

紫色疣石磺化学成分的分离与鉴定^Δ

孙变娜^{1,2*}, 沈和定^{1#}, 吴洪喜^{2,3}, 姚理想¹, 程知庆¹(1.上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; 2.浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江温州 325005; 3.浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室, 浙江温州 325005)

中图分类号 R284.1; R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)11-1019-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.11.21

摘要 目的:对海洋贝类紫色疣石磺的化学成分进行分离与鉴定。方法:使用常压硅胶柱色谱法对紫色疣石磺甲醇提取物的石油醚和乙酸乙酯部位进行化学成分研究,通过理化性质和波谱数据对分离得到的化合物进行结构鉴定。结果:从紫色疣石磺中分离得到5个化合物,分别鉴定为2,2'-氧代双(1,4-二叔丁苯)(1)、胆固醇(2)、 α -棕榈精(3)、尿嘧啶(4)、胸腺嘧啶(5)。其中,化合物1为首次以天然产物形式分离得到,所有化合物均为首次从该属种中分离得到。结论:该试验可为石磺科动物药材的进一步研究提供科学依据。

关键词 紫色疣石磺;化学成分;提取分离;结构鉴定;海洋中药

Isolation and Identification of Chemical Constituents from *Peronia verruculata*

SUN Bian-na^{1,2}, SHEN He-ding¹, WU Hong-xi^{2,3}, YAO Li-xiang¹, CHENG Zhi-qing¹(1.Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Zhejiang Mariculture Research Institute, Zhejiang Wenzhou 325005, China; 3. Zhejiang Key Lab of Exploitation and Preservation of Coastal Bio-Resource, Zhejiang Wenzhou 325005, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To isolate and identify chemical components of *Peronia verruculata*. METHODS: Silica gel column chromatography was used to isolate components from petroleum ether and ethyl acetate fractions of methanol extract from *P. verruculata*. Their structures of isolated components were elucidated by spectrum data and physical and chemical properties. RESULTS: 5 compounds were obtained and elucidated as 2,2'-oxybis (1,4-di-tert-butylbenzene) (1), cholesterol (2), α -monopalmitin (3), uracil (4), thymine (5). Among them, compound 1 was reported as a natural product for the first time, and all of these compounds were isolated from *P. verruculata* for the first time. CONCLUSIONS: These data provides a reference for further study of *Onchidium hongkongensis* as animal medicines.

KEYWORDS *Peronia verruculata*; Chemical constituents; Extraction and isolation; Structural identification; Marine TCM

紫色疣石磺(*Peronia verruculata*)隶属软体动物门(Mollusca)腹足纲(Gastropoda)肺螺亚纲(有肺类, Pulmonata)缩眼目(Systellommatophora)石磺科(Onchidiidae), 柔软无贝壳, 躯体背部有树枝状鳃, 有自由生活幼虫期, 被认为是一种进化的贝类^[1]。紫色疣石磺多见于我国福建、广东、海南、香港等地沿海潮间带的中下部滩涂, 越南、泰国等东南亚国家沿海也有分布, 范围较广, 资源丰富。

由于石磺科早期系统分类工作滞后, 研究材料属种不明晰现象严重^[2], 阻碍了国内、外学者对石磺次生代谢产物研究的步伐, 至今对石磺类海洋动物的化学成分研究甚少。为寻找石磺类动物的活性成分和有药用前景的海洋天然产物, 科学开发我国海洋生物资源, 笔者对采自我国湛江的紫色疣石

磺进行了化学成分研究, 从中分得5个化合物, 分别鉴定为2,2'-氧代双(1,4-二叔丁苯)(1)、胆固醇(2)、 α -棕榈精(3)、尿嘧啶(4)、胸腺嘧啶(5)。其中, 化合物1为首次以天然产物形式分离; 所有化合物均为首次从紫色疣石磺中分离得到。

1 材料

1.1 仪器

SGW X-4型显微熔点测定仪(温度计未校正, 上海精密科学仪器有限公司); Avance II 600型核磁共振光谱(NMR)仪(德国Bruker公司); 6538 UHD and Accurate-Mass Q-TOF LC/MS, 1100 LC/MSD Trap型离子阱液质联用仪(美国Agilent公司); 薄层硅胶板(青岛海洋化工有限公司); RV10型旋转蒸发器(德国IKA公司); AU120型电子分析天平(广州湘仪机电设备有限公司)。

1.2 试剂

Sephadex LH-20(瑞典Pharmacia公司); 层析用硅胶(200~300目, 青岛海洋化工有限公司); 甲醇、石油醚、乙酸乙

^Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.41276157)

* 硕士研究生。研究方向: 海洋活性物质。电话: 021-61900446。

E-mail: sun1998521@126.com

通信作者: 教授, 博士。研究方向: 海洋生物系统分类和海洋生物资源利用。电话: 021-61900446。E-mail: hdshen@shou.edu.cn

酯、正丁醇、氯仿等化学试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司);氘代氯仿(美国剑桥同位素实验室);水为蒸馏水。

1.3 药材

石磺材料于2012年11月采自广东湛江,经上海海洋大学沈和定教授鉴定为紫色疣石磺 *P. verruculata*, 凭证标本保存在上海海洋大学海洋贝类实验室(No. 12DZ-1)。

2 提取与分离

将新鲜紫色疣石磺解剖、去内脏,湿质量约3 kg,剪碎,用甲醇(5 L)于室温下浸提3次,每次7 d。合并提取液,减压回收溶剂(至无醇味),将浸膏分散于500 ml蒸馏水中,依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇各萃取3次,减压回收溶剂,分别得石油醚萃取物15.5 g、乙酸乙酯萃取物27.2 g、正丁醇萃取物18.9 g。将石油醚和乙酸乙酯萃取物分别进行硅胶(200~300目)柱色谱分离,石油醚-乙酸乙酯(100:0→0:100, V/V)洗脱系统梯度洗脱,得到A~F 6个组分。其中,B组分以石油醚-乙酸乙酯(90:10, V/V)洗脱,经反复硅胶柱层析,得到化合物1(19.2 mg);石油醚-乙酸乙酯(80:20, V/V)和石油醚-乙酸乙酯(75:25, V/V)洗脱段经乙酸乙酯重结晶,分别得化合物2(12.7 mg)和3(12.7 mg)。D组分经Sephadex LH-20柱色谱分离,以氯仿-甲醇(1:1, V/V)洗脱,经反相硅胶柱层析,再以甲醇-水(2:1, V/V)洗脱,得到化合物4(7.4 mg)和5(10.3 mg)。

3 结构鉴定

化合物1:淡黄色油状物;HR-ESI-MS(m/z):394.329 6 $[M+H]^+$ (计算值为394.323 6);UV λ_{max} (MeOH):294 nm。化合物1的 1H -NMR和 ^{13}C -NMR数据见表1。由表1可知,氢谱高场区为2个积分为9的信号,低场区为3个积分为1的信号;碳谱共有10个信号。结合分子质量推断,该化合物应为对称结构。该化合物共有28个碳、42个氢。根据分子质量可知,该化合物除了碳和氢之外,还有一个氧原子。因此,该化合物分子式应为 $C_{28}H_{42}O$ 。从氢谱高场区的2个积分为9的信号 δ 1.29和1.33推断,该分子应有两种化学环境不同的叔丁基,碳谱 δ 31.4、30.2、34.9、34.5也证明了这一点。氢谱低场区的3个氢的耦合常数明显符合1,2,4三取代苯的特点。碳谱芳香区有6个信号,也支持这个推断。通过HMBC和NOESY可以推断出,2个叔丁基分别处于苯环的1位和4位;2位碳的化学位移较大,应该是和氧相连的碳;氧原子处于该分子的对称中心。因此,本化合物被鉴定为2,2'-氧代双(1,4-二叔丁基苯)。本结构此前已被合成获得^[9],而本研究中为首次以天然产物形式分离得到。化合物1的结构式见图1。

化合物2:白色片状晶体,mp:144~146 °C。ESI-MS(m/z):387 $[M+1]^+$ 。 1H -NMR(600 MHz, $CDCl_3$) δ :5.30(1H, d, $J=4.3$ Hz, H-6),3.48(1H, m, H-3),1.01(3H, s, H-19),0.91(3H, d, $J=6.6$ Hz, H-21),0.87(3H, d, $J=6.7$ Hz, H-26),0.86(3H, d, $J=6.7$ Hz, H-27),0.64(3H, s, H-18); ^{13}C -NMR(150 MHz, $CDCl_3$) δ :140.9(C-5),121.8(C-6),71.8(C-3),56.9(C-14),56.3(C-17),50.2(C-9),42.4(C-4, 13),39.9(C-12),39.7(C-24),37.4(C-1),36.6(C-10),36.3(C-22),36.0(C-20),32.0(C-7),32.0(C-8),31.7(C-2),28.4(C-16),28.2(C-25),24.5

(C-15),24.0(C-23),23.0(C-27),22.8(C-26),21.2(C-11),19.6(C-19),18.9(C-21),12.0(C-18)。以上数据与文献^[4-9]报道一致,故鉴定其为胆甾醇。

表1 化合物1的 1H -NMR和 ^{13}C -NMR($CDCl_3$, 600/150 MHz)数据

Tab 1 1H -NMR and ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 600/150 MHz) data of compound 1

位置	δ_c	δ_H
1(1')	147.1	
2(2')	147.6 (147.7)	
3(3')	124.5	7.36(2H, d, $J=2.5$ Hz)
4(4')	138.5 (138.5)	
5(5')	123.0	7.13(2H, dd, $J=8.7, 2.5$ Hz)
6(6')	119.1	7.54(2H, d, $J=8.7$ Hz)
7(7')	34.9	
8,9,10(8', 9', 10')	31.4	1.29(18H, s)
11(11')	34.5	
12,13,14(12', 13', 14')	30.2	1.33(18H, s)

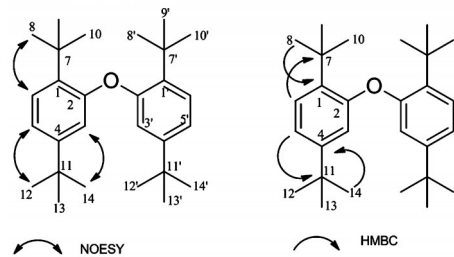


图1 化合物1的结构式

Fig 1 Chemical structure of compound 1

化合物3:白色片状结晶,mp:70~72 °C。ESI-MS(m/z):331 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR(600 MHz, $CDCl_3$) δ :4.20(1H, dd, $J=11.5, 4.5$ Hz, H-1' a),4.15(1H, dd, $J=11.5, 6.5$ Hz, H-1' b),3.93(1H, m, H-2'),3.69(1H, dd, $J=11.5, 4.0$ Hz, H-3' b),3.60(1H, dd, $J=11.5, 5.5$ Hz, H-3a),2.35(2H, t, $J=7.5$ Hz, H-2),1.62(2H, m, H-3),1.26~1.30(24H, m),0.88(3H, t, $J=7.0$ Hz, H-16); ^{13}C -NMR(150 MHz, $CDCl_3$) δ :70.3(C-1),65.2(C-2'),63.3(C-3'),174.4(C-1),34.2(C-2),31.9(C-3),29.7~29.3(C-4~13),24.9(C-14),22.7(C-15),14.1(C-16)。以上数据与文献^[6]报道一致,故鉴定其为 α -棕榈精。

化合物4:淡黄色针状结晶,mp:308~311 °C。 1H -NMR(600 MHz, $DMSO-d_6$) δ :10.95(1H, s, N-H),10.81(1H, s, N-H),7.51(1H, t, $J=7.6$ Hz, H-6),5.49(1H, d, $J=7.6$ Hz, H-5); ^{13}C -NMR(150 MHz, $DMSO-d_6$) δ :164.5(C-1),151.6(C-2),142.9(C-6),102.1(C-5)。以上数据与文献^[7]报道基本一致,故鉴定其为尿嘧啶。

化合物5:淡黄色针状结晶,mp:333~335 °C。ESI-MS(m/z):125(M-H) $^-$ 。 1H -NMR(600 MHz, $DMSO-d_6$) δ :10.98(1H, s, N-H),10.51(1H, s, N-H),7.27(1H, s, H-6),1.72(3H, s, 5-CH₃); ^{13}C -NMR(150 MHz, $DMSO-d_6$) δ :164.9(C-4),151.4(C-2),137.7(C-6),107.6(C-5),11.9(5-CH₃)。以上数据与文献^[8]报道一致,故鉴定其为胸腺嘧啶。

4 讨论

石磺产品已在江苏盐城(俗称海癞子)、浙江温州(俗称涂龟)、福建宁德(俗称土鲍)等地形成广泛的市场。民间流传石磺有治哮喘、治风湿病、滋补、助消化、消除疲劳、明目的功效;冰糖炖石磺据说对治疗哮喘有特效,并常被作为产后妇女良好的滋补品。沿海居民食用石磺的历史悠久^[2]。在《中国海洋药物辞典》中有如下记载:石磺别名土海参,四季捕捞,捕后洗净,除去内脏,取肉鲜用;肉入药,有滋补强壮之功效,主治肝硬化、久病体虚等症^[9]。近几年国内石磺产品供不应求,已从越南等国大量进口。目前国内、外对石磺的研究主要集中在系统分类^[1,10-12]、生物学特性^[13-15]、受精机制^[16]、繁殖^[17-19]、胚胎发育^[20-21]、神经系统^[22]、营养价值^[23]、国内外石磺活性物质研究现状^[2]等方面。其中,Marianna C等^[24]从中国石磺 *Onchidium* sp.中分离获得一种吡喃酮聚丙酸酯,Wang JR等^[25]再次从中分得3个聚丙酸酯类化合物,实为我国石磺二次代谢产物研究的先例。

本研究通过对紫色疣石磺甲醇提取物的石油醚、乙酸乙酯部位进行化学成分的分离纯化,分离并鉴定出5个化学成分,其中化合物1为首次以天然产物形式分离,所有化合物均为首次从紫色疣石磺中分离得到。本研究结果可为石磺这一特色海洋中药资源的综合利用与开发提供理论依据。

(致谢:本研究的核磁共振试验得到了第二军医大学药学院核磁共振谱仪室杨根金老师的大力支持,敬致谢忱!)

参考文献

- [1] 沈和定.中国大陆沿海石磺生物学实验研究及系统分类[D].上海:上海海洋大学,2009.
- [2] 孙变娜,沈和定,吴洪喜,等.石磺营养价值、活性物质的研究现状及开发前景[J].江苏农业科学,2013,41(8):14.
- [3] Dietrich D, Dietmar M. Solid phase photolysis: photocleavage of a sterically hindered azoxybenzene into aryldiazonium and phenoxide ions [J]. *Tetrahedron Lett*, 1978, 19(40):3 863.
- [4] 孙东东,李祥,陈建伟,等.板蓝根醇提部位化学成分研究[J].中国药房,2007,18(30):2 325.
- [5] 葛洁虹,高程海,王萍,等.南海二叉黑角珊瑚化学成分研究[J].中药材,2010,33(9):1 404.
- [6] 何萍,李帅,王素娟,等.半夏化学成分的研究[J].中国中药杂志,2005,30(9):671.
- [7] 林厚文,祁海林,张纯,等.蓝斑背肛海兔化学成分研究[J].中草药,2001,24(4):266.
- [8] 李广志,陈峰,沈连钢,等.石菖蒲根茎的化学成分研究[J].中草药,2013,44(7):808.
- [9] 姜凤梧,张玉顺.中国海洋药物辞典[M].北京:海洋出版

社,1994:81.

- [10] 吴旭峰,沈和定,吴文健,等.我国华东沿海4种石磺形态学比较[J].动物学杂志,2010,45(6):92.
- [11] Dayrat B, Tillier S. Evolutionary relationships of euthynuran gastropods (Mollusca): a cladistic reevaluation of morphological characters [J]. *Zool J Linn Soc*, 2002, 135(4):403.
- [12] 陈诚,沈和定,吴文健,等.基于28SrDNA部分序列的石磺科系统发育研究[J].生物技术通报,2010(6):172.
- [13] 沈和定,李家乐,张缓溶.石磺的生物学特性及其增养殖的前景分析[J].中国水产,2004(1):60.
- [14] 张媛溶,周昭曼,卢卫平.上海沿海蛤蟆石磺的初步研究[C]//中国贝类学会贝类学论文集第二辑.北京:科学出版社,1986:153.
- [15] 黄金田,沈伯平,王资生.瘤背石磺的生态习性观察[J].海洋渔业,2004,26(2):103.
- [16] 吴杨平,沈和定,吴永宁.石磺精子利用规律的初步研究[J].热带海洋学报,2009(1):67.
- [17] 吴杨平,沈和定,代欣欣,等.石磺生殖系统的组织学研究[J].中国水产科学,2007,14(7):17.
- [18] 滕炜鸣,吴旭干,唐伯平,等.瘤背石磺滩涂生态繁殖的初步研究[J].海洋渔业,2007,29(3):214.
- [19] 沈和定,陈汉春,陈贤龙,等.石磺繁殖生物学的实验研究[J].水产学报,2006,30(6):753.
- [20] 沈和定,陈贤龙,陈汉春,等.水温对石磺胚胎发育的影响[J].水产学报,2005,29(6):776.
- [21] 沈和定,陈汉春,陈贤龙,等.盐度对石磺胚胎发育的影响[J].上海水产大学学报,2006,15(3):297.
- [22] Tsukasa G. Role of cyclic nucleotides in the long-lasting histaminergic inhibition in the mollusc, *Onchidium neuron* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 1988, 91(1):75.
- [23] 黄金田,王爱民.瘤背石磺营养成分分析及品质评价[J].海洋科学,2008,32(11):29.
- [24] Marianna C, Margherita G, Carlo AM, et al. Structure of onchidione, a bis- γ -pyrone polypropionate from a marine pulmonate mollusk[J]. *Tetrahedron*, 2009, 65(22):4 404.
- [25] Wang JR, Marianna C, Margherita G, et al. Assignment of absolute configuration of bis- γ -pyrone polypropionates from marine pulmonate molluscs[J]. *Eur J Org Chem*, 2012, 2 012(6):1 107.

(收稿日期:2013-12-28 修回日期:2014-01-24)

《中国药房》杂志——《化学文摘》(CA)收录期刊,欢迎投稿、订阅