

· 研究报告 ·

南海海绵 *Clathria fasciculata* 化学成分的研究 (I)[△]

肖定军¹, 邓松之¹, 曾陇梅²

(1. 中国科学院广州化学研究所, 广东 广州 510650; 2. 中山大学化学系, 广东 广州 510275)

摘 要: 从中国南海海绵 *Clathria fasciculata* 的乙酸乙酯可溶部分分离获得 11 个纯有机化合物, 经 Liebermann-Burchard 试验和 IR、¹H-NMR、¹³C-NMR、DEPT、EIMS 等波谱技术, 确定其中的 3 个为甾醇类化合物, 分别是: 胆甾-6-烯-5 α , 8 α -环二氧-3 β -醇 (I); (24s)-豆甾-5-烯-3 β -醇 (II) 和胆甾醇 (III)。其余几个化合物的结构仍在鉴定之中。

关键词: 海绵; 化学成分; 环二氧甾醇; 结构鉴定

中图分类号: R931.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-3461-(2002)02-0001-04

Studies on the chemical constituents of the marine sponge *Clathria fasciculata* from the South China Sea

XIAO Ding-jun, DENG Song-zhi, ZENG Long-mei

(Guangzhou institute of Chemistry, Academia sinica, Guangzhou 510650, China)

Abstract: Eleven pure compounds were isolated from the ethyl acetate soluble fraction of the marine sponge *Clathria fasciculata* collected from the South China Sea. Three of them were identified by IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, EIMS and Liebermann-Burchard test as sterols: 5 α , 8 α -Epidioxycholesta-6-en-3 β -ol (I), (24s)-Stigmast-5-en-3 β -ol (II) and cholesterol (III). Other compounds are still under identification.

Key words: *Clathria fasciculata*; Marine sponge; Identification; Epidioxy Sterol

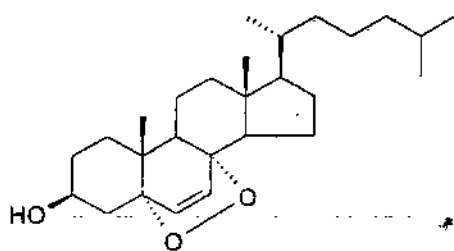
海洋生物中含有非常丰富的甾醇类化合物, 与陆地甾醇相比, 海洋甾醇往往具有一些新颖的甾核, 独特的官能团, 或者具有不寻常的侧链, 有的则具有极其显著的生理活性^[1]。我们在研究南海海绵 *Clathria fasciculata* 化学成分的过程中, 从其乙酸乙酯可溶部分分离纯化出 3 个甾醇类化合物, 经 Liebermann-Burchard 试验和 IR、¹H-NMR、¹³C-NMR、DEPT、EIMS 等波谱技术确定它们分别是: 胆甾-6-烯-5 α , 8 α -环二氧-3 β -醇 (I)、(24s)-豆甾-5-烯-3 β -醇 (II) 和胆甾醇 (III)。化学结构见图 1。化合物 (I) 是 7-脱氢胆甾醇的过氧化物, 具有特殊的环二氧桥键。笔者曾从另一种海绵中获得过该化合物^[2]。研究表明, 此类环二氧甾醇具有一定的抗病毒和抗肿瘤活性,

如法国的 Gauvin 等发现, 含有化合物 I 的 10 种环二氧甾醇混合物体外对一种人类 T 细胞白血病病毒 HTLV-I 有较好的抑制作用, 对人乳腺癌细胞系 MCF₇WT 也有较强的细胞毒性, 在 80mg · L⁻¹ 时体外抑制率达 87%^[3]。韩国的苏永丸等也发现化合物 I 对一种 PLA₂ 病毒有较好的抑制活性^[4]。

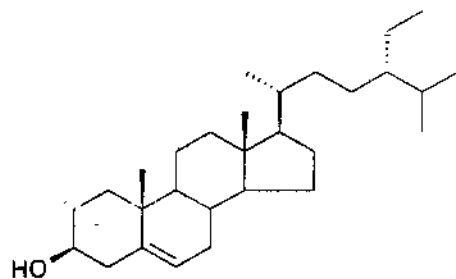
化合物 II 是 β -谷甾醇的差向异构体, 谷甾醇在医药上主要用于治疗 II 型高脂蛋白血症及预防动脉粥样硬化, 另外还用于宫颈癌、宫颈间变、皮肤鳞状细胞癌、皮肤溃疡等症的治疗^[5]。胆甾醇 (III) 则是最早发现的一个甾族化合物, 广泛存在于动物的血液、脂肪、脑髓及神经组织中, 目前主要用于维生素 D₂ 的合成及人工牛黄、激素类药物的制备等。海洋生物

中的甾醇常常以混合物形式存在,最多组分能达二、三十种,用一般层析法较难分离。从海绵

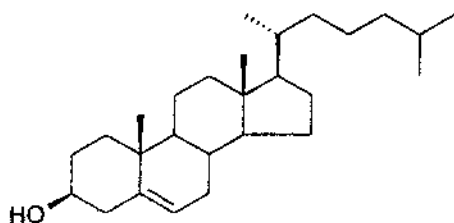
中获得如此多的纯的甾醇很少见。本文也是首次报道该种属海绵的化学成分。



(I) 胆甾-6-烯-5 α ,8 α -环二氧-3 β -醇



(II) 24(s)-豆甾-5-烯-3 β -醇



(III) 胆甾醇

图 1 来自南海海绵 *Clathria fasciculata* 的 3 个甾醇类化合物的结构式

1 实验部分

1.1 样品 海绵 *Clathria fasciculata* 采集于海南省文昌附近海域,种属由荷兰阿姆斯特丹大学动物学博物院 Rob van Soest 博士鉴定,现存放于中科院广州化学研究所化学室。

1.2 仪器与试剂 Kofler 型显微熔点仪(温度计未校正);WQF-410FT 红外光谱仪(KBr 压片);Bruker DRX-400 型核磁共振仪(内标 TMS);SHIMADZUQP5050A 色质联用仪。层析硅胶:300~400 目,青岛海洋化工有限公司;其他试剂均为广州化学试剂厂产品。

1.3 分离提纯 样品采集后挤干水分(湿重 15kg)直接浸泡于 95% 的工业酒精储存。用该浓度酒精浸提 3 次后,将浓缩物分散于 1500mL 的水中,分别以等体积的乙酸乙酯、正丁醇萃取 3 次,合并萃取液并浓缩,得乙酸乙酯可溶物 17.6g。此可溶物经硅胶柱层析

(石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱,5%,10%,20%,30%,40%,60%,80%,100%)得 7 个组分。第 3 组分(8.75g)经硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯=85:15)得白色固体 4g,经氯仿-甲醇体系重结晶得片状晶体化合物 I 2.5g。第四组分(1.19g)经硅胶柱层析(石油醚:乙酸乙酯=3:1)获 A、B 两组分,A(500mg)经 2 次葡聚糖凝胶 LH-20 层析和氯仿-甲醇重结晶得针状晶体化合物 II 300mg;B 组分经 2 次硅胶柱层析(石油醚:丙酮=3:1)和葡聚糖凝胶层析得白色固体 80mg,再经石油醚-甲醇体系重结晶得针状晶体化合物 I 20mg。

2 结果与讨论

2.1 化合物 I liebermann-Burchard 试验呈阳性,说明是甾醇类化合物。¹H-NMR 低场处两个 d 峰(J=8.4Hz)说明分子含顺式二取代双键, δ 3.95 处的多重峰则是典型的甾醇 3 位 α 质子信号,高场处 δ 0.78 和 0.86 的两个

单峰分别是 18 和 19 角甲基的信号;
 ^{13}C -NMR 和 DEPT 显示分子含 27 个碳,其中 5 个甲基,10 个亚甲基,8 个次甲基(2 个属烯碳),4 个季碳(2 个为连氧碳);以上这些信息使我们发现化合物(I)与我们曾经获得的胆甾-6-烯-5 α ,8 α -环二氧-3 β -醇很相似^[2]。将

化合物 I 的碳谱数据与文献值^[3]对照,见表 1,非常吻合。再由 EIMS 分析,分子离子峰 m/z 416,极易失去一分子氧得 m/z 384 的稳定碎片峰。其余主要碎片峰也都与文献^[3]一致,由此确定化合物 I 为胆甾-6-烯-5 α ,8 α -环二氧-3 β -醇。

表 1 化合物 I ~ III 的碳谱数据(CDCl₃)及相应的文献值

序号	化合物 I	文献[3]	化合物 I	文献[6]	化合物 II	文献[6]
1	34.7(t)	34.7(t)	37.3(t)	37.3(t)	37.2(t)	37.3(t)
2	30.1(t)	30.2(t)	31.7(t)	31.6(t)	31.7(t)	31.7(t)
3	66.4(d)	66.5(d)	71.8(d)	71.7(d)	71.8(d)	71.8(d)
4	36.9(t)	37.0(t)	42.3(t)	42.3(t)	42.3(t)	42.3(t)
5	82.1(s)	82.4(s)	140.7(s)	140.7(s)	140.7(s)	140.8(s)
6	135.4(d)	135.5(d)	121.7(d)	121.6(d)	121.7(d)	121.7(d)
7	130.7(d)	130.8(d)	31.9(t)	31.9(t)	31.9(t)	31.9(t)
8	79.4(s)	79.5(s)	31.9(d)	31.9(d)	31.9(d)	31.9(d)
9	51.1(d)	51.1(d)	50.1(d)	50.2(d)	50.1(d)	50.2(d)
10	36.9(s)	37.0(s)	36.5(s)	36.5(s)	36.5(s)	36.5(s)
11	23.4(t)	23.5(t)	21.1(t)	21.1(t)	21.1(t)	21.1(t)
12	39.4(t)	39.5(t)	39.8(t)	39.8(t)	39.8(t)	39.8(t)
13	44.7(s)	44.8(s)	42.3(s)	42.3(s)	42.3(s)	42.3(s)
14	51.6(d)	51.6(d)	56.8(d)	56.8(d)	56.8(d)	56.8(d)
15	20.6(t)	20.7(t)	24.3(t)	24.3(t)	24.3(t)	24.3(t)
16	28.2(t)	28.3(t)	28.2(t)	28.3(t)	28.2(t)	28.2(t)
17	56.4(d)	56.5(d)	56.0(d)	56.1(d)	56.2(d)	56.2(d)
18	12.6(q)	12.7(q)	11.8(q)	11.9(q)	11.8(q)	11.9(q)
19	18.1(q)	18.2(q)	19.4(q)	19.4(q)	19.4(q)	19.4(q)
20	35.2(d)	35.3(d)	36.2(d)	36.3(d)	35.8(d)	35.8(d)
21	18.6(q)	18.6(q)	18.8(q)	18.8(q)	18.7(q)	18.7(q)
22	35.9(t)	36.0(t)	33.9(t)	33.9(t)	36.2(t)	36.2(t)
23	23.8(t)	23.9(t)	26.4(t)	26.4(t)	23.8(t)	23.8(t)
24	39.4(t)	39.5(t)	46.1(d)	46.1(d)	39.5(d)	39.5(d)
25	28.0(d)	28.0(d)	28.9(d)	29.0(d)	28.0(d)	28.0(d)
26	22.5(q)	22.6(q)	19.0(q)	19.1(q)	22.5(q)	22.6(q)
27	22.8(q)	22.9(q)	19.6(q)	19.6(q)	22.8(q)	22.8(q)
28			23.0(t)	23.1(t)		
29			12.3(q)	12.3(q)		

2.2 化合物 I 和化合物 II 两者对 Liebermann-Burchard 试验皆呈阳性,说明都是甾醇类化合物。两者的 ^1H -NMR 都显示出典型的 3 β -甾醇的共振信号,外观也基本相同。但 ^{13}C -NMR 和 DEPT 显示化合物 I 比 II 多一个甲基和次甲基,暗示化合物 I 比 II 多一个乙基取代基,其余碳的 δ 值则有小部分的

变化。EIMS 显示化合物 I 相对分子质量 414,化合物 II 相对分子质量 386,经计算机检索质谱数据库,发现 II 的碎片峰与 β -谷甾醇的质谱图一致,而化合物 I 则与胆甾醇的质谱图一致,由此推断化合物 I 为 β -谷甾醇,化合物 II 则为胆甾醇。分别将两者的碳谱数据与文献值^[6]对照(见表 1),发现化合物 I

与 β -谷甾醇的(24s)差向异构体数据比较接近,由此断定化合物 I 为(24s)-豆甾-5-烯-3 β -醇。化合物 II 的数据则与胆甾醇的数据完全一致。

3 物理常数与波谱数据

化合物 I: mp 142~148°C; IR_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3397, 2255, 1467, 1379, 1077, 1044, 1027, 935, 887, 859, 778, 723; ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 6.48(1H, d, J=8.4Hz), 6.22(1H, d, J=8.5Hz), 3.95(1H, m), 0.87(d, J=6.5Hz), 0.86(S), 0.83(d, J=6.6Hz), 0.82(d, J=6.6Hz), 0.78(S); ¹³C-NMR 见表 1; MS m/z: 416(M⁺), 398(M-H₂O), 384(M-O₂, 100), 366(M-O₂-H₂O), 351(M-O₂-H₂O-CH₃), 325(M-O₂-C₃H₇O), 303(M-side chain), 301, 271, 253, 211, 197, 171, 152, 133, 107, 95, 81, 69, 55, 43.

化合物 II: mp 132~136°C; IR_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3420, 2980, 2960, 1560; ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 5.33(1H, t, J=2.5Hz), 3.47(1H, m), 0.98(S, H-19), 0.91~0.78(12H, m), 0.66(S, H-18); ¹³C-NMR 见表 1; MS m/z: 414(M⁺), 381, 329, 303, 273(M-side chain), 255, 231, 213,

173, 161, 145, 133, 119, 95, 81, 69, 55, 43.

化合物 II: mp 142~148°C; ¹H-NMR (CDCl₃) δ : ¹H-NMR (CDCl₃) δ : 5.33(1H, t, J=2.5Hz), 3.50(1H, m), 0.98(S, H-19), 0.90~0.78(9H, m), 0.66(S, H-18); ¹³C-NMR 见表 1; MS m/z: 386(M⁺), 368(M-H₂O), 353, 301, 275, 273(M-side chain), 255, 247, 231, 213, 178, 159, 145, 133, 119, 107, 95, 81, 69, 55, 43.

参考文献

- [1] Faulkner DJ. Marine Natural Products [J]. Nat. Prod. Rep. 2001, 18: 1 and the preceding papers in the series.
- [2] 肖定军, 邓松之, 吴厚铭. 南海海绵 *Gellius cynifor mis* 化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(1): 6.
- [3] Gauvin A, Smadja J. Isolation of bioactive 5 α , 8 α -epidioxysterols from the marine sponge *Luffariella cf. Variabilis* [J]. Can J Chem. 2000, 78: 986.
- [4] Seo YW, Rho J-R, Shin J. Isolation of two steroids from the marine polychaete worm *Perinereis aibuhitensis* [J]. Ocean Res. 1996, 18: 83.
- [5] 奚若明, 张明国. 中国化工医药产品大全 [M]. 北京: 科学出版社, 1991, 924.
- [6] Wright JLC, McInnes AG, Shimizu S, et al. Identification of C-24 alkyl epimers of marine sterols by ¹³C-NMR spectroscopy [J]. Can J Chem. 1978, 56: 1898.

(收稿日期: 2001-07-30)

转胸腺素 $\alpha 1$ 基因聚球藻抗氧化作用的研究^Δ

刘仁海 章军 周克夫 徐虹 徐惠娟 楼士林

(厦门大学 生命科学学院 细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘要: 本试验室已在蓝藻聚球藻中高效表达了人源胸腺素 $\alpha 1$ (thymosin $\alpha 1$, Ta1) 基因, 为研究转 Ta1 基因聚球藻口服后的生物活性, 本研究给小鼠灌服转 Ta1 基因聚球藻 14d, 研究其对小鼠谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、过氧化氢酶 (Cat) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 活力以及丙二醛 (MDA) 含量的影响, 结果表明: 转胸腺素 $\alpha 1$ 基因聚球藻可显著提高小鼠心、肝与肾中 GSH-Px 活力 ($P < 0.01$); 明显提高心脏 Cat 活性 ($P < 0.01$); 显著降低肝脏中 MDA 的含量 ($P < 0.01$); 但对 SOD 活力无明显作用。提示转胸腺素 $\alpha 1$ 基因聚球藻较强的抗氧化作用。

关键词: 转胸腺素 $\alpha 1$ 基因聚球藻; 抗氧化作用; 谷胱甘肽过氧化物酶; 过氧化氢酶; 超氧化物歧化酶; 丙二醛
中图分类号: R931.711 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-3461-(2002)02-0004-04

^Δ 基金项目: 国家海洋 863 课题 (项目编号: 819-04-03) 和福建省自然科学基金项目 (项目编号: c0010002)