

· 论著 ·

西沙群岛隋氏蒂壳海绵 *Theonella swinhoei* 的化学成分研究

李彦赞, 徐彬, 程春伟, 林厚文, 杨帆 (上海交通大学医学院附属仁济医院药学部, 上海 200127)

[摘要] **目的** 对采自西沙群岛的隋氏蒂壳海绵 (*Theonella swinhoei*) 的次生代谢产物进行研究。**方法** 运用溶剂分步萃取以及减压柱色谱、中压柱色谱、薄层色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、高效液相色谱及液质联用等多种色谱分离与分析手段, 对隋氏蒂壳海绵的石油醚和二氯甲烷萃取部位进行分离纯化, 通过化合物的理化性质及波谱数据, 结合文献进行结构鉴定。**结果** 共分离得到 8 个化合物, 分别鉴定为 cholest-7-ene-3 β ,5 α ,6 β -triol (**1**), ergosta-7,22-diene-3 β ,5 α ,6 β -triol (**2**), 25-norcyloartane-3 β ,6 α ,16 β ,24-tetraol (**3**), sinuflexibilin D (**4**), 14-deoxycrassin (**5**), N-(2-phenylethyl)-(9Z)-tetradecanamide (**6**), N-(2-phenylethyl)-tetradecanamide (**7**), 7,8-dimethyl-isoalloxazine (**8**)。 **结论** 化合物 **1** ~ **7** 首次从 *Theonella* 属海绵中分离得到。

[关键词] 隋氏蒂壳海绵; 化学成分; 结构鉴定

[中图分类号] R282.77 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2018)01-0055-06

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.01.011

Chemical constituents from the marine sponge *Theonella swinhoei*

LI Yanyun, XU Bin, CHENG Chunwei, LIN Houwen, YANG Fan (Department of Pharmacy, Renji Hospital Affiliated to School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200127, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the chemical constituents of the marine sponge *Theonella swinhoei* collected from the Xisha Islands in the South China Sea. **Methods** The petroleum ether and dichloromethane extract of the marine sponge *T. swinhoei* were purified by solvent extraction and chromatographic methods including vacuum liquid chromatography (VLC), medium pressure liquid chromatography (MPLC), thin layer chromatography (TLC) on silica gel, high performance liquid chromatography (HPLC), and Sephadex LH-20. The chemical structures were determined by spectroscopic analysis and comparison with the reported data. **Results** Eight compounds were isolated and their structures were determined as cholest-7-ene-3 β ,5 α ,6 β -triol (**1**), ergosta-7,22-diene-3 β ,5 α ,6 β -triol (**2**), 25-norcyloartane-3 β ,6 α ,16 β ,24-tetraol (**3**), sinuflexibilin D (**4**), 14-deoxycrassin (**5**), N-(2-phenylethyl)-(9Z)-tetradecanamide (**6**), N-(2-phenylethyl)-tetradecanamide (**7**), 7,8-dimethyl-isoalloxazine (**8**). **Conclusion** Compounds **1** ~ **7** were isolated from the sponge of genus *Theonella* for the first time.

[Key words] *Theonella swinhoei*; marine sponge; chemical constituents; structure identification

隋氏蒂壳海绵 (*Theonella swinhoei*) 在分类学上属于寻常海绵纲 (Demospongiae) 石海绵目 (Lithistida) 蒂壳海绵科 (Theonellidae) 海绵。20 世纪 80 年代以来, 因次级代谢产物种类繁多、结构新颖、活性广泛而引发研究热潮。到目前为止, 从该属海绵中获得的化合物包括环肽、生物碱、大环内酯、甾体、糖酯等类型, 其中大环内酯类结构复杂, 取代多样, 在抗菌、蛋白抑制尤其是细胞毒方面具有显著

活性, 对多种癌细胞的 IC₅₀ 值可达到纳摩尔级别^[1]; 环肽类化合物大多具有独特的结构和新颖的作用机制, 具有细胞毒、抗菌、抗 HIV、酶抑制等多种生物活性^[2], 为药物研发提供了重要的先导化合物; 张文教授课题组还发现了具有独特 6/6/5/7 环系的重排甾体 swinhoeisterols A-B, 通过计算机虚拟对接和体外活性筛选发现 swinhoeisterols A 对 (h)P300 具有较强的抑制活性^[3]; 其他类型的次级代谢产物多具有较强的抗炎、抗真菌、抗肿瘤、免疫调节等生物活性^[4]。另外, 海绵 *T. swinhoei* 体内含有大量的共附生微生物, 在化学防御、有毒物质富集与转化、海洋抗污作用方面具有重要意义^[5,6], 与海绵次级代谢产物的化学多样性也密切相关^[7,8]。

本课题组专注于中国南海海绵及其微生物的次生代谢产物研究, 曾经对 *T. swinhoei* 海绵的化学

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (U1605221, 41476121, 81602981)

[作者简介] 李彦赞, 硕士研究生, 研究方向: 海洋药物化学, Tel: 15216656391, Email: cpu_liyanyun@163.com

[通讯作者] 杨帆, 博士, 助理研究员, 研究方向: 海洋药物化学, Tel: (021) 68383339, Email: yang-fan@sjtu.edu.cn

成分进行了研究,发现该海绵中含有环肽、甾体、核苷、生物碱等类型的化合物^[9,10]。基于前期研究,为了进一步探究该海绵丰富多样的次级代谢产物,课题组对 2013 年采自西沙海域的 *T. swinhoei* 海绵样本进行了化学成分研究,从中分离得到 8 个化合物,其中包括甾体类化合物 3 个,二萜类化合物 2 个,神经酰胺类化合物 2 个,生物碱类化合物 1 个。根据化合物理化性质及核磁数据,结合文献报道进行了结构解析。化合物 **1**~**7** 为首次从 *Theonella* 属海绵中分离得到,课题组的工作丰富了该属海绵的化学多样性。

1 实验部分

1.1 实验仪器与试剂

Bruker AVANCE-600 核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司);Q-ToF micro YA019 型液质联用仪(美国 Waters 公司);旋转蒸发器(EYELA-1000 型);Sephadex LH-20 (Amershampharmacia Biotech 公司);Waters 高效液相色谱仪(Waters 1525/2998);YMC C₁₈ 色谱柱(250 mm×10 mm, 5 μm), Waters C₁₈ 色谱柱(250 mm×10 mm, 5 μm);色谱级甲醇、乙腈、异丙醇、正己烷(Cinc High Purity Solvents Co. Ltd.);其他有机试剂均为分析纯(中国医药集团上海化学试剂公司);显色剂为浓硫酸香草醛乙醇溶液。

1.2 样品来源及鉴定

隋氏蒂壳海绵(*Theonella swinhoei*)样品于 2013 年 7 月采集自中国南海西沙永兴岛(Woody Island)附近水域,外表为深褐色,较圆滑,出水孔明显;质地较为紧密,内部组织显亮黄色。经中国科学院海洋所李锦和教授鉴定为寻常海绵纲(Demospongiae)石海绵目(Lithistida)蒂壳海绵科(Theonellidae)蒂壳海绵属(*Theonella*)隋氏蒂壳海绵。样品标本(编号:13-2)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 样品的提取分离和纯化

将冷藏的隋氏蒂壳海绵 *T. swinhoei* (湿重 30 kg)切碎后用 95% 乙醇室温渗漉,合并提取液,45℃减压浓缩得到总浸膏。将总浸膏混悬分散于水中,用乙酸乙酯萃取 4 次,浓缩萃取液得到脂溶性部位 171 g。将脂溶性部位混悬于 90% 的甲醇水溶液中,用等体积的石油醚萃取 3 次,合并萃取液后减压浓缩得到石油醚层共 147 g。加水将混悬液的甲醇浓度调整至 60%,用等体积的二氯甲烷萃取 3 次,

合并萃取液后减压浓缩得到二氯甲烷萃取层共 16 g。

将石油醚层 147 g 以石油醚-丙酮(50:1、25:1、10:1、0:1)作为流动相,利用减压柱色谱(VLC)梯度洗脱,得到 9 个组分(P1-P9)。组分 P8 经正相中压柱层析[石油醚-丙酮(30:1~5:1)为流动相洗脱]分离得到 4 个亚组分(P8A-P8D),P8B 经半制备型 HPLC xBridge Prep C₁₈ (10 mm×250 mm, 5 μm)纯化得到化合物 **4** (65% 乙腈-水, $t_R=20$ min, 2.6 mg), 化合物 **5** (65% 乙腈-水, $t_R=18$ min, 2.1 mg), P8C 经半制备型 HPLC xBridge Prep C₁₈ (10 mm×250 mm, 5 μm)纯化得到化合物 **3** (60% 乙腈-水, $t_R=21$ min, 16.9 mg)。

二氯甲烷萃取部位经中压 ODS 柱色谱(50%~100% 甲醇-水梯度洗脱 5 h)得到 5 个组分(D1-D5), D3(1.5 g)经正相中压柱层析[二氯甲烷-甲醇(30:1~1:1)为流动相洗脱]分离得到 5 个亚组分(D3A-D3E), D3C 经半制备型 HPLC (YMC-Pack Pro C₁₈ RS250 mm×10 mm I.D. S-5 μm, 8 nm)纯化得到化合物 **1** (85% 乙腈-水, $t_R=33$ min, 2.3 mg), **2** (85% 乙腈-水, $t_R=35$ min, 2.1 mg), **6** (80% 乙腈-水, $t_R=28$ min, 1.2 mg), **7** (78% 乙腈-水, $t_R=31$ min, 3.1 mg), D3D 经半制备型 HPLC (YMC-Pack Pro C₁₈ RS250 mm×10 mm I.D. S-5 μm, 8 nm)纯化得到化合物 **8** (72% 乙腈-水, $t_R=29$ min, 3.0 mg)。

2 结构鉴定

化合物 **1**~**8** 的结构见图 1。

化合物 **1**:白色粉末,易溶于二氯甲烷、氯仿等有机溶剂。ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z 419.66 $[M+H]^+$, 从而确定化合物相对分子质量为 418。结合¹³C NMR 和 DEPT 谱可以确定该化合物的分子式为 C₂₇H₄₆O₃, 计算不饱和度为 5。

¹H-NMR 谱中,在高场区有明显的 5 个甲基信号,低场区显示 1 个双键质子信号 δ_H 5.36(s), 以及 2 个连氧次甲基质子信号 δ_H 3.63(s)、4.08(m)。¹³C NMR 和 DEPT 谱显示分子中存在 27 个碳信号,可以归属为 4 个季碳,8 个次甲基碳(包括 1 个 sp³ 杂化的连氧次甲基碳),10 个亚甲基碳以及 5 个甲基碳。 δ_C :117.7、144.2 的碳信号表明结构中存在 1 个碳碳双键。其核磁共振数据归属如下:¹H NMR(600 MHz, CDCl₃) δ_H : 3.63(1H, s, H-6), 4.08(1H, m, H-3), 5.36(1H, s, H-7), 0.59(3H, s, H-18), 1.08(3H, s, H-19), 0.93(3H, d, J=

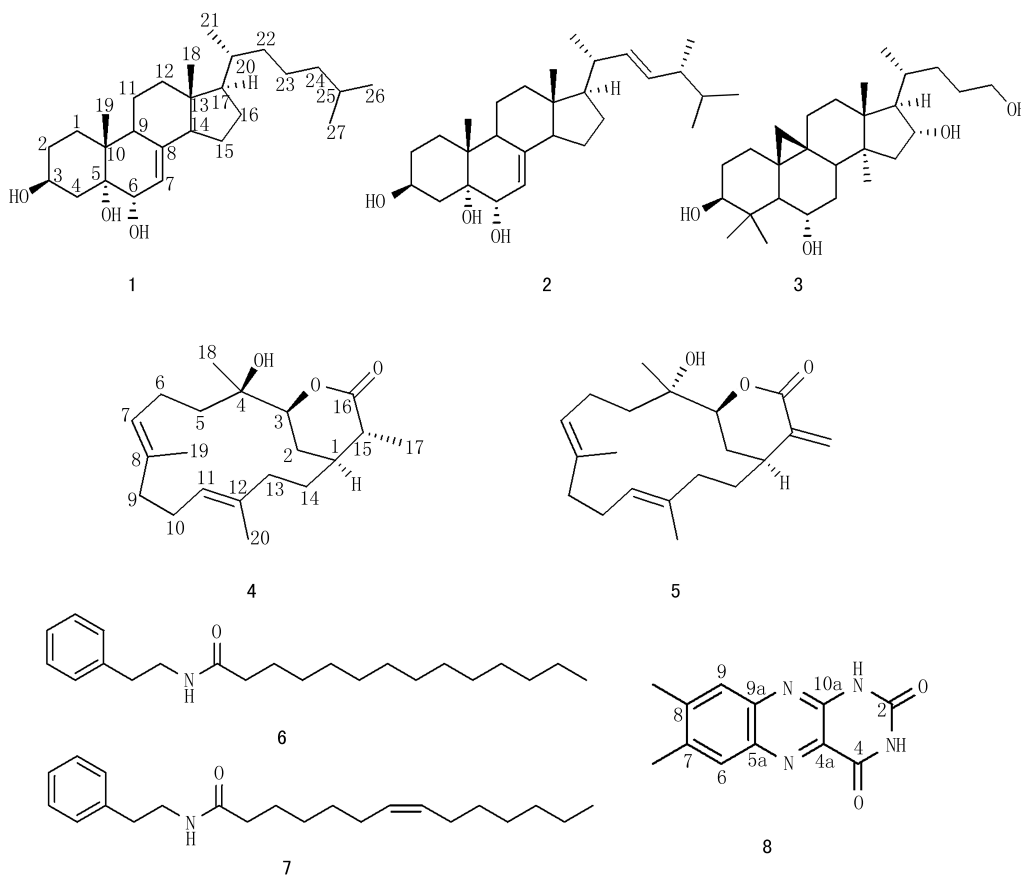


图 1 化合物 1~8 的结构

6.4 Hz, H-21), 0.87 (3H, d, $J=2.9$ Hz, H-26), 0.86 (3H, d, $J=2.9$ Hz, H-27); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 33.1 (C-1), 31.0 (C-2), 67.9 (C-3), 39.6 (C-4), 76.1 (C-5), 73.8 (C-6), 117.7 (C-7), 144.2 (C-8), 43.6 (C-9), 37.3 (C-10), 22.2 (C-11), 39.5 (C-12), 44.0 (C-13), 54.8 (C-14), 23.1 (C-15), 27.9 (C-16), 56.4 (C-17), 12.2 (C-18), 19.0 (C-19), 36.3 (C-20), 18.9 (C-21), 36.2 (C-22), 24.1 (C-23), 39.6 (C-24), 28.2 (C-25), 22.7 (C-26), 22.9 (C-27)。通过进一步的结构解析以及与文献 NMR 数据的对照^[11-13], 化合物 1 的结构可以确定为 cholest-7-ene-3 β , 5 α , 6 β -triol。

化合物 2: 白色粉末, 易溶于二氯甲烷、氯仿等有机溶剂。ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z 431.67 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 从而确定化合物相对分子质量为 430。结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱可以确定该化合物的分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_3$, 计算不饱和度为 6。

根据 ^1H NMR, 在高场区有明显的 6 个甲基质子信号 0.66 (s)、0.86 (d, $J=6.8$ Hz)、0.88 (d, $J=6.8$ Hz)、0.95 (d, $J=6.5$ Hz)、1.06 (d, $J=6.6$ Hz)、1.08 (s), 低场区显示 1 个双键质子信号

δ_{H} 5.33 (m), 以及 2 个连氧次甲基质子信号 δ_{H} 3.09 (m)、3.98 (m)。其核磁共振数据归属如下: ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 0.66 (3H, s, H-18), 0.86 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-26), 0.88 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-27), 0.95 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-28), 1.06 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H-21), 1.08 (3H, s, H-19), 3.09 (1H, brd, $J=4.5$ Hz, H-6), 3.98 (1H, m, H-3), 5.10 (2H, m, $J=16.0, 8.0$ Hz, H-22), 5.15 (1H, dd, $J=16.0, 7.5$ Hz, H-23), 5.33 (1H, m, H-7); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 12.82 (C-18), 18.22 (C-28), 18.91 (C-19), 20.10 (C-21), 20.67 (C-26), 21.66 (C-27), 23.04 (C-11), 24.07 (C-15), 28.56 (C-16), 31.77 (C-2), 33.45 (C-1), 33.92 (C-25), 38.15 (C-10), 40.51 (C-4), 40.73 (C-12), 41.07 (C-20), 43.57 (C-24), 44.37 (C-9), 44.60 (C-13), 55.94 (C-14), 57.34 (C-17), 68.39 (C-3), 76.94 (C-5), 83.14 (C-6), 119.07 (C-7), 133.32 (C-23), 137.28 (C-22), 143.75 (C-8)。以上数据与文献^[14]报道的数据对比一致, 确定该化合物 2 为 ergosta-7,22-diene-3 β ,5 α ,6 β -triol。

化合物 3: 无色油状物, 易溶于二氯甲烷、氯仿

等有机溶剂。ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z 419.35 $[M+H]^+$, 从而确定化合物相对分子质量为 418。结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱可以确定该化合物的分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}_3$, 计算不饱和度为 5。

在 ^1H NMR 谱中, 高场区有明显的 5 个甲基信号 0.78 (s)、0.86 (s)、0.90 (s)、0.96 (d, $J=6.6$ Hz)、1.03 (s), 低场区显示 3 个连氧次甲基质子信号 δ_{H} 3.72 (dd, $J=4.6, 11.6$ Hz)、3.83 (td, $J=3.2, 9.6$ Hz)、4.71 (td, $J=5.2, 7.6$ Hz) 以及 1 个连氧亚甲基质子信号 δ_{H} 4.05 (m)。 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱显示分子中存在 27 个碳信号, 可以归属为 5 个季碳 δ : 43.3、21.4、30.2、45.9、46.5; 7 个次甲基碳 δ : 55.0、66.9、47.6、71.8、60.1、78.4、35.9 (包括 3 个 sp^3 杂化的连氧次甲基碳); 10 个亚甲基碳 δ : 33.7、32.6、30.5、39.0、26.2、33.7、48.9、29.4、29.7、61.6 (包括 1 个 sp^3 杂化的连氧亚甲基碳) 以及 5 个甲基碳 δ : 18.4、19.1、20.3、29.8、15.5。其核磁共振数据归属如下: ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 3.72 (1H, dd, $J=4.6, 11.6$ Hz, H-3), 3.83 (1H, td, $J=3.2, 9.6$ Hz, H-6), 4.71 (1H, td, $J=5.2, 7.6$ Hz, H-16), 0.42 (1H, m, H-19), 0.65 (1H, m, H-19), 4.05 (2H, m, H-24), 0.78 (3H, s, H-18), 0.86 (3H, s, H-26), 0.90 (3H, s, H-27), 0.96 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-21), 1.03 (3H, s, H-25); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 33.7 (C-1), 32.6 (C-2), 78.4 (C-3), 43.3 (C-4), 55.0 (C-5), 66.9 (C-6), 39.0 (C-7), 47.6 (C-8), 21.4 (C-9), 30.2 (C-10), 26.2 (C-11), 33.7 (C-12), 45.9 (C-13), 46.5 (C-14), 48.9 (C-15), 71.8 (C-16), 60.1 (C-17), 18.4 (C-18), 29.4 (C-19), 30.5 (C-20), 19.1 (C-21), 29.7 (C-22), 35.9 (C-23), 61.6 (C-24), 20.3 (C-25), 29.8 (C-26), 15.5 (C-27)。通过进一步的结构解析以及与文献报道的 NMR 数据对照^[15], 化合物 3 的结构可以确定为 25-norcycloartane-3 β ,6 α ,16 β ,24-tetraol。

化合物 4: 无色油状物, 易溶于二氯甲烷、氯仿等有机溶剂。ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z 343.22 $[M+H]^+$, 从而确定化合物相对分子质量为 342。结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱可以确定该化合物的分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_3$, 计算不饱和度为 5。

在 ^1H NMR 谱中, 高场区有 4 个明显的甲基质子信号 δ_{H} 1.32 (d, $J=7.2$ Hz)、1.40 (s)、1.57 (s)、1.57 (s), 低场区显示 2 个烯氢质子信号 δ_{H} 5.05 (t, $J=7.8$ Hz)、5.11 (t, $J=6.6$ Hz) 和 1 个连氧质子信号 δ_{H} 4.04 (d, $J=10.2$ Hz)。结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱可知化合物结构中共有 20 个碳原子, 其中

包含 4 个甲基信号 δ : 14.3、15.5、16.5、25.0; 7 个亚甲基信号 δ : 22.8、24.1、27.0、30.6、36.8、37.9、39.6; 5 个次甲基信号 δ : 42.2、37.9、84.5、124.8、126.7 以及 4 个季碳信号 δ : 74.6、132.5、134.7、175.4。在 ^{13}C NMR 谱中 δ : 175.4 处有一羰基季碳信号, 显示结构中可能存在一个内酯环。 δ : 124.78、126.70、132.47、134.72 的碳信号表明结构中存在 2 个碳碳双键官能团, δ : 74.56、84.44 处分别为连氧季碳和连氧次甲基。其核磁共振数据归属如下: ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 1.30 (1H, m, H-1), 2.09 (1H, m, H-2), 4.04 (1H, d, $J=10.2$ Hz, H-3), 1.76 (1H, m, H-5), 1.64 (1H, m, H-5), 2.27 (1H, m, H-6), 2.14 (1H, m, H-6), 5.05 (1H, t, $J=7.8$ Hz, H-7), 2.17 (1H, m, H-9), 1.98 (1H, m, H-9), 1.89 (1H, m, H-10), 5.11 (1H, t, $J=6.6$ Hz, H-11), 2.09 (1H, m, H-13), 1.26 (1H, m, H-13), 1.76 (1H, m, H-14), 1.12 (1H, m, H-14), 2.09 (1H, m, H-15), 1.32 (3H, d, $J=7.2$ Hz, H-17), 1.40 (3H, s, H-18), 1.57 (3H, s, H-19), 1.57 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 36.6 (C-1), 36.8 (C-2), 84.5 (C-3), 74.6 (C-4), 37.9 (C-5), 24.1 (C-6), 124.8 (C-7), 134.7 (C-8), 39.6 (C-9), 22.8 (C-10), 126.7 (C-11), 132.5 (C-12), 27.0 (C-13), 30.6 (C-14), 42.2 (C-15), 175.4 (C-16), 16.5 (C-17), 25.0 (C-18), 14.3 (C-19), 15.5 (C-20)。通过文献调研^[16], 化合物 4 的结构鉴定为六元内酯环型西松烷型二萜内酯 (sinuflexibilin D)。

化合物 5: 无色油状物, 易溶于二氯甲烷、氯仿等有机溶剂。ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z 341.30 $[M+H]^+$, 从而确定化合物相对分子质量为 340。结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱可以确定该化合物的分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_3$, 计算不饱和度为 6。

在 ^1H NMR 谱中, 高场区有 3 个明显的甲基质子信号 δ_{H} 1.42 (s)、1.59 (s)、1.62 (s), 低场区显示 4 个烯氢质子信号 δ_{H} 5.07 (t, $J=7.8$ Hz)、5.16 (t, $J=6.6$ Hz)、5.67 (d, $J=2.4$ Hz)、6.47 (d, $J=2.6$ Hz) 和 1 个连氧质子信号 δ_{H} 4.03 (dd, $J=11.3, 1.4$ Hz)。结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱可知化合物结构中共有 20 个碳原子, 分别归属为一个羰基季碳信号 δ : 167.4; 3 个烯基季碳信号 δ : 132.2、135.3、140.3; 1 个烯基末端亚甲基信号 δ : 127.2; 2 个烯基次甲基信号 δ : 126.5、125.2; 2 个连氧碳信号 δ : 74.4、83.4; 1 个 sp^3 杂化的次甲基信号 δ : 33.5; 7 个 sp^3 杂化的亚甲基信号 δ : 24.3、26.5、29.9、31.9、36.2、38.5、40.2 以及 3 个甲基碳信号

δ : 14.1, 14.9, 22.4。其核磁共振数据归属如下: ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 5.07 (1H, t, $J=7.8$ Hz, H-7), 5.16 (1H, t, $J=6.6$ Hz, H-11), 5.67 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-17), 6.47 (1H, d, $J=2.6$ Hz, H-17), 4.03 (1H, dd, $J=11.3, 1.4$ Hz, H-3), 1.42 (3H, s, H-18), 1.59 (3H, s, H-19), 1.62 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 33.5 (C-1), 36.2 (C-2), 83.4 (C-3), 74.4 (C-4), 38.5 (C-5), 26.5 (C-6), 125.2 (C-7), 135.3 (C-8), 40.2 (C-9), 24.3 (C-10), 126.5 (C-11), 132.2 (C-12), 29.9 (C-13), 31.9 (C-14), 140.3 (C-15), 167.4 (C-16), 127.2 (C-17), 22.4 (C-18), 14.1 (C-19), 14.9 (C-20)。通过进一步的结构解析以及 NMR 数据与文献对照^[17,18], 化合物 **5** 的结构可以确定为 14-deoxycrassin。

化合物 **6**: 无色油状物, 易溶于二氯甲烷、氯仿等有机溶剂。ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z 332.29 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 从而确定化合物相对分子质量为 331。结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱可以确定该化合物的分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{37}\text{NO}$, 计算不饱和度为 5。

在 ^1H NMR 谱中, 高场区显示 1 个甲基信号, 低场区显示典型的单取代苯环质子信号, 推测结构中具有单取代苯环官能团。 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱显示分子中存在 20 个碳信号, 可以归属为 1 个羰基碳 δ : 173.3; 1 个芳香族季碳 δ : 139.1; 5 个芳香族次甲基碳信号 δ : 126.65, 128.77, 128.78, 128.91, 128.92; 14 个亚甲基碳 δ : 25.9, 27.5, 28.1, 29.4, 29.5, 29.6, 29.7, 29.8, 29.9, 30.1, 35.8, 37.0, 39.2, 40.6 以及 1 个甲基碳 δ : 22.8。其核磁共振数据归属如下: ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 173.3 (C-1), 37.0 (C-2), 25.9 (C-3), 27.6 (C-4), 28.1 (C-5), 29.4 (C-6), 29.5 (C-7), 29.6 (C-8), 29.7 (C-9), 29.8 (C-10), 29.9 (C-11), 30.1 (C-12), 29.3 (C-13), 22.8 (C-14), 40.6 (C-1'), 39.2 (C-2'), 139.09 (C-3'), 126.6 (C-4'), 128.8 (C-5'), 128.9 (C-6')。通过与文献报道的数据对照^[19], 化合物 **6** 的结构可以鉴定为 N-(2-phenylethyl)tetradecanamide。

化合物 **7**: 无色油状物, 易溶于二氯甲烷、氯仿等有机溶剂。ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z 330.28 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 从而确定化合物相对分子质量为 329。结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱可以确定该化合物的分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{NO}$, 计算不饱和度为 6。

在 ^1H NMR 谱中, 高场区显示 1 个甲基信号, 低场区显示典型的单取代苯环质子信号, 推测结构中具有单取代苯环官能团。 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱

显示分子中存在 22 个碳信号, 可以归属为 1 个羰基碳 δ : 173.2; 1 个芳香族季碳 δ : 139.1; 5 个芳香族次甲基碳信号 δ : 126.64, 127.77, 128.78, 128.91, 128.92 和 2 个双键次甲基碳信号 δ : 129.9, 130.1; 14 个亚甲基碳 δ : 22.8, 25.9, 27.3, 27.4, 29.1, 29.3, 29.4, 29.4, 29.9, 29.9, 31.9, 35.8, 37.0, 40.6 以及 1 个甲基碳 δ : 14.3。其核磁共振数据归属如下: ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 173.2 (C-1), 35.8 (C-2), 25.8 (C-3), 27.3 (C-4), 29.2 (C-5), 27.3 (C-6), 130.1 (C-7), 129.9 (C-8), 27.4 (C-9), 29.9 (C-10), 29.4 (C-11), 31.9 (C-12), 22.8 (C-13), 14.2 (C-14), 40.6 (C-1'), 37.0 (C-2'), 139.1 (C-3'), 128.9 (C-4'), 128.7 (C-5'), 126.6 (C-6')。通过与文献报道的数据对照^[20], 化合物 **7** 的结构可以鉴定为 N-(2-phenylethyl)-(9Z)-tetradecanamide。

化合物 **8**: 淡黄色粉末。ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z : 243.08 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 265.08 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 507.08 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$, 从而确定化合物相对分子质量为 242。结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱可以确定该化合物的分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$, 计算不饱和度为 10。

在 ^1H NMR 谱中, 高场区有 2 个明显的甲基质子信号 δ_{H} 2.27 (s), 2.33 (s), 低场区显示 2 个酰胺基质子信号 δ_{H} 14.18 (brs), 13.95 (brs) 和 2 个芳香族质子信号 δ_{H} 8.06 (s), 7.88 (s)。 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱显示分子中存在 12 个碳信号, 可以归属为 2 个次甲基碳信号 δ : 131.4, 127.5, 2 个甲基信号 δ : 20.8, 20.2 以及 8 个季碳信号 δ : 162.4, 152.2, 150.6, 148.1, 143.4, 140.2, 139.5, 130.1。其核磁共振数据归属如下: ^1H NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅) δ_{H} : 14.18 (1H, brs, NH-1), 13.95 (1H, brs, NH-3), 8.06 (1H, s, H-6), 7.88 (1H, s, H-9), 2.33 (3H, s, 8-CH₃), 2.27 (3H, s, 7-CH₃)。 ^{13}C NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 152.2 (C-2), 162.4 (C-4), 150.6 (C-4a), 143.4 (C-5a), 131.4 (C-6), 139.5 (C-7), 140.2 (C-8), 127.5 (C-9), 130.1 (C-9a), 148.1 (C-10a), 20.2 (7-CH₃), 20.8 (8-CH₃)。以上数据与现有文献[21]报道进行对比, 发现其 NMR 数据与已知化合物 7,8-dimethyl-isoalloxazine 一致, 故确定化合物 **8** 的结构为 7,8-dimethyl-isoalloxazine。

3 结语

本文报道了西沙永兴岛隋氏蒂壳海绵 *T. swinhoei* 的化学成分研究工作, 共分离得到 8 个化

合物,其中 1~7 为首次从 *Theonella* 属海绵中分离得到,进一步丰富了该属海绵次级代谢产物的多样性。

海绵生物种类的多样性、代谢途径的独特性、生存环境的复杂性以及共生体的不确定性,决定了其能够产生大量结构新颖、生物活性广泛的次级代谢产物,这些次级代谢产物是创新药物先导化合物的重要来源。化合物 4、5 有报道从珊瑚 *Sinularia* sp. 中分离得到^[16, 18],笔者在隋氏蒂壳海绵中也发现该类化合物(样本采集过程中进行了严格的品种归类),暗示这些化合物的生物合成可能与微生物相关,为该类分子生源合成的探索提供了出发点和依据。

隋氏蒂壳海绵(*Theonella swinhoei*)的次级代谢产物在海绵来源天然产物化学研究中占有重要的地位,其中不少化合物具有较强的生物活性,多年来一直都是天然药物化学领域的研究热点,并且近年来还引起了许多微生物学家、生态学家的关注。本研究为海绵天然产物的发现和我国西沙海绵资源的合理利用提供了一定的物质基础和理论依据。

【参考文献】

- [1] 釜野德明,张惠平. 海洋抗肿瘤活性大环内酯类化合物化学成分研究近况[J]. 天然产物研究与开发, 1992, 4(3): 48-72.
- [2] Sinisi A, Calcinaï B, Cerrano C, et al. New tridecapeptides of the theonellapeptolide family from the Indonesian sponge *Theonella swinhoei* [J]. Beilstein J Org Chem, 2013, 9: 1643-1651.
- [3] Gong J, Sun P, Jiang N, et al. New steroids with a rearranged skeleton as (h)P300 inhibitors from the sponge *Theonella swinhoei* [J]. Org Lett, 2014, 16(8): 2224-2227.
- [4] Gerwick WH, Moore BS. Lessons from the past and charting the future of marine natural products drug discovery and chemical biology [J]. Chem Biol, 2012, 19(1): 85-98.
- [5] Keren R, Lavy A, Mayzel B, et al. Culturable associated-bacteria of the sponge *Theonella swinhoei* show tolerance to high arsenic concentrations [J]. Front Microbiol, 2015, 6: 154-163.
- [6] Keren R, Mayzel B, Lavy A. Sponge-associated bacteria mineralize arsenic and barium on intracellular vesicles [J]. Nat Commun, 2017, 8: 14393-14405.
- [7] Wilson MC, Mori T, Ruckert C, et al. An environmental bacterial taxon with a large and distinct metabolic repertoire [J]. Nature, 2014, 506(7486): 58-62.
- [8] Jin L, Liu F, Sun W, et al. Pezizomycotina dominates the fungal communities of South China sea sponges *Theonella swinhoei* and *Xestospongia testudinaria* [J]. FEMS Microbiol Ecol, 2014, 90(3): 935-945.
- [9] 张红军. 三种西沙海绵化学成分和生物活性研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2009.
- [10] Zhang HJ, Yi YH, Lin HW. Oxygenated 4-methylidene sterols from the south China sea sponge *Theonella swinhoei* [J]. Helv Chim Acta, 2010, 93(6): 1120-1126.
- [11] Zipser B, Bradford JJ, Hollingsworth RI. Cholesterol and its derivatives, are the principal sterols isolated from the leech species *Hirudo medicinalis* [J]. Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol, 1998, 120(2): 269-282.
- [12] Musumeci D, Sica D. CH(3)ReO(3)-catalyzed oxidation of cholesta-5,7-dien-3beta-yl acetate with the urea-hydrogen peroxide adduct under various conditions. Synthesis of the natural epoxy sterol 9alpha,11alpha-epoxy-5alpha-cholest-7-en-3beta,5,6beta-triol [J]. Steroids, 2002, 67(7): 661-668.
- [13] 高慧敏, 吴喜燕, 李宗云, 等. 蟾蜍化学成分及体外抗肿瘤活性研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(16): 2207-2210.
- [14] Kwon HC, Zee SD, Cho SY, et al. Cytotoxic ergosterols from *Paecilomyces* sp. J300 [J]. Arch Pharm Res, 2002, 25(6): 851-855.
- [15] Agzamova MA, Isaev MI. Triterpene glycosides of *Astragalus* and their genins. LVI. cyclopentanohside- a new cycloartane glycoside [J]. Chem of Nat Compd, 1998, 34(2): 155-159.
- [16] Yang B, Zhou X, Huang H, et al. New cembrane diterpenoids from a Hainan soft coral *Sinularia* sp [J]. Mar Drugs, 2012, 10(9): 2023-2032.
- [17] Rodriguez AD, Martinez N. Marine antitumor agents: 14-deoxycrassin and pseudoplexaurol, new cembranoid diterpenes from the Caribbean gorgonian *Pseudoplexaura porosa* [J]. Experientia, 49(2): 179-181.
- [18] Shih HJ, Tseng YJ, Huang CY, et al. Cytotoxic and anti-inflammatory diterpenoids from the Dongsha Atoll soft coral *Sinularia flexibilis* [J]. Tetrahedron, 2012, 68(1): 244-249.
- [19] Boeroeczky K, Laatsch H, Wagnerdoebler I, et al. Cluster analysis as selection and dereplication tool for the identification of new natural compounds from large sample sets [J]. Chem Biodivers, 2006, 3(6): 622-634.
- [20] Hill AJ, Hall GE. Some sulfanilamide derivatives of the isoquinoline series [J]. J Am Chem Soc, 1952, 74(3): 666-668.
- [21] 甘建红, 席达, 于豪冰, 等. 中国南海隋氏蒂壳海绵 *Theonella swinhoei* 的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2014, (2): 209-211.

【收稿日期】 2017-04-06 【修回日期】 2017-09-12

【本文编辑】 顾文华