

两种神经酰胺分离与结构鉴定^{*}

徐石海 曾陇梅 苏镜媛

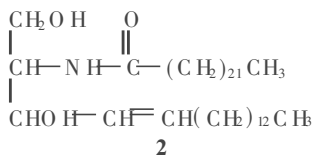
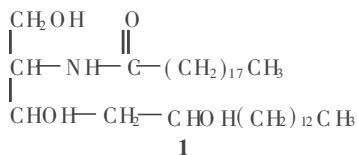
(中山大学化学与化学工程学院, 广州 510275)

摘 要 从中国南海软珊瑚 *Simularia inexplicita* 和海藻 *Caulerpa sertularioides* 中分别分离得到 2 个代谢产物 **1** 和 **2**, 经光谱分析和化学分析鉴定 **1** 为神经酰胺 inexplciamide, **2** 为另 1 类神经酰胺 sertularamide.

关键词 珊瑚, 海藻, N 酰基神经鞘安醇, 酰胺

分类号 O 656. 4

海洋中有着丰富的动物、植物和矿物, 它不仅维持地球生态平衡, 而且可以提供人类食物、药物、能源, 因此研究海洋开发海洋迫切眉睫. 近年来为了寻找新的药物, 尤其是抗病毒、抗肿瘤药物, 许多药物学家及海洋产物研究者对海洋生物进行了大量研究, 从中发现了许多具有较好的生理活性物质, 如从 *Stelletta* 属海绵中分离出的生物碱 nodercitin (I) 和 (II) 具有免疫抑制活性^[1]. 从海绵 *Stelletta tenuis* (Lindgren) 中分离得到三萜内酯 Stellettin A 具有较强的抗肿瘤活性, 对 P₃₈₈ 肿瘤细胞的 IC₅₀ 近为 0. 001 mg/L^[2]. 对采自中国南海西沙群岛的软珊瑚 *Simularia inexplicita* 和海藻 *Caulerpa sertularioides* 进行了研究, 分离得到化合物 (**1**) 和 (**2**), 其中, **1** 是比较少见的神经酰胺, 命名为 inexplciamide, **2** 是另 1 种神经酰胺, 命名为 sertularamide.



1 结果和讨论

1. 1 **1** 的结构确定

将软珊瑚 *Simularia inexplivita* 乙醇抽提物的乙酸乙酯部分用硅胶进行快速柱层析, 从 h 为 40% 乙酸乙酯的石油醚溶液洗脱出的组分再经硅胶柱层析及乙酸乙酯重结晶得到 **1**, 无定形白色粉末, θ_{mp} 113~ 114°C.

1. 1. 1 分子式确定 EIMS 在高质区给出碎片离子峰 m/z 579 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 低分辨 FAB-

^{*} 国家自然科学基金 (29372088) 资助项目

收稿日期: 1997-01-17 徐石海, 男, 30 岁, 讲师, 现在暨南大学化学系工作

MS高质区给出 m/z 598 ($M^+ + 1$) 的离子峰, 即 **1** 的相对分子质量为 597, 表明该化合物是含氮的化合物, 元素分析 ($w\%$) C 74. 33, H 13. 45, N 2. 30 (计算值 C 74. 32, H 12. 64, N 2. 43). 因此推断 **1** 的分子式为 $C_{37}H_{55}NO_4$.

1. 1. 2 官能团确定

(1) 羟基. IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 中 3 450, 1 129, 1 085 有吸收峰, $^1\text{H NMR}$ 中 δ 2. 81 (2H, s), 2. 86 (1H, s) 的信号在 D_2O 交换后消失, 说明该化合物存在羟基, $^{13}\text{C NMR}$ (DEPT) 显示 3 个连氧碳的信号 δ 75. 7 (d), 72. 2 (d), 61. 37 (t), 表明 **1** 中的羟基是 1 个 CH_2OH 和 2 个 CHOH .

(2) 酰胺基. IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 中 3 322 是酰胺吸收峰, 1 616 为酰胺 (I) 的吸收峰, 1 560, 1 468 为酰胺 (II) 的吸收峰, $^{13}\text{C NMR}$ 中 δ 172. 02 为酰胺羰基碳的信号, $^1\text{H NMR}$ 中 δ 6. 94 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, D_2O 部分交换) 为酰胺基上氢的信号, $^{13}\text{C NMR}$ 中 δ 51. 3 为连氮的碳信号^[3], 因此可以推断 **1** 中存在 $-\text{CH}_2\text{NHCO}-$ 基团.

(3) 饱和和长链烷基. 根据 **1** 的分子式可以推断其饱和度为 1, 该不饱和度已为羰基占据, 且 $^{13}\text{C NMR}$ 谱除 δ 172. 02 的羰基吸收峰外在 100 以上无峰, 因此 **1** 无双键, $^{13}\text{C NMR}$ 仅有 2 个甲基信号 δ 12. 75 (q), 14. 05 (q), IR 中存在 $-(\text{CH}_2)_n-$ ($n \geq 4$) 的吸收峰 723 cm^{-1} , 这些事实表明 **1** 中含有 2 条饱和和长链.

1. 1. 3 结构式的确定 根据以上分析, 可以推断 **1** 是 1 个神经酰胺类化合物, 它应具有 N-酰基神经鞘安醇的骨架结构^[4].

1 的 EIMS 碎片离子峰 m/z 281 是酰胺键 α 断裂的碎片 (图 2), 结合碎片离子峰 m/z

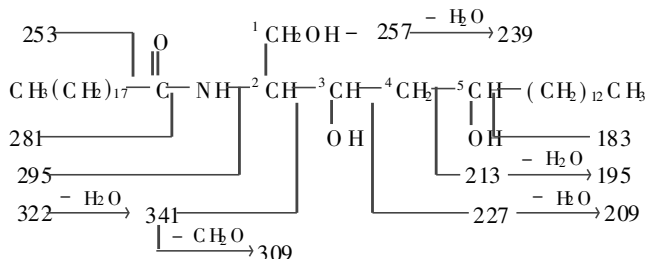


图 2 **1** 的质谱裂解过程

253 确定酰基部分的碳链是 $\text{C}_{18}\text{H}_{37}$; m/z 340, 322, 309, 257 进一步确证 **1** 具有鞘安醇骨架及 C2- C3 的连接形式; m/z 295 是亚胺基形成的亚胺离子碎片, 从而确定 C2 与亚胺基的连接形式, m/z 227, 209 是 C3- C4 断裂产生离子, 然后失去 1 分子水确定 C3- C4 连接形式; m/z 213 是 C4- C5 断裂产生离子, 证明鞘安醇部分 C4 与连有羟基的 C5 相连, m/z 183 则证明鞘安醇其它碳链部分为 $\text{C}_{13}\text{H}_{27}$, **1** 是 1 个饱和的含有 3 个羟基的 N-酰基神经鞘安醇, 未见文献报道.

1. 2 **2** 的结构确定

2 为白色无定形粉末固体, $\theta_{\text{mp}} 95-96^\circ\text{C}$. 将 **2** 的波谱实验数据与已知化合物文献值波谱数据极相似^[4], 推断 **2** 为 1 个神经酰胺衍生物.

EIMS 在高质区给出碎片离子峰 m/z 617 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$), 低分辨 FAB-MS 高质区给出 m/z 636 ($M^+ + 1$) 的离子峰, 即 **2** 的相对分子质量为 635, 结合元素分析 ($w\%$) C 76. 18, H 13. 38, N 2. 12 (计算值 C 76. 41, H 12. 57, N 2. 11), 推断 **2** 的分子式为 $\text{C}_{41}\text{H}_{81}\text{NO}_3$, 不

饱和度为 2. ^1H NMR 显示 2 个可交换的质子信号 δ 2.86 (1H), 2.81 (1H), ^{13}C NMR 显示 2 个连氧碳 δ 62.55 (t), 74.29 (d), 证实 **2** 中含有 2 个羟基 CH_2OH , CHOH . **2** 的 IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 1630, 900, ^{13}C NMR (DEPT) 谱 δ 129.47 (d), 128.95 (d) 及 ^1H NMR 谱 δ 5.57 (1H, dd, $J=14.1, 8.4$ Hz), 5.35 (1H, dt, $J=14.1, 5.4$ Hz), 表明 **2** 中含有反式双键, ^1H NMR δ 6.39 (1H, d, $J=7.5$ Hz, 可部分交换), ^{13}C NMR 谱 δ 173.65 (s), 53.69 (d) 显示 **2** 中含有酰胺片段 $-\text{CONHCH}-$, 在 ^1H NMR 谱双照射去偶时, 照射质子 5.57 信号, 发现 4.02 (1H, dd, $J=11.0, 8.4$ Hz) (CHOH) 的峰简化; 反之照射 4.02 信号处, 5.5 处的峰变为单峰, 同时 3.71~3.81 (1H, m) 的峰有明显的变化, 这表明 CHOH 与其中 1 个烯质子偶合, 同时又与 $-\text{NHCH}-$ 的次甲基偶合, 从而推断 **2** 含有片段 $-\text{NHCHCHOHCH}=\text{CH}$. 将 **2** 在碱性条件下进行水解得到的羧酸经光谱发现确定为 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{21}\text{COOH}$, 因此推断 **2** 含有结构单元 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{21}\text{CO}$, **2** 的 EIMS 碎片离子峰 m/z 370 也证实 **2** 含有这种羧基单元, 同时说明该链上没有双键. ^{13}C NMR DEPT 谱在低场给出 2 个甲基信号 δ 14.36 (q), 18.25 (q), 说明 **2** 中含有 2 条长链且没有分支.

根据上述推断 **2** 具有鞘安醇骨架:

$$\text{R}_1-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{NH}-\overset{\text{CH}_2\text{OH}}{\underset{|}{\text{CH}}}-\text{CH}-\text{CHOH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}_2$$

R_1 已确定为 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{21}-$, R_2 则为 $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{12}-$, 因此 **2** 的结构为 $N-(1\text{-羟甲基-2-羟基-3-戊十七烯基})\text{-二十三酰胺}$, **2** 未见文献报道.

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

美国 NICOLET 公司出产 5DX-FT 红外光谱仪; JOEL 公司出产 FX-90Q 核磁共振仪; 英国 VG 公司出产的 AB-ZHS 型质谱仪; 国产 5X 显微熔点仪, 温度计未经校正; 薄层层析用硅胶 H ($40\mu\text{m}$) 为青岛海洋化工厂出产; 乙酸乙酯, 丙酮, 石油醚, 甲醇均为 AR.

2.2 **1** 的提取与分离

软珊瑚用乙醇浸泡提取 4~7 d, 合并提出液, 减压浓缩回收乙醇得深棕色焦油状物, 将此油状物用水和乙酸乙酯分配 5 次, 合并乙酸乙酯提出液, 减压浓缩回收得黑色油状物, 将此油状物用 $40\mu\text{m}$ 硅胶 H 进行快速柱层析, 以乙酸乙酯石油醚为洗脱液进行梯度洗脱, 含 **1** 为 40% 乙酸乙酯的石油醚溶液洗脱出组分 A, 然后组分 A 经 $40\mu\text{m}$ 硅胶 H 加压柱层析, **1** 为 50% 石油醚的乙酸乙酯冲洗得 1 个不定型固体, 将此固体用乙酸乙酯重结晶 2 次, 得白色粉末 **1** (10 mg).

1, 白色粉末, $\theta_{\text{mp}} 113\sim 114^\circ\text{C}$, 分子式为 $\text{C}_{37}\text{H}_{75}\text{NO}_4$, IR (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3450, 3322, 2924, 2853, 1616, 1560, 1468, 1230, 1129, 1085, 975, 723; ^1H NMR (CDCl_3/TMS) δ 0.88 (6H, t), 1.27 (54H, s), 1.34 (2H), 1.57 (2H, brs), 2.15 (2H, t), 2.81 (2H, s), 2.86 (1H, s), 3.78 (1H, m), 3.98 (1H), 4.15 (1H, m), 4.21 (2H, d, $J=6.2$ Hz), 6.94 (1H, d, $J=7.5$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3/TMS) δ 172.2 (s), 75.7 (d), 72.2 (d), 61.3 (t), 53.3 (d), 36.3 (d), 32.8 (d), 31.5 (t), 29.9 (t), 29.3 (t), 28.3 (t), 27.6 (t), 25.5 (t), 14.1 (q), 12.8 (q); MS (EI, 70 eV) m/z : 579 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$), 561 ($\text{M}^+ - 2\text{H}_2\text{O}$), 566 ($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{OH}$), 548 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_2\text{OH}$), 414, 370, 340, 322, 295, 281, 257, 253, 239, 227, 213, 209, 183, 141, 111, 97, 83, 69, 60 (基

峰).

2.3 2的提取分离

海藻用乙醇浸泡提取 3~7 d, 合并提取液, 减压浓缩回收乙醇得深色油状物, 将此油状物用水和乙酸乙酯分配, 合并乙酸乙酯提出液, 用水洗去无机盐, 减压浓缩得黑色油状物, 将此油状物用 40 μ m 硅胶 H 进行减压快速柱层析, 以乙酸乙酯石油醚为洗脱液进行梯度洗, 以 60% 乙酸乙酯的石油醚溶液洗脱出组分 M, 然后组分 M 经 40 μ m 硅胶 H 加压柱层析, 以 30% 石油醚的乙酸乙酯洗出白色固体, 丙酮重结晶 2 次得白色粉末 2 (12 mg).

2, 白色无定型粉末, θ_{mp} 95~96 $^{\circ}$ C, 分子式为 $C_{41}H_{81}NO_3$, IR (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 3402, 3318, 2917, 2846, 1630, 1567, 1468, 1377, 1335, 1446, 961, 900, 723; 1H NMR (CDCl₃/TMS) δ : 0.88 (6H, t), 1.25 (62H, s), 2.21 (2H), 2.43 (2H, t), 2.81 (1H, s), 2.86 (1H, s), 3.71~3.81 (1H, m), 3.98 (2H, d, J =6.2 Hz), 4.02 (1H, dd, J =11.0, 8.4 Hz), 5.53 (1H, dt, J =14.1, 5.4 Hz), 5.57 (1H, dd, J =14.1, 8.4 Hz), 6.39 (1H, d, J =7.5 Hz); ^{13}C NMR (CDCl₃/TMS) δ : 173.65 (s), 129.47 (d), 128.95 (d), 74.29 (d), 62.55 (t), 53.69 (d), 32.00 (t), 29.69 (t), 27.20 (t), 22.70 (t), 18.25 (q), 14.36 (q); MS (EI, 70 eV) m/z : 617 (M^+ - H₂O), 604 (M^+ - CH₂OH), 586 (M^+ - H₂O - CH₂OH), 575, 426, 396, 337, 309, 298, 280, 268, 250, 60 (基峰).

参 考 文 献

- 1 Gunaardana G P, Kohomoto S, Burres N. New cytotoxic acridine alkaloids from two deep water marine sponge of the family pachastrellidae. Tetrahedron Lett, 1989, 30 (33): 4359~4362
- 2 Su J Y, Meng Y H, Zeng L M. Stelletin A, a new triterpenoid pigment from the marine sponge Stelletta tenuis. J Nat Prod, 1994, 57 (10): 1450~1451
- 3 苏镜娉, 李艳, 余小强. 中国软珊瑚化学成分研究 (二十). 中山大学学报 (自然科学版), 1989, 28 (2): 33~37
- 4 Cardellina J H. Sphingosine derivatives from red algae of the Ceramiales. Phytochemistry, 1978, 13 (3): 5
- 5 唐恢同. 有机化合物光谱鉴定. 北京: 北京大学出版社, 1992. 345~359

Isolation and Identification of Two Ceramide

Xu Shihai* Zeng Longmei Su Jinyu

Abstract Two metabolites have been isolated from the soft coral *Simularia inexplicita* and the alga *Caulerpa sertularioides*, respectively, collected from the South of China Sea. Based on the spectral data and chemical way, the structure of 2 compounds were determined as new ceramide inexplicamide and sertularamide.

Keywords soft coral, alga, N-acyl sphingosine, amide

* School of Chemistry and Chemical Engineering, Zhongshan University, Guangzhou 510275