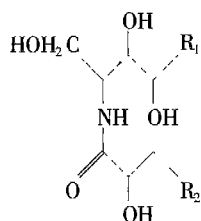


3.56(H-1a), 4.17(H-1b); 51.8(d, C-2)/4.35 (H-2); 75.3(d, C-3)/3.99 (H-3); δ_c 85.3(d, C-4)/ δ_H 3.70 (H-4); 72.4(d, C-2')/4.12 (H-2')。由以上数据并结合 **1** 的 ^1H - ^1H COSY 谱显示的相关关系 (表 1), 可推定出神经酰胺 **1** 的鞘氨醇片段的结构; 另外, HMBC 谱显示 δ_H 4.12 (H-2') 与 δ_c 174.7 (C-1') 有远程相关关系, 表明酰胺羰基的 α 位还有 1 个仲羟基。综上讨论, 推定出 **1** 的主要结构如式 1 所示。



式 1

神经酰胺含有酰胺键, 应用 MS^n (串联质谱) 技术, 以正离子方式选定 642 ($\text{M}+1$)⁺ 进行二次裂解。在 MS^2 实验中, 出现由酰胺键断裂所形成的酰基的碎片离子 m/z 367, 由此可确定酰基部分的结构为 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})-\text{CO}-$, 即式 1 中的 R_2 为 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}-$ 。已知 **1** 的分子式为 $\text{C}_{39}\text{H}_{79}\text{NO}_5$, 故 R_1 应为 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9-$ 。由此可推定神经酰胺 **1** 的结构为 N-(2'-羟基-二十四碳酰基)-1, 3, 4-三羟基-正-十五烷-鞘胺醇。

化合物 **2**, 白色固体, θ_{mp} 89 ~ 91 $^{\circ}\text{C}$ 。元素分析: ($w/\%$, 括号里为计算值): C 76.08 (76.13), H 12.60 (12.63), N 2.00 (2.02);

ESI- MS^n 全扫描给出 $[\text{M}+1]$ 峰 694, 由此可确定其分子式为 $\text{C}_{44}\text{H}_{87}\text{NO}_4$ 。由 IR ν/cm^{-1} : 3 357, 1 634, 1 534, 1 466;

NMR: δ_H 7.14 (1H, d, $J=6.0$ Hz) 和 δ_c 175.1(s)

可推知 **2** 有 $\text{RCO}-\text{NH}-$ 存在; δ_H 5.75(dt, $J=7.5$, 15.0 Hz), 5.48(dd, $J=6.5$, 15.0 Hz) 和 δ_c 134.3 (CH), 128.4 (CH), 表明分子中含有 1 个二取代双键, 2 个烯质子的 J 值远大于 12.0 Hz, 表明此双键为反式构型。

^{13}C NMR 及 DEPT 谱 δ_c : 74.2(CH), 72.5(CH), 62.0(CH_2) 显示 **2** 还含有 2 个仲羟基、1 个伯羟基。 ^1H NMR 谱中除 δ_H 0.87($2 \times 3\text{H}$, t, $J=6.5$ Hz), 1.28 (brs, 66H) 和 δ_c 14.1 ($2 \times \text{CH}_3$), 29.3 ~ 30.1 ($n\text{CH}_2$) 等信号外, 无叔碳或季碳的信号, 表明该分子中含有 2 条长而没有分支的碳链。以上数据并结合 **2** 的 HMQC, ^1H - ^1H COSY, HMBC 谱显示的相关关系 (表 1), 可推定出 **2** 分子中的核心结构, 再通过 MS^n 实验技术, 以正离子方式选定 **2** 的分子离子峰 m/z 694 ($\text{M}+1$)⁺ 进行二级裂解, 获得酰胺键断裂形成的酰基部分碎片 m/z 367⁺, 由此可计算出酰基部分结构链长为 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{C}=\text{O}$ 。最后, 结合分子式 $\text{C}_{44}\text{H}_{87}\text{NO}_4$, 推定出 **2** 的化学结构为 N-(2'-羟基-正二十四碳酰基)-正二十碳-4 (E) 烯-鞘胺醇。

2 实验部分

2.1 样品 沐浴海绵 *Spongia* sp. 采集于涠洲岛海域, 样品保存于中山大学天然产物研究中心。

2.2 仪器和试剂 北京电子仪器 5X-显微熔点测定仪, EQUINOX-55 型红外光谱仪; VARIAN UNITY INOVA 500 核磁共振仪, ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 的工作频率分别为 500 MHz 和 125 MHz, TMS 做内标; 美国 Finnigan 公司 LCQTM DECA XP 高效液相色谱-质谱联用仪。层析硅胶 H, 青岛海洋化工厂生产; 试剂为化学纯, 使用前重蒸馏。

表 1 化合物 **1** 和 **2** 的关键数据Tab.1 Key NMR data of compounds **1** and **2**

编号	1			2		
	δ_H (J/Hz)	δ_c	COSY	δ_H (J/Hz)	δ_c	COSY
1a	3.56, t (8.5)	70.2 CH_2	H-2	3.74, brd (9.5)	62.0 CH_2	H-2
1b	4.17, dd (8.5, 7.0)			3.85, br d (9.5)		
2	4.35, m	51.8 CH	H-1, H-3	3.91, brs	54.6 CH	H-1, H-3
3	3.99, dd (6.0, 6.5)	75.3 CH	H-2, H-4	4.25, brs	74.2 CH	H-2, H-4
4	3.70, dd (10.5, 6.0)	85.3 CH	H-3, H-5	5.48, dd (6.5, 15.0)	128.4 CH	H-3, H-5
5	1.56, m	33.4 CH_2	H-4	5.75, dt (7.5, 15.0)	134.3 CH	H-4, H-6
6				2.05, d t (7.5, 7.0)	32.2 CH	
1'		174.7 C			175.1 C=O	
2'	4.12, br s	72.4 CH	H-3'	4.10, brs	72.5 CH	H-3'
3'	1.62, m	36.5 CH_2	H-2'	1.62, m	36.5 CH_2	H-2'
	1.80, m			1.80, m		

2.3 提取分离 将海绵样品(干质量 500 g)切碎后,用 95%乙醇室温浸提 3 次,浸提液合并,减压浓缩,得粘稠状棕色残留物 35 g。后者用乙酸乙酯/水进行分配,得乙酸乙酯萃取物 24 g。

将乙酸乙酯萃取物用硅胶进行柱层析,以逐渐增加极性的乙酸乙酯/石油醚混合溶剂进行梯度洗脱。乙酸乙酯/石油醚(体积比为 3:7)洗脱部分,再经加压快速柱层析提纯,得白色粉末状固体,化合物 2 (15 mg)。乙酸乙酯/石油醚(体积比为 4:6)洗脱部分,再经 2 次加压快速柱层析分离、提纯,得到白色粉末状固体,化合物 1 (10 mg)。

2.4 化合物 1 的 NMR 数据 ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz, TMS) δ_{H} : 4.35 (1H, m), 4.17 (1H, dd, $J = 8.5$, 7.0 Hz), 4.12 (1H, brs), 3.99 (1H, dd, $J = 6.0$, 6.5 Hz), 3.70 (1H, dt, $J = 10.5$, 6.0 Hz), 3.56 (1H, t, $J = 8.5$ Hz), 1.80 (1H, m), 1.62 (1H, m), 1.56 (2H, m), 1.28 (brs, 58H), 0.86 (t, $J = 6.5$ Hz, $2 \times \text{CH}_3$);

^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz, TMS) δ_{C} : 174.7 (C), 85.3 (CH), 75.3 (CH), 72.4 (CH), 70.2 (CH_2), 51.8 (CH), 39.1 (CH_2), 36.7 (CH_2), 35.1 (CH_2), 33.5 (CH_2), 31.9 (CH_2), 30.0 (29.3 ($19 \times \text{CH}_2$), 27.4 (CH_2), 27.1 (CH_2), 25.8 (CH_2), 25.1 (CH_2), 14.0 ($2 \times \text{CH}_3$)。

2.5 化合物 2 的 NMR 数据 ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz, TMS) δ_{H} : 5.75 (1H, dt, $J = 7.5$, 15.0 Hz), 5.48 (1H, dd, $J = 6.5$, 15.0 Hz), 4.25 (1H, brs), 4.10 (1H, brs), 3.91 (1H, brs), 3.86 (1H, br d, $J = 9.5$ Hz), 3.74 (1H, br d, $J = 9.5$ Hz), 2.05 (dt, 7.5, 7.0), 1.80 (1H, m), 1.62 (1H, m), 1.28 (brs, 66H), 0.87 (t, $J = 6.5$ Hz, $2 \times \text{CH}_3$);

^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz, TMS) δ_{C} : 175.1 (C), 134.3 (CH), 128.4 (CH), 74.2 (CH), 72.5 (CH), 62.0 (CH_2), 54.6 (CH), 39.0 (CH_2), 34.6 (CH_2), 34.4

(CH_2), 31.7 (CH_2), 30.1 ~ 29.3 ($25 \times \text{CH}_2$), 28.1 (CH_2), 27.5 (CH_2), 27.0 (CH_2), 25.1 (CH_2), 14.1 ($2 \times \text{CH}_3$)。

参考文献:

- [1] OSINGA R, TRAMPER J, WIJFFELS R H. Cultivation of marine sponges for metabolite production: applications for biotechnology[J]. Trends in Biotechnology. 1998, 16: 130.
- [2] WANG M Y, LUO Y, SU J Y. A new ceramide from the soft coral *Cladiella humesi* Verseveldt. Chin Chem Lett [J]. 2000, 11(9): 783 - 784.
- [3] SCHMELLZ E M, MERRILL J R. Sphingomyelin consumption suppresses aberrant colonic crypt foci and increases the proportion of adenomas versus adenocarcinomas in CFI mice treated with 2-dimethylhydrazine: Implications for dietary sphingolipids and colon carcinogenesis [J]. Cancer Research. 1996, 56(1): 49 - 36.
- [4] SPIEGEL S A H, MERRILL J R. Sphingolipid metabolism and cell growth regulation[J]. FASEB. 1996, 10: 13 - 88.
- [5] CHMURAS J. Loss of ceramide production confers resistance to radiation induced apoptosis[J]. Cancer Research. 1997, 57(1): 12 - 70.
- [6] MERRILL J R, LIOTTA D C, RILEY R T. Sphingolipids as regulators of cellular growth, differentiation and behavior[J]. Advances in Lipobiology. 1996, 1: 273.
- [7] FILLET M, VAN HEUGEN J C, SERVAIS A C, DE GRAEVE J, CROMMEN J. Separation, identification and quantitation of ceramides in human cancer cells by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. J Chromat(A), 2002, 949: 225 - 233.
- [8] HSU FF, TURK J. Characterization of ceramides by low energy collisional-activated dissociation tandem mass spectrometry with negative-ion electrospray ionization [J]. Journal of the American Society for mass spectrometry, 2002, 13: 558 - 570.

Two New Marine Ceramides

LAN Wen-jian¹, YAO Jun-hua², SU Jing-yu¹, ZENG Long-mei¹

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

2. Instrumentation Analysis and Research Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Two new ceramides, named spongiamine A and spongiamine B were isolated from the sponge *Spongia* sp. collected from Weizhou Island in Guangxi Province, China. Their chemical structures were determined as N-(2'-hydroxy-n-tetracosanoyl)-1,3,4-trihydroxy-n-pentadeca-sphingosine and N-(2'-hydroxy-n-tetracosanyl)-n-eicosasphinga-4(E)-ene by IR, 1D NMR, 2D NMR and EI-MS, MSn spectroscopic methods.

Key words: *Spongia* sp.; ceramide; spongiamine A; spongiamine B; N-(2'-hydroxy-n-tetracosanoyl)-1,3,4-trihydroxy-n-pentadecasphingosine; N-(2'-hydroxy-n-tetracosanyl)-n-eicosasphinga-4(E)-ene