

· 论著 ·

中国西沙群岛沐浴海绵的化学成分研究

田 园^{1,2}, 徐 彬², 王景凤³, 林厚文², 杨连娟⁴, 杨 帆² (1.集美大学食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021; 2.上海交通大学医学院附属仁济医院药学部, 上海 200127; 3.西部矿业集团有限公司技术研究院, 青海 西宁 810000; 4.上海市皮肤病医院真菌病科, 上海 200050)

[摘要] 目的 研究中国西沙群岛沐浴海绵 *Spongia* sp. 的化学成分。方法 运用正相硅胶柱色谱、反相 ODS 柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱以及半制备高效液相色谱等多种色谱学分离手段, 对沐浴海绵 *Spongia* sp. 的石油醚萃取层进行分离纯化; 通过理化性质、波谱学数据并结合文献报道鉴定化合物的结构, 采用微量稀释法评价化合物的体外抗真菌活性。结果 从海绵 *Spongia* sp. 中分离并鉴定了 9 个化合物, 分别为 smenodiol (1)、smenospongorine (2)、5-*epi*-smenospongorine (3)、dictyoceratin C (4)、*epi*-smenospongidine (5)、dictyoceratin A (6)、stigmasta-4, 6, 8(14), 22-tetraen-3-one (7)、3-oxo-4, 6, 8(14)-triunsaturated steroid (8)、ergosta-4, 6, 8(14), 22-tetraen-3-one (9)。结论 化合物 1~9 均为首次从该属海绵中分离得到, 体外抗真菌活性测试显示, 化合物 2、3、5 和 9 对 3 种受试菌株(白色念珠菌、须癣毛癣菌和红色毛癣菌)表现出程度不等的抑制活性, MIC 值范围在 12.5~25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

[关键词] 沐浴海绵; 化学成分; 倍半萜醌; 抗真菌活性

[中图分类号] R284 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2017)04-0315-07

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.04.007

Chemical constituents from *Spongia* sp., a marine sponge in Xisha Islands

TIAN Yuan^{1,2}, XU Bin², WANG Jingfeng³, LIN Houwen², YANG Lianjuan⁴, YANG Fan² (1. College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Department of Pharmacy, Renji Hospital Affiliated to School of Medicine, Shanghai JiaoTong University, Shanghai, 200127, China; 3. Technology Research Institute, Western Mining Group Co., Ltd., Qinghai 810000, China; 4. Department of Fungal Diseases, Shanghai Dermatology Hospital, Shanghai 200050, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the chemical constituents in the marine sponge, *Spongia* sp., collected from the Xisha Islands. **Methods** The pure chemical components from the petroleum ether extract of *Spongia* sp. were obtained by repeated column chromatography on silica gel, ODS, Sephadex LH-20 and semi-preparative HPLC. Their structures were determined by spectroscopic analysis and comparison with the reported data. The antifungal activity of those compounds was evaluated by dilution method. **Results** 9 compounds were isolated and identified, including smenodiol (1), smenospongorine (2), 5-*epi*-smenospongorine (3), dictyoceratin C (4), *epi*-smenospongidine (5), dictyoceratin A (6), stigmasta-4, 6, 8(14), 22-tetraen-3-one (7), 3-oxo-4, 6, 8(14)-triunsaturated steroids (8), ergosta-4, 6, 8(14), 22-tetraen-3-one (9). **Conclusion** Compounds 1~9 were isolated from the sponge of genus *spongia* for the first time. Compound 2, 3, 5 and 9 exhibited antifungal activities against *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum* with the MIC values of 12.5~25 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

[Key words] *Spongia* sp.; chemical constituents; sesquiterpene quinone; antifungal activity

Spongia 属为寻常海绵纲(Demospongiae)、网角海绵目(Dictyoceratida)、角骨海绵科(Spongiidae)。该属海绵化学成分研究报道起始于 20 世纪

70 年代初, 其中涉及较多的种类为 *Spongia agarinicina*^[1]、*S. matamata*^[2]、*S. officinalis*^[3] 和 *S. zimocca*^[4] 等。经研究发现, 该属海绵中蕴含多种结构类型的次生代谢产物, 主要包括萜类、大环内酯类、甾醇、溴代衍生物等, 其中萜醌类化合物是 *Spongia* 属海绵的特征次生代谢产物之一^[5-7]。此外, 这些结构独特的化合物还表现出丰富多样的生物活性, 如细胞毒^[6-8]、抗病毒^[9]、抗菌^[10, 11] 等, 得到了药理学者和有机合成学者的广泛关注^[12-16]。

萜醌类化合物为该属海绵的特征化学成分之

[基金项目] 北京医学奖励基金(YJHYXKYJJ-125); 上海市科委科技支撑项目(15431900900)

[作者简介] 田 园, 硕士研究生, 研究方向: 海洋天然产物研究。Tel: 15902141870; Email: tian15236273091@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

一,其种类繁多、结构多样,并且大多数具有较为突出的生物活性,是中外学者研究的热点方向之一。为了从我国西沙群岛海洋生物中寻找具有重要生物活性和药用前景的海洋天然产物,笔者对 *Spongia* sp. 海绵的化学成分进行研究,从中分离得到 9 个化合物(图 1),其中包括 6 个倍半萜醌,通过理化性质、波谱学数据并结合文献报道确定了它们的结构。这些化合物均为首次从该属海绵中分离得到,同时,笔者对其体外抗真菌活性进行了评价。

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);质谱仪(美国 Waters 公司);Waters 高效液相色谱仪(Waters 1525/1998);旋转蒸发仪(EYELA-1000 型);Sephadex LH-20(Amersham pharmacia Biotech 公司);层析硅胶(200~300 目,烟台江友硅胶开发有限公司);ODS 填料(日本 YMC 公司);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);氘代试剂(Cambridge Isotope Laboratories, Inc.);显色剂为 12% (体积分数)硫酸香草醛乙醇溶液。

1.2 样品来源及鉴定 海绵样品于 2013 年 6 月采自中国南海西沙群岛,由中国科学院海洋研究所李锦和研究员鉴定为 *Spongia* sp.,标本存放于上海交通大学医学院仁济医院药学部海洋药物研究中心。

1.3 样品的提取分离和纯化 冻干海绵(*Spongia*

sp.)样品(干重 500 g),机械搅碎,用二氯甲烷-甲醇(1:1)超声提取 5 次(2 L/次,60 min),合并提取液,减压浓缩得到总浸膏 86 g。将总浸膏混悬于 1 L 90% 的甲醇水溶液中,用石油醚等体积萃取 3 次(1 L/次),减压浓缩得到石油醚层浸膏 66 g。石油醚层浸膏用正相硅胶减压柱色谱分离,以石油醚-乙酸乙酯进行 7 个梯度洗脱(100:1,50:1,30:1,15:1,5:1,3:1,1:1),得到 A~G 共 10 个组分。E 组分(650 mg)经中压 ODS 柱色谱(流动相:50%~100% 甲醇-水)梯度洗脱 5 h 得到 8 个亚组分,记为 E1~E8。E5 经硅胶柱色谱(以石油醚:丙酮=30:1~5:1 为流动相)洗脱得到 3 个次级流分,记为 E5A~E5C。E5B(130 mg)经半制备型 HPLC[xBridge Prep C₁₈(10 mm×250 mm,5 μm)] 纯化分离得到化合物 1(70% 乙腈-水, *t_r* = 54 min, 2 mg),化合物 2[60% 乙腈-水(0.1% 甲酸), *t_r* = 53 min, 9 mg],化合物 3[62% 乙腈-水(0.1% 甲酸), *t_r* = 57 min, 3.5 mg]。F 组分(1.2 g)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、中压 ODS 柱色谱、硅胶柱色谱和半制备型 HPLC[xBridge Prep Phenyl(10 mm×250 mm,5 μm)] 纯化分离得到化合物 4[60% 乙腈-水(0.1% 甲酸), *t_r* = 25 min, 2 mg],化合物 5[60% 乙腈-水(0.1% 甲酸), *t_r* = 31 min, 10.8 mg],化合物 6[65% 乙腈-水(0.1% 甲酸), *t_r* = 45 min, 1 mg],化合物 7[70% 乙腈-水(0.1% 甲酸), *t_r* = 65 min, 3 mg],化合物 8[68% 乙腈-水(0.1% 甲酸), *t_r* = 50 min, 4.8 mg]和化合物 9[68% 乙腈-水(0.1% 甲酸), *t_r* = 54 min, 3.3 mg]。

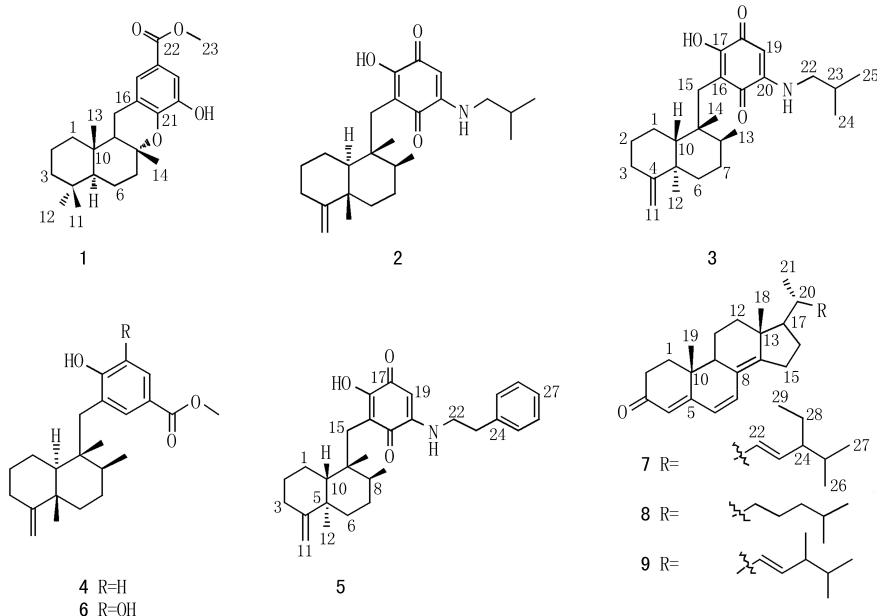


图 1 化合物 1~9 的结构

2 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色固体; ESI-MS m/z 373 $[M+H]^+$, 提示分子量为 372, 结合¹H-NMR 及¹³C-NMR 确定分子式为 C₂₃H₃₂O₄, 计算不饱和度为 8; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 在低场区显示出 2 个芳香质子信号 δ_{H} 7.38 (2H, s), 在高场区显示出 1 个甲氧基质子信号 δ_{H} 3.85 (3H, s), 一对亚甲基质子信号 δ_{H} 2.93 (1H, d, $J=18.1$ Hz, H-15a) 和 2.82 (1H, d, $J=18.1$ Hz, H-15b) 以及 4 个甲基质子信号 δ_{H} 1.25 (3H, s), δ_{H} 1.19 (3H, s), δ_{H} 0.90 (3H, s) 和 δ_{H} 0.80 (3H, s)。¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) 结合 DEPT 谱共显示出 23 个碳信号, 1 个羰基碳信号 (δ_{C} 167.4), 4 个芳香季碳信号 (δ_{C} 145.9、144.9、122.2、122.0), 2 个芳香次甲基碳信号 (δ_{C} 122.7、112.9), 1 个连氧季碳信号 (δ_{C} 78.2), 2 个季碳信号 (δ_{C} 38.5、33.4), 2 个次甲基碳信号 (δ_{C} 55.3、49.7), 6 个亚甲基碳信号 (δ_{C} 41.9、40.5、40.1、22.3、18.5、18.3), 1 个甲氧基碳信号 (δ_{C} 52.0), 4 个甲基碳信号 (δ_{C} 33.8、27.7、22.0、14.3)。其核磁共振数据归属如下: ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_{H} : 7.38 (2H, s, H-17, H-19), 5.54 (1H, brs, 20-OH), 3.85 (3H, s, H₃-23), 2.93 (1H, d, $J=18.1$, H-15a), 2.82 (1H, d, $J=18.1$ Hz, H-15b), 2.21 (1H, m, H-7a), 1.82 (1H, m, H-3a), 1.66 (3H, m, H-9, H-6a, H-2a), 1.54 (1H, m, H-1a), 1.43 (3H, m, H-7b, H-2b, H-1b), 1.42 (1H, m, H-6b), 1.25 (3H, s, H₃-13), 1.19 (3H, s, H₃-14), 1.15 (1H, m, H-3b), 0.92 (1H, d, $J=2.9$ Hz, H-5), 0.90 (3H, s, H₃-11), 0.80 (3H, s, H₃-12); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_{C} : 167.4 (C-22), 145.9 (C-21), 144.9 (C-20), 122.7 (C-17), 122.2 (C-16), 122.0 (C-18), 112.9 (C-19), 78.2 (C-8), 55.3 (C-5), 52.0 (C-23), 49.7 (C-9), 41.9 (C-7), 40.5 (C-3), 40.1 (C-1), 38.5 (C-10), 33.8 (C-12), 33.4 (C-4), 27.7 (C-13), 22.3 (C-15), 22.0 (C-11), 18.5 (C-6), 18.3 (C-2), 14.3 (C-14)。经对比, 以上数据与文献[17]报道的数据一致, 确定该化合物为 smenodiol。

化合物 **2**: 紫红色粉末; ESI-MS m/z 398 $[M-H]$, 提示分子量为 399, 提示该化合物结构中可能含有 1 个氮原子, 结合¹H-NMR 及¹³C-NMR 确定分子式为 C₂₅H₃₇NO₃, 计算不饱和度为 8。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 在低场区显示出 1 个活泼质子信号 δ_{H} 6.51 (1H, s), 1 个烯烃质子信号 δ_{H} 5.36 (1H, s), 2 个末端双键质子信号 δ_{H} 4.44 (1H, s) 和

δ_{H} 4.43 (1H, s)。在高场区显示出一对亚甲基质子信号 δ_{H} 2.48 (1H, d, $J=18.1$, H-15a) 和 2.40 (1H, d, $J=18.1$ Hz, H-15b), 5 个甲基质子信号 δ_{H} 1.04 (3H, s), δ_{H} 0.99 (6H, d, $J=6.5$ Hz, H₃-24, H₃-25), δ_{H} 0.97 (3H, d, $J=6.5$ Hz) 和 δ_{H} 0.83 (3H, s)。¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) 结合 DEPT 谱共显示出 25 个碳信号, 2 个共轭的酮羰基碳信号 (δ_{C} 183.0、178.2), 4 个烯烃季碳信号 (δ_{C} 160.6、157.3、150.6、113.6), 1 个末端双键碳信号 (δ_{C} 102.6), 1 个烯烃次甲基碳信号 (δ_{C} 91.7), 2 个季碳信号 (δ_{C} 43.0、40.5), 3 个次甲基碳信号 (δ_{C} 50.0、38.0、27.8), 7 个亚甲基碳信号 (δ_{C} 50.5、36.8、33.2、32.6、28.8、28.1、23.3), 5 个甲基碳信号 (δ_{C} 20.7、20.4、20.4、18.0、17.4)。结合氢谱、碳谱以及不饱和度推测该化合物为倍半萜醌类化合物, 其核磁共振数据归属如下: ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_{H} : 5.36 (1H, s, H-19), 4.44 (1H, s, H-11a), 4.43 (1H, s, H-11b), 2.98 (2H, t, $J=6.5$ Hz, H₂-22), 2.48 (1H, d, $J=13.9$ Hz, H-15a), 2.40 (2H, d, $J=13.9$ Hz, H-15b, H-3a), 2.32 (1H, m, H-1a), 2.07 (1H, m, H-3b), 1.97 (1H, m, H-1b), 1.96 (1H, m, H-23), 1.95 (1H, m, H-7a), 1.52 (1H, m, H-6a), 1.51 (1H, m, H-2a), 1.44 (2H, m, H-2b, H-6b), 1.40 (1H, m, H-7b), 1.20 (1H, m, H-8), 1.15 (1H, m, H-10), 1.04 (3H, s, H₃-12), 0.99 (6H, d, $J=6.5$ Hz, H₃-24, H₃-25), 0.97 (3H, d, $J=6.5$ Hz, H₃-13), 0.83 (3H, s, H₃-14); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_{C} : 183.0 (C-18), 178.2 (C-21), 160.6 (C-4), 157.3 (C-17), 150.6 (C-20), 113.6 (C-16), 102.6 (C-11), 91.7 (C-19), 50.5 (C-22), 50.0 (C-10), 43.0 (C-9), 40.5 (C-5), 38.0 (C-8), 36.8 (C-3), 33.2 (C-6), 32.6 (C-15), 28.8 (C-1), 28.1 (C-7), 27.8 (C-23), 23.3 (C-2), 20.7 (C-12), 20.4 (C-24, C-25), 18.0 (C-13), 17.4 (C-14)。经对比, 以上数据与文献[18]报道的数据一致, 确定该化合物为 smenospongorine。

化合物 **3**: 紫红色粉末; ESI-MS m/z 398 $[M-H]$, 提示分子量为 399, 提示该化合物结构中可能含有 1 个氮原子, 结合¹H-NMR 及¹³C-NMR 确定分子式为 C₂₅H₃₇NO₃, 计算不饱和度为 8。将该化合物的¹H-NMR、¹³C-NMR 和 DEPT 谱与化合物 **2** 进行对比, 发现基本一致, 因此推测该化合物为倍半萜醌类化合物, 区别在于该化合物的 CH₃-12 的化学位移为 δ_{C} 33.1, 推定其为化合物 **2** 在 C-5 位上的差向异构体^[19]。其核磁共振数据归属如下: ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_{H} : 5.38 (1H, s, H-19), 4.70

(1H, s, H-11a), 4.68 (1H, s, H-11b), 2.99 (2H, t, $J=6.5$ Hz, H₂-22), 2.54 (1H, d, $J=13.9$ Hz, H-15a), 2.44 (2H, d, $J=13.9$ Hz, H-15b, H-3a), 2.13 (2H, m, H-1a, H-3b), 1.98 (2H, m, H-6a, H-23), 1.85 (1H, m, H-1b), 1.81 (1H, m, H-7a), 1.77 (1H, m, H-2a), 1.66 (1H, m, H-2b), 1.49 (1H, m, H-7b), 1.21 (1H, m, H-8), 1.12 (1H, m, H-6b), 1.10 (1H, m, H-10), 1.06 (3H, s, H₃-12), 1.00 (6H, d, $J=6.7$ Hz, H₃-24, H₃-25), 0.93 (3H, d, $J=6.2$ Hz, H₃-13), 0.87 (3H, s, H₃-14); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 183.0 (C-18), 178.3 (C-21), 157.3 (C-17), 153.7 (C-4), 150.6 (C-20), 113.8 (C-16), 105.8 (C-11), 91.7 (C-19), 50.5 (C-22), 48.4 (C-10), 44.5 (C-9), 39.6 (C-5), 39.4 (C-8), 38.0 (C-6), 33.1 (C-12), 32.9 (C-3), 32.1 (C-15), 28.1 (C-7), 28.0 (C-7), 27.8 (C-23), 25.1 (C-2), 22.6 (C-1), 20.4 (C-24, C-25), 18.0 (C-13), 17.4 (C-14)。经对比, 以上数据与文献[19]报道的数据一致, 确定该化合物为 5-*epi*-smenospongorine。

化合物 4: 白色针状晶体; ESI-MS m/z 357 [M+H]⁺, 提示分子量为 356, 结合¹H-NMR 及¹³C-NMR 确定分子式为 C₂₃H₃₂O₃, 计算不饱和度为 8。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 在低场区显示出 3 个芳香质子信号 δ_H 7.76 (2H, m, H-19, H-21) 和 6.74 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-18), 2 个末端双键质子信号 δ_H 4.41 (1H, s) 和 δ_H 4.37 (1H, s), 1 个甲氧基质子信号 δ_H 3.87 (3H, s)。在高场区显示出一对亚甲基质子信号 δ_H 2.67 (1H, d, $J=14.4$ Hz, H-15a) 和 2.63 (1H, d, $J=14.4$ Hz, H-15b), 3 个甲基质子信号 δ_H 1.07 (3H, s), δ_H 1.03 (3H, d, $J=6.3$ Hz, H₃-13) 和 δ_H 0.88 (3H, s)。¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) 结合 DEPT 谱共显示出 23 个碳信号, 1 个羰基碳信号 (δ 167.2), 1 个烯基季碳信号 (δ 160.1), 3 个芳香季碳信号 (δ 159.0, 125.2, 122.1), 3 个芳香次甲基碳信号 (δ 135.1, 129.4, 115.5), 1 个环外末端双键碳信号 (δ 103.0), 2 个季碳信号 (δ 42.3, 40.3), 2 个次甲基碳信号 (δ 48.2, 36.5), 6 个亚甲基碳信号 (δ 37.2, 36.7, 33.1, 28.0, 27.8, 23.4), 1 个甲氧基碳信号 (δ 52.0), 3 个甲基碳信号 (δ 20.7, 17.8, 17.7)。结合氢谱、碳谱以及不饱和度推测该化合物为倍半萜醌类化合物, 其核磁共振数据归属如下: ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_H: 7.76 (2H, m, H-19, H-21), 6.74 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-18), 4.41 (1H, s, H-11a), 4.37 (1H, s, H-11b), 3.87 (3H, s, H₃-23), 2.67 (1H, d, $J=14.4$ Hz, H-15a), 2.63 (1H,

d, $J=14.4$ Hz, H-15b), 2.34 (1H, m, H-3a), 2.09 (2H, m, H-1a, H-3b), 1.92 (1H, m, H-2a), 1.58 (1H, m, H-1b), 1.47 (1H, m, H-6a), 1.41 (3H, m, H-2a, H₂-7), 1.29 (1H, m, H-6b), 1.20 (1H, m, H-8), 1.07 (3H, s, H₃-12), 1.03 (3H, d, $J=6.3$ Hz, H₃-13), 0.96 (1H, d, $J=12.1$ Hz, H-10), 0.88 (3H, s, H₃-14); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 167.2 (C-22), 160.1 (C-4), 159.0 (C-17), 135.1 (C-21), 129.4 (C-19), 125.2 (C-16), 122.1 (C-20), 115.5 (C-18), 103.0 (C-11), 52.0 (C-23), 48.2 (C-10), 42.2 (C-9), 40.3 (C-5), 37.2 (C-15), 36.7 (C-6), 36.5 (C-8), 33.1 (C-3), 28.0 (C-2), 27.8 (C-7), 23.4 (C-1), 20.7 (C-12), 17.8 (C-14), 17.7 (C-13)。经对比, 以上数据与文献[20]报道的数据一致, 确定该化合物为 dictyoceratin C。

化合物 5: 紫红色粉末; ESI-MS m/z 448 [M+H]⁺, 提示分子量为 447, 提示该化合物结构中可能含有 1 个氮原子, 结合¹H-NMR 及¹³C-NMR 确定分子式为 C₂₉H₃₇NO₃, 计算不饱和度为 12。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 在低场区显示出 5 个芳香质子信号 7.33 (2H, t, $J=7.5$ Hz, H-26, H-28)、7.27 (1H, t, $J=7.5$ Hz, H-27) 和 7.19 (2H, d, $J=7.5$ Hz, H-25, H-29), 提示有一个单取代苯环存在; 低场区还显示出 1 个活泼的氮质子信号 δ_H 6.48 (1H, s), 1 个烯基质子信号 δ_H 5.42 (1H, s), 2 个环外末端双键质子信号 δ_H 4.70 (1H, s) 和 δ_H 4.67 (1H, s)。在高场区显示出一对亚甲基质子信号 δ_H 2.53 (1H, d, $J=13.9$ Hz, H-15a) 和 2.42 (1H, d, $J=13.9$ Hz, H-15b), 3 个甲基质子信号 δ_H 1.06 (3H, s), δ_H 0.91 (3H, d, $J=6.2$ Hz, H₃-13) 和 δ_H 0.86 (3H, s)。¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) 结合 DEPT 谱共显示出 29 个碳信号, 2 个共轭的酮羰基碳信号 (δ 182.9, 178.5), 4 个芳香季碳信号 (δ 157.1, 153.7, 150.2, 114.0), 1 个末端双键碳信号 (δ 105.8), 1 个烯基次甲基信号 (δ 92.0), 5 个芳香次甲基碳信号 (δ 129.1, 129.1, 128.7, 128.7, 127.2), 1 个芳香季碳信号 (δ 137.6), 2 个季碳信号 (δ 44.6, 39.6), 2 个次甲基碳信号 (δ 48.4, 39.4), 8 个亚甲基碳信号 (δ 44.2, 38.0, 34.4, 32.9, 32.1, 28.0, 25.1, 22.7), 3 个甲基碳信号 (δ 33.3, 18.8, 18.5)。结合氢谱、碳谱以及不饱和度推测该化合物为倍半萜醌类化合物, 其核磁共振数据归属如下: ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_H: 7.33 (2H, t, $J=7.5$ Hz, H-26, H-28), 7.27 (1H, t, $J=7.5$ Hz, H-27), 7.19 (2H, d, $J=7.5$ Hz, H-25, H-29), 5.42 (1H, s, H-19), 4.70

(1H, s, H-11a), 4.67 (1H, s, H-11b), 3.44 (2H, m, H₂-22), 2.95 (2H, t, $J=7.2$ Hz, H₂-23), 2.53 (1H, d, $J=13.9$ Hz, H-15a), 2.42 (1H, d, $J=13.9$ Hz, H-15b), 2.13 (1H, m, H-3a), 2.01 (1H, d, $J=14.0$ Hz, H-3b), 1.80 (2H, m, H-1a, H-2a), 1.50 (2H, m, H-1b, H-6a), 1.20 (4H, m, H-6b, H₂-7, H-8), 1.11 (1H, m, H-2b), 1.06 (3H, s, H₃-12), 0.97 (1H, m, H-10), 0.91 (3H, d, $J=6.2$ Hz, H₃-13), 0.86 (3H, s, H₃-14); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_c : 182.9 (C-21), 178.5 (C-18), 157.1 (C-17), 153.7 (C-4), 150.2 (C-20), 137.6 (C-24), 129.1 (C-26, C-28), 128.7 (C-25, C-29), 127.2 (C-27), 114.0 (C-16), 105.8 (C-11), 92.0 (C-19), 48.4 (C-10), 44.6 (C-9), 44.2 (C-22), 39.6 (C-5), 39.4 (C-8), 38.0 (C-6), 34.4 (C-23), 33.3 (C-12), 32.9 (C-3), 32.1 (C-15), 28.0 (C-7), 25.1 (C-2), 22.7 (C-1), 18.8 (C-13), 18.5 (C-14)。经对比, 以上数据与文献[21]报道的数据一致, 确定该化合物为 *epi*-smenospongine。

化合物 6: 红色粉末; ESI-MS m/z 373 [M+H]⁺, 提示分子量为 372, 结合¹H-NMR 及¹³C-NMR 确定分子式为 C₂₃H₃₂O₄, 计算不饱和度为 8。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 在低场区显示出 2 个芳香质子信号 δ_H 7.40 (2H, s, H-19, H-21), 2 个环外末端双键质子信号 δ_H 4.41 (1H, s) 和 δ_H 4.37 (1H, s), 1 个甲氧基质子信号 δ_H 3.85 (3H, s); 高场区显示出一对亚甲基质子信号 δ_H 2.68 (1H, d, $J=14.4$ Hz, H-15a) 和 2.65 (1H, d, $J=14.4$ Hz, H-15b), 3 个甲基质子信号 δ_H 1.06 (3H, s), δ_H 1.03 (3H, d, $J=6.4$ Hz, H₃-13) 和 δ_H 0.88 (3H, s)。¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) 结合 DEPT 谱共显示出 23 个碳信号, 1 个羰基碳信号 (δ_c 167.2), 1 个烯烃季碳信号 (δ_c 160.2), 4 个芳香季碳信号 (δ_c 148.6、144.2、125.4、120.9), 2 个芳香次甲基碳信号 (δ_c 127.6、114.0), 1 个环外末端双键碳信号 (δ_c 102.7), 2 个季碳信号 (δ_c 42.9、40.2), 2 个次甲基碳信号 (δ_c 48.1、36.5), 6 个亚甲基碳信号 (δ_c 37.2、36.6、33.2、28.0、27.8、23.4), 1 个甲氧基碳信号 (δ_c 52.1), 3 个甲基碳信号 (δ_c 20.8、17.8、17.7)。结合氢谱、碳谱以及不饱和度推测该化合物为倍半萜醌类化合物, 其核磁共振数据归属如下: ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_H : 7.40 (2H, s, H-19, H-21), 4.41 (1H, s, H-11a), 4.37 (1H, s, H-11b), 3.85 (3H, s, H₃-23), 2.68 (1H, d, $J=14.4$ Hz, H-15a), 2.65 (1H, d, $J=14.4$ Hz, H-15b), 2.33 (1H, m, H-

3a), 2.09 (2H, d, $J=14.0$ Hz, H-1a, H-3b), 1.92 (1H, m, H-2a), 1.58 (1H, m, H-1b), 1.47 (1H, m, H-6a), 1.40 (3H, m, H-2b, H₂-7), 1.30 (1H, m, H-8), 1.27 (1H, m, H-6b), 1.06 (3H, s, H₃-12), 1.03 (3H, d, $J=6.4$ Hz, H₃-13), 0.96 (1H, d, $J=6.4$ Hz, H-10), 0.88 (3H, s, H₃-14); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_c : 167.2 (C-23), 160.2 (C-4), 148.6 (C-17), 142.2 (C-18), 127.6 (C-21), 125.4 (C-16), 120.9 (C-20), 114.0 (C-19), 102.7 (C-11), 52.1 (C-23), 48.1 (C-10), 42.9 (C-9), 40.2 (C-5), 37.2 (C-15), 36.6 (C-6), 36.5 (C-8), 33.2 (C-3), 28.0 (C-2), 27.8 (C-7), 23.4 (C-1), 20.8 (C-12), 17.8 (C-14), 17.7 (C-13)。经对比, 以上数据与文献[20]报道的数据一致, 确定该化合物为 dictyoceratin A。

化合物 7: 浅黄色粉末; ESI-MS m/z 407 [M+H]⁺, 提示分子量为 406, 结合¹H-NMR 及¹³C-NMR 确定分子式为 C₂₉H₄₂O, 计算不饱和度为 9。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 中显示出 2 个反式烯烃质子信号 δ_H 5.25 (1H, dd, $J=15.1$ Hz, 7.7 Hz) 和 5.20 (1H, dd, $J=15.2$ Hz, 8.1 Hz); 2 个角甲基质子信号 δ_H 1.00 (3H, s) 和 0.96 (3H, s); 4 个裂分甲基质子信号 δ_H 1.05 (3H, d, $J=6.5$ Hz)、0.93 (3H, d, $J=6.9$ Hz)、0.88 (3H, d, $J=6.5$ Hz)、0.84 (3H, d, $J=6.9$ Hz); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_c : 199.6 (C-3), 164.5 (C-5), 156.2 (C-14), 135.3 (C-22), 134.1 (C-7), 132.8 (C-23), 124.6 (C-6, C-8), 123.2 (C-4), 55.8 (C-17), 44.5 (C-24), 44.4 (C-9), 44.1 (C-13), 43.2 (C-20), 36.9 (C-10), 35.8 (C-12), 34.3 (C-1, C-2), 33.3 (C-25), 29.9 (C-28), 28.1 (C-16), 25.6 (C-15), 21.4 (C-21), 20.3 (C-26), 19.9 (C-27), 19.2 (C-11), 19.1 (C-19), 18.1 (C-29), 16.8 (C-18)。上述数据与文献[22]报道的数据一致, 确定该化合物为 stigmasta-4, 6, 8(14), 22-tetraen-3-one。

化合物 8: 浅黄色粉末; ESI-MS m/z 381 [M+H]⁺, 提示分子量为 380, 结合¹H-NMR 及¹³C-NMR 确定分子式为 C₂₇H₄₀O, 计算不饱和度为 8。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 中显示出 2 个角甲基质子信号 δ_H 0.99 (3H, s) 和 0.97 (3H, s); 3 个甲基质子信号 δ_H 0.96 (3H, d, $J=6.7$ Hz)、0.88 (3H, d, $J=6.7$ Hz)、0.87 (3H, d, $J=6.7$ Hz); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_c : 199.7 (C-3), 164.6 (C-5), 156.4 (C-14), 134.2 (C-7), 124.6 (C-6), 124.5 (C-8), 123.1 (C-4), 55.8 (C-17), 44.4 (C-9), 44.3 (C-13), 39.6 (C-24), 36.9 (C-10), 36.0 (C-22), 35.9 (C-

12), 34.7 (C-20), 34.3 (C-1, C-2), 28.2 (C-25), 27.3 (C-16), 25.5 (C-15), 23.9 (C-23), 23.0 (C-21), 22.7 (C-26), 19.2 (C-11), 19.1 (C-27), 18.9 (C-19), 16.8 (C-18)。上述数据与文献[23]报道的数据一致, 确定该化合物为 3-oxo-4, 6, 8 (14)-triunsaturated steroids。

化合物 9: 浅黄色粉末; ESI-MS m/z 393 $[M+H]^+$, 提示分子量为 392, 结合 ^1H-NMR 及 $^{13}C-NMR$ 确定分子式为 $C_{28}H_{40}O$, 计算不饱和度为 9。 ^1H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) 中显示出 3 个烯烃质子信号 δ_H 6.62 (1H, d, $J=9.5$ Hz)、6.03 (1H, d, $J=9.5$) 和 5.73 (1H, s); 2 个反式烯基质子信号 δ_H 5.26 (1H, dd, $J=15.3$ Hz, 8.2 Hz) 和 5.21 (1H, dd, $J=15.3$ Hz, 7.5 Hz); 2 个角甲基质子信号 δ_H 1.00 (3H, s) 和 0.96 (3H, s); 4 个裂分甲基质子信号 δ_H 1.05 (3H, d, $J=6.5$ Hz)、0.95 (3H, d, $J=6.5$ Hz)、0.88 (3H, d, $J=6.7$ Hz)、0.87 (3H, d, $J=6.7$ Hz); $^{13}C-NMR$ (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 199.6 (C-3), 164.5 (C-5), 156.2 (C-14), 135.3 (C-22), 134.1 (C-7), 132.8 (C-23), 124.6 (C-6, C-8), 123.1 (C-4), 55.8 (C-17), 44.5 (C-24), 44.4 (C-9), 44.1 (C-13), 43.2 (C-20), 36.9 (C-10), 35.8 (C-12), 34.3 (C-1, C-2), 33.3 (C-25), 28.1 (C-16), 25.6 (C-15), 21.4 (C-21), 20.3 (C-26), 21.4 (C-27), 19.9 (C-28), 19.2 (C-11), 19.1 (C-19), 16.8 (C-18)。上述数据与文献[24]报道的数据一致, 确定该化合物为 ergosta-4, 6, 8(14), 22-tetraen-3-one。

3 抗真菌生物活性测试

采用微量稀释法^[25], 实验流程参考 M38-A2 和 M27-A2 方案^[26], 以白色念珠菌 (*Candida albicans*)、须癣毛癣菌 (*Trichophyton mentagrophytes*) 和红色毛癣菌 (*Trichophyton rubrum*) 3 种受试菌株为指示菌, 对所有化合物进行体外抗真菌药敏筛选实验。结果显示化合物 2、3、5 和 9 对 3 种受试菌株表现出程度不等的抑制活性, MIC 范围在 12.5~25 $\mu g/ml$ (表 1)。

表 1 筛选的 4 种化合物对 3 种受试真菌的最低抑菌浓度 ($\mu g \cdot ml^{-1}$)

化合物	白色念珠菌 MIC ₅₀	须癣毛癣菌 MIC ₈₀	红色毛癣菌 MIC ₈₀
2	25	>30	>30
3	>30	12.5	12.5
5	>30	25	12.5
9	>30	>30	25

4 小结

近年来, 研究人员对天然产物的研究不断深入, 期望从海洋生物的次生代谢产物中分离得到具有重要生物活性和药用前景的海洋天然产物。海绵的化学成分是海洋创新药物研发的重要来源之一, 从中发现结构新颖、活性更强、作用机制独特的化合物具有重要意义。笔者对采自中国西沙群岛海域的海绵 *Spongia* sp. 进行了化学成分研究, 从中分离鉴定了 9 个化合物, 包括倍半萜醌类化合物 1~6, 甾体类化合物 7~9。根据文献调研, 这些化合物是首次从 *Spongia* 属海绵中分离得到的。在萜醌类化合物生物活性研究方面, 文献报道多具有细胞毒、抗病毒、抗炎等活性, 对化合物的抗真菌活性的报道却很少。本实验采用微量稀释法, 以白色念珠菌、须癣毛癣菌和红色毛癣菌 3 种受试菌株为指示菌, 对所分离化合物进行的体外抗真菌药敏筛选实验结果表明, 化合物 2、3、5 和 9 对 3 种受试菌株表现出不同程度的抑菌活性, MIC 值范围在 12.5~25 $\mu g/ml$ 。该研究进一步丰富了 *Spongia* sp. 海绵的化学成分和生物活性多样性, 为进一步深入研究其化学成分和生物活性奠定了基础, 同时为深入开发和利用我国海洋生物资源提供了理论依据。

【参考文献】

- [1] Rueda A, Zubía E, Ortega MJ, et al. New metabolites from the sponge *Spongia agaricina* [J]. J Nat Prod, 1998, 61(2): 258-261.
- [2] Li CJ, Schmitz FJ, Kelly-Borges M. Six new spongian diterpenes from the sponge *spongia matamat* [J]. J Nat Prod, 1999, 62(2): 287-290.
- [3] Garrido L, Zubía E, Ortega MJ, et al. New furanoterpenoids from the sponge *spongia officinalis* [J]. J Nat Prod, 1997, 60(8): 794-797.
- [4] Guella G, Mancini I, Chiasera G, et al. Rogiolol acetate: A novel β -chamigrene-type sesquiterpene isolated from a marine sponge [J]. Helv Chim Acta, 1990, 73(6): 1612-1620.
- [5] Utkina NK, Denisenko VA, Scholokova OV, et al. Cyclospinospongine, a new sesquiterpenoid aminoquinone from an Australian marine sponge *spongia* sp. [J]. Tetrahedron Lett, 2003, 44(1): 101-102.
- [6] Sunassee SN, Davies-Coleman MT. Cytotoxic and antioxidant marine prenylated quinones and hydroquinones [J]. Nat Prod Rep, 2012, 29(5): 513-535.
- [7] Sladic D, Gasic MJ. Reactivity and biological activity of the marine sesquiterpene hydroquinone avarol and related compounds from sponges of the order *dictyoceratida* [J]. Molecules, 2006, 11(1): 1-33.

- [2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 关于进一步开展全国抗菌药物临床应用专项整治活动的通知[S]. 卫办医政发[2013]37号.
- [3] 张银华,刘敬伟. 发展中国家抗菌药物使用现状[J]. 中国当代医药, 2012, 19(12):13-14.
- [4] 肖永红. 我国临床抗菌药物合理应用现状与思考[J]. 中国执业药师, 2011, 8(4):4-9.
- [5] 张宏,马守江,刘振波,等. 抗菌药物滥用与细菌耐药防控研究[J]. 临床合理用药杂志, 2011, 4(14):153-155.
- [6] 郭永道,郭兆旺,姚骥如,等. 医院抗菌药物使用与细菌耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(17):3685-3687.
- [7] 张浩军,张映华,王燕,等. 1453例住院患者抗菌药物临床应用回顾性调查分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2009, 19(2):193-195.
- [8] 张天栋,武德珍,孙武. 住院患者抗菌药物临床应用2500例回顾性调查分析[J]. 中国医药, 2010, 5(1):46-47.
- [9] 沈发英. 抗菌药物不合理使用现状及对策[J]. 中国现代药物应用, 2012, 6(11):76-77.
- [10] 戴攀. 抗菌药物不合理应用现状及对策[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(15):3025.
- [11] 李连新,付燕霞. 医院临床不合理使用抗菌药物分析及干预措施[J]. 中国药业, 2012, 21(1):60-62.
- [12] 陈文瑛,叶丹,肖翔林,等. 我院1207例住院患者抗菌药物临床应用横断面调查[J]. 中国药房, 2011, 22(8):688-691.
- [收稿日期] 2016-06-21 [修回日期] 2016-11-11
[本文编辑] 李睿旻
-
- (上接第320页)
- [8] Yamakawa Y, Kato T, Ito J, et al. Identification of growth-promoting factors from various glioma cell lines and partial purification of the factor from C6 solid tumor[J]. Neurochem Int, 2014, 4(5):367-373.
- [9] Qiu Y, Wang XM. A new sesquiterpenoid hydroquinone from the marine sponge *Dysidea arenaria*[J]. Molecules, 2008, 13(6):1275-1281.
- [10] Nguyen HM, Ito T, Win NN, et al. New antibacterial sesquiterpene aminoquinones from a Vietnamese marine sponge of *Spongia* sp. [J]. Phytochem Lett, 2016, 17(3):288-292.
- [11] Kondracki ML, Guyot M. Biologically active quinone and hydroquinone sesquiterpenoids from the sponge *Smenospongia* sp. [J]. Tetrahedron, 1989, 45(7):1995-2004.
- [12] Zhang Y, Li Y, Guo YW, et al. A sesquiterpene quinone, dysidine, from the sponge *Dysidea villosa*, activates the insulin pathway through inhibition of PTPases[J]. Acta Pharmacol Sin, 2009, 30(3):333-345.
- [13] Liu H, Wang G, Namikoshi M, et al. Sesquiterpene quinones from a marine sponge *Hippospongia* sp. that inhibit maturation of starfish oocytes and induce cell cycle arrest with HepG2 cells[J]. Pharm Biol, 2006, 44(7):522-527.
- [14] Laube T, Bernet A, Dahse HM, et al. Synthesis and pharmacological activities of some sesquiterpene quinones and hydroquinones[J]. Bioorg Med Chem, 2009, 17(4):1422-1427.
- [15] Bernet A, Schröder J, Seifert K. Total synthesis of the marine sesquiterpene quinones hyatellaquinone and spongiaquinone[J]. Helv Chim Acta, 2003, 86(6):2009-2020.
- [16] Marcos IS, Conde A, Moro RF, et al. Synthesis of quinone/hydroquinone sesquiterpenes[J]. Tetrahedron, 2010, 66(42):8280-8290.
- [17] Venkateswarlu Y, Faulkner DJ, Steiner JLR, et al. Smenochromenes, unusual macrocyclic sesquiterpene hydroquinone derivatives from a Seychelles sponge of the genus *Smenospongia*[J]. J Org Chem, 1991, 56(22):6271-6274.
- [18] Kondracki ML, Guyot M. Smenospongine: acytotoxic and antimicrobial aminoquinone isolated from *smenospongia* sp. [J]. Tetrahedron Lett, 28(47):5815-5818.
- [19] Aoki S, Kong D, Matsui K, et al. Sesquiterpene aminoquinones from a marine sponge induce erythroid differentiation in human chronic myelogenous leukemia, K562 cells[J]. Chem Pharm Bull, 2004, 52(8):935-937.
- [20] Mitome H, Nagasawa T, Miyaoka H, et al. Dactyloquinones C, D and E novel sesquiterpenoid quinones from the Okinawan marine sponge, *Dactylosporgia elegans* [J]. J Nat Prod, 2002, 58(9):1693-1696.
- [21] Rodriguez J, Quinoa E, Riguera R, et al. The structures and stereochemistry of cytotoxic sesquiterpene quinones from *dactylosporgia elegans* [J]. Tetrahedron, 1992, 48(32):6667-6680.
- [22] Ibrahim SRM, Elkhayat ES, Mohamed GA, et al. Aspernolides F and G, new butyrolactones from the endophytic fungus *Aspergillus terreus*[J]. Phytochem Lett, 2015, 14(4):84-90.
- [23] Kobayashi M, Krishna MM, Ishida K, et al. Marine sterols. XXII. occurrence of 3-oxo-4,6,8(14)-triunsaturated steroids in the sponge *dysidea herbacea*[J]. Chem Pharm Bull, 1992, 40(1):72-74.
- [24] Fujimoto H, Nakamura E, Okuyama E, et al. Six immunosuppressive features from an ascomycete, *Zopfiella longicaudata*, found in a screening study monitored by immunomodulatory activity [J]. Chem Pharm Bull, 2004, 52(8):1005-1008.
- [25] Pierce CG, Uppuluri P, Tristan AR, et al. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing[J]. Nat Protoc, 2008, 3(9):1494-1500.
- [26] Espinel-Ingroff A, Fothergill A, Fuller J, et al. Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for caspofungin and *Aspergillus* spp. for the CLSI broth microdilution method (M38-A2 document) [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(6):2855-2859.
- [收稿日期] 2017-01-17 [修回日期] 2017-04-14
[本文编辑] 李睿旻