

化合物 13: 黄色粉末, 分子式为 $C_9H_8N_2O_3$ 。ESI-MS m/z : 193.0 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.88 (1H, d, $J=9.5$ Hz, H-8), 7.12 (1H, s, H-5), 6.79 (1H, s, H-2), 6.23 (1H, d, $J=9.5$ Hz, H-7), 3.93 (3H, s, 3-OCH₃)。以上波谱数据与文献对比基本一致^[20], 故化合物 13 鉴定为 xylogranatinin。

参考文献:

- [1] 中国科学院《中国植物志》编委会. 中国植物志 [M]. 第43卷(3). 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] Wu J, Xiao Q, Xu J, et al. Natural products from true Mangrove Flora: source, chemistry and bioactivities [J]. Nat Prod Rep, 2008, 25: 955-981.
- [3] Li M Y, Xiao Q, Pan J Y, et al. Natural products from semi-mangrove flora: source, chemistry and bioactivities [J]. Nat Prod Rep, 2009, 26: 281-298.
- [4] 沈立茹, 郭 栋, 尹宝伟, 等. 红树林植物木果楝化学成分的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(8): 1201-1204.
- [5] 霍长虹, 郭 栋, 沈立茹, 等. 木果楝种子中一个新柠檬苦素类化合物 [J]. 中草药, 2010, 41(2): 176-178.
- [6] Wu J, Zhang S, Bruhn T, et al. Xylogranatins F-R: Antifeedants from the Chinese mangrove, *Xylocarpus granatum*, a new biogenetic pathway to tetranortriterpenoids [J]. Chem Eur J, 2008, 14: 1129-1144.
- [7] Gan L S, Wang X N, Wu Y, et al. Tetranortriterpenoids from *Cipadessa baccifera* [J]. J Nat Prod, 2007, 70: 1344-1347.
- [8] Kadota S, Marpaung L, Kikuchi T, et al. Constituents of the seeds of *Swietenia mahagoni* JACQ. II. Structures of swietemahonin A, B, C, D, E, F, G, and swietemahonolide [J]. Chem Pharm Bull, 1990, 38(4): 894-901.
- [9] Rao M M, Krishna E M S, Gupta P S, et al. A new tetranortriterpenoid isolated from the heartwood of *Soyimida febrifuga* [J]. Indian J Chem, 1978, 16: 823-825.
- [10] Kadota S, Marpaung L, Kikuchi T, et al. Constituents of the seeds of *Swietenia mahagoni* JACQ. Isolation, structures, and 1H -NMR and ^{13}C -NMR nuclear magnetic resonance signal assignments of new tetranortriterpenoids related to swietenine and swietenolide [J]. Chem Pharm Bull, 1990, 38(3): 639-651.
- [11] Leite A C, Fernandes J B, Silva M F. Limonoids from *Cipadessa fruticosa* [J]. Z Naturforsch, 2005, 60b: 351-355.
- [12] Uddin S J, Nahar L, Shilpi J A, et al. Gedunin, a limonoid from *Xylocarpus granatum*, inhibits the growth of CaCo-2 Colon cancer cell line in vitro [J]. Phytother Res, 2007, 21(8): 757-761.
- [13] Fonseca S F, Campello J D P, Barata L E S, et al. ^{13}C -NMR Spectral analysis of lignans from *Araucaria angustifolia* [J]. Phytochemistry, 1978, 17: 499-502.
- [14] Kikuzaki H, Kayano S I, Fukutsuka N, et al. Absciscic acid related compounds and lignans in prunes (*Prunus domestica* L.) and their oxygen radical absorbance capacity (ORAC) [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52: 344-349.
- [15] Powell R G, Weisleder D, Smith C R. Drummondones A and B: unique absciscic acid catabolites incorporating a bicyclo [2.2.2] octane ring system [J]. J Org Chem, 1986, 51: 1074-1076.
- [16] Han X H, Hong S S, Hwang J S, et al. Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica* [J]. Arch Pharm Res, 2007, 30(1): 13-17.
- [17] Satake T, Murakami T, Saiki K, et al. Chemische untersuchungen der inhaltsstoffe von *Lindsaea chienii* Ching [J]. Chem Pharm Bull, 1980, 28(6): 1859-1863.
- [18] 李药兰, 戴 杰, 黄伟欢, 等. 黄花倒水莲化学成分及其抗病毒活性 [J]. 中草药, 2009, 40(3): 345-348.
- [19] 柳建军, 刘锡葵. 黄连木食用部位化学成分的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 186-189.
- [20] Zhou Y, Wu J, Zou K. Xylogranatinin, a new pyrido [1, 2- α] pyrazine alkaloid from the fruit of a Chinese mangrove *Xylocarpus granatum* [J]. Chem Nat Compd, 2007, 43(4): 944-945.

刺柳珊瑚 *Echinogorgia* sp. 中的三个神经酰胺

廖 柳, 王 楠, 梁 秋, 廖小建, 徐石海

(暨南大学 化学系, 广东 广州 510632)

摘要:目的 从刺柳珊瑚中寻找新化合物。方法 取自南中国海域的刺柳珊瑚 *Echinogorgia* sp. 经色谱柱分离得到3个同系列的神经酰胺。结果 通过波谱分析及化学转化等方法确定了其化学结构分别为(2*S*, 3*S*, 4*R*)-2-*N*-(1, 3, 4-三羟基-正二十烷基)-正十六碳酰胺(1)、(2*S*, 3*S*, 4*R*)-2-*N*-(1, 3, 4-三羟基-正二十烷基)-正十七碳酰胺(2)和(2*S*, 3*S*, 4*R*)-2-*N*-(1, 3, 4-三羟基-正二十烷基)-正十八碳酰胺(3)。结论 3个化合物均是首次从该物种中分离得到, 其中化合物2是新化合物, 命名为刺柳珊瑚酰胺(echinogoriamide)。

关键词:刺柳珊瑚 *Echinogorgia* sp.; 神经酰胺

中图分类号: R284.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)06-0851-04

收稿日期: 2010-01-21

基金项目: 国家“863”基金资助项目(2006AA09Z408); 国家自然科学基金资助项目(20772048)

*通讯作者 徐石海 Tel: (020)85228856 E-mail: txush@nu.edu.cn

Three ceramides from gorgonian *Echinogorgia* sp.

LIAO Liu, WANG Nan, LIANG Qiu, LIAO Xiao-jian, XU Shi-hai

(Department of Chemistry, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract : Objective To find new compound from gorgonian. **Methods** Three ceramides have been isolated from the South China Sea gorgonian *Echinogorgia* sp. by silica gel column chromatography. **Results** Their structures were established as (2*S*, 3*S*, 4*R*)-*N*-[2-(1, 3, 4-trihydroxyicosan-2-yl)]-hexadecanamide (1), (2*S*, 3*S*, 4*R*)-*N*-[2-(1, 3, 4-trihydroxyicosan-2-yl)]-heptadecanamide (2), and (2*S*, 3*S*, 4*R*)-*N*-[2-(1, 3, 4-trihydroxyicosan-2-yl)]-octadecanamide (3) by spectroscopic methods and chemical conversion. **Conclusion** It is the first time to report the three chemical compounds from coral *Echinogorgia* sp. and compound 2 is a new compound.

Key words : gorgonian; *Echinogorgia* sp.; ceramide

柳珊瑚的化学研究始于 20 世纪 60 年代,已从柳珊瑚中发现了许多结构新颖且具生物活性的化合物,尤其是具有重要生理活性的前列腺素的发现,使得柳珊瑚化学成分的研究成为海洋天然产物研究的一个热门领域。*Echinogorgia* sp. 属金网珊瑚科柳珊瑚目柳珊瑚属动物,其化学成分的研究始于 20 世纪 80 年代初,文献表明目前主要分离得到 xanthyletin 和 xanthoxyletin 等化合物^[1]。本实验首次报道从采自南海湛江硇洲岛刺柳珊瑚 *Echinogorgia* sp. 样品中分离鉴定的 3 个同系列神经酰胺:(2*S*, 3*S*, 4*R*)-2-*N*-(1, 3, 4-三羟基-正二十烷基)-正十六碳酰胺(1)、(2*S*, 3*S*, 4*R*)-2-*N*-(1, 3, 4-三羟基-正二十烷基)-正十七碳酰胺(2)和(2*S*, 3*S*, 4*R*)-2-*N*-(1, 3, 4-三羟基-正二十烷基)-正十八碳酰胺(3),其中化合物 2 为一新化合物,命名为刺柳珊瑚酰胺(echinogoriamide)。

1 材料

样品刺柳珊瑚 *Echinogorgia* sp. 2007 年 5 月采集于中国湛江硇洲岛,标本现保存于暨南大学化学系有机化学教研室,编号为 2007-09,种属由荷兰阿姆斯特丹大学 Rob van Soest 教授鉴定。5-X 国产显微熔点测定仪(上海精密科学仪器有限公司),温度计未校正;上海精密科学仪器有限公司 FA 2104 型电子天平;美国 FINNIGAN 公司 Trace GC-MS 气质联用仪;VG 公司产 ZAB 质谱仪;德国 BRUKER 公司 DRX-400 超导核磁共振仪;色谱用硅胶:薄层色谱用硅胶 G(60 型),柱色谱用硅胶(45~75 μm,青岛海洋化工厂)。实验所用试剂均为分析纯(广州化学试剂厂)。

2 提取与分离

将湿质量 30 kg 的样品粉碎后,用乙醇浸提 30 d × 3,再用三氯甲烷-甲醇浸提 15 d × 2,合并酯

相部分后减压浓缩得到深褐色膏状固体,依次用醋酸乙酯和正丁醇萃取,真空浓缩得到醋酸乙酯部分 152 g 和正丁醇部分 45 g。将醋酸乙酯部分用 100~200 目硅胶进行快速柱色谱,先用逐渐增加极性的醋酸乙酯-石油醚(0%~100%)进行梯度洗脱,再用逐渐增加极性的甲醇-醋酸乙酯(0%~100%)体系进行梯度洗脱,最后用水-甲醇(0%~50%)冲洗柱子。从 10%甲醇-醋酸乙酯洗脱下一晶状固体 A,多次重结晶后得到针状晶体 A(56 mg,产率 0.037%),该晶体经 TLC 多种体系跟踪为一个圆点,经 ES-MS 分析晶体 A 为 3 个同系列化合物的混合物(化合物 1~3)。

3 盐酸-甲醇水解反应

取固体 A 10 mg,溶于 50 mL 甲醇,加入 160 mL 1 mol/L 的盐酸,在磁力搅拌下于 85℃ 加热回流 12 h。加入 100 mL 水,用正己烷萃取(180 mL × 2)。甲醇-水相减压蒸干,重溶于甲醇,再浓缩至干,共 3 次,以除尽残存的 HCl,得长链碱盐(LCB)5 mg。正己烷相浓缩后,经 LH-20 凝胶滤过(CH₂Cl₂-甲醇,1:1)得到 FAM 2.5 mg。用 GC-MS 分析 FAM 的组成:进样量 0.5 μL;载气(流量):He(1.0 mL/min);分流比:15:1;MS 检测器:EI 电离源,电离电压 70 eV,源温 200℃。

4 结构鉴定

化合物 1~3:固体 A 为无色针晶,mp 129~130℃。

4.1 官能团的确定:IR 谱中在 1 621, 1 548, 1 467 cm⁻¹ 的吸收峰表明分子中含有酰胺基团,¹H-NMR 谱中处于低场的一个质子信号 δ 8.52 和 ¹³C-NMR 谱中 δ 173.4 的羰基碳信号表明分子中含有仲酰胺结构 CONH, IR 谱中还显示存在羟基的吸收峰 3 340, 1 066 cm⁻¹。¹³C-NMR 谱显示含有 3 个连氧

碳信号 δ 76.7(d), 73.1(d) 和 62.2(t)。 $^1\text{H-NMR}$ 谱中 δ 4.98, 4.48~4.50, 4.38~4.41 和 4.27~4.30 处显示出含有 4 个偕羟基质子信号, 通过重水交换实验, 发现 δ 4.29, 4.38 和 4.47 处有 3 个可交换的质子信号, 说明分子中应含有 2 个 $>\text{CH}-\text{OH}$ 和 1 个 CH_2-OH ; $^1\text{H-NMR}$ 显示长链烷烃类化合物的特征, 2 个末端甲基 (δ 0.85, 6H), 一组高场亚甲基 (1.23~1.31, brs) 信号和 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中 δ 29.6~30.3 处的强信号提示分子的结构中含有 2 个长链烷基 (未见 CH 的信号, 所以 2 个甲基只能是两条长链烷基的末端甲基)。

4.2 分子式的确定: 用薄层色谱不同溶剂体系鉴定固体 A 均为一个点, 而 ESI-MS 中的 m/z 584, 598, 612 3 个强 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 峰 (图 1), 彼此之间相差 14, 则说明固体 A 是一个同系列 3 个化合物的混合物, 彼此之间只相差一个 CH_2 , 3 个化合物的相对分子质量为 583, 597 和 611, 结合 DEPT, 确定分子式分别为 $\text{C}_{36}\text{H}_{73}\text{NO}_4$ 、 $\text{C}_{37}\text{H}_{75}\text{NO}_4$ 和 $\text{C}_{38}\text{H}_{77}\text{NO}_4$ 。

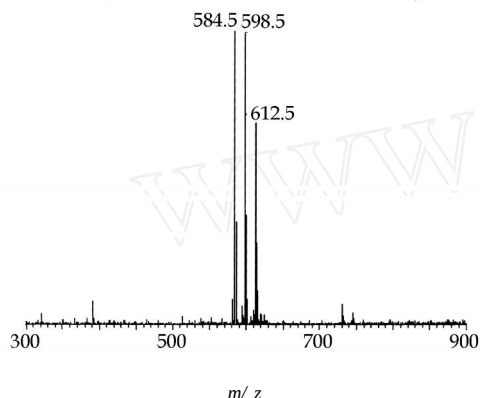


图 1 固体 A 的 ESI-MS 色谱图

Fig 1 ESI-MS of solid A

4.3 化学结构的确定: 上述官能团的分析表明, 分子中有一个 CONH, 2 条长碳链, 2 个羟基, 与神经酰胺类化合物波谱数据极其相似^[2]。 $^1\text{H-NMR}$ 谱中 δ 5.07~5.12 处和 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中 δ 53.8 处的信号表明存在一个与酰胺中 N 相连的 $>\text{CH}$, 因此, 可推测该化合物为神经酰胺类化合物, 且分子中含有 3 个羟基。分子中 H—H 相互关系及 C—H 相互关系则通过二维核磁共振谱 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY、 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ -COSY 和 HMBC 加以联系, 见表 1 和图 2。对混合物盐酸-甲醇解后得到的脂肪酸甲酯 (FAM) 进行 GC-MS 分析。FAM 部分的 GC-MS 的总离子流图只显示 3 组主峰为固体 A 水解得到的相应化合物, 其余均为杂质, 见图 3。根据 3 个组分的质谱裂解推导相应化合物的结构。它们的 ESI-MS 分别

显示分子离子峰 m/z : 256 $[\text{M}]^+$, 270 $[\text{M}]^+$, 284 $[\text{M}]^+$, 表明了相对分子质量为 256, 270, 284。GC-MS 给出的结构分别为正十六碳酸甲酯、正十七碳酸甲酯和正十八碳酸甲酯。因此确定晶体 A 3 个同系列化合物 1~3 的结构分别为 (2S, 3S, 4R)-2-N-(1, 3, 4-三羟基-正二十烷基)-正十六碳酰胺 (1)、(2S, 3S, 4R)-2-N-(1, 3, 4-三羟基-正二十烷基)-正十七碳酰胺 (2) 和 (2S, 3S, 4R)-2-N-(1, 3, 4-三羟基-正二十烷基)-正十八碳酰胺 (3)。结构见图 4。

晶体 A 中的 H-1, H-2, H-3 和 H-4 的化学位移和偶合常数与已知化合物 (2S, 3S, 4R)-2-N-(十六烷基)-鞘氨醇^[3] 相同, 并且晶体 A 的旋光值 ($[\alpha]_D^{26} + 14.11$) 也与其基本一致, 结合 NOESY 分析最终确定其立体构型为 2S, 3S, 4R, 所以 3 个化合物的立体结构为 (2S, 3S, 4R)-2-N-(1, 3, 4-三羟基-正二十烷基)-正十六碳酰胺 (1)、(2S, 3S, 4R)-2-N-(1, 3, 4-三羟基-正二十烷基)-正十七碳酰胺 (2) 和 (2S, 3S, 4R)-2-N-(1, 3, 4-三羟基-正二十烷基)-正十八碳酰胺 (3)。

表 1 固体 A 的 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz)、 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz)、COSY 和 HMBC NMR 数据

Table 1 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz), $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz), COSY, and HMBC NMR spectroscopic data of solid A

No.	δ_{C}	δ_{H}	COSY(H-H)	HMBC(H-C)
1	62.2	4.48~4.50	2	2, 3
2	53.8	5.07~5.12	1	3
3	76.7	4.38~4.41	2, 4	4
4	73.1	4.27~4.30	3, 5	5, 6
5	34.0	1.94~1.96	4, 6	6, n ₁
6	30.0	1.65, 2.23		
(CH ₂) ₁₁	30.0	1.24		
1'	32.1	1.24		
2'	26.7	1.24		
3'	14.3	0.83~0.87		
(CH ₂) _n	30.0	1.24		
1''	173.4			
2''	36.9	2.44~2.48	3''	3''
3''	26.4	1.80~1.85	2'', 4''	4''
4''	30.0	1.33~1.37	3''	
1'''	32.1	1.24		
2'''	23.0	1.24		
3'''	14.3	0.83~0.87		
NH		8.52	2	1''

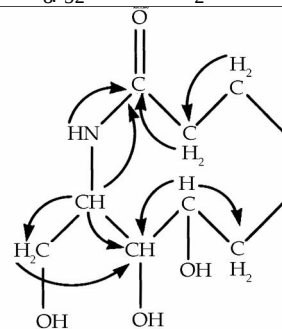


图 2 化合物 1~3 部分远程碳氢相关关系

Fig 2 HMBC Correlations of compounds 1-3

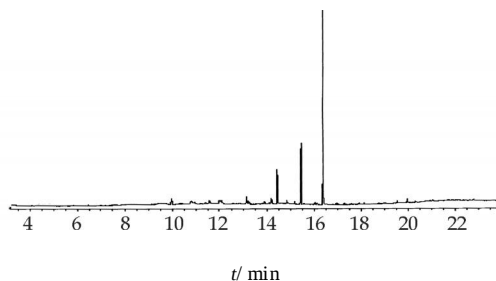
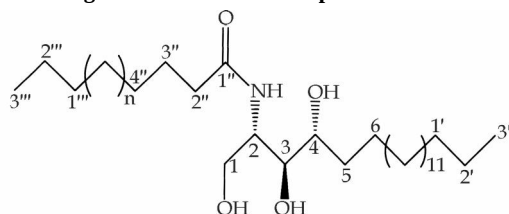


图3 固体A的FAM部分GC-MS色谱图

Fig 3 GC-MS for FAM part of solid A



1 n=9 2 n=10 3 n=11

图4 化合物1~3的结构

Fig 4 Structure of compounds 1 - 3

基-正二十烷基)-正十六碳酰胺(1)、(2S,3S,4R)-2-N-(1,3,4-三羟基-正二十烷基)-正十七碳酰胺(2)和(2S,3S,4R)-2-N-(1,3,4-三羟基-正二十烷基)-正十八碳酰胺(3),其中化合物2未见文献报道(通过CA检索未见化合物1和3的核磁数据报道所以只能是和类似的神经酰胺进行比较)。另外通过二维NMR分析,加之与文献数据^[2]C-2和C-2'的碳

谱数据,之所以有差异应该和链长有关。

5 物理常数与波谱数据

化合物1~3: $C_{36}H_{73}NO_4$ (1), $C_{37}H_{75}NO_4$ (2), $C_{38}H_{77}NO_4$ (3), 无色针晶, mp 129~130 (C_5H_5N); 1H -NMR (C_5D_5N /TMS) δ : 8.52 (1H, brd), 5.07~5.12 (1H, m), 4.48~4.50 (2H, dd), 4.38~4.41 (1H, t), 4.27~4.30 (1H, t), 4.49 (1H, brs, H-1), 2.44~2.48 (2H, t), 1.94~1.96 (2H, m), 1.24 (52H), 0.83~0.87 (6H, t)。 ^{13}C -NMR (C_5D_5N /TMS) δ : 173.4 (s), 76.7 (d), 73.1 (d), 62.2 (t), 53.8 (d), 36.9 (t), 34.0 (t), 32.1 (t), 30.0 (nt), 26.7 (t), 26.4 (t), 23.0 (t), 14.3 (q)。 IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 3340, 3219, 2850, 1621, 1548, 1467, 1131, 1066, 1023, 721 cm^{-1} 。 ESI-MS m/z : 584 $[M+H]^+$ (1); 598 $[M+H]^+$ (2); 612 $[M+H]^+$ (3)。

参考文献:

- [1] Tillekeratne L M V, De Silva E D, Mahindaratne M P D, et al. Xanthyletin and xanthoxyletin from a gorgonian, *Echinogorgia* sp. [J]. *J Nat Prod*, 1989, 52(6): 1303-1304.
- [2] Safwat A A, Sherief I K, Mark T H. Antiepileptic ceramides from the red sea sponge *Negombata corticata* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(4): 513-515.
- [3] Gao J M, Dong Z J, Liu J K. A new ceramide from the basidiomycetes *Armillaria mellea* [J]. *Chin Chem Lett*, 2001, 12(2): 139.

四逆散冻干粉化学成分变化的研究

李越峰¹, 严兴科¹, 李廷利², 黄玉新²

(甘肃中医学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:目的 采用RP-HPLC法分析四逆散冻干粉的化学成分变化,为其工艺控制和配伍规律提供可靠依据。方法 采用高效液相色谱法,色谱条件:Kromasil C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm),体积流量1.0 mL/min,柱温28,流动相A为乙腈;B为磷酸水(pH=3),在检测波长为210 nm和240 nm条件下,构建四逆散冻干粉、缺味四逆散及单味药冻干粉的HPLC色谱图,分析其化学成分的变化。结果 四逆散冻干粉240 nm波长下高效液相色谱图21个成分峰中,确认了有2个组分来自柴胡,有3个组分来自白芍,有10个组分来自枳实,有5个组分来自甘草,1个组分为新物质。210 nm波长下高效液相色谱图24个成分峰中,确认了有1个组分来自柴胡,有4个组分来自白芍,有14个组分来自枳实,有5个组分来自甘草。结论 本方法稳定可控,可用于四逆散冻干粉指纹图谱测定,可全面地反映其化学成分变化。

关键词:四逆散冻干粉;指纹图谱;化学成分变化

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)06-0854-06

收稿日期:2010-01-21

基金项目:国家自然科学基金资助项目(C03050205)

作者简介:李越峰(1975—),女,博士,工程师,研究方向是中药及复方有效成分的研究。 Tel:13619349364

*通讯作者 李廷利 Tel:(0451)82196294 E-mail:lyfyxk@126.com