

南海海绵 *Hyrtios* sp. 中

倍半萜类次生代谢产物*

代树文^{1,2}, 徐彬², 田园^{2,3}, 杨帆², 张翠仙¹

(1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006;

2. 上海交通大学医学院附属仁济医院药剂科, 上海 200127;

3. 集美大学食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021)

摘要: 对一种南海海绵 *Hyrtios* sp. 的化学成分进行了研究。利用正相硅胶柱色谱、ODS 柱色谱以及高效液相色谱等多种现代分离手段对南海海绵 *Hyrtios* sp. 二氯甲烷萃取层的化学成分进行分离纯化得到 7 个化合物, 通过理化性质和波谱数据确定这些化合物结构依次为 smenospongimine (1)、smenospongiarine (2)、sesquiter-penyl-amyl-amino-hydroxy-quinone (3)、smenospongidine (4)、dictyoceratin C (5)、dictyoceratin A (6) 和 polyfibrospongol A (7)。化合物 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 均为首次从该属海绵中分离得到。

关键词: *Hyrtios* 属海绵; 化学成分; 结构鉴定

中图分类号: O629 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579 (2017) 04-0091-06

Sesquiterpenes from marine sponge *Hyrtios* sp. of South China Sea

DAI Shuwen^{1,2}, XU Bing², TIAN Yuan^{2,3}, YANG Fan², ZHANG Cuixian¹

(1. School of Chinese Meterial Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

2. Department of Pharmacy, Ren Ji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200127, China;

3. College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: To investigate the secondary metabolites from the marine sponge *Hyrtios* sp. of South China Sea, seven compounds were isolated from the dichloromethane extraction of *Hyrtios* sp. by Silica gel, ODS and HPLC. Their structures were identified by spectroscopic analysis and comparison with the literature as smenospongimine (1), smenospongiarine (2), sesquiter-penyl-amyl-amino-hydroxy-quinone (3), smenospongidine (4), dictyoceratin C (5), dictyoceratin A (6) and polyfibrospongol A (7), respectively. Compounds 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 were isolated from the genus of *Hyrtios* for the first time.

Key words: *Hyrtios*; secondary metabolites; identification

海绵作为结构新颖并具有良好生物活性天然产物的重要来源之一, 一直受到国内外学者的关注。*Hyrtios* 属海绵为寻常海绵纲 Demospongiae、网角海绵目 Dictyoceratida、冑甲海绵科 Thorectidae。该属

海绵化学成分研究较多的为 *Hyrtios erecta*^[1-2]、*H. altum*^[3]、*H. reticulatus*^[4] 等。至今已从该属海绵中分离得到多种类型的次生代谢产物, 这些次生代谢产物很多都表现出抗肿瘤、抗有丝分裂、抗菌等多

* 收稿日期: 2017-04-05

基金项目: 北京医学奖励基金资助项目 (YJHYXKYJJ-125); 上海市科委科技支撑项目 (15431900900); 广东省自然科学基金 (2014A030313411); 广东省科技计划项目 (2015A020216017)

作者简介: 代树文 (1991 年生), 男; 研究方向: 天然药物化学; E-mail: 1363123712@qq.com

通信作者: 张翠仙 (1975 年生), 女; 研究方向: 天然药物化学; E-mail: zhangcuixian@aliyun.com

种生物活性^[5-9], 其中最具代表性的为二倍半萜类和生物碱类。如从该属海绵 *Hyrtios* sp. 中得到的二倍半萜化合物 sesterstamide, 表现出一定的抗利什曼虫活性, 其 IC_{50} 值为 $32 \mu\text{g}/\text{mL}$ ^[10]。

本文对一种采自于中国南海永兴岛附近海域的海绵 *Hyrtios* sp. 进行了化学成分研究, 从中分离得到了 7 个倍半萜类化合物, 经过 NMR 和 MS 及物理常数对照确定结构为 smenospongimine (**1**)、smenospongiarine (**2**)、sesquiter-penyl-amyl-amino-hydroxy-quinone (**3**)、smenospongidine (**4**)、dictyoceratin C (**5**)、dictyoceratin A (**6**) 和 polyfibrospongol A (**7**)。所有化合物均为首次从该属海绵中分离得到。该研究进一步扩展了 *Hyrtios* sp. 海绵化学成分多样性, 为进一步深入研究其化学成分和生物活性奠定了基础。

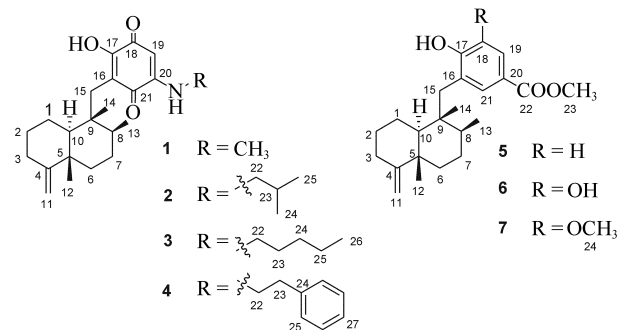


图 1 南海海绵 *Hyrtios* sp. 中分离得到的倍半萜类化合物

Fig. 1 The structures of seven compounds from *Hyrtios* sp.

1 实验部分

1.1 实验仪器与试剂

Agilent ProPulse 600 MHz 超导核磁共振波谱仪 (美国 Agilent 公司); Waters Xevo G2 - XS QTOF 型高分辨质谱仪 (美国 Waters 公司); 旋转蒸发器 (EYELA - 1000 型); Waters 高效液相色谱仪 (waters 1525/2998); Xbridge Prep C18 $5 \mu\text{m}$ $250 \times 10 \text{ mm}$ Column; 色谱级甲醇、乙腈 (Cinc High Purity Solvents Co. Ltd.); 层析硅胶 (200 ~ 300 目, 烟台江友硅胶开发有限公司); ODS 填料 (YMC 公司) 其他有机试剂均为分析纯 (上海化学试剂公司); 显色剂为 $\varphi = 12\%$ 硫酸香草醛乙醇溶液。

1.2 实验材料

海绵样品于 2010 年 7 月采于中国南海永兴岛附近海域, 经中国科学院青岛海洋所李锦和研究员鉴定为 *Hyrtios* 属海绵 *Hyrtios* sp.。样品标本 (编号: HY) 现存放于上海交通大学医学院癌基因与

相关基因国家重点实验室海洋药物研究中心。

1.3 样品提取分离与纯化

冷冻干燥海绵样品 (500 g) 剪碎, $\varphi = 95\%$ 乙醇渗漉提取, 合并所得提取液后, 减压浓缩得浸膏约 100 g。浸膏混旋于 1 L 水中, 等体积二氯甲烷萃取 3 次, 合并所得萃取液, 减压浓缩得二氯甲烷萃取物 12 g。

二氯甲烷萃取物 (12 g) 以石油醚/乙酸乙酯 (体积比为 50:1, 25:1, 15:1, 10:1, 5:1, 1:1, 0:1) 为流动相, 采用 VLC 色谱柱进行梯度洗脱, TLC (显色剂为 $\varphi = 12\%$ 硫酸香草醛试剂) 追踪合并得到 11 个组分 (Fr1 - Fr11)。经进一步的 ODS 柱色谱、硅胶柱色谱和 HPLC 分离纯化得到 7 个化合物, 具体分离过程见流程图。

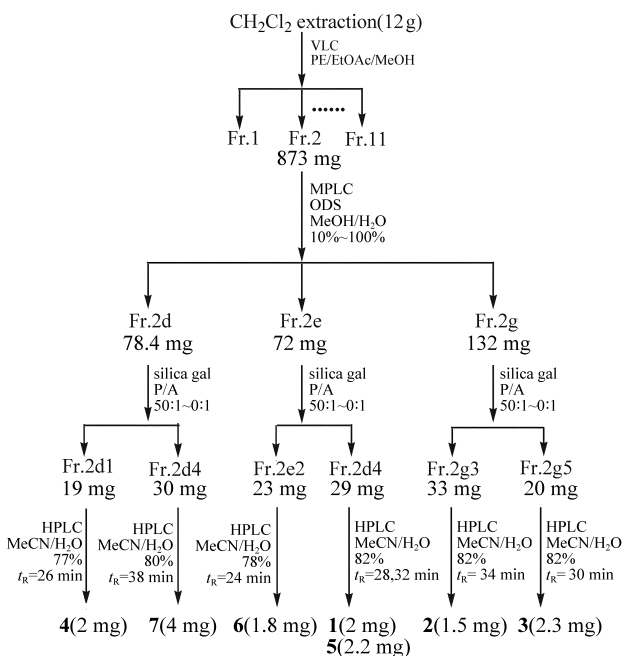


图 2 南海海绵 *Hyrtios* sp. 分离流程

Fig. 2 Isolation method of *Hyrtios* sp.

1.4 物理常数和波谱数据

化合物 **1**: 紫色无定形粉末 (MeOH), ESI-MS m/z : 356 $[M - H]^-$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) 和 ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) 数据见表 1 和表 2。

化合物 **2**: 紫色无定形粉末 (MeOH), ESI-MS m/z : 398 $[M - H]^-$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) 和 ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) 数据见表 1 和表 2。

化合物 **3**: 紫色无定形粉末 (MeOH), ESI-MS m/z : 412 $[M - H]^-$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) 和 ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) 数据见表

1 和表 2。

化合物 4: 紫红色针状结晶 (MeOH), ESI-MS m/z : 446 $[M-H]^-$; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) 和 ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) 数据见表 1 和表 2。

化合物 5: 无色油状 (MeOH), ESI-MS m/z : 355 $[M-H]^-$; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) 和 ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) 数据见表 1 和表 2。

化合物 6: 无色油状 (MeOH), ESI-MS m/z : 371 $[M-H]^-$; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) 和 ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) 数据见表 1 和表 2。

化合物 7: 无色油状 (MeOH), ESI-MS m/z : 385 $[M-H]^-$; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) 和 ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) 数据见表 1 和表 2。

2 结果与讨论

化合物 1, ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 356 $[M-H]^-$, 提示其相对分子质量为 357, 说明其含有 N 元素。结合 ^{13}C NMR 显示 28 个碳信号 (6 个甲基、7 个亚甲基、11 个次甲基和 4 个季碳) 确定其分子式为 $C_{22}H_{31}NO_3$, 计算不饱和度为 8。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) 中给出 1 个氮甲基氢信号 δ_H 2.90 (3H, s), 3 个甲基氢信号 δ_H 0.82 (3H, s)、0.95 (3H, d)、1.03 (3H, s) 以及 1 个末端双键氢信号 δ_H 4.42 (1H, s), 4.43 (1H, s)。NMR 中还给出 1 个四取代双键 [δ_C 113.7 (s) 和 157.3 (s)]、1 个三取代双键 [δ_H 6.46 (1H, s); δ_C 91.6 (d), 151.5 (s)] 以及 2 个羰基 [δ_C 178.3 (s), 182.9 (s)] 暗示化合物 1 结构中可能含有醌环。将 1 的 NMR 数据 (表 1 和 2) 与倍半萜醌化合物 smenospongimine^[11] 对照, 二者基本一致, 故确定其为 smenospongimine。

化合物 2, ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 398 $[M-H]^-$, 提示其相对分子质量为 399, 说明其含有 N 元素。结合 ^{13}C NMR 显示 25 个碳信号 (5 个甲基、8 个亚甲基、4 个次甲基和 8 个季碳) 确定其分子式为 $C_{25}H_{37}NO_3$, 计算不饱和度为 8。通过 2 与化合物 1 的 NMR 的数据对比发现二者数据基本一致, 确定 2 仍为倍半萜醌类化合物, 只是少了氮甲基信号 [δ_C 52.1 (q, C-22)] 而增加了一个异丁基 [δ_C 50.7 (t, C-22), 28.0 (d, C-23), 20.7 (q, C-25, 26)]。将 2 的 NMR 数据 (表 1 和 2) 与 smenospongiarine^[12] 对照, 二者基本一致, 故确定其为 smenospongiarine。

化合物 3, ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z :

412 $[M-H]^-$, 提示其相对分子质量为 413, 说明其含有 N 元素。结合 ^{13}C NMR 显示 26 个碳信号 (4 个甲基、11 个亚甲基、3 个次甲基和 8 个季碳) 确定其分子式为 $C_{26}H_{39}NO_3$, 计算不饱和度为 8。通过 3 与化合物 1 的 NMR 的数据对比发现二者数据基本一致, 确定 3 为倍半萜醌类化合物, 且少了氮甲基信息 [δ_C 52.1 (q, C-22)] 而增加了一个戊基 [δ_C 41.2 (t, C-22), 36.6 (t, C-23), 26.0 (t, C-24), 22.4 (t, C-25), 17.4 (q, C-26)]。将 3 的 NMR 数据 (表 1 和 2) 与 sesquiterpenyl-amyl-amino-hydroxy-quinone^[13] 对照, 二者基本一致, 故确定其为 sesquiterpenyl-amyl-amino-hydroxy-quinone。

化合物 4, ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 446 $[M-H]^-$, 提示其相对分子质量为 447, 说明其含有 N 元素。结合 ^{13}C NMR 显示 29 个碳信号 (3 个甲基、9 个亚甲基、8 个次甲基和 9 个季碳) 确定其分子式为 $C_{29}H_{37}NO_3$, 计算不饱和度为 12。通过 4 与化合物 1 的 NMR 的数据对比发现基本骨架一致, 确定 4 为倍半萜醌类化合物, 且少了氮甲基信息 [δ_C 52.1 (q, C-22)] 而增加了一个苯乙基 [δ_C 43.1 (t, C-22), 34.4 (t, C-23), 137.6 (s, C-24), 128.7 (d, C-25, 29), 129.1 (d, C-26, 28), 126.9 (d, C-27)]。将 4 的 NMR 数据 (表 1 和 2) 与 smenospongidine^[14] 对照, 二者基本一致, 故确定其为 smenospongidine。

化合物 5, ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 355 $[M-H]^-$, 提示其相对分子质量为 356。结合 ^{13}C NMR 显示 23 个碳信号 (4 个甲基、7 个亚甲基、5 个次甲基和 7 个季碳) 确定其分子式为 $C_{23}H_{32}O_3$, 计算不饱和度为 8。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) 谱中显示 1 个甲氧基信号 δ_H 3.87 (3H, s), 3 个甲基信号 δ_H 0.88 (3H, s), 1.02 (3H, d), 1.06 (3H, s), δ_H 6.73 (1H, s, H-18), 7.76 (2H, s) 显示三取代芳香环以及 1 个末端双键氢信号 δ_H 4.38 (1H, s), 4.40 (1H, s)。NMR 中还给出一个羰基信号 δ_C 43.1 (s), 将 5 的 NMR 数据 (表 1 和 2) 与 dictyoceratin C^[15] 对照, 二者基本一致, 故确定其为 dictyoceratin C。

化合物 6, ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 371 $[M-H]^-$, 提示其相对分子质量为 372。结合 ^{13}C NMR 显示 23 个碳信号 (4 个甲基、7 个亚甲基、4 个次甲基和 8 个季碳) 确定其分子式为 $C_{23}H_{32}O_4$, 计算不饱和度为 8。通过 6 与化合物 5 的 NMR 的数据对比发现基本一致, 只是芳香环上发

生羟基取代 δ_{H} 5.93 (1H, br s, HO-18)。将 **6** 的 NMR 数据 (表 1 和 2) 与 dictyoceratin A^[16] 对照, 二者基本一致, 故确定其为 dictyoceratin A。

表 1 7 个化合物的 ^1H NMR 数据 (600 MHz CDCl_3)Table 1 ^1H NMR analysis of seven compounds (600 MHz CDCl_3)

No.	1	2	3	4	5	6	7
1a	1.47 (1H, m)	1.47 (1H, m)	1.47 (1H, m)	1.47 (1H, m)	1.61 (1H, m)	1.47 (1H, m)	1.47 (1H, m)
1b	2.05 (1H, m)	2.03 (1H, m)	2.06 (1H, m)	1.82 (1H, d, 9.6)	1.93 (1H, m)	1.95 (1H, m)	1.95 (1H, m)
2a	1.18 (1H, m)	1.18 (1H, m)	1.18 (1H, m)	1.18 (1H, m)	1.2-1.45 (6H, m)	1.18 (1H, m)	1.18 (1H, m)
2b	1.37 (1H, m)	1.37 (1H, m)	1.37 (1H, m)	1.37 (1H, m)		1.37 (1H, m)	1.37 (1H, m)
3a	2.09 (2H, m)	2.01 (2H, m)	2.07 (2H, m)	2.07 (2H, td, 14.4, 4.2)	2.09 (2H, t, 13.8)	2.09 (2H, d, 13.8)	2.09 (1H, d, 13.8)
3b							2.34 (2H, m)
6a	1.23 (1H, m)	1.23 (1H, m)	1.23 (1H, m)	1.23 (1H, m)	1.2-1.45 (6H, m)	1.23 (1H, m)	1.23 (1H, m)
6b	2.34 (1H, td, 13.2, 5.4)	2.25 (1H, m)	2.29 (1H, m)	2.32 (1H, t, 4.2)	2.34 (1H, m)	2.34 (1H, m)	2.34 (2H, m)
7a	1.30 (1H, m)	1.30 (1H, m)	1.33 (1H, m)	1.30 (1H, m)	1.2-1.45 (6H, m)	1.30 (1H, m)	1.30 (1H, m)
7b	1.43 (1H, m)	1.44 (1H, m)	1.44 (1H, m)	1.43 (1H, m)		1.43 (1H, m)	1.43 (1H, m)
8	1.25 (1H, m)	1.28 (1H, m)	1.28 (1H, m)	1.25 (1H, m)	1.2-1.45 (6H, m)	1.25 (1H, m)	1.25 (1H, m)
10	0.76 (1H, d, 11.4)	0.76 (1H, d, 11.4)	0.77 (1H, d, 11.4)	0.75 (1H, d, 12.0)	0.95 (1H, d, 12.0)	0.95 (1H, d, 12.0)	0.95 (1H, dd, 12.0, 1.8)
11a	4.42 (1H, s)	4.36 (1H, s)	4.42 (1H, s)	4.44 (1H, s)	4.38 (1H, s)	4.38 (1H, s)	4.36 (1H, s)
11b	4.43 (1H, s)	4.38 (1H, s)	4.44 (1H, s)	4.45 (1H, s)	4.39 (1H, s)	4.40 (1H, s)	4.41 (1H, s)
12	1.03 (3H, s)	1.03 (3H, s)	1.04 (3H, s)	1.04 (3H, s)	1.06 (3H, s)	1.07 (3H, s)	1.06 (3H, s)
13	0.95 (3H, d, 6.6)	0.71 (3H, d, 6.0)	0.96 (3H, d, 6.6)	0.95 (3H, d, 6.6)	1.02 (3H, d, 6.6)	1.03 (3H, d, 6.6)	1.03 (3H, d, 6.6)
14	0.82 (3H, s)	0.76 (3H, s)	0.82 (3H, s)	0.82 (3H, s)	0.88 (3H, s)	0.88 (3H, s)	0.87 (3H, s)
15a	2.38 (1H, d, 6.6)	2.33 (1H, d, 6.6)	2.39 (1H, dd, 14.4, 2.4)	2.38 (1H, d, 14.4)	2.66 (1H, d, 14.4)	2.54 (1H, d, 13.8)	2.68(2H, s)
15b	2.47 (1H, d, 6.6)	2.41 (1H, d, 6.6)	2.47 (1H, dd, 14.4, 2.4)	2.47 (1H, d, 14.4)	2.67 (1H, d, 14.4)	2.67 (1H, d, 13.8)	
18					6.73 (1H, s)		

化合物 **7**, ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z : 385 $[M-H]^-$, 提示其相对分子质量为 386。结合 ^{13}C NMR 显示 24 个碳信号 (5 个甲基、7 个亚甲基、4 个次甲基和 8 个季碳) 确定其分子式为 $C_{24}H_{34}O_4$, 计算不饱和度为 8。通过 **7** 与化合物 **5** 的 NMR 的数据对比发现基本一致, 只是芳香环上发生甲氧基取代 $[\delta_H 5.93 (3H, s); \delta_C 56.3 (q, 18-OCH_3)]$ 。将 **7** 的 NMR 数据 (表 1 和 2) 与 polyfibropongol A^[17] 对照, 二者基本一致, 故确定其为 polyfibropongol A。

参考文献:

- [1] YIN L, LI H, CHEN X, et al. Two new scalarane-type sesterterpenoids isolated from the marine sponge *Hyrtios erectus* [J]. Records of Natural Products, 2014, 8(4): 417-421.
- [2] HE W F, XUE D Q, YAO L G, et al. Hainan-erectamines A-C, alkaloids from the Hainan sponge *Hyrtios erecta* [J]. Marine Drugs, 2014, 12(7): 3982-3993.
- [3] KOBAYASHI M, AOKI S, SAKAI H, et al. Altohyrtin A, A potent anti-tumor macrolide from the Okinawan marine sponge *Hyrtios altum* [J]. Tetrahedron Letters, 1993, 34(17): 2795-2798.
- [4] IMADA K, SAKAI E, KATO H, et al. Reticulatin A and B and Hyrtioretulin F from the marine sponge *Hyrtios reticulatus* [J]. Tetrahedron, 2013, 69(34): 7051-7055.
- [5] KHOKHAR S, FENG Y, CAMPITELLI M R, et al. Isolation, structure determination and cytotoxicity studies of tryptophan alkaloids from an Australian marine sponge *Hyrtios* sp. [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2014, 24(15): 3329-3332.
- [6] LI J, DU L, KELLY M, et al. Structures and potential antitumor activity of sesterterpenes from the marine sponge *Hyrtios communis* [J]. Journal of Natural Products, 2013, 76(8): 1492-1497.
- [7] DIAZ-MARRERO A R, MATAINAHO T, VAN S R, et al. Scalarane-based metabolites isolated from the antimitotic extract of the marine sponge *Hyrtios erectus* [J]. Natural Product Research, 2008, 22(15): 1304-1309.
- [8] TANAKA N, MOMOSE R, TAKAHASHI-NAKAGUCHI A, et al. Cheminform abstract: hyrtimomines, indole alkaloids from Okinawan marine sponges *Hyrtios* spp [J]. Tetrahedron, 2014, 70(70): 832-837.
- [9] YOUSSEF D T A, SHAALA L A, ASFOUR H Z. Bioactive compounds from the Red Sea marine sponge *Hyrtios* species [J]. Marine Drugs, 2013, 11(4): 1061-1070.
- [10] YANG F, GAN J H, LIU X Y, et al. Scalarane sesterterpenes from the Paracel Islands marine sponge *Hyrtios* sp. [J]. Natural Product Communications, 2014, 9(6): 763-764.
- [11] KUSHLAN D M, FAULKNER D J, PARKANYI L, et al. Metabolites of the Palauan sponge *Dactylopongia* sp. [J]. Tetrahedron, 1989, 45(11): 3307-3312.
- [12] UTKINA N K, VESELOVA M V. New Sesquiterpene quinones from marine sponges of the order Dictyoceratida [J]. Chemistry of Natural Compounds, 1990, 26(1): 37-40.
- [13] URBAN S. Marine sesquiterpene quinones and hydroquinones: acid-catalyzed rearrangements and stereochemical investigations [J]. Australian Journal of Chemistry, 1994, 47(6): 1023-1029.
- [14] NGUYEN H M, ITO T, WIN N N, et al. New antibacterial sesquiterpene aminoquinones from a Vietnamese marine sponge of *Spongia* sp. [J]. Phytochemistry Letters, 2016, 17: 288-292.
- [15] GORDALIZA M. Cytotoxic terpene quinones from marine sponges [J]. Marine Drugs, 2010, 8(12): 2849-70.
- [16] ZHANG X, XU H Y, HUANG A M, et al. Antibacterial meroterpenoids from the South China Sea sponge *Dysidea* sp. [J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2016, 64(7): 1036-1042.
- [17] SHEN Y C, HSIEH P W. New sesquiterpene hydroquinones from a Taiwanese marine sponge *Polyfibropongia australis* [J]. Journal of Natural Products, 1997, 60(2): 93-97.