, -NH); ¹³C-NMR(CDCl₃, 100 MHz)δ: 13.4 (C-6), 19.8 (-CH₃), 22.7 (-CH₃), 31.3 (N-CH₂-C), 39.1 (N-CH₂-), 170.5 (C=O)。

2.6 化合物 6 尿嘧啶, 淡黄色固体。ESI-MSm/z 113.03 [M+H]⁺(分子式 C₄H₄N₂O₂)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz)δ: 5.40 (1H, d, J = 7.5 Hz, =CH-), 7.37 (1H, d, J = 7.5 Hz, =CH-), 10.76 (1H, s, -NH), 10.88 (1H, s, -NH); ¹³C-NMR(DMSO-d₆, 100 MHz)δ: 100.1 (C-1), 142.6 (C-6), 151.0 (C-2), 163.9 (C-4)。

2.7 化合物 7 3-甲基尿嘧啶, 白色粉末。ESI-MSm/z 127.04 [M+H]⁺(分子式 C₅H₆N₂O₂)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400 MHz)δ: 3.39 (3H, s, -CH₃), 5.41 (1H, d, J = 7.6 Hz, =CH-), 7.37 (1H, d, J = 7.5 Hz, =CH-); ¹³C-NMR(DMSO-d₆, 100 MHz)δ: 62.8 (-CH₃), 100.2 (C-1), 142.5 (C-6), 151.7 (C-2), 164.5 (C-4)。

2.8 化合物 8 苯甲酸, 无色针晶。ESI-MSm/z 121.04 [M-H]⁻(分子式 C₇H₆O₂)。¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz)δ: 7.46 (2H, t, J = 7.5 Hz, 3, 5-H), 7.60 (1H, t, J = 7.3 Hz, 4-H), 8.11 (2H, t, J = 7.7 Hz, 2, 6-H), 11.12 (1H, br. s, -COOH); ¹³C-NMR(CDCl₃, 100 MHz)δ: 128.5 (C-3), 129.4 (C-1), 130.3 (C-2), 133.9 (C-4), 172.8 (COOH)。

3 讨论

本文对美丽属海绵进行化学成分分离、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结构。结果表明, 从美丽属海绵分离得到 8 个化合物, ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献报道一致, 依次鉴定为牛磺酸(1)^[13], 乙酰牛磺酸(2)^[14], N-甲基吡啶-2-羧酸盐(3)^[13], zooanemonin(4)^[15], N-丁基乙酰胺(5)^[16], 尿嘧啶(6)^[17], 3-甲基尿嘧啶(7)^[18], 苯甲酸(8)^[19]。化合物 1-5 和 7-8 均为首次从该属海绵中分离得到, 当前海绵已经成为海洋药物研究的热点之一, 本文丰富了美丽属海绵化学

成分的研究,为进一步研究美丽属海绵的药理活性提供基础。例如:牛磺酸作为人体必需氨基酸,在生物体内参与一系列生理过程^[20],如调节渗透压^[21],稳定细胞膜^[22],抗氧化^[23]等,本文所得的牛磺酸类物质可以进一步拓展美丽属海绵的药理活性研究,以及有关该类物质构效关系对于其药理作用机制影响的研究。

参考文献:

- [1] 黄日明,彭燕,周雪峰,等.南海美丽海绵属化学成分研究[J]. 中国药学杂志,2010,45(5):338
- [2] 王旭东,范伟,于豪冰,等.扁版海绵属化学成分及生物活性研究进展[J]. 中草药,2011,42(8):1633
- [3] Daletos G, Kalscheuer R, Koliwer-Brandl H, et al. Callyaerins from the Marine Sponge *Callyspongia aerizusa*: CyclicPeptides with Antitubercular Activity[J]. J Nat Prod, 2015, 78(8):1910
- [4] Shaala L A, Youssef D T, Ibrahim S R, et al.Callyptide A, a new cytotoxic peptide from the RedSea marine sponge *Callyspongia* species[J]. Natural Product Research, 2016:1
- [5] Kim C K, Woo J K, Lee Y J, et al.Callyazepin and (3R) Methylazacyclodecane, Nitrogenous Macrocycles from a *Callyspongia* sp. Sponge[J]. J Nat Prod 2016, 79(4):1179
- [6] Huang R M, Ma W, Dong J D, et al. A New1,4-Diazepine from South China Sea Marine Sponge*Callyspongia* Species[J]. Molecules, 2010,15(2):871
- [7] Abdelmohsen U R, Cheng C, Reimer A, et al.Antichlamydia Sterol from the Red Sea Sponge*Callyspongia*aff. *Implexa*[J]. Planta Med, 2015, 81(5): 382
- [8] Chevallier C, Bugni T S, Feng X, et al. Tedanolide C: a potent new 18-membered ring cytotoxic macrolide isolated from the Papua New Guinea marine sponge *Ircinia* sp. [J]. J Org Chem, 2006, 71(6): 2510
- [9] Singh A J, Xu C X, Xu X, et al. Peloruside B, a potent antitumor macrolide from the New Zealand marine sponge *Mycalohentscheli*: isolation, structure, total synthesis, and bioactivity[J]. J Org Chem, 2010, 75(1): 2
- [10] Xu W H, Ding Y, Jacob M R, et al. Puupehanol, a sesquiterpene-dihydroquinone derivative from the marine sponge *Hyrtios* sp. [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2009, 19(21): 6140
- [11] Dai J Q, Liu Y, Zhou Y D, et al. Cytotoxic metabolites from an Indonesian sponge *Lendenfeldia* sp.[J]. J Nat Prod, 2007, 70(11): 1824
- [12] Dai J, James A F, Zhou Y D, 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
- [13] 张淑瑜, 易杨华, 汤海峰, 等. 太平洋侧花海葵中的化学成分[J]. 中国海洋药物, 2003, 22(4): 250
- [14] Mayer J, Denger K, Smits T H, et al. N-Acetyltaurine dissimilated via taurine by *Delftia acidovorans* NAT[J]. Archives of Microbiology, 2006, 186(1): 61
- [15] Hattori T, Matsuo S, Adachi K, et al. Isolation of anti fouling substances from the Palauan sponge *Protophliaspongia* [J]. Fisheries Science, 2001, 67(4): 690
- [16] Kalla R M N, Lim J, Bae J, et al. Sulfated choline ionic liquid-catalyzed acetamide synthesis by grindstone method[J]. Tetrahedron Letters, 2017, 58(16): 1595
- [17] 邹嵘嵘, 易杨华, 姚新生, 等. 海地瓜化学成分研究[J]. 中国天然药物, 2004, 2(6): 348
- [18] 吴帅, 徐崑, 杨秀伟. 人源肠内菌转化通脉方的化学研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(20): 3510
- [19] 纪明昌, 郭大乐, 蒋舜媛, 等. 石柑子中酚酸类化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(4): 609
- [20] 宋春梅, 马洪波. 牛磺酸的生物学作用[J]. 吉林医药学院学报, 2005, 26(4):231
- [21] Lake N. Loss of cardiac myofibrils: mechanism of contractile deficits induced by taurine deficiency[J]. Am J Physiol, 1993, 264(4):1323
- [22] 周宝宽, 林静, 于肯明, 等. 牛磺酸膜稳定作用的实验研究[J]. 中国药理学通报, 1997, 13(3):227
- [23] Nakamori K, Koyama I, Nakamura T, et al. Effectiveness of taurine in protecting biomembrane against oxidant[J]. Chem Pharm Bull, 1990, 38(11):3116

(2018-03-31 收稿)

欢迎投稿

欢迎订阅