

中国软珊瑚化学成分的研究(二十)*

软珊瑚中的神经酰胺

苏镜娱 李艳** 余小强

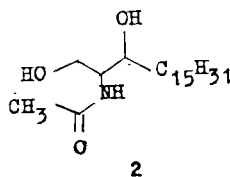
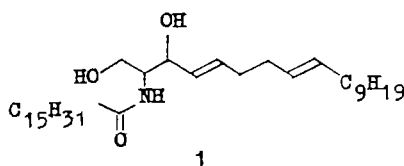
(化学系)

摘要

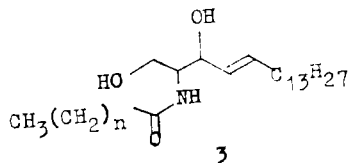
从中国南海采集的幼纯短指软珊瑚、螺旋短指软珊瑚中首次分离到一个新的神经酰胺 sinumeramide(1), 利用波谱方法推导其结构; 同时还通过臭氧化反应以及氘硼化反应在双键上引入氘原子后的质谱分析确定其双键的位置; 应用核磁共振谱及构象分析确定1的赤型构型. 此外, 从短指软珊瑚(未定种)中首次分离得N-乙酰二氢鞘氨醇.

关键词 软珊瑚, 神经酰胺, N-酰基鞘氨醇, 分离提纯

在对中国南海三种软珊瑚: 幼纯短指软珊瑚(*Sinularia numerosa* Tixier-Durivault)、螺旋短指软珊瑚(*Sinularia gyrosa*)和短指软珊瑚(未定种)(*Sinularia sp.*)的研究中, 分离得两种神经酰胺, Sinumeramide(1)和N-乙酰二氢鞘氨醇(2). 这是软珊瑚中分离得神经酰胺的首次报道.



Doty等从绿藻 *Caulerpa*⁽¹⁾, Mahendran 等从红藻 *Amansia glomerata* 中获得过一种神经酰胺, Caulerpicin(3), 是一种毒素⁽²⁾. 它是几种不同链长的N-酰基混合物. 神经酰胺类的分离提纯往往是相当困难的.



1 结果与讨论

1.1 1的化学结构

将软珊瑚 *Sinularia numerosa* 的乙醇浸提物经反复柱层析及多次重结晶, 获得白

本文1988年7月5日收到

* 国家自然科学基金资助项目

** 现在中国科学院南海海洋研究所

色晶体 **1**, $m.p.$ 91—92°C, $[\alpha]_D^{25} -5.55^\circ$ (c 0.09, $CHCl_3$); 分子式 $C_{34}H_{65}NO_3$, 不饱和度 3.

1.1.1 官能团的确定 从 **1** 的 IR, 1H NMR 及 ^{13}C NMR 可以推导它有下列官能团及片段:

$\begin{array}{c} O \\ || \\ -C-NH-CH- \end{array}$ IR (cm^{-1}): 3310, 3100, 1630 (酰胺 I), 1570, 1550 (酰胺 II); 1H NMR (ppm): 6.26 (1H, d, J 7.4 Hz); ^{13}C NMR (ppm): 174.03 (s), 54.57 (d).

$2 \times OH$ IR (cm^{-1}): 3400, 1050; 1H NMR (ppm): 2.86 (1H), 2.81 (1H) 均可氘代; ^{13}C NMR (ppm): 74.45 (d), 62.37 (t).

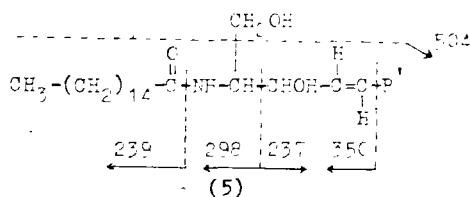
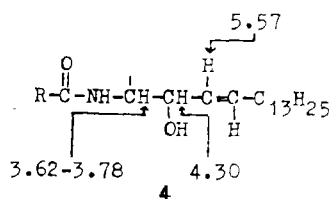
$2 \times R-C=C$ IR (cm^{-1}): 1640, 965; 1H NMR (ppm): 5.57 (1H, dd, J 14.1, 5.4 Hz), 5.73 (1H, dd, J 14.1, 8.4), 5.40 (2H, m); ^{13}C NMR (ppm): 133.45 (d), 131.34 (d), 129.17 (d), 128.95 (d).

R 及 R' IR (cm^{-1}): 1470, 720; 1H NMR (ppm): 1.26 (相当于 28H); ^{13}C NMR (ppm): 29.65 (t), 29.33 (t) 均为极强峰.

此外, 1H NMR 中有两个等价的甲基质子信号: 0.88 (6H), ^{13}C NMR 中只有一种甲基碳的信号: 14.11 (q), 指出分子中只有两个甲基, 说明两条长链是没有分支的.

紫外吸收光谱 203 nm (ϵ 11153), 241 nm (ϵ 58.9) 说明 **1** 中只有孤立双键而没有任何与双键共轭的体系.

1.1.2 部分结构的推导 在 1H NMR 双照射去偶时, 照射烯质子 5.57 ppm (1H, dd, J 14.1, 5.4 Hz) 的信号, 发现 4.30 ppm (1H, dd, J 11.0, 5.4 Hz) (>CHOH) 的峰形简化; 反之, 照射 4.30 的信号时, 5.57 处的峰形变为单峰, 同时 3.62—3.78 (1H, m) 的峰形亦有明显变化. 这表明 —CHOH 与其中一个烯质子偶合, 又与 —NH—CH 的次甲基偶合. 其质子的归属见式 4.

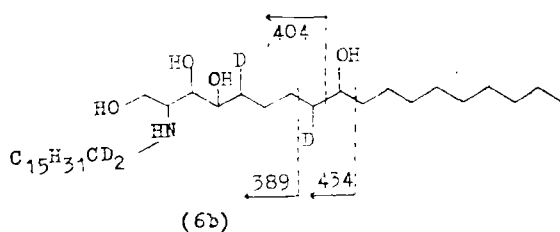
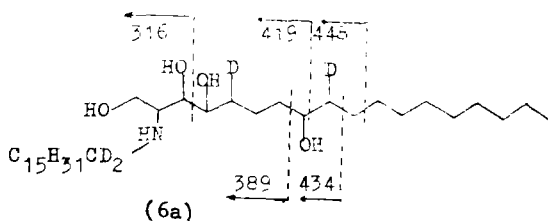


质谱中 m/z 239 (4.5, $C_{16}H_{31}O$) 的碎片峰是由酰胺中的酰基 α -裂解形成的 $CH_3(CH_2)_{14}-C\equiv O^+$, 因此 **1** 是十六酰鞘氨醇衍生物. 此外, 质谱中还有些碎片峰可以证明 **1** 有神经酰胺的结构, 见式 5.

1.1.3 第二个双键的位置 为了确定第二个双键的位置, 我们采取了两种方法.

①将 **1** 进行微量臭氧化, 随即用三苯基膦分解成醛, 再测定分解产物的质谱。结果在质谱中出现丰度较高的 m/z 156 和 127 的碎片峰。前者为癸醛 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CHO}$, 后者为癸醛的羰基 α -裂解所产生的 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}_2^+$, 由此可定出第二个双键的位置在 C-7, C-8 上。

②将 **1** 用氘代二硼烷进行微量氘硼化反应, 接着在碱性过氧化氢溶液中将烷基硼烷氧化成氘代醇。结果表明, 在 C-3, C-4 双键上氘硼化的方向是反 Markownikoff 规则的, C-7, C-8 双键上的加成则没有方向性, 故此有两种产物。从氘代醇的质谱看, 碎片峰 m/z 389, 419, 434 和 448 (见 **6a** 式) 以及 389, 404, 434 (见 **6b** 式) 均确证第二个双键的位置如 **1** 式所示。

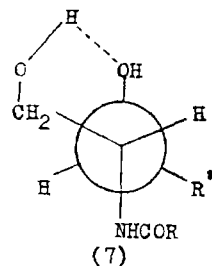


1.1.4 **1** 的立体化学 双键的顺反构型 **1** 的 ^{13}C NMR 有四个烯丙位碳: δ 32.58(t), 32.36(t), 32.14(t), 31.93(t), δ 值与 *E* 型双键的烯丙位碳相近。若为 *Z* 型, 则 δ 值常低于 30 ppm^[3]。由此可推断分子中的两个双键都是 *E* 构型的。

再者, **1** 的 ^1H NMR 中, 烯质子的 5.57 与 5.73 两组峰的偶合常数较大 (14.1 Hz), 亦可判断双键有 *E* 构型^[4]。

C-2 和 C-3 的立体关系 C-2 和 C-3 均为手性碳原子, 可能有赤型或苏型两种空间排列。这种开链的相邻二取代化合物可根据邻位偶合常数判断其立体构型。通常 J_{AB} 实测值大者为赤型 ($J_{AB\text{赤}} = J_{\text{对}} = 10 \sim 12 \text{ Hz}$), 小者为苏型 ($J_{AB\text{苏}} = J_{\text{折}} = 1 \sim 4 \text{ Hz}$)^[6, 6], 两者的差别是明显的。

从 **1** 的 ^1H NMR 谱可知 H-2 和 H-3 两质子的邻位偶合常数为 11, 符合 $J_{\text{对}}$ 的范围, 因此, 在优势构象中它们必定占据对位交叉的位置。审察 **1** 的赤型和苏型的优势构象, 只有赤型的优势构象 (**7**) 式中的 H-2 和 H-3 是对位交叉的, 而在苏型的优势构象中, 这两个质子是邻位交叉的, J 值必然较小。由此可推断 **1** 为赤型化合物, 即在 Fischer 投影式中, C-2 和 C-3 的取代基是同侧的。



从螺旋短指软珊瑚 *Sinularia gyrosa* 中也分离得一个羟基酰胺, 通过波谱分析及其他物理常数相比较, 鉴定其结构与 **1** 相同。

1.2 **2** 的化学结构

从 *Sinularia sp.* 分离得另一个神经酰胺, $m.p.$ 127.5—128.5°C。根据其 IR 1649,

1551 (cm^{-1}) 的特征吸收和 ^1H NMR δ 6.94ppm(1H, d, J 7.7Hz) 的信号可判定 $\text{R}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-$ 结构的存在(参见 **1** 的结构推导)。质谱中 m/z 43(CH_3CO , 基峰), ^{13}C NMR 的 22.8 (q)、169.8(s) 以及 ^1H NMR 的 2.03(3 H, s) 等信号可以证明分子中含有取代

的乙酰胺片段。HRMS 的 285.2759 ($\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{O}_2$) 的碎片是 $\text{M}^+-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{H}_3\text{ONH}$, 有力地证明上述的推断。

IR 3428 cm^{-1} 吸收和 HRMS 中 325.2972 ($\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{NO}_2$, $\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}$), 307.2886 ($\text{C}_{20}\text{H}_3^+\text{NO}$, $\text{M}^+-2\text{H}_2\text{O}$), ^1H NMR 中 δ 2.78(2 H, 可氘代) 均显示两个 $-\text{OH}$ 的存在。HRMS 有一个丰度较高的 312.2892(7.66%) 碎片峰 ($\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{NO}_2$, $\text{M}^+-\text{CH}_2\text{OH}$), ^{13}C NMR 的 δ 61.6(t) 揭示其中一个 $-\text{OH}$ 为伯醇。HRMS 的 60.0483 ($\text{C}_2\text{H}_6\text{NO}$) 是分子的氨基 β -裂解所产生的 $\text{H}_2\overset{+}{\text{N}}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH}$ 碎片, 进一步表明了含 N 基团与伯醇羟基的关系。结合上述各种波谱特征, 可判断 **2** 属于神经酰胺。

HRMS 最高质量峰 342.3042 ($\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{NO}_3$) 为偶数, 考虑到伯醇易失去一个质子形成稳定的铯盐 $-\overset{+}{\text{C}}\text{H}=\overset{-}{\text{O}}\text{H}$, 故推测这是 $\text{M}-\text{H}$ 峰。**2** 的分子式应为 $\text{C}_{20}\text{H}_{41}\text{NO}_3$ 。

^1H NMR 在 1.29ppm 有相当于 28 个 H 的大单峰而没有烯质子信号, ^{13}C NMR 在 22.1—33.8ppm 有一系列 CH_2 峰, 而且除 169.8(s) 外, 90ppm 以上没有 sp^2 碳的信号, 因此分子的剩余部分为一饱和羟基。和 **1** 的结构推导相似, ^1H NMR 只有一个末端甲基 0.90(3H, t), ^{13}C NMR 也只有一个 13.6(q), 因此这个长链烷基应没有分支。综上所述, 可以推断 **2** 的结构为 N-乙酰基二氢鞘氨醇。这是从生物体中分离到 **2** 的首次报道。

2 实验部分

2.1 测定方法和仪器 m.p. (未校正): 毛细管法测定, $[\alpha]$: Perkin-Elmer 公司 241 旋光仪。UV: Du-8B 紫外可见计算分光光度计。IR: Nicolet 5-DX-FTIR。NMR: JEOL FX 90Q, BRUKER WH-200。MS: VG 公司 ZAB 有机质谱仪。

2.2 1 的提取分离 约 4.5 公斤新鲜纯净短指软珊瑚切碎, 用 95% 乙醇浸泡。乙醇提取液用乙酸乙酯萃取。通过硅胶柱层析。从 25—30% 丙酮-石油醚洗脱液获得粗分离产物。反复层析及多次重结晶得白色晶体 **1**, m.p. 91—92°C (丙酮-石油醚), $[\alpha]_D^{25}$ -5.55° (c 0.09, CHCl_3), 分子式 $\text{C}_{34}\text{H}_{65}\text{NO}_3$ 。

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3400, 3310, 3100, 2950, 2920, 2854, 1640, 1630, 1570, 1550, 1470, 1380, 1050, 965, 729。

^1H NMR (CDCl_3) δ (ppm): 0.88(6H, t, J = 6.2 Hz), 1.26(相当于 28H), 2.81(1H, 可氘代), 2.86(1H, 可氘代), 3.62-3.78(1H, m), 3.89(2H, br), 4.30(1H, dd, J = 11.0, 5.4 Hz), 5.40(2H), 5.57(1H, dd, J = 14.1, 5.4 Hz), 5.73(1H, dd, J = 14.10, 8.4 Hz), 6.26(1H, d, J = 7.40 Hz)。

^{13}C NMR (CDCl_3) δ (ppm): 174.03(s), 133.45(d), 131.34(d), 129.17(d), 128.95(d), 74.45(d), 62.37(t), 54.57(d), 36.86(t), 32.58(t), 32.36(t), 32.14(t), 31.93(t), 29.65(t, 强), 29.33(t, 强), 22.75(t), 22.66(t), 14.11(q)。

MS(70eV EI) (m/z): 538(MH^+), 518($\text{MH}-\text{H}_2\text{O}$), 500($\text{MH}-2\text{H}_2\text{O}$), 504($\text{M}-\text{CH}_2\text{OH}$),

487 (MH-H₂O-CH₂OH), 405, 350, 332, 321, 298, 281, 250, 248, 239, 237, 155, 141, 112, 95, 82, 69, 60(基峰).

2.3 微量臭氧化 将3 mg **1**溶于1.5ml乙酸乙酯中,用微量臭氧发生器通入稀O₃ 30分钟.加入三苯基膦于反应液中.臭氧化分解产物进行MS测试: (70eVEI)(m/z):277 (Ph₃PO-H), 262 (Ph₃P), 156 (CH₃(CH₂)₈CHO), 152 (Ph₂-2H), 127 (CH₃(CH₂)₇CH₂), 108 (PhP), 77(Ph).

2.4 2的提取分离 **2**的提取分离过程与**1**相似.从短指软珊瑚的浸提物中,经层析,最后用CHCl₃-DMSO重结晶,得白色丝状结晶, m.p. 127.5—128.5°C, (文献120—121°C^[10], 无波谱数据)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3428, 3294, 2917, 2850, 1649, 1551, 1466, 1438, 1372, 1305, 1080, 1050, 722, 610,

¹H NMR (CDCl₃/DMSO = 4:1) δ (ppm): 6.94(1H, d, J = 7.75Hz, N-H), 4.20(1H, d, J = 6.25Hz, C₁-H), 4.17 (1H, dd, J = 6.25, 4.25Hz, C₁-H), 3.92 (1H, dt, J = 11.50, 4.00Hz, C₃-H), 3.82 (1H, ddt, J = 11.50, 7.75, 4.25Hz, C₂-H), 2.78 (2H, s, 可氘代, 两个OH), 2.03 (3H, s, CH₃-CO), 1.29(28H, s, -(CH₂)₁₄-), 0.90(3H, t, J = 7.50 Hz, 末端-CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃/DMSO = 4:1) δ (ppm): 169.8(s), 72.7(d), 61.6(t), 54.0(d), 33.8 (t), 31.4(t), 29.1(t), 29.1(t), 28.8(t), 25.6(t), 22.8(t), 21.1 (t), 13.6(q).

HRMS, m/z(%), 元素组成): 342.3042(0.12, C₂₀H₄₀NO₃), 325.2972 (0.66, C₂₀H₃₉NO₂) 312.2892 (7.66, C₁₉H₃₈NO₂), 307.2886 (0.20, C₂₀H₃₇NO), 295.2840 (2.5, C₁₉H₃₇NO) 294.2799 (6.03, C₁₉H₃₆NO), 285.2759 (0.27, C₁₈H₃₇O₂), 270.2795 (12.50, C₁₇H₃₆NO) 196.2194 (0.34, C₁₄H₂₈), 132.0658 (3.30, C₅H₁₀NO₃), 103.0634 (4.13, C₄H₉NO₂), 88.0530 (2.08, C₄H₈O₂), 85.0537 (100.00, C₄H₇NO), 60.0483 (13.51, C₂H₆NO).

中国科学院南海海洋研究所李楚璞对珊瑚样品作分类鉴定; 美国麻省理工学院 C.E. Costello 博士及 J.E. Vath 博士做氘硼化及质谱分析, 一并致谢.

参 考 文 献

- [1] Carter H E, *J. Biol. Chem.*, 170(1947), 285
- [2] Doty M S et al., *Nature*, 211(1966), 990
- [3] Mahendran M et al., *Phytochem.*, 18(1979), 1885
- [4] Beynon J H, *Mass Spectrometry and Its Applications to Organic Chemistry*, Elsevier, Amsterdam (1960), 262-263
- [5] Dorman D E et al., *J. Org. Chem.*, 36(1971), 2757
- [6] Kagan H B, *Stereochemistry-Fundamentals and Methods*, 1977, 45-47
- [7] Abraham R J et al., *J. Chem. Soc.*, B (1969), 961
- [8] Whitesides G W et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 89 (1967), 1135
- [9] Gaver R C et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 88 (1966) 3643
- [10] Carter H E et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 75 (1953), 1007

Studies on the Chemical Constituents of Chinese Soft Coral(xx)

—Ceramide from Soft Corals

Su Jingyu* Li Yan Yu Xiaoqiang

Abstract

Two ceramides, Sinumeramide (1) and N-acetyl dihydrosphingosine (2), have been isolated from three species of Chinese soft corals of genus *Sinularia*. Their structures have been determined by spectral analysis. In addition, in order to determine the position of the second double bond of 1, two methods have been used: ozonization-GC and deuteroboration-MS. 1 is a new compound, and 2 is first found as a natural product though it was synthesized tens years ago.

Keywords soft coral, ceramide, N-acyl sphingosine, isolation, purification

· 简讯 ·

《珠江三角洲环境与空间发展国际学术讨论会》 在广州中山大学举行

《珠江三角洲环境与空间发展国际学术讨论会》于1988年8月2日至4日在广州中山大学举行。

这次国际学术讨论会由广东省地理学会和香港地理学会联合举办,广东省地理学会副理事长、中山大学许学强教授和香港地理学会主席、香港大学叶嘉安博士主持了会议。来自美国、加拿大、英国、澳大利亚以及香港、澳门和国内各地学者100多人参加了会议。会议收到学术论文63篇,30多名学者在会上宣读了论文或发言。

会议讨论的内容较广泛,涉及到珠江三角洲的生态环境、滩涂开发、农村发展、城市化、港口建设等基础设施、人口流动、经济发展模式、旅游业和珠江三角洲与港澳的关系等方面。

(刘琦)

* Department of Chemistry