

- verse transcriptase [J]. *J Nat Prod*, 1996, 59(1): 525-527.
- [8] 刘嘉森, 黄梅芳, 高耀良. 翼梗五味子的研究 II. 翼梗五味子酯和翼梗五味子酸的结构 [J]. 化学快报, 1980, 38(4): 361-369.
- [9] 戴好富, 周俊, 彭再刚, 等. 北五味子的水溶性化学成分 [J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(1): 24-26.
- [10] 乔蕾, 袁久志, 程海燕, 等. 白土茯苓的化学成分研究 [J]. 中药材, 2007, 30(10): 1242-1244.

海洋放线菌 *Salinispora pacifica* 发酵液的化学成分研究

罗雄明^{1,2}, 漆淑华¹, 田新朋¹, 尹浩¹, 高程海¹, 张 德^{1*}

(1. 中国科学院南海海洋研究所 广东省海洋药物重点实验室, 广东 广州 510301; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:目的 对海洋放线菌 *Salinispora pacifica* 发酵液的醋酸乙酯萃取部分进行化学成分的研究。方法 采用多种常压柱色谱和高效液相色谱分离技术, 运用理化和波谱分析方法, 对海洋放线菌 *S. pacifica* 发酵液中的化学成分进行分离鉴定。结果 从该菌中分离得到 12 个化合物, 包括 8 个生物碱和 4 个苯环族类。分别鉴定为 *N*-乙酰色胺(I)、3-醛基吲哚生物碱(II)、3-醛基-5-羟基吲哚生物碱(III)、胸腺嘧啶(IV)、甲基酪胺(V)、4-羟基-*N*-甲基苯甲酰胺(VI)、3-羟基苯乙酰胺(VII)、苯乙酰胺(VIII)、对羟基桂皮酸(IX)、苯甲酸(X)、对羟基苯甲酸(XI)和对羟基苯甲醛(XII)。结论 化合物 I~XII 均为首次从本属菌中分离得到。

关键词:海洋放线菌; 生物碱

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)11-1710-03

近年来的研究表明, 海洋放线菌是活性代谢产物的重要源泉之一^[1,2]。海洋放线菌以其代谢途径多样、代谢产物丰富、代谢产物生物活性强等特点受到人们越来越广泛的关注。从海洋中, 科研人员发现了许多新的放线菌种属, 许多具有强生理活性的新颖结构被分离得到, 例如 *Salinispora* 属放线菌中就得到了 sporolide A 与 sporolide B^[3], cyanosporaside A 与 cyanosporaside B^[4], saliniketol A 与 saliniketol B^[5] 等化合物, 其中已经进入临床研究阶段的有 salinosporamide A^[6]。

海洋放线菌有可能像陆生放线菌一样, 成为医药工业的重要资源。本实验对海洋放线菌 *Salinispora pacifica* 发酵液的醋酸乙酯萃取部位进行了化学成分的研究, 从中共分离得到 12 个化合物, 利用理化反应, ¹H-NMR、¹³C-NMR 和文献对照等手段, 将这些化合物的结构分别鉴定为 *N*-乙酰色胺(*N*-acetyltryptamine, I)、3-醛基吲哚生物碱(3-formyl-lindole, II)、3-醛基-5-羟基吲哚生物碱(3-formyl-5-hydroxyindole, III)、胸腺嘧啶(thymine, IV)、甲基酪胺(*N*-methyltyramine, V)、4-羟基-*N*-甲基苯甲酰胺(4-hydroxy-*N*-methylbenzamide, VI)、3-羟基苯乙酰胺(3-hydroxybenzamide, VII)、苯

乙酰胺(benzeneacetamide, VIII)、对羟基桂皮酸(naringenic acid, IX)、苯甲酸(benzoic acid, X)、对羟基苯甲酸(4-hydroxybenzoic acid, XI)和对羟基苯甲醛(4-hydroxybenzaldehyde, XII)等。

1 仪器与材料

核磁共振波谱仪为 Bruker Avance 500 MHz 型, TMS 为内标; 高效液相色谱仪为半制备型 Waters 600(250 mm×10 mm, 5 μm, YMC); Sephadex LH-20(瑞士 Pharmacia 公司); 硅胶(200~300 目, 青岛海洋化工厂)。高效液相用试剂为色谱纯, 其他所用试剂为分析纯。液质联用色谱仪为 API2000 LC/MS/MS(美国应用生物系统公司)。

海洋放线菌 *Salinispora pacifica* 分离自 2006 年 9 月采集的南海北部(116°19.945'E, 20°36.012'N), 水深 657 米的灰色沙沉积环境。其 16Sr RNA 基础序列与 2005 年发表的海洋放线菌 *S. pacifica* 相比较, 相似性达到 99% 以上, 系统分析其与 *S. pacifica* 有最近亲缘关系。故该菌由本所田新朋助理研究员鉴定为 *S. pacifica* 的一个菌株 SCSIO 00013。

2 提取与分离

海洋放线菌 SCSIO 00013 发酵液共 40 L, 每个

收稿日期: 2009-03-16

基金项目: 国家重大基础研究项目(2005CCA04800); 国家高新技术研究与发展项目(SQ2007AA09Z435255); 中国科学院知识创新项目(KZCX2-YW-216)

作者简介: 罗雄明(1980—), 男, 中国科学院南海海洋研究所博士生。E-mail: luoxm163@sina.com

* 通讯作者 张 德 E-mail: zhsimd@scsio.ac.cn

摇瓶加入等量醋酸乙酯,放入摇床振荡,4 h后取出,静置1 d。发酵液分层后,倒出上清液。用等体积的醋酸乙酯反复萃取3次,得浸膏3 g。用甲醇溶解样品,拌样,经硅胶柱色谱(硅胶60 g)分离,氯仿-甲醇(1:0~0:1)梯度洗脱,获得Fr. 1~25。采用高压液相色谱对4个合并组分Fr. 5~7, 10~13, 14~17, 19~22进行分离得到化合物I~XII。

3 结构鉴定

化合物I: $C_{12}H_{14}N_2O$, 浅褐色油状物。ESI-MS m/z : 427 $[2M + Na]^+$ (17), 225 $[M + Na]^+$ (82), 203 $[M + H]^+$ (100)。 1H -NMR (500 MHz, MeOD) δ : 1.93 (3H, s), 2.95 (2H, t, $J = 7.3$ Hz), 3.48 (2H, t, $J = 7.3$ Hz), 7.02 (1H, ddd, $J = 7.9$, 7.1, 0.8 Hz), 7.08 (1H, s), 7.10 (1H, d, $J = 7.1$ Hz), 7.34 (1H, dd, $J = 7.1$, 1.0 Hz), 7.57 (1H, d, $J = 7.9$ Hz)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD) δ : 22.7, 26.3, 41.6, 112.2, 113.3, 119.3, 119.6, 122.3, 123.4, 128.9, 138.2, 173.3。以上波谱数据与文献对照基本一致^[7],故鉴定化合物I为N-乙酰胺。

化合物II: C_9H_7NO , 白色针状晶体。ESI-MS m/z : 168 $[M + Na]^+$ (100), 146 $[M + H]^+$ (65)。 1H -NMR (500 MHz, MeOD) δ : 7.26 (1H, ddd, $J = 8.0$, 7.8, 1.0 Hz), 7.30 (1H, ddd, $J = 8.0$, 7.8, 1.0 Hz), 7.50 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 8.11 (1H, s), 8.18 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 9.91 (1H, s)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD) δ : 113.2, 120.2, 122.4, 122.4, 123.7, 125.8, 139.0, 139.7, 187.5。以上波谱数据与文献对照基本一致^[8,9],故鉴定化合物II为3-醛基吲哚生物碱。

化合物III: $C_9H_7NO_2$, 黄色粉末。ESI-MS m/z : 345 $[2M + Na]^+$ (23), 184 $[M + Na]^+$ (78), 162 $[M + H]^+$ (100)。 1H -NMR (500 MHz, MeOD) δ : 7.25 (1H, dd, $J = 8.4$, 1.8 Hz), 7.52 (1H, d, $J = 1.5$ Hz), 8.14 (1H, d, $J = 9.2$ Hz), 8.15 (1H, s), 9.92 (1H, s)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD) δ : 113.2, 123.2, 123.5, 124.1, 125.1, 140.2, 140.2, 161.5, 187.4。以上波谱数据与文献对照基本一致^[10],故鉴定化合物III为3-醛基-5-羟基吲哚生物碱。

化合物IV: $C_5H_6N_2O_2$, 无色油状物。ESI-MS m/z : 149 $[M + Na]^+$ (100), 127 $[M + H]^+$ (61)。 1H -NMR (500 MHz, DMSO) δ : 1.72 (3H, s), 7.24 (1H, s), 10.58 (1H, s), 10.98 (1H, s)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO) δ : 11.7, 107.6, 137.6, 151.4,

164.8。以上波谱数据与文献对照基本一致^[11],故鉴定化合物IV为胸腺嘧啶。

化合物V: $C_9H_{13}NO$, 褐色油状物。ESI-MS m/z : 152 $[M + H]^+$ (100)。 1H -NMR (500 MHz, MeOD) δ : 1.92 (3H, s), 2.70 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 3.35 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 6.72 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.04 (2H, d, $J = 8.5$ Hz)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD) δ : 22.6, 35.7, 42.5, 116.3, 116.3, 130.7, 130.7, 131.3, 163.5。以上波谱数据与文献对照基本一致^[12,13],故鉴定化合物V为甲基酰胺。

化合物VI: $C_8H_9NO_2$, 棕褐色油状物。ESI-MS m/z : 174 $[M + Na]^+$ (100), 152 $[M + H]^+$ (25)。 1H -NMR (500 MHz, MeOD) δ : 2.18 (3H, s), 6.83 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.89 (2H, d, $J = 8.7$ Hz)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD) δ : 30.7, 38.8, 42.1, 116.1, 116.1, 123.2, 133.0, 133.0, 163.3。以上波谱数据与文献对照基本一致^[14],故鉴定化合物VI为4-羟基-N-甲基苯甲酰胺。

化合物VII: $C_7H_7NO_2$, 黄色粉末。ESI-MS m/z : 160 $[M + Na]^+$ (22), 138 $[M + H]^+$ (100)。 1H -NMR (500 MHz, MeOD) δ : 7.01 (1H, dd, $J = 8.0$, 2.0 Hz), 7.28 (1H, t, $J = 8.0$ Hz), 7.44 (1H, s), 7.50 (1H, dd, $J = 8.0$, 2.0 Hz)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD) δ : 115.9, 119.6, 120.5, 129.0, 132.1, 157.3, 168.8。以上波谱数据与文献对照基本一致^[15],故鉴定化合物VII为3-羟基苯乙酰胺。

化合物VIII: C_8H_9NO , 褐色晶体。ESI-MS m/z : 293 $[2M + Na]^+$ (15), 158 $[M + Na]^+$ (100), 136 $[M + H]^+$ (46)。 1H -NMR (500 MHz, MeOD) δ : 3.61 (2H, s), 7.22~7.34 (5H, m)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD) δ : 42.2, 127.9, 129.6, 129.6, 130.4, 130.4, 155.5, 175.8。以上波谱数据与文献对照基本一致^[16],故鉴定化合物VIII为苯乙酰胺。

化合物IX: $C_9H_8O_3$, 棕褐色油状物。ESI-MS m/z : 165 $[M + H]^+$ (100)。 1H -NMR (500 MHz, MeOD) δ : 6.31 (1H, d, $J = 15.8$ Hz), 6.82 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.46 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.61 (1H, d, $J = 15.8$ Hz)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOD) δ : 116.1, 116.8, 116.8, 127.4, 131.1, 131.1, 146.4, 161.1, 171.6。以上波谱数据与文献对照基本一致^[17,18],故鉴定化合物IX为对羟基桂皮酸。

化合物X: $C_7H_6O_2$, 棕褐色油状物。ESI-MS m/z : 145 $[M + Na]^+$ (77), 123 $[M + H]^+$ (100)。 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.49 (2H, t, $J =$

7.5 Hz), 7.63 (1H, t, $J=7.5$ Hz), 8.15 (2H, d, $J=7.5$ Hz), 11.57 (1H, s)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 128.7, 128.7, 129.6, 129.6, 130.5, 134.1, 172.3。以上波谱数据与文献对照基本一致^[19], 故鉴定化合物X为苯甲酸。

化合物XI: $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$, 黄色晶体。ESI-MS m/z : 299 $[\text{2M} + \text{Na}]^+$ (22), 161 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (100), 139 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (75)。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD) δ : 6.84 (2H, d, $J=8.5$ Hz), 7.90 (2H, d, $J=8.5$ Hz)。以上波谱数据与文献对照基本一致^[20], 故鉴定化合物XI为对羟基苯甲酸。

化合物XII: $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$, 无色晶体。ESI-MS m/z : 145 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (100), 123 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (45)。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOD) δ : 6.94 (2H, d, $J=8.7$ Hz), 7.80 (2H, d, $J=8.7$ Hz), 9.79 (1H, s)。以上波谱数据与文献对照基本一致^[21], 故鉴定化合物XII为对羟基苯甲醛。

参考文献:

- [1] Kin S L. Discovery of novel metabolites from marine actinomycete [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2006, 9: 245-251.
- [2] Blunt J W, Copp B R, Munro M H G, et al. Marine natural products [J]. *Nat Prod Rep*, 2005, 22(1): 15-61.
- [3] Buchanan G O, Williams P G, Feling R H, et al. Sporolides A and B: structurally unprecedented halogenated macrolides from the marine actinomycete *Salinispora tropica* [J]. *Org Lett*, 2005, 7(13): 2731-2734.
- [4] Oh D C, Williams P G, Kauffman C A, et al. Cyanosporasides A and B, chloro- and cyano-cyclopenta [α] indene glycosides from the marine actinomycete *Salinispora pacifica* [J]. *Org Lett*, 2006, 8(6): 1021-1024.
- [5] Williams P G, Ratnakar N A, Tamara K, et al. Saliniketals A and B, bicyclic polyketides from the marine actinomycete *Salinispora arenicola* [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(1): 83-88.
- [6] Feling R H, Buchanan G O, Mincer T J, et al. Salinosporamide A: a highly cytotoxic proteasome inhibitor from a novel microbial source, a marine bacterium of the new genus *Salinispora* [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2003, 42: 355-357.
- [7] Maeda U, Hara N, Fujimoto Y, et al. N-fatty acyl tryptamines from *Annona reticulata* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34: 1633-1635.
- [8] Chowdhury B K, Chakraborty D P. 3-formylindole from *Murraya exotica* [J]. *Phytochemistry*, 1971, 10: 481-483.
- [9] Wu T S, Liou M J, Jong T T, et al. Indole alkaloids and coumarins from the root bark of *Murraya paniculata* var. *omphalocarpa* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28: 2873-2874.
- [10] Kobayashi J, Murayama T, Ishibashi M, et al. Hyrtiosins A and B, new indole alkaloids from the Okinawan marine sponge *Hyrtios erecta* [J]. *Tetrahedron*, 1990, 46: 7699-7702.
- [11] 石 瑛, 田 黎, 裴月潮, 等. 海洋放线菌 *Micromonospora* sp. 与细菌 *Oceanospirillum* sp. 发酵液中化学成分的研究 [J]. 中国海洋药物杂志, 2006, 25(1): 6-10.
- [12] West L G, Vanderveen R L, McLaughlin J L. β -phenethylamines from the genus *Gymnocactus* [J]. *Phytochemistry*, 1974, 13: 665-666.
- [13] Vanderveen R L, West L G, McLaughlin J L. N-methyltyramine from *Opuntia clavata* [J]. *Phytochemistry*, 1974, 13: 866-867.
- [14] Kashino S, Tateno S, Tanabe H, et al. Structures of O-aminobenzamide and p-hydroxybenzamide monohydrate [J]. *Acta Cryst C*, 1991, 47: 2236-2239.
- [15] *Aldrich Library of $^{13}\text{C-NMR}$ and $^1\text{H-NMR}$ Spectra* [S]., 1992.
- [16] Strauss C R, Trainor R W. Improved synthesis of phenylacetamides by the wiugeroth reaction with microwave heating [J]. *Org Prep Proced Int*, 1995, 27: 552.
- [17] 文 洁, 周法兴. 潺槁树的化学成分研究 [J]. 中药材, 1997, 20(4): 191.
- [18] Wang Q, Qiu Y, He S P, et al. Chemical constituents of the fruit of *Licium barbarum* L [J]. *J Chin Pharm Sci*, 1998, 7(4): 218-220.
- [19] 王玉波, 黄 荣, 林 峰, 等. 红芽大戟的化学成分研究 [J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2004, 26(3): 254-255.
- [20] 吴冬凡, 房志坚. 金钮扣根化学成分研究 [J]. 广东药学院学报, 2008, 24(2): 139-140.
- [21] Zapata O, McMillan C. Phenolic acids in *Seagrasses* [J]. *Aquatic Botany*, 1979, 7: 307-317.

卷柏调血脂活性部位化学成分研究

郑晓珂¹, 赵献敏¹, 冯卫生^{2*}, 王彦志², 郭永慧²

(1. 河南中医学院基础医学院, 河南 郑州 450008; 2. 河南中医学院药学院, 河南 郑州 450008)

摘 要:目的 对卷柏属植物卷柏 *Selaginella tamariscina* 调血脂有效成分进行分离和鉴定。方法 利用 Diaion HP-20、Toyopearl HW-40、硅胶柱等柱色谱技术进行分离纯化。根据化合物的理化性质和光谱数据鉴定结构。结果 聚酰胺柱 80%乙醇部位分离得到 12 个化合物, 目前鉴定出 10 个, 分别为罗汉松双黄酮 A (I)、2,3-去氢阿曼托双黄酮 (II)、槲皮素 (III)、阿曼托双黄酮 (IV)、 β -谷甾醇 (V)、十六烷酸 (VI)、扁柏双黄酮 (VII)、新柳杉双黄酮 (VIII)、芹菜素 (IX)、木犀草素 (X)。结论 化合物 I~III、X 为首次从该种植物中分离得到。

收稿日期: 2009-03-16

基金项目: 河南省重大公益性科研计划项目 (08110091800); 河南省高校新世纪优秀人才支持计划 (2006HANCET-08)

* 通讯作者 冯卫生 Tel: (0371) 65575963 Fax: (0371) 65680011 E-mail: fwsh@hactcm.edu.cn