

南海中华小尖柳珊瑚中嘌呤和嘧啶类化合物的研究

王萍^{1,2}, 漆淑华^{1*}, 黄丽思^{1,2}, 贺飞¹, 农旭华^{1,2}, 孙玉林^{1,2}

¹中国科学院南海海洋研究所, 广州 510301; ²中国科学院研究生院, 北京 100049

摘要:对采自海南三亚的中华小尖柳珊瑚 *Muricella flexuosa* 的化学成分进行研究, 采用反复硅胶柱色谱法、Sephadex LH-20 柱色谱法及重结晶等手段对化合物进行分离和纯化, 通过理化性质及光谱分析并结合文献对照, 鉴定得到 11 个嘌呤、嘧啶类化合物: 咖啡碱(1), 1,7-二甲基次黄嘌呤(2), 1-甲基次黄嘌呤(3), 7,9-二甲基-6-氮甲基嘌呤-8-酮(4), 7-甲基腺嘌呤(5), 1,7-二甲基嘌呤-6,8-二酮(6), 尿嘧啶(7), 胸腺嘧啶(8), 2'-脱氧尿嘧啶核苷(9), 2'-脱氧胸腺嘧啶核苷(10), 3-乙基-2'-脱氧尿嘧啶核苷(11)。其中化合物 2~6, 11 为首次从该属中分离得到, 化合物 4 和 11 为新的天然产物。

关键词: 中华小尖柳珊瑚 *Muricella flexuosa*; 化学成分; 结构鉴定; 嘌呤; 嘧啶

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

Purine and Pyrimidine Analogues from the South China Sea Gorgonian *Muricella flexuosa*

WANG Ping^{1,2}, QI Shu-hua^{1*}, HUANG Li-si^{1,2}, HE Fei¹, NONG Xu-hua^{1,2}, SUN Yun-lin^{1,2}

¹South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301;

²Graduate University of The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Eleven compounds were isolated from the South China Sea gorgonian *Muricella flexuosa* by meanings of silica gel, Sephadex LH-20 column chromatography and recrystallization. Their structures were identified by physicochemical properties, spectroscopic analysis and comparison with the data of literatures. These 11 compounds were caffeine (1), 1,7-diethylhypoxanthine (2), 1-methylhypoxanthine (3), 7,9-dimethyl-6-(N-methyl) purine-8-one (4), 7-ethyladenine (5), 1,7-diethylpurine-6,8-dione (6), uracil (7), thymine (8), 2'-deoxyuridine (9), 2'-deoxythymidine (10), 3-ethyl-2'-deoxythymidine (11). Compounds 2-6 and 11 were obtained from the genus *Muricella* for the first time, and 4 and 11 were isolated from nature for the first time.

Key words: gorgonian *Muricella flexuosa*; chemical constituent; structure identification; purine; pyrimidine

柳珊瑚俗称海扇或海鞭, 属于腔肠动物门珊瑚纲八放珊瑚亚纲, 是热带海洋中常见的生物之一^[1], 在我国主要分布于广东、广西、海南岛、西沙等南海海域。从上世纪 60 年代 Weinheimer 等从百慕大柳珊瑚中发现具有独特结构和强烈生理活性的前列腺素前体, 半个世纪以来, 科学家从柳珊瑚中分离发现了众多结构新颖, 生物活性丰富的次级代谢产物, 包括甾醇类、萜类、含氮化合物类、长链脂肪酸酯和长链醇类化合物, 这些化合物具有抗炎、抗菌、抗氧化、抗肿瘤和抗结核等生物活性^[2,3]。文献报

道从 *Muricella* 属柳珊瑚中主要分离到甾醇和萜类化合物^[4-10], 其中张文等从 *Muricella flexuosa* 中分离得到一个新的多羟基甾醇^[6]。

为寻找有药用价值的海洋天然产物, 我们对南海柳珊瑚进行了一系列的研究, 在对采自海南三亚中华小尖柳珊瑚 *Muricella flexuosa* 化学成分研究过程中, 从乙酸乙酯和正丁醇提取物中分离鉴定了 11 个化合物: 咖啡碱(1)、1,7-二甲基次黄嘌呤(2)、1-甲基次黄嘌呤(3)、7,9-二甲基-6-氮甲基嘌呤-8-酮(4)、7-甲基腺嘌呤(5)、1,7-二甲基嘌呤-6,8-二酮(6)、尿嘧啶(7)、胸腺嘧啶(8)、2'-脱氧尿嘧啶核苷(9)、2'-脱氧胸腺嘧啶核苷(10)和 3-乙基-2'-脱氧尿嘧啶核苷(11), 本文具体介绍这些化合物的分离、纯化及结构鉴定。

收稿日期: 2011-02-25 接受日期: 2011-05-04

基金项目: 国家自然科学基金课题(20872151, 40976090); 广东省自然科学基金项目(8151030101000020)

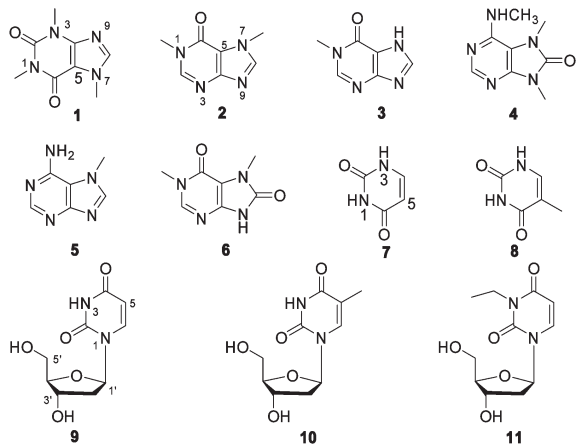
* 通讯作者 Tel: 86-20-89022112; E-mail: shuhuaqi@scsio.ac.cn

1 实验部分

1.1 仪器和材料

^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱用 Bruker AVANCE 500 MHz 型核磁共振波谱仪测定;质谱仪用 Agilent 6460 Triple Quadruple mass spectrometry 型质谱仪测定;熔点用四川大学科仪厂生产的 XRC21 型显微熔点仪测定;柱层析用硅胶(200~300目)为青岛海洋化工厂生产;TLC 硅胶预制板和制备板由烟台市化学工业研究所生产;溶剂均为分析纯,由天津百世化工有限公司工厂生产。

中华小尖柳珊瑚 2008 年 7 月采自海南省三亚;由中国科学院南海海洋研究所黄晖研究员鉴定,标本编号为 No. 0801,保存于中国科学院南海海洋研究所广东省海洋药物重点实验室。



1.2 提取与分离

中华小尖柳珊瑚新鲜样品切碎,用乙醇/二氯甲烷 2:1 提取 3 次,合并提取液,真空浓缩,粗提物加适量水混悬后依次用乙酸乙酯和正丁醇萃取三次,真空浓缩得乙酸乙酯和正丁醇萃取物分别为 30.7 g 和 35.0 g。

将乙酸乙酯萃取物经硅胶柱(200~300目),以石油醚/丙酮(100:0~0:100)梯度洗脱,通过薄层色谱(TLC)点板合并,得到十个组分:M1~M10,组分 M3 先经硅胶柱层析,后经 Sephadex LH-20 柱色谱,经重结晶得到化合物 **1**(20.3 mg),组分 M6 以氯仿/丙酮(20:1~5:1)梯度洗脱得到化合物 **7**(11.2 mg),**11**(7.8 mg),**6**(6.2 mg);组分 M9 先以氯仿/甲醇(20:1~4:1)梯度洗脱,接着以 Sephadex LH-20 柱色谱进行纯化,以硅胶制备板制备得到化合物 **8**(10.6 mg)。

正丁醇萃取物经硅胶柱(200~300目),以氯仿/甲醇(50:1~7:3)系统进行梯度洗脱,结合薄层色谱(TLC)点板情况,合并为六个组分 D1~d₆,组分 D1 先经 Sephadex LH-20 柱色谱纯化,以硅胶制备板制备得到化合物 **2**(5.5 mg),**3**(7.6 mg),组分 D4 经反复硅胶柱层析,重结晶得到化合物 **9**(6.6 mg),组分 d₆ 以氯仿/甲醇(20:1~3:1)梯度洗脱,经过 Sephadex LH-20 柱色谱纯化,结合硅胶制备板和重结晶等方法,得到化合物 **10**(9.2 mg),**4**(7.7 mg),**5**(8.9 mg)。

2 结构鉴定

化合物 1 白色结晶, $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$, mp. 233~235 °C, ESI-MS m/z 195 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 3.36 (3H, s, NCH_3 -1), 3.54 (3H, s, NCH_3 -3), 3.96 (3H, s, NCH_3 -7), 7.48 (1H, s, H-8); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 27.6 (q, NCH_3 -1), 29.5 (q, NCH_3 -3), 33.2 (q, NCH_3 -7), 106.7 (s, C-5), 142.9 (d, C-8), 148.2 (s, C-4), 151.2 (s, C-2), 154.7 (s, C-6)。以上数据与文献^[11]基本一致,鉴定化合物 **1** 为咖啡因(caffeine)。

化合物 2 白色粉末, $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}$, mp. 360~364 °C, ESI-MS m/z 165.1 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ : 8.33 (1H, s, H-2), 8.04 (1H, s, H-8), 3.65 (3H, s, NCH_3 -1), 3.84 (1H, s, NCH_3 -7); ^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz) δ : 157.4 (s, C-6), 154.6 (s, C-4), 149.1 (d, C-2), 144.9 (d, C-8), 115.4 (s, C-5), 29.2 (q, NCH_3 -1), 32.8 (q, NCH_3 -7)。以上数据与文献^[12]基本一致,鉴定化合物 **2** 为 1,7-二甲基次黄嘌呤(1,7-dimethylhypoxanthine)。

化合物 3 白色粉末, $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_4\text{O}$, mp. 360~363 °C, ESI-MS m/z 139.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ : 8.32 (1H, s, H-2), 7.90 (1H, s, H-8), 7.78 (1H, s, H-7), 3.88 (3H, s, NCH_3 -1); ^{13}C NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 125 MHz) δ : 157.5 (s, C-6), 154.7 (s, C-4), 149.3 (d, C-2), 144.9 (d, C-8), 115.5 (s, C-5), 29.3 (q, NCH_3 -1)。以上数据与文献^[12]基本一致,鉴定化合物 **3** 为 1-甲基次黄嘌呤(1-methylhypoxanthine)。

化合物 4 无色针状固体, $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_5\text{O}$, mp. 222~223 °C, ESI-MS m/z : 194.0 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ : 7.83 (1H, s, H-2), 6.62 (1H, d, J

= 4.0 Hz, NH-6), 3.86 (3H, s, NCH₃-7), 3.50 (3H, s, NCH₃-9), 2.78 (3H, d, *J* = 4.5 Hz, NHCH₃-6); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 154.8 (s, C-6), 153.2 (d, C-2), 151.4 (s, C-4), 154.7 (d, C-8), 119.6 (d, C-5), 33.4 (NCH₃-7), 32.8 (NCH₃-9)。以上数据与文献^[13]基本一致, 鉴定化合物 **4** 为 7,9-二甲基-6-甲基氨基-嘌呤-8-酮 (7,9-dimethyl-6-methylamino-purine-8-one)。

化合物 5 无色针状固体, C₆H₇N₅, mp. 220 ~ 225 °C, ESI-MS *m/z*: 150.3 [M + H]⁺。 ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 8.29 (1H, s, H-2), 7.96 (1H, s, H-8), 7.81, 7.77 (2H, s, NH₂-6), 3.89 (3H, s, NCH₃-7); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 155.9 (s, C-6), 152.4 (d, C-2), 150.3 (s, C-4), 138.9 (d, C-8), 118.6 (d, C-5), 33.1 (NCH₃-7)。以上数据与文献^[14]基本一致, 鉴定化合物 **5** 为 7-甲基腺嘌呤 (7-methyladenine)。

化合物 6 针状晶体, C₇H₈N₄O₂, mp. 大于 320 °C, ESI-MS *m/z*: 195.1 [M + H]⁺。 ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 7.94 (1H, s, H-2), 3.53 (3H, s, NCH₃-7), 3.45 (3H, s, NCH₃-1); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 156.9 (s, C-6), 153.0 (s, C-8), 150.7 (s, C-4), 143.1 (d, C-2), 107.2 (s, C-5), 32.4 (NCH₃-7), 33.7 (NCH₃-9)。以上数据与文献^[15]基本一致, 鉴定化合物 **6** 为 1,7-二甲基嘌呤-6,8-二酮 (1,7-dimethylpurine-6,8-dione)。

化合物 7 淡黄色固体, C₄H₄N₂O₂, mp. 290 ~ 292 °C, ESI-MS *m/z*: 113.3 [M + H]⁺。 ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 11.00 (1H, br s, NH-3), 10.97 (1H, br s, NH-1), 5.44 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-5), 7.38 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-4); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 152.1 (s, C-2), 165.2 (s, C-6), 142.5 (d, C-4), 100.6 (d, C-5)。以上数据与文献^[16]报道基本一致, 鉴定化合物 **7** 为尿嘧啶 (uracil)。

化合物 8 白色粉末, C₅H₆N₂O₂, mp. 大于 300 °C, ESI-MS *m/z*: 127 [M + H]⁺。 ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 10.99 (1H, br s, NH-1), 10.57 (1H, br s, NH-3), 7.23 (1H, s, H-4), 1.71 (1H, s, CH₃-5); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 151.46 (s, C-2), 164.84 (s, C-6), 137.57 (d, C-4), 107.28 (s, C-5), 13.3 (q, CH₃-5)。以上数据与文献^[17]报道基本一致, 鉴定化合物 **8** 为胸腺嘧啶 (thymine)。

化合物 9 白色结晶性粉末, C₉H₁₂N₂O₅, mp. 162 ~ 164 °C, ESI-MS *m/z*: 229.1 [M + H]⁺。 ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 11.26 (1H, br s, H-3), 5.62 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 7.86 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6), 6.14 (1H, dd, *J* = 7.5, 6.5 Hz, H-1'), 2.08 (2H, m, H-2'), 4.23 (1H, m, H-3'), 3.78 (1H, dd, *J* = 7.0, 3.0 Hz, H-4'), 3.52 (2H, dd, *J* = 12.0, 3.5 Hz, H-5'); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 150.4 (s, C-2), 163.1 (s, C-4), 101.7 (d, C-5), 140.5 (d, C-6), 84.1 (d, C-1'), 39.8 (t, C-2'), 70.3 (d, C-3'), 87.4 (d, C-4'), 61.2 (t, C-5')。以上数据与文献报道^[16]基本一致, 鉴定化合物 **9** 为 2'-脱氧尿嘧啶核苷 (2'-deoxyuridine)。

化合物 10 白色结晶性粉末, C₁₀H₁₄N₂O₅, mp. 188 ~ 189 °C, ESI-MS *m/z*: 243.1 [M + H]⁺。 ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 11.28 (1H, br s, H-3), 1.77 (3H, br s, 5-CH₃), 7.72 (1H, br s, H-6), 6.15 (1H, dd, *J* = 7.5, 6.0 Hz, H-1'), 2.07 (2H, m, H-2'), 4.24 (1H, m, H-3'), 3.75 (1H, dd, *J* = 7.0, 3.0 Hz, H-4'), 3.56 (2H, br d, *J* = 10.5 Hz, H-5'), 5.30 (1H, br s, 3'-OH), 5.11 (1H, br s, 5'-OH); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 150.4 (s, C-2), 164.7 (s, C-4), 109.3 (s, C-5), 136.1 (d, C-6), 83.7 (d, C-1'), 40.4 (t, C-2'), 70.4 (d, C-3'), 87.2 (d, C-4'), 61.2 (t, C-5'), 12.2 (q, CH₃-5)。以上数据与文献^[16]基本一致, 鉴定化合物 **10** 为 2'-脱氧胸腺嘧啶核苷 (2'-deoxythymidine)。

化合物 11 白色结晶性粉末, C₁₁H₁₆N₂O₅, mp. 191 ~ 193 °C, ESI-MS *m/z*: 257.1 [M + H]⁺。 ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 7.86 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6), 5.62 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 6.13 (1H, t, *J* = 7.0 Hz, H-1'), 2.07 (2H, m, H-2'), 4.23 (1H, m, H-3'), 3.77 (1H, dd, *J* = 6.5, 3.5 Hz, H-4'), 3.54 (2H, br d, *J* = 11.0 Hz, H-5'), 2.86 (2H, q, *J* = 7.0 Hz, NCH₂-3), 1.18 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, NCH₂CH₃-3), 5.35 (1H, br s, 3'-OH), 5.14 (1H, br s, 5'-OH); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 150.4 (s, C-2), 163.2 (s, C-4), 101.7 (s, C-5), 140.6 (d, C-6), 87.4 (d, C-1'), 38.9 (t, C-2'), 70.4 (d, C-3'), 84.1 (d, C-4'), 61.2 (t, C-5'), 41.2 (t, NCH₂-3), 10.9 (q, NCH₃-3)。以上数据与文献^[18]基本一致, 鉴定化合物 **11** 为 3-乙基-2'-脱氧尿嘧啶核苷 (3-ethyl-2'-deoxyuridine)。

参考文献

- 1 Liaw CC, Shen YC, Lin YS, *et al.* Frajunolides E-K, briarane diterpenes from *Junceella fragilis*. *J Nat Prod*, 2008, 71: 1551-1556.
- 2 Ai XH(艾小红), Chen YX(陈亿新), Qi SH(漆淑华). Recent progress in the chemical and pharmacological study of Chinese corals. *J Guangzhou Univ*(广州大学学报), 2006, 5:49-56.
- 3 Zhang W(张文), Guo YW(郭跃伟). A pharmaceutical perspective on gorgonian; chemistry and bioactivity. *Chin J Nat Med*(中国天然药物), 2003, 1:69-75.
- 4 Yan XH(严小红), Li ZY(李震宇), Guo YW(郭跃伟). Chemical component studies of the South China Sea gorgonian *Muricella sinensis*. *Org Chem*(有机化学), 2008, 28: 1264-1267.
- 5 Li TT(李婷婷), Tang XL(唐旭利), Li GQ(李国强). Studies on chemical constituents of gorgonian *Muricella siboga*. *Chin J Mar Drugs*(中国海洋药物杂志), 2010, 29: 1-5.
- 6 Zhang W, Huang H, Ding Y, *et al.* Three new polyoxygenated steroids from two species of the South China Sea gorgonian *Muricella flexuosa* and *Menella verrucosa* Brundin. *Helv Chim Acta*, 2006, 89: 813-820.
- 7 Seo Y, Shin J, Song JI. New secosteroids from an undescribed gorgonian of the genus *Muricella*. *J Nat Prod*, 1995, 58: 1291-1295.
- 8 Seo YW, Rho JR, Cho KW, *et al.* Isolation of diterpenoids of the cladiellane class from gorgonians of the genus *Muricella*. *J Nat Prod*, 1998, 61: 1441-1443.
- 9 Seo YW, Rho JR, Cho KW, *et al.* Isolation of diterpenoids of the cladiellane class from gorgonians of the genus *Muricella*. *J Nat Prod*, 1997, 60: 171-174.
- 10 Seo YW, Cho KW, Chung S, *et al.* A new cladiellin diterpenoid from the gorgonian *Muricella* sp. *Nat Prod Lett*, 2000, 14: 197-203.
- 11 Zhao N(赵楠), Gao HY(高慧媛), Sun BH(孙博航), *et al.* Chemical constituents from the leaves of *Camelliasinensis*. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报), 2007, 24: 211-214.
- 12 Sun JL(孙建龙), Deng AJ(邓安君), Li ZH(李志宏), *et al.* Structure determination of five trace chemical constituents from roots of *Linum usitatissimum*. *Chin J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2011, 2: 158-161.
- 13 Saito T, Mori S, Chikazawa J, *et al.* Purines. LVII. Regioselective alkylation of N6, 9-disubstituted 8-oxoadenines; syntheses of the sea anemone purine caissarone and some positional isomers and analogs. *Chem Pharm Bull*, 1993, 41: 1746-1752.
- 14 Chen Q(陈泉), Wu LJ(吴立军), Ruan LJ(阮丽军). Chemical studies on the constituents of *Lophat-herum gracile* Brongn. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报), 2002, 19: 257-259.
- 15 Rahat M, Bergmann F, Ilana T. Purine-6, 8-diones; A study of their ionisation and their methylation reactions. *JCS Perkin I*, 1974, 19: 2229-2236.
- 16 Zou ZR(邹峥嵘), Yi YH(易杨华), Yao XS(姚新生), *et al.* Studies on chemical constituents of *Acaudina molpadioides* Semper. *Chin J Nat Med*(中国天然药物), 2004, 2: 348-350.
- 17 Rao ZG(饶志刚), Deng SZ(邓松之), Li FY(李风英). Studies on the chemical constituents of the soft coral *Sarcophyton molle* from south China sea. *Org Chem*(有机化学), 1997, 17: 252-255.
- 18 Kimura T, Kuze J, Teraoka S, *et al.* Central nervous system depressant effects of N3-substituted derivatives of deoxyuridine in mice. *Biol Pharm Bull*, 1996, 19: 142-145.