

文章编号 1006-8147(2020)04-0306-03

论 著

中国南海海绵 *Ircinia* sp. 中化学成分的研究

王玲莉, 于欢, 张冬丽, 乔卫, 唐生安

(天津医科大学药学院天然药物学系, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070)

摘要 目的: 对采自广西涠洲岛海域海绵 *Ircinia* sp. 进行化学研究以获得结构新颖的新化合物。方法: 运用高速逆流色谱、凝胶渗透色谱、硅胶柱色谱和半制备型高效液相色谱等多种技术分离纯化, 再通过质谱、碳谱和质谱等谱学解析方法鉴定出单体成分的结构。结果: 从海绵 *Ircinia* sp. 中分离鉴定出 5 个化合物, 分别命名为 cholest-7-en-6R-methoxy-3S,5R-diol(1), cholest-7-en-3S,5R,6R-triol(2), cholest-7,22-dien-6R-methoxy-3S,5R-diol(3), 鲨肝醇(4)和邻苯二甲酸正丁酯(5)。结论: 化合物 1~3 为首次从该属海绵中分离得到。

关键词 南海海绵; *Ircinia* sp.; 结构鉴定; 甾醇

中图分类号 R284.2

文献标志码 A

Studies on chemical constituents of the marine sponge *Ircinia* sp. from the South China Sea

WANG Ling-li, YU Huan, ZHANG Dong-li, QIAO Wei, TANG Sheng-an

(Department of Natural Medicines, School of Pharmacy, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: Chemical components of the marine sponge *Ircinia* sp. from the South China Sea were studied in order to obtain new compounds with novel structures. **Methods:** HSCCC, GPC, Silica gel column chromatography and semi-preparative HPLC were performed to isolate and purify the dichloromethane extract of the marine sponge *Ircinia* sp. The structures of compounds were identified by spectroscopic methods such as ^1H NMR, ^{13}C NMR, 2D NMR and MS. **Results:** Five compounds were obtained and identified, including three steroids, namely cholest-7-en-6R-methoxy-3S,5R-diol (1), cholest-7-en-3S,5R,6R-triol (2) and cholest-7,22-dien-6R-methoxy-3S,5R-diol(3), one diol, namely batyl alcohol(4), and one lipid, namely dibutyl phthalate (5). **Conclusion:** Compounds 1-3 are obtained for the first time from the genus *Ircinia*.

Key words marine sponge; *Ircinia* sp.; structure identification; sterol

海绵是一种进化了 7 亿~8 亿年的古老多细胞动物, 广泛分布在各种水域中。它作为一种静止不动的海洋生物, 能产生多种次生代谢产物, 作为对抗微生物及捕食者的化学防御物质^[1]。寻常海绵纲的 *Ircinia* 属海绵能释放低分子量的挥发性化合物, 使它们具有难闻的蒜臭味^[2]。目前已经从该属海绵分离得到甾体、萜烯、内酯和生物碱等多种类型成分^[3-5]。这些化学成分具有抗肿瘤、抗寄生虫和抗菌等多种生物活性^[5-8]。本文采用多种现代分离纯化色谱技术及波谱解析方法, 对采自中国广西涠洲岛海域的 *Ircinia* 属海绵进行提取分离和结构鉴定, 通过与已报道的文献数据进行分析对比, 确定了 5 个化合物的结构信息。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂和材料 Brucker AV 400 核磁共振

基金项目 天津市自然科学基金重点项目(16JCZDJC32600); 中国博士后基金项目(2016M591399)

作者简介 王玲莉(1993-), 女, 硕士在读, 研究方向: 天然药物化学;
通信作者: 唐生安, E-mail: tangshengan@tmu.edu.cn。

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 (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); 有机溶剂均为天津市化学试剂一厂分析纯产品; 高效液相色谱所用试剂均为本实验室精馏自制; 氘代试剂均为 Cambridge Isotope Laboratories, Inc. USA 生产。

本文所用海绵采自中国广西壮族自治区涠洲岛海域, 经天津医科大学药学院唐生安副教授鉴定为南海海绵 *Ircinia* sp., 样本编号为 WZA-16, 存放于天津医科大学药学院。

1.2 提取分离 将海绵 *Ircinia* sp.(干重 463.0 g)粉碎, 加 95%乙醇进行回流提取(2 L×3), 合并提取液并减压浓缩, 得到总浸膏, 加水混悬, 依次用水饱和的二氯甲烷、正丁醇萃取, 分别得到二氯甲烷萃取物 19.0 g, 正丁醇萃取物 6.0 g。

将 WZA-16 二氯甲烷萃取物用 ODS-A 柱进行

梯度洗脱,依次加入洗脱液为甲醇:水(5:5、6:4、7:3、8:2、9:1)、甲醇、乙酸乙酯、甲醇(加5%冰醋酸),得到14个组分0101~0114。0109(5.0 g)组分经HW-40凝胶柱,以二氯甲烷:甲醇=2:1为流动相,得组分0201~0206。将0204~0206(4.0 g)合并,过正相硅胶柱,以二氯甲烷:乙酸乙酯:甲醇(8:0.3:0.1→8:1:0.5),二氯甲烷:甲醇(4:1),甲醇为流动相,得组分0301~0315。取0306(51.3 mg)经ODS-A柱分离,以甲醇:水(9:1),甲醇为流动相,得组分0501~0509。

将0305(308.3 mg)合并,经ODS-A柱分离,以甲醇:水(85:15),甲醇为流动相,得组分0601~0612。

将0505~0506(28.0 mg)合并后经正相HPLC,以二氯甲烷:乙酸乙酯:甲醇(10:2:0.5)为流动相,得单体1、2和3。将0603和0605经上述方法,分别得单体4和5。

2 结果

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

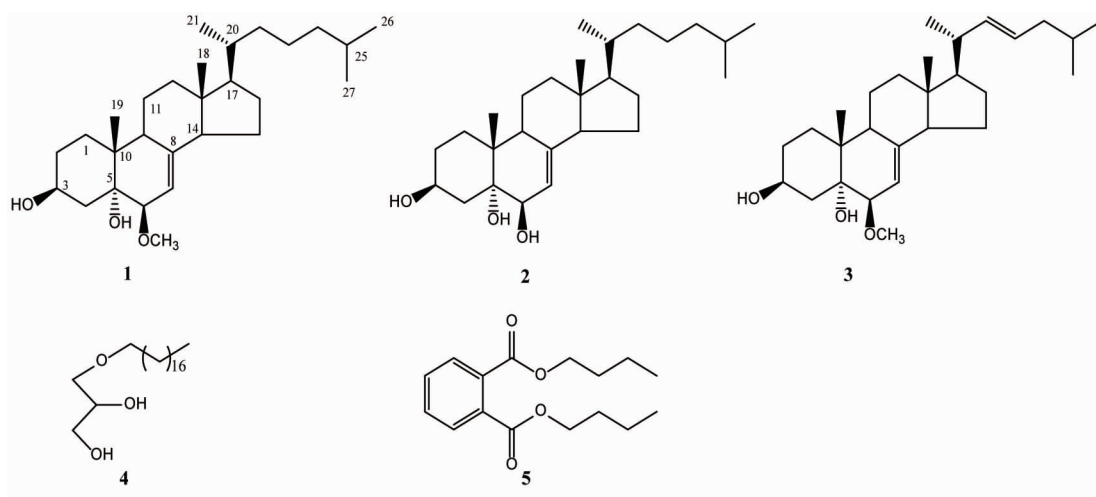


图1 从南海海绵 *Ircinia* sp. 中分离得到的化合物

Fig1 Compounds 1-5 isolated from the South China Sea marine sponge *Ircinia* sp

2.1 化合物1,白色无定形粉末 EI-MS 给出分子离子峰为 m/z :432 $[M]^+$, 结合 1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱推测其分子式为: $C_{28}H_{48}O_3$ 。分析 1H NMR 谱($CDCl_3$, 400 MHz),发现有1个烯质子信号 δ_H 5.41(1H, br d, $J=2.4$ Hz, H-7),1个甲氧基质子信号 [δ_H 3.39(3H, s, 6-OCH₃)],2个含氧次甲基质子信号 [δ_H 4.07(1H, m, H-3), 3.18(1H, br d, $J=4.4$ Hz, H-6)],5个甲基质子信号 [δ_H 0.59(3H, s, H-18), 0.86(3H, d, $J=6.8$ Hz, H-27), 0.87(3H, d, $J=6.8$ Hz, H-26), 0.93(3H, d, $J=6.4$ Hz, H-21), 1.00(3H, s, H-19)]。 ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) 谱和 DEPT 谱给出了28个碳信号,其中有6个甲基碳信号 (δ_C 12.1, 18.4, 18.8, 22.2, 22.9, 58.3),10个 sp^3 杂化的亚甲基碳信号 (δ_C 22.2, 23.0, 23.9, 27.8, 30.9, 32.8, 36.1, 39.5, 39.5, 39.6),2个 sp^3 杂化的含氧次甲基碳信号 (δ_C 67.9, 82.5),5个 sp^3 杂化的次甲基碳信号 (δ_C 28.0, 36.2, 43.9, 54.9, 58.2),1个 sp^3 杂化的含氧季碳信号 (δ_C 76.4),1个 sp^2 杂化的次甲基碳信号 (δ_C 115.0),1个 sp^2 杂化的季碳信号 (δ_C 143.7)。通过与文献报道的化合物的波谱数据进行比较,发现化合物1与已知化合物 cholest-7-en-6R-methoxy-3S,5R-diol 的结

构一致,故化合物1被鉴定为 cholest-7-en-6R-methoxy-3S,5R-diol^[9]。

2.2 化合物2,无定形粉末 ESI-MS 给出准分子离子峰为 m/z :419 $[M+H]^+$ 。 1H NMR 谱($CDCl_3$, 400 MHz)显示,1个烯质子信号 δ_H 5.65(1H, br s, H-7),2个含氧次甲基质子信号 [δ_H 4.06(1H, m, H-3), 3.50(1H, br s, H-6)],5个甲基质子信号 [δ_H 0.59(3H, s, H-18), 0.86(3H, d, $J=6.8$ Hz, H-27), 0.87(3H, d, $J=6.8$ Hz, H-26), 0.93(3H, d, $J=6.4$ Hz, H-21), 0.95(3H, s, H-19)]。化合物2的氢谱与碳谱与化合物1基本一致,不同之处在于氢谱中化合物2没有甲氧基的信号,并且H-6的化学位移向低场位移至3.50;另外,碳谱中C-6的化学位移由化合物1的 δ_C 82.5,向高场位移至化合物2的 δ_C 77.8,并且化合物2的碳谱中也无甲氧基碳信号存在。因此,可以推断化合物2的C-6位为羟基取代,与文献报道的 cholest-7-en-3S,5R,6R-triol 的结构一致,故化合物2被鉴定为 cholest-7-en-3S,5R,6R-triol^[10]。

2.3 化合物3,白色无定形粉末 ESI-MS 给出准分子离子峰为 m/z :431 $[M+H]^+$ 。 1H NMR 谱($CDCl_3$, 400 MHz) 给出1个甲氧基质子信号 δ_H 3.17(3H, s,

CH₃O-6)], 2个含氧次甲基质子信号[δ_{H} 4.08(1H, m, H-3), 3.01 (1H, br d, H-6)]; 5个甲基质子信号[δ_{H} 0.59 (3H, s, CH₃-18), 0.85 (3H, d, $J=6.4$ Hz, H-27), 0.87 (3H, d, $J=6.8$ Hz, CH₃-26), 0.92 (3H, d, $J=6.8$ Hz, CH₃-21), 1.02 (3H, s, CH₃-19)]; 3个烯质子信号[δ_{H} 5.41 (1H, br d, H-7), 5.19 (2H, m, H-22, H-23)]。氢谱数据显示化合物**3**与化合物**1**非常相似, 区别为在于化合物**3**在H-22和H-23位为双键, 多了两个烯质子。通过与文献报道化合物的波谱数据进行比较, 发现化合物**3**与已知化合物cholest-7-en-6R-methoxy-3S,5R-diol的结构一致, 故化合物**3**被鉴定为cholest-7-en-6R-methoxy-3S,5R-diol^[9]。

2.4 化合物4, 白色固体 EI-MS给出分子离子峰为 m/z : 344 [M]⁺, 结合¹H NMR和¹³C NMR光谱推测其分子式为: C₂₁H₄₄O₃。¹H NMR谱(CDCl₃, 400 MHz)数据显示16个侧链次甲基质子信号 δ_{H} 1.26~1.57 (32H, m), 7个连氧碳上质子信号[δ_{H} 3.86 (1H, m)和3.71 (1H, dd, $J=3.7, 11.4$ Hz), 3.62 (1H, dd, $J=5.4, 11.4$ Hz), 3.52~3.45 (4H, m)], 2个羟基质子信号 δ_{H} 2.67 (2H, br s), 1个甲基质子信号 δ_{H} 0.88 (3H, t, $J=6.4$ Hz)。¹³C NMR (CDCl₃, 100MHz)谱给出了21个碳信号, 分别为: δ_{C} 72.6 (C-1), 71.9 (C-2), 64.4 (C-3), 70.4 (C-1'), 29.4 (C-2'), 26.1 (C-3'), 29.7 (C-4'~C-15'), 22.7 (C-16'), 31.94 (C-17'), 14.1 (C-18')。通过与文献报道的化合物的波谱数据进行比较, 发现化合物**4**与已知化合物鲨肝醇的结构一致, 故化合物**4**被鉴定为鲨肝醇^[11]。

2.5 化合物5, 淡黄色油状物 ESI-MS给出准分子离子峰为 m/z : 279[M+H]⁺, 结合¹H NMR和¹³C NMR光谱推测其分子式为: C₁₆H₂₂O₄。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃)谱给出4个芳香氢质子信号[δ_{H} 7.64 (2H, m, H-3, H-6), 7.46 (2H, m, H-4, H-5)], 4个连氧碳上质子信号 δ_{H} 4.23 (4H, t, $J=6.7$ Hz, H-1', H-1''), 8个饱和碳上质子信号[δ_{H} 1.64 (4H, m, H-2', H-2''), 1.38 (4H, m, H-3', H-3'')], 2个甲基信号 δ_{H} 0.89 (6H, t, $J=7.4$ Hz, H-4', H-4'')。通过与文献报道的化合物的波谱数据进行比较, 发现化合物**5**与已知化合物邻苯二甲酸正丁酯的结构一致, 故化合物**5**被鉴定为邻苯二甲酸正丁酯^[12]。

3 讨论

本实验运用各种色谱分离手段, 包括硅胶柱色谱、凝胶柱色谱和半制备高效液相色谱等现代分离

技术手段, 从采集自中国涠洲岛海域的海绵生物*Ircinia* sp.的二氯甲烷提取部位中获得5个化合物。再经过核磁共振波谱、质谱等方法, 确定了这5个化合物的化学结构。通过与文献数据中的氢谱、碳谱数据对比分析, 确定了*Ircinia* sp.中分离的5个化合物分别是cholest-7-en-6R-methoxy-3S,5R-diol (**1**), cholest-7-en-3S,5R,6R-triol (**2**), cholest-7,22-dien-6R-methoxy-3S,5R-diol (**3**), 鲨肝醇(**4**)和邻苯二甲酸丁酯(**5**)。其中化合物**1**~**3**为首次从该属海绵中分离得到。本文的研究成果使*Ircinia*属海绵的化学多样性得以丰富, 尤其是扩充了甾体类化合物的结构内容, 对进一步研究该属海绵的类似单体成分提供了理论支持, 为寻找甾体类新药的先导化合物, 开发海洋药物提供了结构依据。

参考文献:

- [1] 王焕南, 孙一甲, 张震. 海绵抗肿瘤活性成分研究进展[J]. 济宁医学院学报, 2019, 42(4): 271
- [2] Pawlik J R, McFall G, Zea S. Does the odor from sponge of the genus *Ircinia* protect them from fish predators? [J]. J Chem Ecol, 2002, 28(6): 1103
- [3] Trinh T T V, Truong B N, Longeon A, et al. New 9 α -Hydroxy-5 α , 6 α -epoxyhydroxysterols from the Vietnamese marine sponge *Ircinia echinata*[J]. Mar Drugs, 2018, 16(11): 424
- [4] Lai Y Y, Lu M C, Wang L H, et al. New scalarane sesterterpenoids from the Formosan sponge *Ircinia felix*[J]. Mar Drugs, 2015, 13(7): 4296
- [5] Pettit G R, Xu J P, Chapuis J C, et al. Antineoplastic agents. 520. isolation and structure of irciniastatins A and B from the indo-pacific marine sponge *Ircinia ramosa*[J]. J Med Chem, 2004, 47(5): 1149
- [6] Bringmann G, Lang G, Gulder T A M, et al. The first sorbicillinoid alkaloids, the antileukemic sorbicillactones A and B, from a sponge-derived penicillium chrysogenum strain[J]. Tetrahedron, 2005, 61: 7252
- [7] Orhan I, Şener B, Kaiser M, et al. Inhibitory activity of marine sponge-derived natural products against parasitic protozoa [J]. Mar Drugs, 2010, 8(1): 47
- [8] Subugade S, Mokashe S, Gupta S G, et al. Antimicrobial potential of the marine intertidal sponge, *Ircinia fusca* from west coast of India[J]. Indian J Pharm Biol Res, 2015, 3(3): 12
- [9] Aiello A, Ciminiello P, Fattorusso E, et al. 3 β , 5 α -dihydroxy-6 β -methoxycholest-7-enes from the marine sponge *Spongia agarinosa*[J]. J Nat Prod, 1988, 51(5): 999
- [10] Piccialli V, Donato S. Four new trihydroxylated sterols from the sponge *Spongionella gracilis*[J]. J Nat Prod, 1987, 50(5): 915
- [11] 王贵阳生, 刘青, 曾陇梅. 中国南海软珊瑚 *Cladiella densa* 的化学成分研究[J]. 中山大学学报(自然科学版), 1995, 34(1): 110
- [12] 许娇娇, 靳德军, 王佳, 等. 中国南海海绵 *Haliclona* sp. 中化学成分的研究[J]. 天津医科大学学报, 2015, 21(5): 385

(2019-12-04 收稿)