第一章　　绪 论

海洋是一个巨大的天然产物宝库，在这浩瀚而幽深、占地球表面积 71% 的神秘世界里，生活着近 40 万种生物，约占地球生物物种的 80%。生长在海洋这一特殊环境（高盐、高压、缺氧、缺少光照等）中的海洋生物，在其生长和代谢过程中，产生并积累了大量具有特殊化学结构并具特殊生理活性和功能的物质，是开发新型海洋药物和功能食品的重要资源。目前开发利用海洋生物资源已成为世界各国竞相研究的一个重要领域和发展方向。研究开发海洋天然产物(海洋药物、功能食品、生物材料等)对充分利用我国丰富的海洋资源,提高科学技术水平、发展国民经济都具有重要的战略意义。

世界上海洋药物的研究起始于 20 世纪 50 年代末 60 年代初。美国是最早开展海洋生物活性物质研究的国家。随后各国学者相继开展了海洋生物抗肿瘤、抗病毒、抗真菌、抗心脑血管病、抗艾滋病等活性成分的研究。在过去的几十年间,大约 6 000 多种海洋天然产物被发现，其中有重要生物活性并已申请专利的新化合物有 200 多种。在已发现的这些化合物中，不仅包括了陆地生物中已存在的各种化学结构类型，并且还存在很多特殊独有的新颖化学结构类型。尤其重要的是，从海洋生物中发现了一系列高效低毒的抗肿瘤化合物，其中有些已进入临床前或临床实验阶段。

当前世界上海洋天然产物的开发研究正方兴未艾,走在这一领域前列的是美国、日本及欧共体成员国，这些科技发达国家投入可观的科研经费，对海洋药物进行开发和研究。

在美国，国家研究委员会(National Research Council)和国立癌症研究所(National Cancer Institute)每年用于海洋药物开发研究的经费各为 5 000 多万美元 近年来,美国国立卫生研究所的海洋药物研究资金已增加到全部研究资金的 11% 以上,与合成药、植物药基本持平。

在日本，日本海洋生物技术研究院(Japan Marine Biotechnology Institute)及日本海洋科学和技术中心(Japan Marine Science and Technology Center) 每年用于海洋药物开发研究的经费约为 1 亿多美元。

欧共体：海洋科学和技术(Marine Sciences and Technology 简称 MSAT)计划每年用于海洋药物开发研究的经费约为 1 亿多美元。

有关资料显示,我国目前已有 5 种海洋药物获国家批准上市 藻酸双酯钠、甘糖酯、河豚毒素、多烯康、烟酸甘露醇等 另有 10 种获健字号的海洋保健品。就抗肿瘤海洋药物来说，我国正在开发的有 6－硫酸软骨素,海洋宝胶囊,脱溴海兔毒素,海鞘素 A、B、C,扭曲肉芝酯，刺参多糖钾注射液和膜海鞘素等药物，但其长期疗效还有待于进一步观察评价。此外，在其他方面我国尚有多个国家一类新药进入临床研究，如新型抗艾滋病海洋药物“ 911”、抗心脑血管疾病药物‘ D－聚甘酯 ’和‘ 916 ’等 国家二类新药治疗肾衰药物‘ 肾海康 ’等。

海洋药物的研究和开发已向产业化发展，世界海洋生物总产值 1969 年为 130 亿美元，1982 年为 3 400 亿美元，1992 年为 6 700 亿美元，1995 年为 8 000 亿美元，2000 年约达

需要全本请访问 www.ertongbook.com

1.5 万亿美元。

表1-1 国外正在临床研究的海洋药物

海洋生物来源	化合物	作用	临床阶段
Agelas mauritianus(海绵)	KRN 7000	抗癌	Ⅰ
Petrosia contignata(海绵)	IPL-567	抗炎	Ⅰ
Pseudopterogorgia elisabethae	methopterosin	抗炎/创伤	Ⅰ
Amphiponus lactifloreus	GTS-21	老年痴呆症/精神分裂症	Ⅰ
Dolabella auricularia(海兔)	dolastatin 10	抗癌	Ⅱ
Dolabella auricularia(海兔)	LU 103793	抗癌	Ⅱ
Conus magnus(芋螺)	ziconotide	镇痛	Ⅲ
Bugula neritina(草苔虫)	bryostatin Ⅰ	抗癌	Ⅱ
Trididemnum solidum(膜海鞘)	didemnin B	抗癌	Ⅱ
Aplidium albicans(地中海海鞘)	aplidine	抗癌	Ⅰ/Ⅱ
Ecteinascidia turbinata(加勒比海鞘)	ecteinascidin 743	抗癌	Ⅱ/Ⅲ
Squalus acanthias(白斑角鲨)	squalamine lactate	抗癌	Ⅱ

第一节 海洋抗癌药物

海洋抗癌药物研究在海洋药物研究中一直起着主导作用，科学家预言，最有前途的抗癌药物将来自海洋。现已发现海洋生物提取物中至少有 10% 具有抗肿瘤活性。美国每年有 1 500 个海洋产物被分离出来，1% 具抗肿瘤活性。目前至少已有 10 个以上海洋抗癌药物进入临床或临床前研究阶段。这些药物是：从南非海洋蠕虫 *Cephalodiscus gilchristi* 中提取的 cephalostatins，从太平洋黄海绵 *Lissodendroxy* sp. 中分离到的 halichondrin 和 halistatins，从马尔代夫海域生长的海绵中分离到的 spongistatins，从海兔 *Dolabella auricularia* 分离到的 dolastatin，从总合草苔虫 *Bugula neritina* 中分离到的 bryostatins，从红藻 *Portieria homerhanni* 分离到的 halomon，以及从海鞘中分离到的脱氢 didemnin B 和 ecteinascidin 743 也已进入Ⅱ期临床试验。最近报道，日本学者从海洋 *Aplysia* sp. 的提取物中发现了一种新的 aplyronine A 抗癌活性物质，体内试验中，对 P388 白血病细胞在剂量为 0.08 ng/kg 时 T/C 为 545%，对肺癌细胞在剂量为 0.08 ng/kg 时 T/C 为 544%，显示出惊人的延长生命的效果，现已完成全合成，是极具临床应用前景的化合物。又据报道，从海绵 *Lallyspongia truncatesteleta* sp. 中分离到一种多聚物，命名为 callystatin A，对 KB 细胞显示出极强的活性，IC_{50} 为 0.01 ng/kg。从鲨鱼软骨中提取的软骨血管抑制因子(CDI)，体内试验显示可明显抑制 S 180 肉瘤的生长。国内外均有鲨鱼软骨制剂用于临床，据有关报道发现对多种恶性肿瘤有一定的治疗作用。

研究趋势：扩大海洋生物的活性筛选，继续寻找高效的抗癌化合物，直接用于临床或作为先导物进行结构改造；开发新的高效低毒的抗癌成分；全合成或人工养殖以及应用生物技术扩大药源。

第二节　海洋心脑血管药物

1. 高度不饱和脂肪酸　如二十碳五烯酸（EPA）和二十二碳六烯酸（DHA），两者具有抑制血栓形成和扩张血管的作用，可有效地预防和治疗冠心病。现已有多种制剂用于临床。

2. 海洋生物毒素有50多种。从岗比毒甲藻 *Gambierdiscus toxicus* 中分离的西加毒素（CTX）具有强心作用。来自麝香蛸 *Eledonemoschats* 唾液腺的麝香蛸毒素是迄今所知最强的降压物质，其效应比硝酸甘油强数千倍。另外，蓝斑环蛸毒素、石房蛤毒素也有较强的降压作用，海兔毒素不仅有强心作用而且有很强的降压作用，河豚毒素（TTX）的抗心率失常作用目前研究较多。

3. 藻酸酯钠类　具有抗血栓、降血脂等作用，已成功应用于临床。

4. 螺旋藻类　对高血脂和动脉粥样硬化有良好的预防和辅助治疗作用。

研究趋势：进一步寻找具有特殊疗效的活性成分。

第三节　海洋抗菌、抗病毒药物

与海洋动植物共附生的微生物是一种丰富的抗菌资源，日本学者发现约27%的海洋微生物具有抗菌活性。头孢类抗生素为最早从海洋中发现的抗菌药物，此外从海洋耐、嗜碱放线菌中发现了一类结构新颖的抗生素，如β－内酰胺类抗生素、丁酰苷菌素等。美国国立癌研所从一种蓝细菌 *Nostoc ellipsosporum* 中分离得到一种HIV－灭活蛋白 cyanovirin－N（CY－N），由101个氨基酸组成，已通过大肠杆菌基因工程表达成功。在极低浓度下，就能完全消除多种临床分离和实验的HIV－1株的感染性，可望成为一种新的治疗艾滋病的有效制剂。

研究趋势：扩大筛选对象，发现新的抗菌和抗病毒成分。

第四节　海洋功能食品的研究开发

功能食品被誉为21世纪食品，代表了当代食品发展的新潮流。功能食品的生理调节功能是因为它含有各种各样的生理活性物质。海洋生物中含有的生物活性物质，是陆生生物所不可比拟的。如何利用海洋生物中的活性成分进行深加工，制成风味独特和保健功效显著的海洋功能食品，是当前面临的一个重要开发研究领域。

1. 牛磺酸　牡蛎、鲍鱼、章鱼、海蜇、蛤蜊、海胆、鳗鱼等含有丰富的牛磺酸。目前国内外已将牛磺酸用于老年保健方面，如抗智力衰退、抗疲劳、抗动脉粥样硬化、抗心律失常以及改善充血性心力衰竭等。国外也有将牛磺酸用于儿童保健食品中。

2. 鱼油不饱和脂肪酸和磷脂　具有明显的降血脂、降血糖和改善心脑血管功能的作用，对肝病和肿瘤亦有一定的辅助治疗作用，可刺激机体增强免疫功能。

3. 壳多糖和壳聚糖　具有增强免疫、抗肿瘤、降胆固醇、止血、抑制癌细胞转移和抑制细菌及真菌的生长，加快伤口愈合等多种作用，适合于开发成各种保健食品和手术缝线及人造皮肤。在药物制剂、食品添加剂、化妆品等方面也有着广泛应用前景。

4. 活性多糖　海洋生物含有丰富的活性多糖，并具有抗癌、提高机体免疫和降血糖等特殊生理活性,如海藻硫酸多糖能防止病毒与靶物质结合,干扰 HIV 病毒吸附和渗入细胞，并可与 HIV 形成无感染力的多糖－病毒复合物而发挥抗 HIV 作用。

5. 维生素　盐泽杜氏藻富含的 β－胡萝卜素，具有抗氧化和延缓衰老等功效。鱼类中含有丰富的维生素 E,它是一种强的抗氧化剂,可清除自由基和增强人体免疫功能。海洋生物中还含有大量的维生素 A 和 D 等多种有价值的维生素。

6. 膳食纤维　海藻酸、卡拉胶、琼胶等具有预防与消化道、心血管和内分泌失调有关的多种疾病的功效。

7. 矿物元素　海洋生物中含有丰富的而且比例适当的矿物质,如碘、锌、硒、铁、钙和铜等。海藻中含有的活性碘，极易被人体吸收。据世界卫生组织估计，全世界有 10 亿人缺碘，中国占 4.25 亿，因此，利用海藻开发碘保健食品前景广阔。海洋生物也是天然钙的丰富资源,以贝壳为原料加工成的 L－乳酸钙是一种可溶性钙，易于被人体吸收，可用于防治骨质疏松症，还可用于预防结肠癌和高血压等疾病。

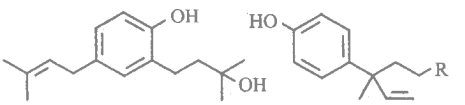
海洋功能食品发展趋势：针对常见病、多发病和疑难病的不同人群，运用多学科的现代高新技术方法,尽可能保留海洋生物的天然特点和营养成分,研究开发高技术含量、高功能、高效益的海洋功能食品新品种。

第二章　萜类化合物

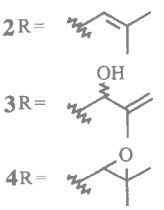
在海洋生物中，生物合成的萜类常与醌醇结合形成一类新的天然产物，这是海洋生物代谢的一大特征。这些化合物在文献中被统称作含萜化合物（meroterpenoid）或含异戊二烯结构的芳香族化合物（prenylated aromatic compounds），是由各种无环、单环、双环萜与不同氧化度和取代的芳香基团相结合的产物，许多具有使草食动物拒食的活性。

第一节　单　萜类

毛头藻科（Sporochnaceae）褐藻含有大量半萜、单萜、倍半萜/苯酚化合物。从西澳大利亚的 *Encyothalia cliftonii* 中获得的新化合物 1 为双半萜/苯酚[1]，而从加勒比海的 *Sporochnus bolleanus* 中发现的 sporochnols A，B，C（2，3，4）则为单萜/苯酚结构，其中 2 对草食性鱼类有显著拒食活性[2]。

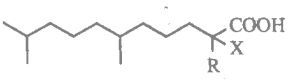


1

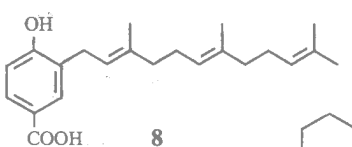


第二节　倍半萜和二萜

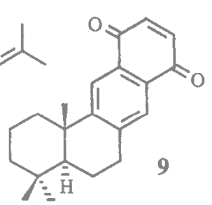
从海洋生物中分离到的倍半萜类新化合物较少。近年来的报道包括自四选团扇藻（*Padina tetrastromatica*）中得到 3 个新的卤代失碳倍半萜 5，6，7[3]。而自澳大利亚的 *Perithalia caudata* 中分离到 1 个倍半萜/苯酚化合物 4 - 羟基 - 3 - {1′ - [(2′*E*，6′*E*) - 3′，7′，11′ - 三甲基十二烷 - 2′，6′，10′ - 三烯] } - 苯甲酸（8），由无环倍半萜与对羟基苯甲酸结合，这种类型为首次从天然界发现[4]。此外从网地藻科（Dictyotaceae）的波状网翼藻（*Dictyopteris undulata*）中也发现 1 种使鲍鱼拒食的倍半萜/苯醌 cyclozonarone（9）[5]。



5　X = Cl，R = Me
6　X = Br，R = Me
7　X = Cl，R = COOMe



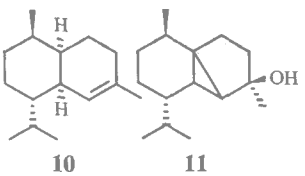
8



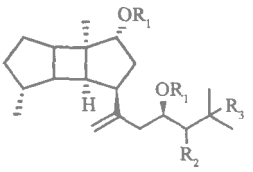
9

需要全本请访问 www.ertongbook.com

海洋生物特别是褐藻中的二萜类成分报道众多，网地藻科藻类中存在丰富的二萜，是近年来的研究热点之一。微点雀尾藻（*Taonia atomaria*）中发现了 2 个新的二萜 4 – cadinene 和 4 – *epi* – cubebol（**10**，**11**）[6]。从边缘列子藻（*Stoechospermum marginatum*）中则得到 2 个 spatane 型二萜 17，18 – epoxy，5（*R*），16 – dihydroxyspata – 13（14）– ene（**12**）和 5（*R*），16（*S*）– diacetoxy spata – 13，17 – diene（**13**）[7,8]。厚缘藻 *Dilophus okamurai* 中获得的二萜 secospatacetal A，B，C，D，E 和 dilkamural（**14** ~ **19**）均为开环 spatane 型，其中 dilkamural 对 G^+ 细菌有抑制作用[9,10]。自同属的舌形厚缘藻（*D. ligulatus*）中则得到了 xenicane 型二萜 dilopholide（**20**）[11]。Xenicane 型二萜是褐藻代谢物的特征，不少具有抗肿瘤活性，dilopholide 对 P 388、KB、人肺癌细胞 NSCLC – N 6 及多药耐药性 P 388/DOX 等肿瘤细胞株均显示显著细胞毒性。近年报道的本类型二萜还有网地藻属（*Dictyota*）2 种褐藻中发现的 joalin（ – ）（**21**）和 dictyoepoxide（**22**），joalin（ – ）为天然界中首个含氮的 xenicane 型二萜，而具环氧结构的 dictyoepoxide 则是一种强效的抗利尿激素 V_1 受体拮抗剂，引人注目[12,13]。自网地藻（*D. dichotoma*）中尚发现 2 个新的二萜 acutilol A 和 B（**23**，**24**），为氢化薁型二萜，均具有少见的 Δ^1 双键，且对草食鱼类和海胆显示拒食活性[14]。

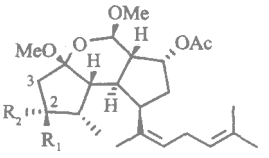


10 **11**



12 $R_1 = H, R_2 = R_3 = OH$

13 $R_1 = Ac, R_2 = R_3 = H, \Delta^{17}$



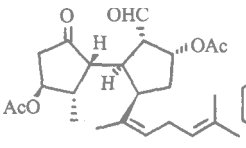
14 $R_1 = OMe, R_2 = H$

15 $R_1 = OAc, R_2 = H$

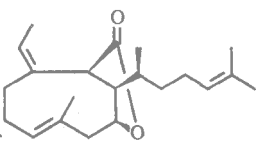
16 $R_1 = H, R_2 = OMe$

17 $R_1 = R_2 = H, \Delta^2$

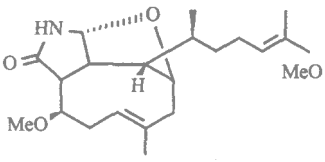
18 $R_1 = R_2 = H$



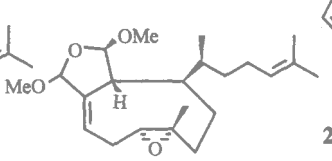
19



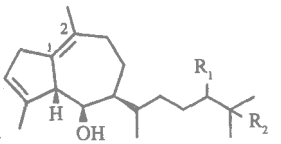
20



21



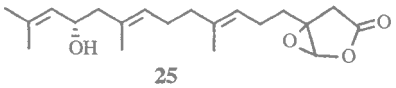
22



23 $R_1 = R_2 = OH$

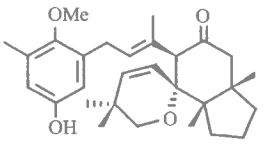
24 $R_1 = O, R_2 = H$

从囊链藻科二歧双叉藻（*Bifurcaria bifurcata*）中得到一系列直链二萜。如从采于法国沿海的品种则发现了具 β，γ – 氧桥 – γ – 丁内酯结构的直链二萜化合物 bifurcatin（**25**）[15]。

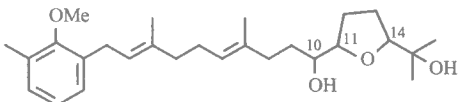


25

囊链藻科(Cystoseiraceae)海藻是二萜醌类化合物的丰富来源。从囊链藻属(*Cystoseira*) 1 种褐藻中分到 1 种具有新的碳骨架的代谢物 claraenone(**26**),二萜部分具有[4,3,0]双环壬烷结构[6]。自 1 种囊载藻 *Cystophora brownii* 中亦获得 2 个新的二萜氢醌 **27** 和 **28**,为 1 对立体异构体[16]。从马尾藻属 *S. autumnale* 中发现了 8 个对 ET_B 受体具有选择性的内皮素拮抗剂,6 个为具有芳基二萜醚结构的 nahocols A, A_1, B, C, D_1, D_2(**29** ~ **34**),被认为是异戊二烯/醌的代谢前体,另外 2 个为二萜氢醌 isonahocols D_1, D_2(**35**,**36**) 立体异构体 **29** 和 **30**, **33** 和 **34** 的构型尚未确定[17]。

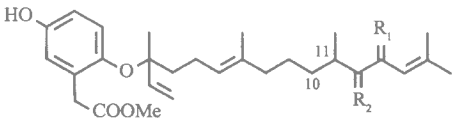


26



27 (+)-(10*R*,11*S*,14*R*)-

28 (+)-(10*S*,11*R*,14*R*)-

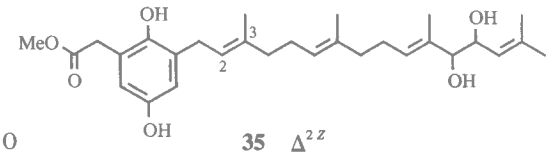


29,**30** R_1 = H, OH; R_2 = O

31 R_1 = H, H; R_2 = O

32 R_1 = R_2 = H, OH

33,**34** R_1 = R_2 = H, OH, Δ^{10E}



35 Δ^{2Z}

36 Δ^{2E}

第三节 研究实例

马尾藻属 *Sargassum autumnale* 中新的内皮素拮抗剂二萜 nahocols 和 isonahocols 的研究

内皮素(ET-1)为内皮产生的由 21 个氨基酸组成的多肽，对离体血管具有极强的收缩作用。其在许多器官的平滑肌以及内皮和上皮细胞上有特异性结合位点，这些受体分为两种亚型：ET_A 和 ET_B。临床上,在急性肾功能不全、急性心肌梗死、高血压及动脉硬化等多种疾病中,均可见 ET-1 血浓度的显著增高,因此,ET 受体拮抗剂可能对预防及治疗这些疾病有效。现已获得许多天然及合成的拮抗剂，有些正处于临床试验中。

在从海洋生物寻找新的 ET 拮抗剂过程中，通过筛选海洋生物提取物抑制 ET-1 与其受体(ET_A 和 ET_B)结合,发现褐藻 *Sargassum autumnale* 可产生内皮素拮抗剂。*S. autumnale* 的资源相对较为稀少，一般生长于日本 Tsushima 潮冲刷的几个海湾的浅水中，与大多数马

尾藻在早春至初夏成熟不同，该海藻成熟于夏季。海藻以甲醇冷浸提取，用正己烷和 90% 甲醇分配，活性集中于甲醇相中，采用活性追踪法，经多种正相、反相色谱联合应用，分得 8 个化合物 29～36，分离流程见图 2－1。

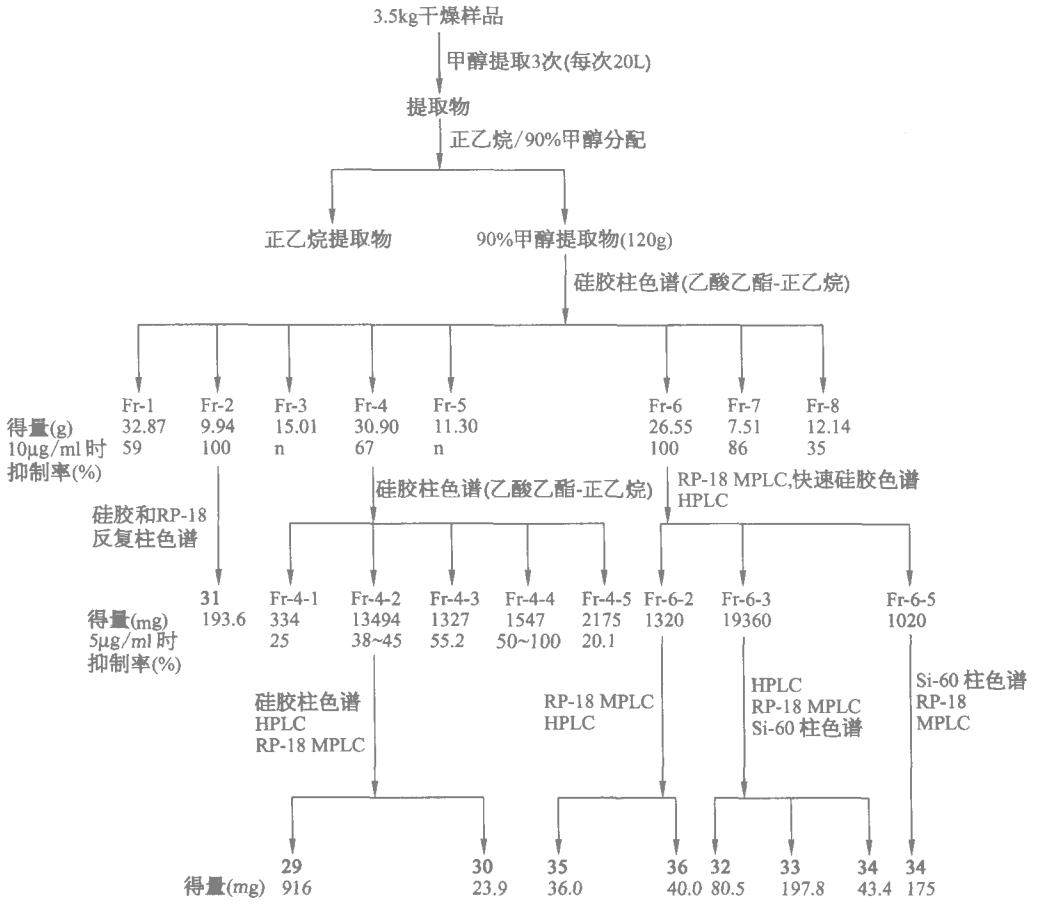


图 2－1　马尾藻属 *Sargassum autumnale* 中二萜的分离流程

化合物 29：无色油状物，HREIMS 分析分子式为 $C_{29}H_{42}O_6$（[M]$^+$ m/z 486.3001，Δ +1.9 mmu），IR 示有羟基（3 450 cm^{-1}）、酯（1 730 cm^{-1}）和羰基（1 705 cm^{-1}）的存在。^{1}HNMR 谱中可观察到 1 个仲甲基、1 个叔甲基及 3 个烯甲基的存在，还可推出有 1 个孤立亚甲基及 1 个三取代芳香环。^{13}CNMR 中，可观察到 15 个 sp^3 和 14 个 sp^2 碳信号。前者包括 6 个甲基碳、6 个亚甲基碳、2 个叔碳和 1 个季碳，后者构成官能团包括 2 个三取代双键、1 个乙烯基、1 个三取代芳香环及 1 个酮和 1 个酯羰基。将 29 衍生为二乙酰酯（29a）和甲醚（29b），分析表明了 1 个仲羟基和 1 个酚羟基的存在。以稀 NaOH 处理 29a，可转化为一对异构体 29c 和 29d，羰基从 12′位转移至 13′位。

通过 HMQC 和 relayed COSY 试验可确定有 10 个片断的存在（A～J）。通过解析 HMBC 谱将各片断依次连接起来（见图 2－2）。在 δ 2.68（11′－H），4.86（13′－H）和 1.05（19′－H）处的 3 个质子与 δ 214.6 处的 C－12 相关，可推测片断 A－B－C 的连接关系。C 和 D 的连接由 11′－H 和 C－9′（δ 25.3）的相关峰推出。6′－H（δ 5.05）和 18′－H（δ 1.55）均与 C

-8′(δ39.4)有远程偶合,可知 D 和 E 相连。18′-H 与 C-2′(δ143.6)和 C-4′(δ42.0)相关,3 个乙烯基质子[δ5.17,5.18(1′-H),6.04(2′-H)]与 C-3′(δ81.7)相关可以推导出 E-F-G 的连接关系。H-I-J 片断构成 2,5-二羟基苯乙酸(homogenistic acid)基团,其 1 个羟基和 F 通过醚键连接。

NOESY 谱中,芳香氢(3-H)与 1′-H,4′-H 和 17′-H 的 NOE 相关,表明 C-3′通过醚键与 C-2 相连。如果是与 C-5 相连,则 2 个芳香氢均应显示 NOE 效应。综上所述,可确定 29 的结构为 5-羟基-2-(O)-[13′-羟基-12′-氧-3′,7′,11′,15′-四甲基-1′,6′(*E*),14′-十六碳三烯-3′-基]苯乙酰甲酯,其 C-3′,-11′和-13′的相对和绝对构型尚未能确定,命名为 nahocol-A。

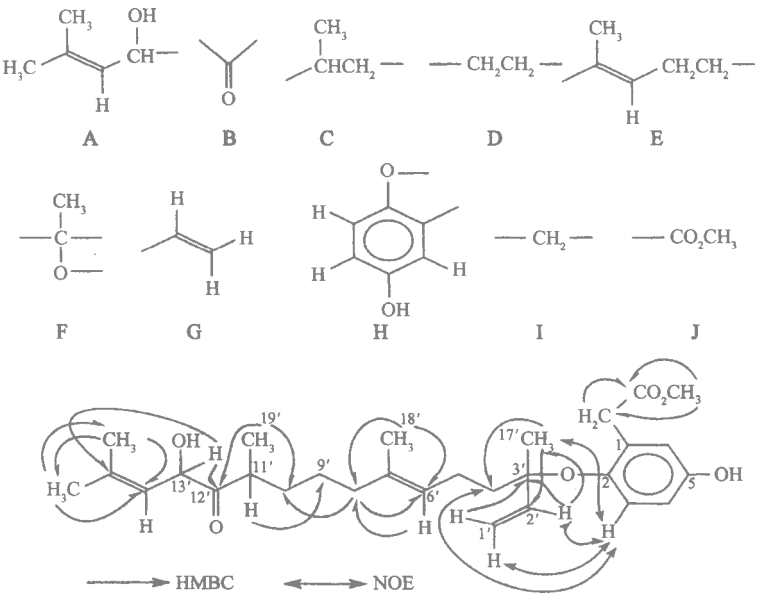


图 2-2 利用 2 DNMR 解析鉴定化合物 29 的示意图

化合物 29~36 及衍生物 29a,29c,29d 的内皮素拮抗活性如下表所示,可知其对 ET_B 受体更具选择性。

表 2-1 化合物 29~36 及衍生物 29a,29c,29d 的内皮素拮抗活性

化合物	拮抗活性(μmol/L)	
	ET_A(牛动脉环)	ET_B(猪肺)
29	76.1	21.6
30	84.3	27.7
31	89.3	23.4
32	82.3	27.1
33	100.8	29.4
34	78.1	27.7
35	112.7	18.5
36	100.0	19.1
29a	>3 500	>350
29c	152.5	103.8
29d	152.5	101.6

参 考 文 献

[1] Roussis V, King RL, Fenical W. Secondary metabolite chemistry of the Australian brown alga *Encyothalia cliftonii*: evidence for herbivore chemical defence. Phytochemistry, 1993, 34(1):107

[2] Shen YC, Tsai PI, Fenical W, et al. Secondary metabolite chemistry of the Caribbean marine alga *Sporochnus bolleanus*: a basis for herbivore chemical defence. Phytochemistry, 1993, 32(1):71

[3] Parameswaran PS, Bhat KL, Das B, et al. Halogenated terpenoids from the brown alga *Padina tetrastromatica* (Hauck). Indian J Chem, 1994, 33 B(10):1 006

[4] Rochfort SJ, Capon RJ. A new sesquiterpene/phenol from the Australian marine alga *Perithalia caudata*. J Nat Prod, 1994, 57(6):849

[5] Kurata K, Taniguchi K, Suzuki M. Cyclozonarone, a sesquiterpene-substituted benzoquinone derivative from the brown alga *Dictyopteris undulata*. Phytochemistry, 1996, 41(3):749

[6] Norte M, Sanchez A, Gonzalez AG. Claraenone, a new meroditerpene from brown alga. Tetrahedron Lett, 1993, 34(21):3 485

[7] Venkateswarlu Y, Biabani MAF. A apatane diterpene from the brown alga *Stoechospermum marginatum* (Dictyotaceae). Phytochemistry, 1995, 40(1):331

[8] Derosa S, Iodice C, Khalaghdoust M, et al. Spatane diterpenoids from the brown alga *Stoechospermum marginatum* (Dictyotaceae). Phytochemistry, 1999, 51:1 009

[9] Yamase M, Umemoto K, Ooi T, et al. Structures and absolute stereochemistry of five new secospatanes and a spatane isolated from the brown alga *Dilophus okamurai* Dawson. Chem Pharm Bull, 1999, 47(6):813

[10] Ninomiya M, Hirohara H, Onishi J, et al. Chemical study and absolute configuration of a new marine secospatane from the brown alga *Dilophus okamutae*. J Org Chem, 1999, 64(15):5 436

[11] Bouaicha N, Pesando DPuel D. Cytotoxic diterpenoids from the brown alga *Dilophus ligulatus*. J Nat Prod, 1993, 56(10):1 1747

[12] Guella G, Ndiaye I, Chiasera G, et al. Joalin, the first nitrogen-containing xenicane diterpene isolated from a brown seaweed collected off the Senegalese coast. J Chem Soc, Perkin Trans 1, 1993, 1 545

[13] Patil AD, Berry D, Brooks DP, et al. A diterpene epoxide from the marine brown alga *Dictyota* sp.: possible vasopressin V 1 receptor antagonist. Phytochemistry, 1993, 33(5):1 061

[14] Hardt IH, Fenical W, Cronin G, et al. Acutilols, potent herbivore feeding deterrents from the tropical brown alga, *Dictyota acutiloba*. Phytochemistry, 1996, 43(1):71

[15] Culioli G, Diguardia S, Valls R, et al. Geranylgeraniol-derived diterpenes from the brown alga *Bifurcaria bifurcata*: comparison with two other Cystoseiraceae species. Biochem Syst Ecol, 2000, 28(2):185

[16] Bian BH, Van A, Ian A. Four new compounds from the Australian brown alga *Cystophora brownii*. Aust J Chem, 1998, 51(12):1 157

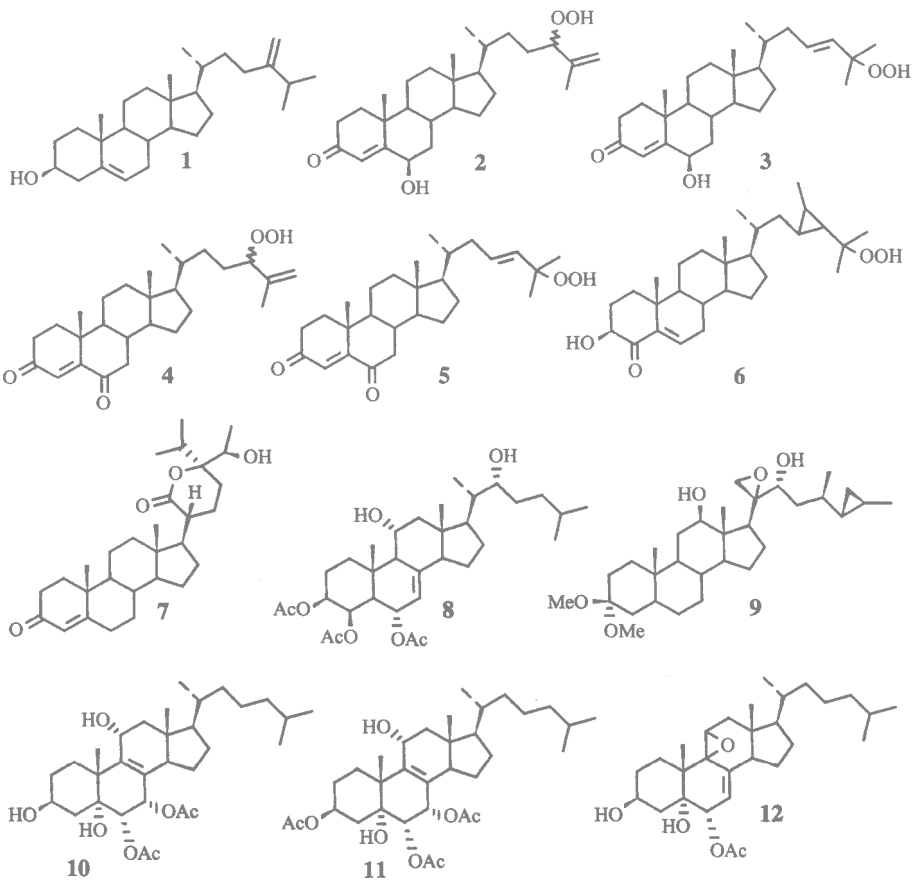
[17] Tsuchiya N, Sato A, Haruyama H, et al. Nahocols and isonahocols, endothelin antagonists from the brown alga, *Sargassum autumnale*. Phytochemistry, 1998, 48(6):1 003

第三章　　甾体化合物

第一节　化学结构与生物活性

海洋甾体化合物一直吸引着海洋化学家和药物学家的研究兴趣。与陆生植物甾醇相比，海洋甾醇一般具有更为丰富多样的骨架和支链，许多独特的结构是陆生植物中所从未发现的；一些结构新颖的海洋甾体化合物还具有引人注目的生理和药理活性，有可能为治疗人类重大疾病提供新的研究思路。结构类型包括单羟基、多羟基甾醇、甾酮和其硫酸酯、硫酸盐类，以及甾体皂苷和甾醇苷类等。

近年从海藻中分离到的新甾体化合物呈减少趋势。自硅藻威氏海链藻 *Thalassiosira weissflogii* 中获得的 1 个新化合物是 24 – 甲基胆甾 –5,24(28) – 二烯 –3β – 醇(**1**)与 13^2 –

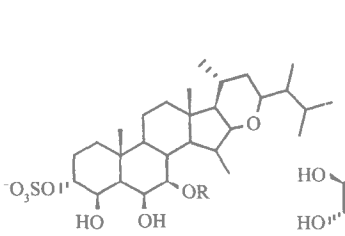


需要全本请访问 www.ertongbook.com

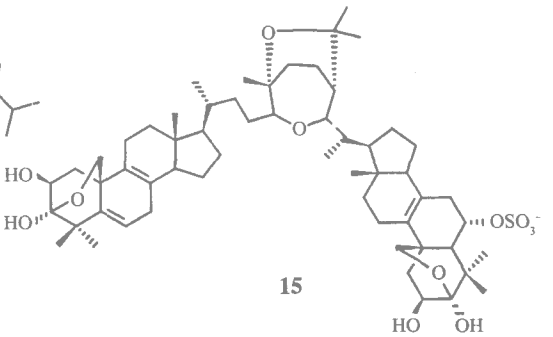
羟基嗜焦素缩合成的酯[1]。自台湾南端采集的具边乳节藻 *Galaxaura marginata* 中分离到侧链具氢过氧基取代的链甾醇化合物 2～5，对肿瘤细胞显示显著细胞毒性[2]。自中国南海绿藻孔石莼 *Ulva lactuca* 中得到 1 个新甾醇 lactucasterol(**6**)[3]。

现已清楚在所有生物中海绵（多孔动物门）所含新甾醇的数量最多，结构多样性和新颖性最为明显。自南澳大利亚采集的某一种山海绵（*Mycale*）中获得 1 个侧链结构奇特的甾酮 **7** 并通过 X 衍射确定了其结构[4]。许多高度氧化的海绵甾醇具有多种多样的生物活性。角骨海绵属（*Spongia*）某一种海绵中含有的甾醇乙酰酯 agosterol A(**8**) 可完全逆转两种细胞膜糖蛋白过度表达引起的人肿瘤细胞多药耐药性，引人注目[5]。从产自日本沿海的某一种光溜海绵（*Xestospongia*）中得到罕见的具有二甲缩酮结构的新甾醇 **9**，对 KB 细胞具有极强的细胞毒性，IC_{50}达 4 ng/ml，令人鼓舞[6]。对产于北澳大利亚的某一种掘海绵（*Dysidea*）活性追踪得到 3 个新的多羟基甾醇 **10**～**12**，可抑制[I^{125}]IL－8 对人重组 IL－8 A 型受体的结合（IC_{50} = 2.0，5.5，4.5 μmol/ml）[7]。

许多海绵甾醇成硫酸酯盐形式存在，并具有生物活性。采集自菲律宾的某一种光溜海绵和简骨海绵目（Haplosclerida）一种未鉴定的海绵均存在含 2 个硫酸酯基的 haplosmates A 和 B(**13**，**14**)，可抑制 HIV－1 结合酶，IC_{50}分别为 50 和 15 μg/ml[8]。从一种 *Crella* 海绵中获得 1 个具细胞毒性的双甾醇硫酸盐 crellastatin A(**15**)，侧链间的连接方式非常奇特，已通过 ROESY 试验确定了其立体构型[9]。

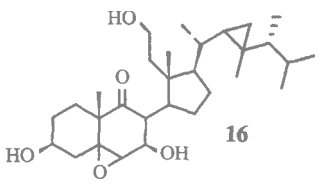


13 R = H
14 R = SO_3^-



15

除高度氧化外，海绵甾醇还常存在开环、A 环失碳、侧链高度分支等现象。



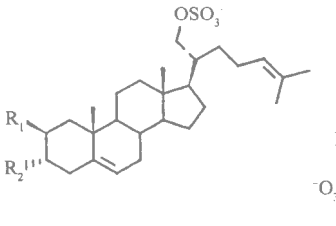
16

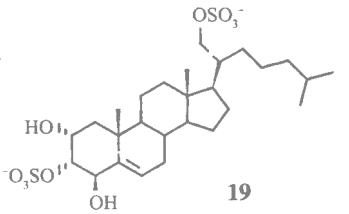
珊瑚虫纲刺胞动物为海洋甾醇的一个主要来源，化合物数目仅次于海绵甾醇。刺胞动物甾醇氧化程度也较高，一些化合物是开环甾醇。如从印度尼西亚某一种豆荚软珊瑚（*Lobophytum*）得到的 3 β，7 β，11－trihydroxy－5 α，6 α－epoxy－9，11－secogorgostan－9－one(**16**)[10] 为 9，11－开环甾醇，对 A 2780 人卵巢肿瘤细胞和 K 562 人白血病细胞的 IC_{50} 分别为 6.3 和 7.1 μmol/ml。

毒性皂苷广泛存在于棘皮动物中，本书仅列出甾体皂苷或甾醇苷的苷元。除以糖苷形 *agassizi* 和 1 种片蛇尾属动物 *Ophioplocus januarii* 中分别得到甾醇硫酸盐 **17**～**20**，其中 3 α，4 α，11 β，21－四羟基－(22*E*)－5 β－24－去甲胆甾－22－烯 3，21－二硫酸盐(**20**) 具抗病毒作用，对呼吸道多核病毒和脊髓灰质炎病毒有抑制作用[11,12]。甾醇硫酸盐 asterasterols A

(21)从大西洋海盘车科动物(Asteriidae)中被发现,具有少见的七元 B 环(5 – 氧杂内酯)结构[13]。本科动物中还分到 8 个甾醇硫酸盐的糖苷 asteriidosides A ~ E、H、I、L,这 8 个化合物显示中等强度的细胞毒性[14]。

从翻车鱼 *Mola mola* 的胆汁中分离出 2 个新的胆醇硫酸盐 5 β – malanol 硫酸盐(22),5 β – cyprinol 硫酸盐(23)和 1 个胆酸衍生物 sodium 2 – [(3 α,7 α,11 α – trihydroxy – 24 – oxo – 5 β – cholan – 24 – yl) amino] ethanesulfonate (24)[15] 。自白斑角鲨 *Squalus acanthias* 的肝中发现了 8 种新的氨基甾醇 aminosterols 1 ~ 7(25 ~ 31)和 squalamine(32),均具有不同强弱的抗菌活性[16],而 32 已作为新生血管抑制剂类抗癌药物进入Ⅱ期临床试验。

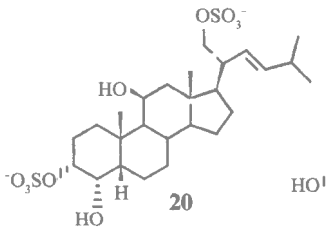




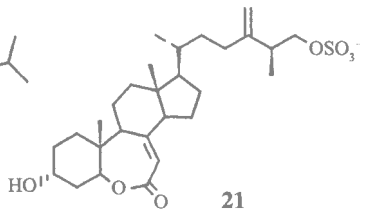
19

17 $R_1 = OSO_3^-, R_2 = OH$

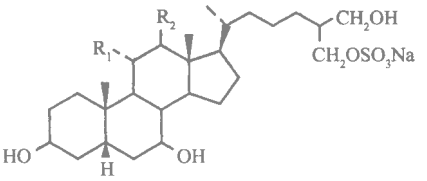
18 $R_1 = OH, R_2 = OSO_3^-$,5,6 – dihydro



20

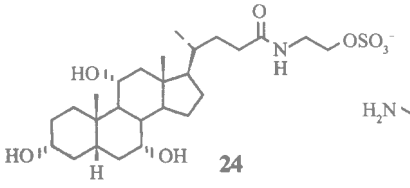


21

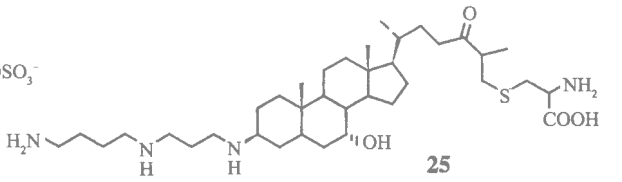


22 $R_1 = OH, R_2 = H$

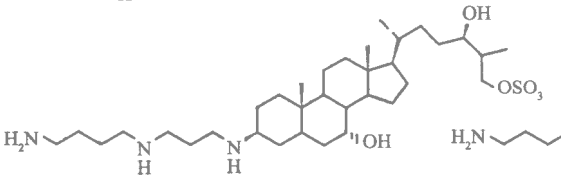
23 $R_1 = H, R_2 = OH$



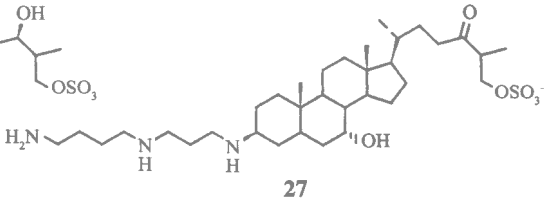
24



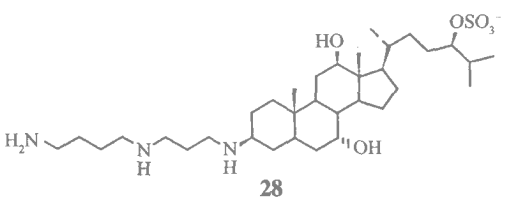
25



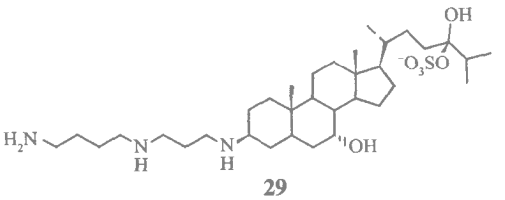
26



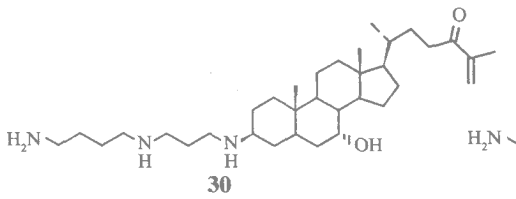
27



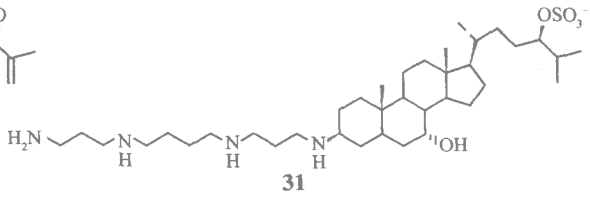
28



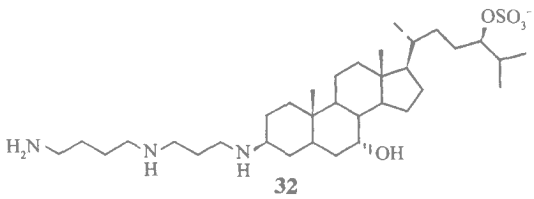
29



30



31



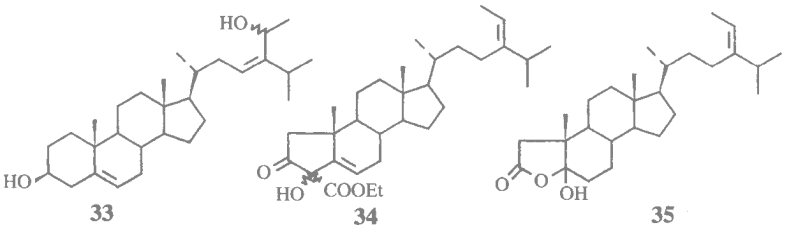
32

海洋甾体化合物研究是一个较古老的领域，但近年来仍不断从种类繁多的海洋生物中获得多种多样结构独特的新甾体化合物。许多新化合物具有令人关注的生物活性，如细胞毒和抗肿瘤、抗菌、抗真菌、抗病毒等。新药物的开发建立在对大量新化合物的广泛筛选基础上，海洋甾体类化合物无疑是新化合物的一个重要来源。一些结构独特且具有高生物活性的甾体(如 9 和 32)已显示出令人振奋的应用潜力,对一些相对生物活性较低的新类型甾体,经结构修饰和改造后,有望提高活性,从而成为开发新药的先导化合物。值得注意的是，近年来许多研究者的工作已摒弃了过去那种只以阐释化合物结构为单纯目的的做法，而是把化合物的生物活性作为研究工作的重要内容之一，这无疑会大大促进海洋甾体化学的发展，使这一古老的研究领域重现青春。

第二节　研究实例

叶托马尾藻中抗肿瘤甾体化合物的研究

马尾藻属褐藻叶托马尾藻 (*S. carpophyllum*)在我国东南沿海分布广泛,民间用于气管炎、甲状腺肿大的治疗，亦有报道其提取物有抑制肿瘤的活性。自叶托马尾藻中分离鉴定了 25 个化合物[17] ,包括 12 个甾体化合物,其中 3 个为新化合物:3 β,28 ξ - 二羟基 -24 - 乙基 -5,23 Z - 胆甾二烯(33),24 - 乙基 -3 - 乙氧甲酰基 -3 - 羟基 -4 - 失碳 -5,24(28) - 胆甾二烯 -2 - 酮(34)和 24 - 乙基 -2 a - 氧杂 -2 - 氧 -5 α - 羟基 -3,4 - 二失碳 -24(28) - 胆甾烯(35)。化合物 33 对 P 388 和 HL - 60 肿瘤细胞株显示有细胞毒活性,同时，对裴氏着色真菌具有特异性的抑制作用。



采用稻瘟霉模型作为抗肿瘤活性监测手段对叶托马尾藻进行了生物活性追踪分离，分离流程见图 3－1。

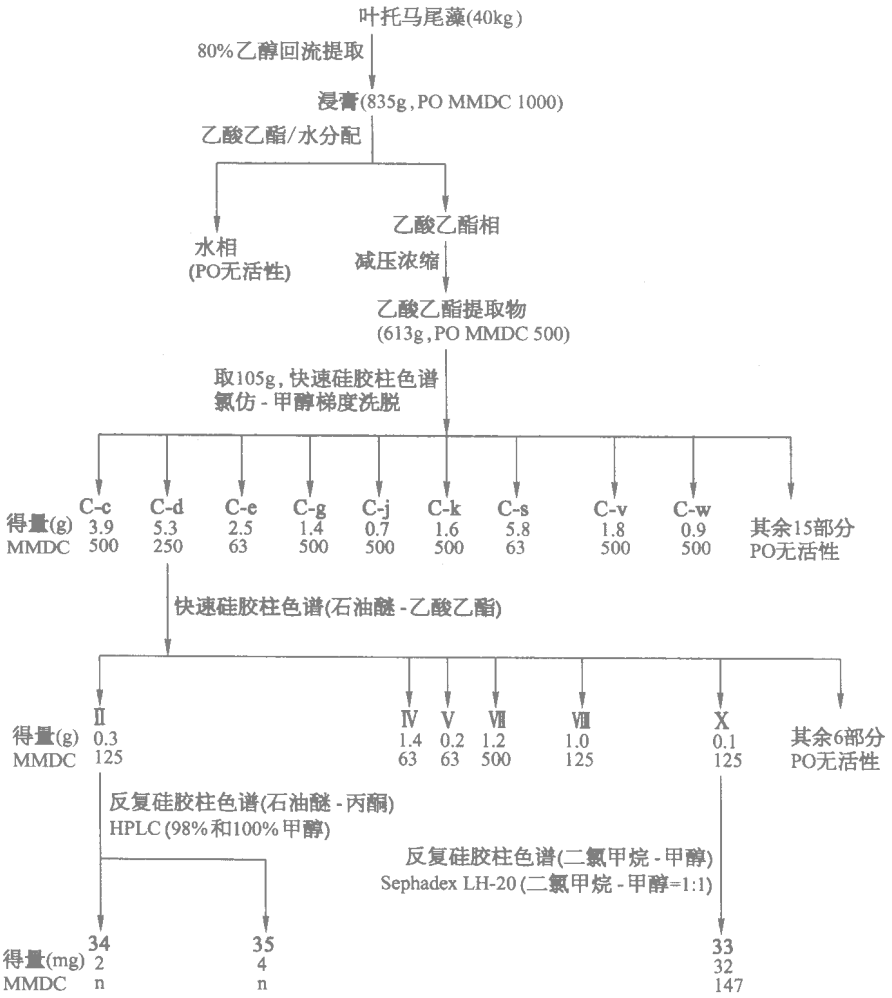


图 3－1　叶托马尾藻中甾体化合物的分离流程

PO 为稻瘟霉 *Pyricularia oryzae* 的缩写；MMDC 指最小菌丝变形浓度，对混合组分，单位为 μg/ml，对单体化合物，单位为 μmol/L，MMDC≤500 μg/ml 示有抗肿瘤活性；n 未检测活性

化合物 33 白色粉末，mp. 139～140℃，HREI－MS 推出分子式为 $C_{29}H_{48}O_2$。^{1}HNMR 中可观察到 1 个烯质子 δ5.35(1 H,brd,J=5.2 Hz,6－H)，1 个多重峰 δ3.52(1 H,3－H)和 2 个角甲基 δ0.70,1.01(each 3 H,s,18－CH_3 and 19－CH_3)信号，与已知化合物岩藻甾醇相

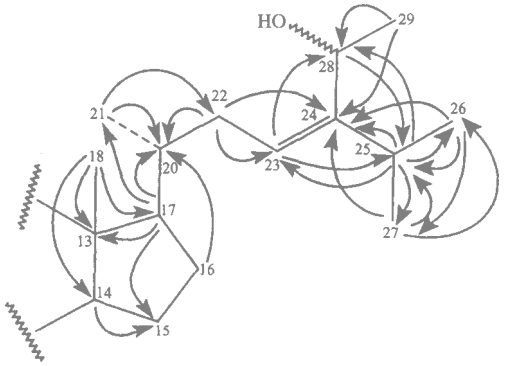


图 3－2　甾醇 33 的主要 HMBC 信号示意图

似,而侧链部分质子信号则有显著差别,推测 33 也具有 5－烯－3－醇结构的甾体母核。借助 DEPT 和 HMQC 谱,对 33 的 ^{1}HNMR 和 ^{13}CNMR 谱进行仔细分析,表明有 6 个甲基,9 个亚甲基,10 个次甲基和 4 个季碳的存在。1 个烯质子信号[δ 5.49 和 5.25(total 1 H, each dd, J = 8.4, 6.0 Hz, 23－H)]和 2 组烯碳信号[(δ 123.0 和 123.3, C－23), (δ 149.0 和 149.6, C－24)]表明了 1 个三取代双键的存在。在 δ 4.76 和 4.32 处 2 个四重峰(total 1 H, J = 6.4 Hz, 28－H), δ 1.27 处 1 个双重峰(3 H, 29－CH_3)及 2 组碳信号[(δ 66.7 和 67.7, C－28), (δ 21.5 和 21.7, C－29)]提示可能存在 1 个与甲基和季碳相连的连氧次甲基。此外,侧链上尚存在其他 3 个甲基,其碳和质子信号分别出现在 δ 18.7, 24.5, 24.7 和 δ 0.89(3 H, d, J = 6.4 Hz), 1.05(3 H, d, J = 6.4 Hz), 1.07(3 H, d, J = 6.4 Hz)。考虑以上信息,并结合分子式组成,推测在侧链 28 位连有 1 个羟基,且 33 为 28 位异构体的混合物。这一推测得到了 HMBC 谱的验证。在 HMBC 谱中,可观察到 29－H_3 与 C－24, －28, 28－H 与 C－25, 27－H_3 与 C－24, －25, －26, 26－H_3 与 C－24, －25, －27, 25－H 与 C－23, －24, －26, －27, －28, 23－H 与 C－25, －28, 22－H 与 C－20, －23, －24 以及 21－H_3 与 C－20, －22 之间均存在远程相关信号(见图 3－2),由此确定了甾体母核上连接的侧链结构,从而 33 的平面结构可推定为 3, 28 ξ－二羟基－24－乙基－5, 23－胆甾二烯。23 位双键的立体构型根据 NOESY 谱确定:可观察到 23－H 与 26 或 27 位甲基的 NOE 信号,而 23－H 与 29 位甲基则没有 NOE 效应,因此,23 位双键应为顺式构型。NOESY 谱中尚观察到 12 β－H/21－H_3 和 18－H/20－H 的相关峰,从而进一步确证了侧链的 17 β 构型。根据以上分析,确定化合物 33 为 3 β, 28 ξ－二羟基－24－乙基－5, 23 Z－胆甾二烯。

参 考 文 献

[1] Talbot HM, Head RN, Harris RP, et al. Distribution and stability of steryl chlorin esters in copepod fecal pellets from diatom grazing. Org Geochem, 1999,30(9):1 163

[2] Sheu JH, Huang SY, Wang GH, et al. Study on cytotoxic oxygenated desmosterols isolated from the red alga *Galaxaura marginata*. J Nat Prod, 1997,60(9):900

[3] 徐石海,岑颖洲,刘明正,等.海藻中两种新化学成分的分离和结构鉴定.药学学报,2000,35(1):26

[4] Rochfort SJ, Gable RW, Capon RJ. Mycalone, an unusual sterone from *Mycale* sp.. Aust J Chem, 1996, 49:715

[5] Aoki S, Yoshioka Y, Miyamoto Y,et al. Agosterol A, a novel polyhydroxylated sterol acetate reversing multidrug resistance from a marine sponge of *Spongia* sp.. Tetrahedron Lett, 1998,39:6 303

[6] Kobayashi M, Chen YJ, Higuchi K, et al. Marine natural products XXXVII:aragusteroketals A and C, two novel cytotoxic steroids from a marine sponge of *Xestospongia* sp.. Chem Pharm Bull, 1996,44(10):1 840

[7] Leone PA, Redburn J, Hooper JNA, et al. Polyoxygenated *Dysidea* sterols that inhibit the binding of [1125]IL-8 to the human recombinant IL-8 receptor type A. J Nat Prod, 2000,63(5):694

[8] Qureshi A, Faulkner DJ. Haplosamates A and B:new steroidal sulfamate esters from two *Haplosclerid* sponges. Tetrahedron, 1999,55:8 323

[9] Dauria MV, Giannini C, Zampella A, et al. Crellastatin A:a cytotoxic bis-steroid sulfate from the Vanuatu marine sponge *Crella* sp.. J Org Chem, 1998,63(21):7 382

[10] Morris LA, Christie EM, Jaspars M, et al. A bioactive secosterol with an unusual A- and B-ring oxygenation pattern isolated from an Indonesian soft coral *Lobophytum* sp.. J Nat Prod, 1998,61(4):538

[11] Roccatagliata AJ, Maier MS, Seldes AM, et al. Antivirial sulfated steroids from the ophiuroid *Ophioplocus januarii*. J Nat Prod, 1996,59(9):887

[12] Roccatagliata AJ, Maier MS, Seldes AM. New sulfated polyhydroxysteroids from the Antarctic ophiuroid *Astrotoma agassizii*. J Nat Prod, 1988,61(3):370

[13] Marino SD, Palagiano E, Zollo F, et al. A novel sulphated steroid with a 7-membered 5-oxalactone B-ring from an Antarctic starfish of the family Asteriidae. Tetrahedron, 1997,53(25):8 625

[14] Marino SD, Iorizzi M, Palagiano E, et al. Starfish saponins. 55. Isolation, structure elucidation, and biological activity of the steroid oligoglycosides from an Antarctic starfish of the family Asteriidae. J Nat Prod, 1998,61(11):1 319

[15] Ishida H, Nakayasu H, Miyamoto H, et al. Study on the bile salts from sunfish, *Mola mola* L. I. the structures of sodium cyprinol sulfates, the sodium salt of a new bile acid conjugated with taurine, and a new bile alcohol and its new sodium sulfates. Chem Pharm Bull, 1998,46(1):12

[16] Rao MN, Shinnar AE, Noecker LA, et al. Aminosterols from the dogfish shark *Squalus acanthias*. J Nat Prod, 2000,63(5):631

[17] Tang HF, Yi YH, Yao XS, et al. Bioactive steroids from the brown alga *Sagassum carpophyllum*. J Asian Nat Prod Res, 2002,4(2):95

需要全本请访问 www.ertongbook.com