

豆荚软珊瑚的次生代谢产物研究(II)*

何细新, 闫素君, 曾陇梅, 苏镜媛
(中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘要: 从中国南海海域采集的豆荚软珊瑚 *Lobophytum* sp. 中分离了3个化合物。经 IR, FABMS, NMR 等波谱技术, 确定它们的化学结构为: (24*S*)-麦角甾-5-烯-3 β ,7 α -二醇, $\Delta^{4,5}(E)$, $\Delta^{8,9}(E)$ -鞘胺醇-正十六碳酰胺, (2*S*, 3*R*, 4*E*, 8*E*)-1-(β -D-吡喃葡萄糖甙)-*N*-[(*R*)-2'-羟基-二十碳酰基]-9-甲基-4,8-二烯-1,3-二醇-2-氨基-十八烷, 其中第3个化合物为新化合物。

关键词: 豆荚软珊瑚 *Lobophytum* sp.; 软珊瑚; 神经酰胺皂甙

中图分类号: O624.421 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2005) 05-0113-03

豆荚属软珊瑚 *Lobophytum* sp. 的次生代谢物中含有一系列具有生理活性的萜类^[1-3]、甙类^[4,5]物质。曾报道从海南岛三亚附近海域采集的豆荚软珊瑚 *Lobophytum* sp. 中分离鉴定了5个甙体皂苷, 它们对人体癌细胞 SKMG-4, Hep-G2 和 CNE2 有较强的抑制活性^[6]。经对该软珊瑚进一步研究, 从中又分离得到3个化合物, 通过波谱分析测定它们的结构依次为: (24*S*)-麦角甾-5-烯-3 β ,7 α -二醇(1), $\Delta^{4,5}(E)$, $\Delta^{8,9}(E)$ -鞘胺醇-正十六碳酰胺(2), (2*S*, 3*R*, 4*E*, 8*E*)-1-(β -D-吡喃葡萄糖甙)-*N*-[(*R*)-2'-羟基-二十碳酰基]-9-甲基-4,8-二烯-1,3-二醇-2-氨基-十八烷(3)。其中3为新化合物, 这类化合物在软珊瑚中不常见, 据文献报道神经酰胺皂对 L1210^[8] 和人黑色素瘤 MEL289^[9] 有强抑制活性。

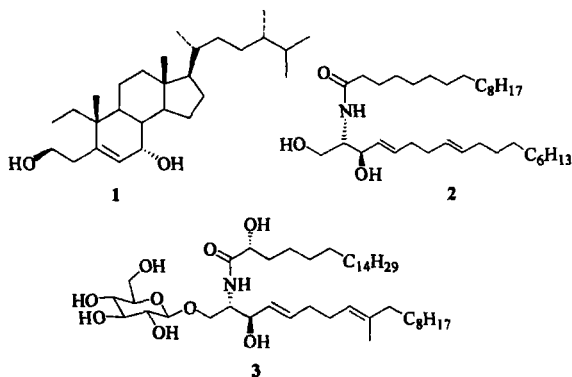


图1 化合物1, 2, 3结构

Fig.1 Structures of compounds 1, 2 and 3

1 实验部分

1.1 样品 豆荚软珊瑚 *Lobophytum* sp. 于2000

年5月采自海南岛三亚市附近海域。

1.2 仪器与试剂 国产5X型显微熔点仪(温度未经校正); EQUINOX-55 红外光谱仪(KBr压片); Virian Unity INOVA 500 MHz型核磁共振仪,¹H NMR谱和¹³C NMR谱的工作频率分别为: 500 MHz和125 MHz, TMS作内标; VG-ZAB-HS质谱仪。柱层析硅胶(200~300目, 60H型), 青岛海洋化工厂产; 所有试剂均为分析纯。

1.3 提取与分离 将豆荚软珊瑚(干质量0.7 kg)切碎, 用 $\varphi=95\%$ 的乙醇室温浸提3次。减压浓缩乙醇, 得棕褐色浓缩物, 依次以乙酸乙酯, 正丁醇萃取。乙酸乙酯萃取相(108 g)用200~300目层析硅胶进行柱层析分离, 以石油醚/乙酸乙酯为梯度洗脱剂。 $\varphi=15\%$ 乙酸乙酯的洗脱液中有1(40 mg); $\varphi=20\%$ 乙酸乙酯的洗脱液中有2(8 mg); $\varphi=40\%$ 乙酸乙酯的洗脱液中有3(50 mg)。

1.4 物理常数及波谱数据

化合物1 无色针状结晶, θ_{mp} 212~214 °C (甲醇)。¹³C NMR (CDCl₃) δ : 146.2(s), 123.9(d), 71.4(d), 65.3(d), 55.6(d), 49.4(d), 42.3(d), 42.1(s), 41.9(t), 39.1(t), 39.0(d), 37.5(d), 37.4(s), 36.9(t), 35.4(d), 33.7(t), 31.5(d), 31.4(t), 30.4(t), 28.2(t), 24.3(t), 21.2(t), 20.7(q), 18.9(q), 18.2(q), 17.6(q), 15.5(q), 11.6(q); ¹H NMR (CDCl₃) δ : 5.61(1H, d, $J=5.0$ Hz, 6-H), 3.86(1H, brs, 7 β -H), 3.58(1H, m, 3 α -H), 2.34(1H, br dd, $J=13.0, 11.0$ Hz, 4 α -H), 2.28(1H, ddd, $J=13.0, 5.5, 2.0$ Hz, 4 β -H), 1.00(3H, s, 19-Me), 0.93(3H, d, $J=$

* 收稿日期: 2005-01-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(29932030); 国家“863”计划资助项目(2001AA620403)

作者简介: 何细新(1972年生), 男, 博士研究生; 通讯联系人: 曾陇梅; E-mail: ceszlm@zsu.edu.cn

6.5 Hz, 21-Me), 0.85, 0.78, 0.78 (each 3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.68 (3H, s, 18-Me)。

化合物 2 白色无定形固体, θ_{mp} 89 ~ 91 °C (丙酮)。IR (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 3 295, 3 080, 2 961, 2 920, 2 851, 1 640, 1 547, 1 467, 1 377, 1 351, 1 284, 1 204, 1 172, 1 041, 967, 895, 721; 1H NMR ($CDCl_3$ /TMS) δ : 6.23 (1H, brd, $J = 7.5$ Hz, N-H), 5.79 (1H, dt, $J = 15.5, 5.0$ Hz, H-5), 5.54 (1H, dd, $J = 15.5, 6.5$ Hz, H-4), 5.43 (1H, dt, $J = 15.5, 6.5$ Hz, H-9), 5.36 (1H, dt, $J = 15.5, 6.5$ Hz, H-8), 4.32 (1H, brd, $J = 5.0$ Hz, H-3), 3.96 (1H, dd, $J = 11.5, 3.5$ Hz, H-1), 3.91 (m, 1H, H-2), 3.71 (1H, dd, $J = 11.5, 3.5$ Hz, H-1), 2.23 (2H, m, 2'-H₂), 2.12 (2H, m, 6-H₂), 2.07 (2H, m, 7-H₂), 1.97 (2H, m, 10-H₂), 1.63 (2H, m, 3'-H₂), 1.26 (多个 H, m), 0.88 (6H, t, $J = 7.0$ Hz); ^{13}C NMR ($CDCl_3$ /TMS) δ : 173.9 (s), 133.6 (d), 131.4 (d), 129.2 (d), 128.9 (d), 74.7 (d), 62.5 (t), 54.5 (d), 36.8 (t), 32.6 (t), 32.3 (t), 32.1 (t), 31.91 (2C, t), 29.69 (nC, t), 29.65 (nC, t), 29.50 (nC, t), 29.36 (nC, t), 29.29 (nC, t), 29.21 (t), 25.8 (t), 22.7 (nC, t), 14.0 (2C, q); FABMS m/z 536 [(M + H), 30%]⁺, 516 [(M + H) - H₂O, 70%]⁺。

化合物 3 白色无定型固体, θ_{mp} 190 ~ 192 °C (甲醇)。IR (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 3 378, 2 921, 2 851, 1 643, 1 536, 1 456, 1 080, 1 036; ^{13}C NMR (CD_3OD) δ : 177.1 (s), 136.7 (s), 134.6 (d), 131.1 (d), 124.8 (d), 104.6 (d), 77.9 (d), 77.8 (d), 74.9 (d), 73.0 (d), 72.8 (d), 71.5 (d), 69.7 (t), 62.6 (t), 54.5 (d), 40.8 (t), 35.8 (t), 33.8 (t), 33.1 (t, 2C), 30.8 (t, nC), 30.7 (t, nC), 30.5 (t, nC), 30.4 (t, nC), 29.1 (t), 28.7 (t), 26.2 (t), 23.7 (t, 2C), 16.2 (q), 14.5 (q); 1H NMR (CD_3OD) δ : 7.72 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 5.73 (1H, dt, $J = 15.5, 6.0$ Hz), 5.47 (1H, dd, $J = 15.5, 7.5$ Hz), 5.14 (1H, t, $J = 6.5$ Hz), 4.26 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 4.14 (1H, dd, $J = 7.0, 5.0$ Hz), 3.98 (2H, m), 3.87 (1H, dd, $J = 10.5, 2.0$ Hz), 3.70 (1H, dd, $J = 10.0, 3.5$ Hz), 3.65 (1H, dd, $J = 10.5, 3.5$ Hz), 3.36 (1H, dd, $J = 9.5, 8.0$ Hz), 3.31 (1H, m), 3.26 (1H, m), 3.19 (1H, dd, $J = 9.5$ Hz, 8.0 Hz), 2.06 (2H, m), 2.04 (2H, m), 1.98 (2H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.70 (1H, m), 1.59 (3H, s), 1.54 (1H, m), 1.40 (4H, m), 0.89 (6H, t, $J = 7.0$ Hz); EIMS m/z : 784 [M + H]⁺, 605 [M + H - C₆H₁₂O₆]⁺。

2 结果与讨论

化合物 3: 波谱数据显示该化合物含有糖基, 酰胺基团和长碳链, 推断其为一神经酰胺皂甙: 1H

NMR δ 4.26 (1H, d, $J = 9.0$ Hz) 和 ^{13}C NMR δ 104.6 (d) 是糖基的异头碳上的氢和异头碳信号。 1H - 1H COSY, HMQC 表明 δ_c 104.6, 74.9, 77.8, 71.5, 77.9 和 62.6 属于糖基的碳信号, 并确定为 β -D-吡喃葡萄糖^[7]; δ_c 177.6 (s) 归属于酰胺羰基碳, δ_H 7.73 则属于酰胺 NH 的氢。结构分析表明化合物 3 有 2 个双键 (δ_c : 136.5 (s), 134.6 (d), 131.1 (d), 124.8 (d) 4 个碳, 结合 δ_H 5.73 (1H), 5.47 (1H), 5.13 (1H) 3 个氢信号表明分子中含有 2 个双键, 其中 1 个双键碳为季碳), 1 个羰基和 1 个吡喃葡萄糖。由 EIMS 给出的相对分子质量为 783, 再结合分子中含有的 9 个氧原子和 1 个氮原子, 可确定化合物 3 的分子式为 C₄₅H₈₅NO₉, 不饱和度为 4。将化合物 3 在 1 mol/L HCl 中进行甲醇解, 石油醚萃取液经 GC/MS 分析, 结果表明只有一个组份, 其相对分子质量为 342, 结构检索为 2-醇-正二十酸甲酯, 进而确定分子中 2-醇-正二十碳酰基的存在, 从而确定另一长链为含有 19 个碳的不饱和碳链。化合物 3 的 1H - 1H COSY 有 δ_H 3.69 (H-1) $\leftrightarrow$ 4.10 (H-1) $\leftrightarrow$ 3.99 (H-2) $\leftrightarrow$ 4.13 (H-3) $\leftrightarrow$ 5.47 (H-4) $\leftrightarrow$ 5.73 (H-5) $\leftrightarrow$ 2.06 (H-6) $\leftrightarrow$ 2.04 (H-7) $\leftrightarrow$ δ_H 5.13 (H-8) 的相关关系, 表明分子中双键存在于 4 位和 8 位。C₁ 的化学位移高于普通的神经营鞘胺醇, 是由于该羟基被甙化所致, HMBC 中 δ_H 4.26 (1''-H) 与 δ_c 69.7 (1-C) 的相关也证明了这一点。 1H - 1H COSY 同时表明 δ_H 3.97 (H-2') 与 δ_H 1.55 (H-3a') 和 1.69 (H-3b') 的相关, 结合 HMBC 中存在 δ_c 177.6 (s) 与 δ_H 3.97 (2'-H) 的相关关系, 推断 C₂ 位上连有一个羟基。

综合以上分析, 可确定化合物 3 的结构为: (2S, 3R, 4E, 8E)-1-(β -D-吡喃葡萄糖甙)-N-[(R)2'-羟基-二十碳酰基]-9-甲基-4, 8-二烯-1, 3-二醇-2-氨基-十八烷, 经文献检索为新化合物。文献报道神经酰胺苷对鼠科白血病细胞 L1210^[8]、老鼠淋巴瘤及人类黑素瘤 MEL28^[9] 具有强细胞毒性。

化合物 1: 根据 ^{13}C NMR, DEPT 谱, 可确定其分子式为 C₂₈H₄₈O₂, 不饱和度为 5。Liebermann-Burchard 反应阳性, 表明其为甾类化合物。该化合物的碳谱数据与文献值一致^[11], 故确定其为 (24S)-麦角甾-5-烯-3 β , 7 α -二醇。

化合物 2: 由 IR (KBr) ν_{max}/cm^{-1} 1 625, 1 571, 1H NMR δ 6.23 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, NH) 和 ^{13}C NMR δ 173.9 (s) 推知分子中含有酰胺的结构片段; δ 74.7 (d), 62.5 (t) 表明分子中含有一个伯羟基和一个仲羟基。以上信息表明 2 是神经鞘胺醇类化合物, 且其波谱数据与文献值一致^[12], 由此确定结

构为 $\Delta^{4,5}(E)$, $\Delta^{8,9}(E)$ -鞘胺醇-正十六碳酰胺。

参考文献:

- [1] VANISREE M, SUBBARAJU G V. Alcyonacean metabolites (VIII). Antibacterial metabolites from *Lobophytum crassum* of the Indian Ocean[J]. Asian J Chem, 2002, 14(2): 957 – 960.
- [2] VANISREE M, SUBBARAJU G V, RAO C B. Alcyonacean metabolites (VII). Chemical constituents of *Lobophytum denticulatum* and *Lobophytum strictum* of the Indian Ocean [J]. J Asian Nat Prod Res, 2000, 2(2): 87 – 95.
- [3] DUH C Y, WANG S K, HUANG B T, et al. Cytotoxic cembranolide diterpenes from the formosan soft coral *Lobophytum crassum*[J]. J Nat Prod, 2000, 63(6): 884 – 885.
- [4] RAO M R, VENKATESHAM U, REDDY M V R, et al. An unusual novel C-29 steroid from the soft coral *Lobophytum crassum*[J]. J Nat Prod, 1999, 62(9): 1352 – 1352.
- [5] MORRIS L A, CHRISTIE E M, JASPARS M, et al. A bioactive secosterol with an unusual A- and B-ring oxygenation pattern isolated from an Indonesian soft coral *Lobophytum* sp.[J]. J Nat Prod, 1998, 61(4): 538 – 541.
- [6] 何细新, 苏镜娱, 曾陇梅, 等. 豆荚软珊瑚 *Lobophytum* sp. 的次生代谢产物研究[J]. 化学学报, 2002, 60(2), 334 – 337.
- [7] BOCK K, PEDERSON C. In Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry[M]. R. S. Tipson, D. Horton, Eds., Academic: New York. 1983, 41: 27 – 66.
- [8] JIN W, RINEHART K L, JARES-ERIJMAN E A. Ophi-diacyclic glycosphingolipids containing a novel sphingosine from a sea star[J]. J Org Chem, 1994, 59: 144 – 147.
- [9] DAURÁN R, ZUBÍA E, ORTEGA M J, et al. Phallusides, new glucosphingolipids from the Ascidian *Phallusia fumigata*[J]. Tetrahedron, 1998, 54: 14597 – 14602.
- [10] BOHRMANN H, STAHL E, MITSUHASHI H. Constituents of umbelliferous plants (XIII). Chromatographic studies on the constituents of *Cnidium officinale*[J]. Chem Pharm Bull, 1967, 15: 1606 – 1608.
- [11] KOBAYASHI M, KRISHNA M M, HARIBABU B, et al. Marine sterols. 25. Isolation of 23-demethylgorgost-7-ene-3 β , 5 α , 6 β -triol and (24s)-ergostane-3 β , 5 α , 6 β , 7 β , 15 β -pentol from soft corals of the Andaman and Nicobar coasts [J]. Chem Pharm Bull, 1993, 41: 87 – 89.

Studies on the Secondary Metabolite of the Soft Coral *Lobophytum* sp. (II)

HE Xi-xin, YAN Su-jun, ZENG Long-mei, SU Jing-yu

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yet-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: (2*S*, 3*R*, 4*E*, 8*E*)-1-(β -D-glucopyranosyloxy)-3-hydroxy-2-(((*R*)-2-hydroxyeicosanoyl) amino)-9-methyl-4, 8-octadecadiene, a new glucosphingolipids, together with two known compounds (24*S*)-ergost-5-en-3 β , 7 α -diol and $\Delta^{4,5}(E)$, $\Delta^{8,9}(E)$ -sphingol-*n*-hexanecamide, were isolated from the soft coral *Lobophytum* sp. collected from the South China Sea. Their chemical structures were determined by spectroscopic and chemical methods.

Key words: *Lobophytum* sp.; soft coral; glucosphingolipids

(上接第 112 页)

Four New Ceramides from an Unknown Marine Sponge

GUO Wan-cheng¹, PENG Qin-long¹, YAN Su-jun¹, LIU Li-juan², SU Jing-yu¹, ZENG Long-mei¹

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Department of Chemistry, Zaozhuang Normal College, Zaozhuang 277160, Shandong China)

Abstract: Four new ceramides were isolated from an unknown marine sponge. Their chemical structures were determined as *N*-(2', 4'-dihydroxy-*n*-tricosanoyl)-1, 3-dihydroxy-*n*-hexadeca-sphingosine, *N*-(2', 4'-dihydroxy-*n*-tetracosanoyl)-1, 3-dihydroxy-*n*-hexadeca-sphingosine, *N*-(2', 4'-dihydroxy-*n*-tricosanoyl)-1, 3-dihydroxy-*n*-pentadeca-sphingosine, and *N*-(2', 4'-dihydroxy-*n*-pentacosanoyl)-1, 3-dihydroxy-*n*-hexadeca-sphingosine respectively by spectroscopic methods.

Key words: ceramide; sponge; determine; spectroscopy analysis