

# 海洋褐藻叉开网翼藻中的单萜成分研究

徐秀丽<sup>1,3</sup>, 印丽媛<sup>3</sup>, 宋福行<sup>1</sup>, 范晓<sup>1</sup>, 石建功<sup>2</sup>

(1. 中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国医学科学院暨中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050; 3. 中国地质大学(北京)海洋学院, 北京 100083)

**摘要:** 为了研究中国沿海海藻中的活性化学成分, 利用正相硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、反相 HPLC 及重结晶等手段, 从采自青岛的褐藻叉开网翼藻(*Dictyopteris divaricata* Okam.)中首次分离得到了 6 个单萜类化合物, 经红外波谱(IR), 质谱(MS)及核磁共振波谱(<sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR)等现代波谱技术鉴定为 loliolide (1), isolololide (2), 3 $\beta$ -hydroxy-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxy-7-megastigmen-9-one (3), dehydrovomifolol (4), (3R)-4-[(2R,4S)-2-hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohexylidene]-3-buten-2-oneiol (5), (3R)-4-[(2R,4S)-4-acetoxy-2-hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohexylidene]-3-buten-2-one (6)。并通过 MTT 法对所得化合物进行细胞毒性筛选, 通过比色法进行乙酰胆碱酯酶抑制活性筛选。

**关键词:** 叉开网翼藻(*Dictyopteris divaricata* Okam.); 化学成分; 单萜; 结构鉴定; 活性筛选

中图分类号: Q952, Q253 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2012)10-0081-04

叉开网翼藻(*Dictyopteris divaricata* Okam.)为网地藻科网翼藻属海藻, 广泛分布于我国黄海和东海海域。文献报道主要从中分离得到了吉马烷骨架倍半萜<sup>[1-2]</sup>、萜澄茄倍半萜<sup>[3]</sup>、杜松烷类倍半萜<sup>[4]</sup>、降碳倍半萜<sup>[5]</sup>和新骨架的倍半萜<sup>[6]</sup>。初步药理活性筛选表明, 叉开网翼藻乙醇提取物的乙酸乙酯可溶性部分对肿瘤细胞 B16-BL6 (黑色素瘤) 和 A2780 (人卵巢癌) 有较强的抑制作用, IC<sub>50</sub> 值分别为 7.61 mg/L 和 8.06 mg/L。为了开发利用我国丰富的海藻资源, 对采自青岛的叉开网翼藻乙醇提取物的乙酸乙酯可溶性部分, 进行了化学成分研究。从中分离得到了 6 个单萜类成分, 均为首次从该种海藻中发现, 并对以上化合物进行了抗肿瘤和乙酰胆碱酯酶活性筛选, 实验结果报道如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 仪器与试剂

XT-4 显微熔点测定仪(温度计未校正); Perkin-Elmer 241 型旋光仪; Nicolet impact 400 型傅里叶变换红外波谱仪; Inova 500 型核磁共振仪; Autospec-Ultima ETOF 型质谱仪; Waters 600 型高效液相色谱仪(Alltech 公司 Alltima C18 制备柱 22 mm × 250 mm, Waters 2487 型紫外检测器); ZF-C 型三用紫外分析仪; 凝胶 Sephadex LH-20 为 Amersham

Pharmacia Biotech AB 公司产品; 硅胶为青岛海洋化工有限公司生产(160~200 目); 试剂为分析纯和色谱纯。褐藻叉开网翼藻 *Dictyopteris divaricata* Okam. 于 2003 年 4 月采集于山东青岛的汇泉角, 由中国科学院海洋研究所邵魁双博士鉴定, 标本保存在中国科学院海洋研究所。

### 1.2 提取与分离

新鲜的海藻样品采集后风干粉碎, 用 95%的乙醇提取 3 次, 每次 72 h, 提取液合并后减压浓缩(温度低于 40°C), 浓缩物悬浮于蒸馏水中, 依次用乙酸乙酯和正丁醇萃取。乙酸乙酯萃取液经减压浓缩后得到棕黑色浸膏 120.3 g, 将其进行正相硅胶(160~200 目)柱色谱分离, 以石油醚(60~90°C)-丙酮梯度洗脱, 通过薄层色谱检测, 合并成分相似部分, 最终得到 24 个组分。石油醚-丙酮(10 : 1), (5 : 1)和(3 : 1)洗脱部分。分别经 Sephadex LH-20 柱色谱(石油醚-氯仿-甲醇, 5 : 5 : 1)和反相 HPLC 柱色谱(流动相为 75%水性甲醇)纯化, 得到化合物 1~6(图 1)。

收稿日期: 2010-12-12; 修回日期: 2011-02-20

基金项目: 国家自然科学基金重点基金资助项目(20432030); 国家高技术发展计划(863 计划)专项(2001AA620403)

作者简介: 徐秀丽(1976-), 女, 河北省卢龙县人, 副教授, 主要从事海洋天然产物及活性物质的研究。E-mail: xiulixu@163.com

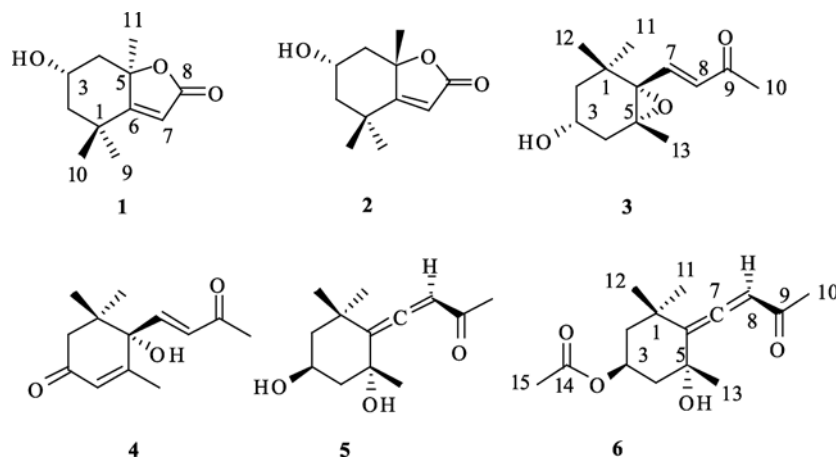


图1 化合物1~6的结构式

Fig. 1 Structures of compounds 1~6

## 2 化合物结构鉴定

化合物 **1** 为无色油状物,  $[\alpha]_D^{20} -92^\circ$  ( $c$  0.15, MeOH)。EIMS 给出其分子离子峰  $m/z$  196 $[M]^+$  以及失去 1 个水分子的碎片峰 178。IR (KBr) 波谱显示分子中存在羟基 ( $3435\text{ cm}^{-1}$ ) 和共轭酯键 ( $1720\text{ cm}^{-1}$ )。 $^1\text{H NMR}$  (acetone- $d_6$ , 500 MHz)  $\delta_{\text{H}}$  5.67 (1H, s, H-7), 4.28 (1H, tt,  $J=3.5, 2.5$  Hz, H-3), 2.39 (1H, dt,  $J=14.0, 2.5$  Hz, H-4 $\beta$ ), 1.99 (1H, dt,  $J=14.0, 2.5$  Hz, H-2 $\beta$ ), 1.73 (3H, s, H-11), 1.71 (1H, dd,  $J=14.0, 3.5$  Hz, H-4 $\alpha$ ), 1.53 (1H, dd,  $J=14.0, 3.5$  Hz, H-2 $\alpha$ ), 1.46 (3H, s, H-9), 1.25 (3H, s, H-10); 表明结构中存在 1 个双键质子、1 个连氧次甲基质子、2 个亚甲基质子和 3 个与季碳相连的甲基。 $^{13}\text{C NMR}$  (acetone- $d_6$ , 125 MHz)  $\delta_{\text{C}}$  183.4 (s, C-6), 171.6 (s, C-8), 113.3 (d, C-7), 87.0 (s, C-5), 66.7 (d, C-3), 47.8 (t, C-2), 46.4 (t, C-4), 36.6 (s, C-1), 31.0 (q, C-10), 27.5 (q, C-11), 26.9 (q, C-9); 表明结构中存在共轭酯键。其波谱数据与 Loliolide 的文献报道<sup>[7-8]</sup>基本一致。

化合物 **2** 为无色油状物,  $[\alpha]_D^{20} +79^\circ$  ( $c$  0.42, MeOH), EIMS 给出其分子离子峰  $m/z$  196 $[M]^+$  以及失去 1 个水分子的碎片峰 178。IR (KBr) 波谱显示分子中存在羟基 ( $3431\text{ cm}^{-1}$ ), 共轭酯键 ( $1728, 1628\text{ cm}^{-1}$ )。 $^1\text{H NMR}$  (acetone- $d_6$ , 500 MHz)  $\delta_{\text{H}}$  5.71 (1H, s, H-7), 4.06 (1H, tt,  $J=12.0, 4.0$  Hz, H-3), 2.41 (1H, ddd,  $J=12.0, 4.0, 2.0$  Hz, H-4 $\beta$ ), 1.97 (1H, ddd,  $J=12.0, 4.0, 2.0$  Hz, H-2 $\beta$ ), 1.54 (3H, s, H-11), 1.36 (1H, t,  $J=12.0$  Hz, H-4 $\alpha$ ), 1.28 (3H, s, H-9), 1.25 (1H, t,  $J=12.0$  Hz, H-2 $\alpha$ ), 1.25 (3H, s, H-10); 表明结构中存在 1 个双键质子、1 个连氧次甲基质子、2 个亚甲基质子和 3 个

与季碳相连的甲基。 $^{13}\text{C NMR}$  (acetone- $d_6$ , 125 MHz)  $\delta_{\text{C}}$  182.1 (s, C-6), 171.4 (s, C-8), 113.3 (d, C-7), 86.9 (s, C-5), 64.3 (d, C-3), 50.7 (t, C-2), 48.9 (t, C-4), 35.5 (s, C-1), 30.3 (q, C-10), 25.8 (q, C-11), 25.2 (q, C-9); 对比化合物 **2** 和 **1** 的核磁数据发现 H-5 和 C-5 的化学位移发生了较大变化, 推测化合物 **2** 中甲基-11 的立体构型与 **1** 不同, 由此推测出化合物 **2** 为 Isololiolide。以上数据与文献<sup>[9-10]</sup>报道的化合物 Isololiolide 的数据一致。

化合物 **3** 为无色油状物,  $[\alpha]_D^{20} -40^\circ$  ( $c$  0.10, MeOH)。EIMS 给出其分子离子峰  $m/z$  224  $[M]^+$ 。IR (KBr) 波谱显示分子中存在羟基 ( $3481, 3392\text{ cm}^{-1}$ ), 共轭双键和羰基 ( $1699, 1670, 1653\text{ cm}^{-1}$ )。 $^1\text{H NMR}$  (acetone- $d_6$ , 500 MHz)  $\delta_{\text{H}}$  7.12 (1H, d,  $J=15.5$  Hz, H-7), 6.12 (1H, d,  $J=15.5$  Hz, H-8), 3.75 (1H, br.s, H-3), 2.25 (1H, s, H-10), 2.25 (1H, dd,  $J=14.0, 4.5$  Hz, H-4 $\beta$ ), 1.65 (1H, dd,  $J=14.0, 9.0$  Hz, H-4 $\alpha$ ), 1.55 (1H, ddd,  $J=14.0, 3.5, 2.0$  Hz, H-2 $\alpha$ ), 1.25 (1H, dd,  $J=14.0, 9.0$  Hz, H-2 $\beta$ ), 1.19 (3H, s, H-12), 1.15 (3H, s, H-13), 0.92 (3H, s, H-11); 表明结构中存在一个双键和 1 个乙酰基。 $^{13}\text{C NMR}$  (acetone- $d_6$ , 125 MHz)  $\delta_{\text{C}}$  197.3 (s, C-9), 143.7 (d, C-7), 133.6 (d, C-8), 70.0 (s, C-6), 67.8 (s, C-5), 63.5 (d, C-3), 47.6 (t, C-2), 41.5 (t, C-4), 35.6 (s, C-1), 29.6 (q, C-12), 27.4 (q, C-10), 25.3 (q, C-11), 20.1 (q, C-13); 表明结构中存在共轭羰基、1 个连氧次甲基及 2 个连氧季碳。以上波谱数据与文献<sup>[11]</sup>报道的化合物 3 $\beta$ -hydroxy-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxy-7-megastigmen-9-one 的数据基本一致。

化合物 **4** 为无色油状,  $[\alpha]_D^{20} +160^\circ$  ( $c$  0.15, MeOH)。EIMS 给出其分子离子峰  $m/z$  222  $[M]^+$ 。IR

(KBr) 波谱显示分子中存在羟基( $3450\text{ cm}^{-1}$ )和 $\alpha,\beta$ -不饱和羰基( $1765, 1667, 1624\text{ cm}^{-1}$ )。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{Me}_2\text{CO}-d_6, 500\text{ MHz}$ )  $\delta_{\text{H}}$  7.02 (1H, d,  $J=15.5\text{ Hz}$ , H-7), 6.40 (1H, d,  $J=15.5\text{ Hz}$ , H-8), 5.85 (1H, s, H-4), 2.59 (1H, d,  $J=13.0\text{ Hz}$ , H-2a), 2.27 (3H, s, H-10), 2.21 (1H, d,  $J=13.0\text{ Hz}$ , H-2b), 1.88 (3H, s, H-13), 1.07 (3H, s, H-12), 1.02 (3H, s, H-11); 表明结构中存在1个三取代双键和一个双取代的反式双键。 $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{Me}_2\text{CO}-d_6, 125\text{ MHz}$ )  $\delta_{\text{C}}$  197.8 (s, C-3), 196.9 (s, C-9), 162.0 (s, C-5), 147.0 (d, C-7), 131.6 (d, C-8), 127.9 (d, C-4), 79.6 (s, C-6), 50.2 (t, C-2), 42.2 (s, C-1), 27.4 (q, C-10), 24.6 (q, C-12), 23.4 (q, C-11), 18.8 (q, C-13); 表明结构中存在两个共轭羰基。以上数据与文献[12-13]报道的化合物 Dehydrovomifoliol 的数据基本一致。

化合物 5 为无色油状,  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -41^\circ$  ( $c$  0.15, MeOH)。EIMS 给出其分子离子峰  $m/z$  224  $[\text{M}]^+$  以及失去甲基的碎片离子峰 209。IR (KBr) 波谱显示分子中存在羟基( $3440\text{ cm}^{-1}$ ), 累积双键( $1936\text{ cm}^{-1}$ )和 $\alpha,\beta$ -不饱和羰基( $1682\text{ cm}^{-1}$ )。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{Me}_2\text{CO}-d_6, 500\text{ MHz}$ )  $\delta_{\text{H}}$  5.68 (1H, s, H-8), 4.23 (1H, m, H-3), 2.20 (1H, ddd,  $J=12.5, 3.5, 1.5\text{ Hz}$ , H-4a), 2.13 (3H, s, H-10), 1.91 (1H, ddd,  $J=12.5, 4.5, 1.5\text{ Hz}$ , H-2a), 1.38 (3H, s, H-11), 1.37 (3H, s, H-13), 1.37 (1H, dd,  $J=12.5, 12.5\text{ Hz}$ , H-4b), 1.33 (1H, dd,  $J=12.5, 12.5\text{ Hz}$ , H-2b), 1.12 (3H, s, H-12); 表明结构中存在乙酰基和双键。NMR ( $\text{Me}_2\text{CO}-d_6, 125\text{ MHz}$ )  $\delta_{\text{C}}$  210.2 (s, C-7), 197.7 (s, C-9), 119.7 (s, C-6), 100.7 (d, C-8), 72.1 (s, C-5), 63.7 (d, C-3), 50.3 (t, C-4), 50.2 (t, C-2), 36.5 (s, C-1), 32.2 (q, C-12), 31.0 (q, C-13), 29.3 (q, C-11), 26.4 (q, C-10); 表明结构中存在连氧次甲基碳、连氧季碳和累积双键。以上波谱数据与文献[14]报道的化合物 (3R)-4-[(2R,4S)-2-hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohexylidene]-3-buten-2-one 的数据一致。

化合物 6 为无色油状,  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -36^\circ$  ( $c$  0.15, MeOH)。EIMS 给出其分子离子峰  $m/z$  266  $[\text{M}]^+$  以及失去甲基的碎片离子峰 209。IR (KBr) 波谱显示分子中存在羟基( $3454\text{ cm}^{-1}$ ), 累积双键( $1938\text{ cm}^{-1}$ ), 酯基( $1738\text{ cm}^{-1}$ )和 $\alpha,\beta$ -不饱和羰基( $1672\text{ cm}^{-1}$ )。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{Me}_2\text{CO}-d_6, 500\text{ MHz}$ )  $\delta_{\text{H}}$  5.73 (1H, s, H-8), 5.38 (1H, dddd,  $J=12.5, 12.5, 4.5, 4.5\text{ Hz}$ , H-3), 2.23 (1H, ddd,  $J=12.5, 4.5, 2.5\text{ Hz}$ , H-4a), 2.15 (3H, s, H-10), 1.98 (3H, s, H-15), 1.97 (1H, ddd,  $J=12.5, 4.5, 2.5\text{ Hz}$ , H-2a), 1.54 (1H, dd,  $J=12.5, 12.5\text{ Hz}$ , H-4b), 1.45 (1H, dd,  $J=12.5, 12.5\text{ Hz}$ , H-2b), 1.42 (3H, s, H-11), 1.41 (3H, s, H-13), 1.15 (3H, s, H-12); 表明结构中存在乙酰基和双键。 $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{Me}_2\text{CO}-d_6, 125\text{ MHz}$ )  $\delta_{\text{C}}$  210.0 (s, C-7), 197.4 (s, C-9), 170.2 (s, C-14), 119.0 (s, C-6),

100.8 (d, C-8), 71.8 (s, C-5), 68.0 (d, C-3), 46.0 (t, C-4), 45.7 (t, C-2), 36.4 (s, C-1), 31.8 (q, C-12), 30.6 (q, C-13), 29.2 (q, C-11), 26.4 (q, C-10), 21.1 (q, C-15); 表明结构中存在连氧次甲基碳、连氧季碳和累积双键以及2个乙酰基。以上波谱数据与文献[14]报道的化合物 (3R)-4-[(2R,4S)-4-acetoxy-2-hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohexylidene]-3-buten-2-one 的数据基本一致。

### 3 化合物的活性分析

用 MTT 法<sup>[15]</sup>, 对上述6个化合物在人肿瘤细胞 HCT-8, Bel-7402, A549, BGC-823 和 A2780 模型上进行了细胞毒活性测试, 结果表明所有化合物对以上细胞株均无明显毒性 ( $\text{IC}_{50} > 10\text{ mg/L}$ )。

利用比色法测定了上述6个化合物的抗乙酰胆碱酯酶活性, 结果表明在浓度为  $25\text{ nmol/L}$  时, 化合物 6 表现了一定的酶抑制活性, 抑制率为 12.43%。

#### 参考文献:

- [1] Segawa M, Yamano K, Shirahama H. A germacran-type sesquiterpene from the brown alga *Dictyopteris divaricata* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29 (3): 973-974.
- [2] Suzuki M, Kowata N, Kobayashi H, et al. The structure of a germacran-type sesquiterpene alcohol, a possible precursor of guaiane-type sesquiterpenes from the brown alga *Dictyopteris divaricata* [J]. *Chemistry Letters*, 1990, 12: 2187-2190.
- [3] Suzuki M, Kowata N, Kurosawa E. Epicubebol and related sesquiterpenoids from the brown alga *Dictyopteris divaricata* [J]. *Bulletin of The Chemical Society of Japan*, 1981, 54 (8): 2366-2368.
- [4] Song F H, Fan X, Xu X L, et al. Cadinane sesquiterpenes from the brown alga *Dictyopteris divaricata* [J]. *Journal of Natural Products*, 2004, 67(10): 1644-1649.
- [5] Song F H, Xu X L, Fan X, et al. Norsesquiterpenes from the Brown alga *Dictyopteris divaricata* [J]. *Journal of Natural Products*, 2005, 68(9): 1309-1313.
- [6] Song F H, Xu X L, Fan X, et al. Minor Sesquiterpenes with New Carbon Skeletons from the Brown Alga *Dictyopteris divaricata* [J]. *Journal of Natural Products*, 2006, 69(9): 1261-1266.
- [7] Okada N, Shirata K, Niwano M, et al. Immunosuppres-

- sive activity of a monoterpene from *Eucommia ulmoides* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37 (1): 281-282.
- [8] Hattab M E, Coulioli G, Vall R, et al. Apo-fucoanthinoids and loliolide from the brown alga *Cladostephus spongiosus* f. *erticillatus* (Heterokonta, Sphacelariales) [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2008, 36: 447-451.
- [9] Kimura J, Maki N. New Lolliolide derivatives from the brown alga *Undaria pinnatifida* [J]. *Journal of Natural Products*, 2002, 65 (1): 57-58.
- [10] 刘远, 欧阳富, 于海洋, 等. 马蓝叶化学成分研究[J]. *中国药物化学杂志*, 2008, 19(4): 273-275.
- [11] Duan H, Takaishi Y, Momota H, et al. Immunosuppressive constituents from *Saussurea medusa* [J]. *Phytochemistry*, 2002, 59(1): 85-90.
- [12] Takasugi M, Anetai M, Katsui N, et al. The occurrence of vomifoliol, Dehydrovomifoliol and Dihydrophaseic acid in the hoots of 'Kidney bean' [J]. *Chemistry Letters*, 1973: 245-248.
- [13] Kim I, Chin Y W, Lim S W, et al. Norisoprenoids and Hepatoprotective Flavone Glycosides from the Aerial Parts of *Beta vulgaris* var. *cicla* [J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2004, 27(6): 600-603.
- [14] Hashimoto T, Tori M, Asakawa Y. Piscicidal sterol acylglucosides from *Edgeworthia chrysantha* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30 (9): 2927-2931.
- [15] Carmichael J, Degraff W G, Gazdar A F, et al. Evaluation of a tetrozolium based semiautomated colorimetric assay: Assessment of chemosensitivity testing [J]. *Cancer Res*, 1987, 47(4): 936.

## Monoterpene constituents of the brown alga *Dictyopteris divaricata* Okam.

XU Xiu-li<sup>1,3</sup>, YIN Li-yuan<sup>3</sup>, SONG Fu-hang<sup>1</sup>, FAN Xiao<sup>1</sup>, SHI Jian-gong<sup>2</sup>

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 3. School of Marine Sciences, China University of Geosciences, Beijing 100083, China)

**Received:** Dec., 12, 2010

**Key words:** *Dictyopteris divaricata* Okam.; chemical constituents; monoterpene; structural elucidation; bioactive screening

**Abstract:** Compounds **1-6** were isolated by recrystallization, normal phase silica gel, Sephadex LH-20 chromatography, and reverse phase HPLC techniques from the brown alga *Dictyopteris divaricata* Okam, collected from Qingdao. Through spectroscopic methods including IR, MS and NMR, their structures were elucidated as loliolide (**1**), isolololide (**2**), 3 $\beta$ -hydroxy-5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxy-7-megastigmen-9-one (**3**), dehydrovomifoliol (**4**), (3*R*)-4-[(2*R*,4*S*)-2-hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohexylidene]-3-buten-2-one (**5**), (3*R*)-4-[(2*R*,4*S*)-4-acetoxy-2-hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohexylidene]-3-buten-2-one (**6**). All compounds were obtained from the Dictyotaceae algae for the first time. Compounds **1-6** were tested for antitumor activity by the MTT method and AchE inhibitory activity.

(本文编辑: 张培新)