

两种柳珊瑚 *Anthogorgia caerulea* 和 *Menella kanisa* 的化学成分及其抗海洋污损生物附着活性研究

苏志维, 易湘茜, 邓家刚, 郝二伟, 侯小涛, 米顺利, 高程海*

广西中医药大学海洋药物研究院 广西中药药效研究重点实验室

广西北部湾海洋中药应用技术与产品研发实验室, 南宁 530200

摘要: 采用多种色谱分离技术, 从北部湾的两种柳珊瑚 *Anthogorgia caerulea* 和 *Menella kanisa* 分离出 7 种次级代谢产物, 运用 MS、¹H NMR 和 ¹³C NMR 等波谱方法并结合文献对照分别鉴定为 *N*-(1-羟甲基-2-羟基)3,6-二烯-十七烷基-十六脂肪酸酰胺(1), 邻苯二甲酸二丙酯(2), 3-(2-苯乙基)苯酚(3), 对甲氧基苯甲酸甲酯(4), 邻苯二甲酸二己酯(5), 栎木甙(6), 次黄嘌呤核苷(7), 其中化合物 1 为新化合物, 其他化合物均首次从小月柳珊瑚(*Menella kanisa*) 和花柳珊瑚(*Anthogorgia caerulea*) 中分别分离得到。除化合物 3, 7 外均显示出抗海洋污损生物藤壶幼虫附着能力, 其中以化合物 6 的活性最好, 化合物 1 的活性次之, 其抗藤壶幼虫附着 EC₅₀ 分别为 6.89, 8.72 μg/mL。

关键词: 柳珊瑚; 代谢产物; 抗海洋污损; 藤壶幼虫

中图分类号: R284; R931.77

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.12.016

Chemical Constituents from Guangxi Beibu Gulf Gorgonian *Menella kanisa* and *Anthogorgia caerulea* and Their Antifouling Activity

SU Zhi-wei, YI Xiang-xi, DENG Jia-gang, HAO Er-wei, HOU Xiao-tao, MI Shun-li, GAO Cheng-hai*

Guangxi university of traditional Chinese medicine, Guangxi Institute of Marine Drugs/Guangxi

Key Laboratory of Efficacy Study on Chinese Materia Medica/Guangxi Beibu Gulf Laboratory on Applied Techniques and Product Development of Marine Chinese Materia Medica, Nanning Guangxi 530200, China

Abstract: To study the chemical constituents and their antifouling activity from two gorgonian *Anthogorgia caerulea* and *Menella kanisa* were isolated from Beibu gulf, Guangxi. Seven compounds were purified by means of chromatographic techniques and their structures were identified on the basis of spectral features, which were identified respectively as *N*-[(1-hydroxymethyl)-2-hydroxy-3,6-heptadecadienyl]-hexadecanamide (1), dipropyl phthalate (2), 3-(2-phenylethyl) phenol (3), methyl ester of *p*-methoxybenzoic acid (4), dihexyl phthalate (5), cornoside (6), inosine (7). 1 was a new compound, and others were isolated from *Menella kanisa* and *Anthogorgia caerulea* for the first time, respectively. Antifouling activity was performed by the antilarval (cyprids of barnacle *Balanus amphitrite*) settlement bioassay. All compounds with exception of 3 and 7 showed significant antifouling activity against the barnacle larvae. Especially, *N*-[(1-hydroxymethyl)-2-hydroxy-3,6-heptadecadienyl]-hexadecanamide and cornoside were better potent antifouling metabolites with EC₅₀ values of 8.72 and 6.89 μg/mL, respectively.

Key words: gorgonian; metabolites; antifouling; barnacle

近年来,海洋污损生物所造成的损失越来越严重,全球每年由海洋生物污损所造成的经济损失高达近百亿美元^[1]。基于防污剂制成防污涂料是现

行最经济可行的手段。曾经有机锡和氧化亚铜涂料是最有效的防污涂料,但是由于不易降解和三致效应造成不良生态环境影响已被国际海事组织(IMO)禁止使用。因此,当前迫切需要开发安全低毒且具选择性的环境友好型抗污损剂以取代传统的防污涂料。在海洋抗污损方面,海洋天然产物防污剂以其易降解、无毒、高效的优点倍受科研人员关注。目前,已从多种海洋动植物中获得了一系列如甾类、萜

收稿日期: 2017-11-02 接受日期: 2018-05-16

基金项目: 国家自然科学基金(41566004); 广西自然科学基金(2015GXNSFBA139026, 2016GXNSFBA380095); 广西海洋生物技术重点实验室项目(GLMBT-201603); 广西中药药效研究重点实验室课题(16-380-29)

* 通信作者 E-mail: gaochenghai@gxas.cn

类、肽类、生物碱类等具有抗海洋生物污损附着活性的海洋天然产物^[2]。

柳珊瑚中蕴含着丰富的化学成分,至今为止已发现超过 800 个新化合物,其中不乏抗污损活性成分^[3-5]。我国北部湾海域蕴藏着丰富的柳珊瑚资源^[6-8],为了充分利用我国丰富的资源,进一步寻找新的抗污损活性成分,本文对北部湾两种柳珊瑚的次生代谢产物进行了研究,并测试其抗海洋污损生物附着能力,从中发现了一个新的神经酰胺类抗污损成分。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

BruckerAvance 600 型核磁共振波谱仪, TMS 为内标; waters 2695 (PDA 检测器, 10 mm × 250 mm, 5 μm, Phenomenex); N-1100 型旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司); 薄层色谱硅胶与柱层析硅胶(青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 (Pharmacia Biotech. Sweden); 高效液相色谱用试剂为色谱纯(德国 MERCK 公司), 显色剂: 5% 硫酸乙醇溶液及 5% 磷酸钼酸乙醇溶液、其他常规试剂均为分析纯(广东光华科技股份有限公司)。

1.2 生物材料

采自广西涠洲岛海域的两种柳珊瑚, 由中国科学院南海海洋研究所李秀宝博士鉴定为花柳珊瑚 *Anthogorgia caerulea* 和小月柳珊瑚 *Menella kanisa*, 该标本现存放于广西中医药大学广西海洋药物研究院(样品编号分别为 2010-GXAS-003 和 2010-GXAS-004)。

1.3 抗污损生物幼虫附着活性筛选

1.3.1 幼虫的培养

藤壶 (*Barnacle amphitrite*) 成虫采自广西钦州港中石化码头的柱桩上, 根据 Thiyagarajan 等^[9] 方法培养, 获取藤壶无节幼虫后在 28 °C 下用硅藻 *Chaetoceros gracilis* Schutt 喂养, 在附着测试之前, 处于介虫状态的藤壶幼虫在 8 °C 黑暗环境中放置 4 d。

1.3.2 抗幼虫附着活性筛选

该方法参照本实验室的操作方法进行^[10], 将化合物 1-7 分别溶解于 DMSO 溶液中, 用无菌海水配制成 100、50、25、12.5、6.25、3.13、1.57 μg/mL 共 7 个浓度梯度。在 24 孔板的每个孔中加入 1 mL 配制好的测试样品(采用 DMSO 溶解)和 15 ± 5 个游动藤壶幼虫, 每个样品做 4 个平行, 加含有 1 mL

DMSO 的无菌海水作为阴性对照。配有测试样品的 24 孔板放于培养箱中, 培养温度为 28 °C, 避光放置 24 h 后, 观察实验结果。通过显微镜观察逐个记录已附着在板壁上的幼虫个数和没有附着在板壁上的幼虫个数以及已死亡的幼虫个数。统计已附着在板壁上的幼虫个数占实验用总幼虫个数的百分比, 通过 EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM Version 1.5 软件计算受测化合物的 EC₅₀ 和 LC₅₀。

1.4 提取与分离

小月柳珊瑚 *Menella kanisa* 样品(湿重约为 3.08 kg) 切碎, 用乙醇-二氯甲烷 (V: V = 1: 1) 混合溶剂浸泡三次, 每次一周, 将所得粗提物加水混悬, 依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇各萃取三次, 减压回收试剂, 得乙酸乙酯萃取物 7.21 g, 正丁醇萃取物 18.59 g。

将乙酸乙酯萃取物装柱装入正相硅胶柱层析, 采用 CHCl₃-Me₂CO 系统 (CHCl₃: Me₂CO = 1: 0.1 ~ 1: 0.8/V: V) 和 CHCl₃-MeOH 系统 (CHCl₃: MeOH = 1: 0.1 ~ 0: 1/V: V) 依次梯度洗脱, 根据 TLC 法检测结果, 将成分相近的流份进行合并为 11 个组分 C1-C11。组份 C6 (455 mg) 经半制备高效液相色谱进行分离, 获得新化合物 **1** (5.3 mg)。

将正丁醇萃取物装入正相硅胶柱层析, 采用 CHCl₃-MeOH 系统 (CHCl₃: MeOH = 1: 0.1 ~ 0: 1/V: V) 依次梯度洗脱, 根据 TLC 法检测结果, 将成分相近的流份进行合并为 8 个组分 D1-D8。组份 D4 (169 mg) 经半制备高效液相色谱进行分离, 获得化合物 **2** (9 mg), 组分 D6 (446.1 mg) 先经 Sephadex LH-20 凝胶柱 (CHCl₃: MeOH = 1: 1/V: V) 分离后得流份 d1 ~ d7, d7 再经半制备高效液相色谱进行分离, 获得化合物 **3** (3.3 mg), 化合物 **4** (0.7 mg)。

柳珊瑚 *Anthogorgia caerulea* (湿重约 5.0 kg) 切碎, 用乙醇-二氯甲烷 (V: V = 1: 1) 混合溶剂浸泡三次, 每次一周, 将所得粗提物加水混悬, 依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇各萃取三次, 减压回收试剂, 得乙酸乙酯萃取物 24.82 g, 正丁醇萃取物 16.28 g。

将乙酸乙酯萃取物装入正相硅胶柱层析, 采用 CHCl₃-Me₂CO 系统 (CHCl₃: Me₂CO = 1: 0.1 ~ 1: 0.8) 和 CHCl₃-MeOH 系统 (CHCl₃: MeOH = 1: 0.1 ~ 0: 1/V: V) 依次梯度洗脱, 根据 TLC 法检测结果, 将成分相近的流份进行合并, 初步分为 8 个组分 J1-J8。组份 J7 (254.1 mg) 先用 HPLC 分析柱确定分离条件, 再用 HPLC 半制备柱进行分离纯化, 在梯度

MeOH: H₂O = 90: 10/V: V 处, 获得化合物 **5** (1.1 mg)。

将正丁醇萃取物装入硅胶柱层析, 采用 CHCl₃-MeOH 系统 (CHCl₃: MeOH = 1: 0.1 ~ 0: 1/V: V) 依次梯度洗脱, 根据 TLC 法检测结果, 将成分相近的流份进行合并, 初步分为 6 个组分 K1-K6。组份 K4 (385.6 mg) 经 HPLC 半制备柱进行分离纯化, 获得化合物 **6** (1.2 mg), 组份 K5 (72.7 mg) 经半制备高效液相色谱进行分离, 获得化合物 **7** (1.9 mg)。

2 结构鉴定

化合物 1 黄色无定形固体, 溶于氯仿; mp. 83 ~ 84 °C; [α]_D²⁵ -12.9 (c 0.2, CHCl₃); IR (KBr) ν_{\max} 3 396, 2 920, 1 670, 1 634, 1 537, 1 464, 1 072, 721 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) (见表 1); ESI-MS: m/z 536 [M + H]⁺, 558 [M + Na]⁺; HR-ESI-MS: m/z 536.5039 [M + H]⁺, (calcd for C₃₄H₆₆NO₃, 536.5037)。

由 ¹³C NMR、DEPT 谱及高分辨质谱 m/z 536.5039 [M + H]⁺, (calcd for C₃₄H₆₆NO₃, 536.5037), m/z 558.4860 [M + Na]⁺, (calcd for C₃₄H₆₅NO₃Na, 558.4862) 可以确定其分子是为 C₃₄H₆₅NO₃ (不饱和度为 3)。¹H NMR 谱中 δ_{H} 6.26 (1H, brs, H-N) 处有酰胺的 N-H 的特征吸收峰, 在低场区存在 4 个烯质子信号: δ_{H} 5.78 (1H, dt, $J = 15.5, 6.6$ Hz, H-4'), 5.56 (1H, dt, $J = 15.5, 6.6$ Hz, H-3'), 5.41 (1H, dt, $J = 15.5, 6.6$ Hz, H-7'), 5.38 (1H, dt, $J = 15.5, 6.6$ Hz, H-6'); 三个连氧质子信号: δ_{H} 4.32 (1H, m, H-2'), 3.95 (1H, dd, $J = 11.3, 3.6$ Hz, Ha-1''), 3.69 (1H, dd, $J = 11.3, 3.6$ Hz, H_b-1''); 一个连氮质子: 3.90 (1H, m, H-1'); 在高场区有 5 个亚甲基质子信号: δ_{H} 2.23 (2H, t, $J = 7.7$ Hz, H-2), 2.13 (2H, q, $J = 7.2, 6.7$ Hz, H-6), 2.07 (2H, q, $J = 7.2, 6.7$ Hz, H-7), 1.96 (2H, q, $J = 7.0$ Hz, H-10), 1.63 (2H, m, H-3); 19 个无支链脂肪链质子信号: δ_{H} 1.34-1.24 (38H, m, H-4, 5, 8, 9, 11 ~ 15, 5', 8' ~ 16'); 以及两个端基质子信号: 0.87 (6H, t, $J = 6.6$ Hz, H-17' 及 H-16), 这表明了此化合物有可能为神经酰胺类化合物。根据 ¹H NMR、¹³C NMR 和 DEPT 及 HSQC 谱对化合物 **1** 的 C、H 分别进行相应的归属 (见表 1), 低场区 δ_{C} 174.1 (C-1) 表明是一个酰胺基, 同时给出 4 个烯碳信号: δ_{C} 133.7 (C-4'), 131.5 (C-3'), 129.3 (C-7'), 129.1 (C-6'), 2 个连氧碳信号: δ_{C} 74.8 (C-2'), 62.6 (C-1''), 以及 1 个连氮

碳信号: δ_{C} 54.56 (C-1')。以上信号提示化合物 **1** 与 *N*-(1-羟甲基-2-羟基)-4, 8-二烯-十七烷基-十六脂肪酸酰胺结构非常相近^[11]。仔细比较其 NMR 数据, 发现化合物 **1** 的 C-6', 7' 的化学位移 130.6 (C-7'), 130.4 (C-6') 向低场移, 表明双键位置在 C-6', 7' 位。这一推论也被观测到的 H-3'/C-2', C-4', H-4'/C-2', C-6', H-5'/C-4', C-6', H-7'/C-6', H-8'/C-6' 的 HMBC 相关所证实。¹H-¹H COSY 图谱的信号可以进一步证实分别存在 -CH₂-(CH₂)₁₃-CH₃ 及 -CH-(CH)₄-CH₂-(CH)₂-(CH₂)₉-CH₃ 两个结构片段单独的自旋系统。在 NOE 图谱中, H-3' 分别 H-2', 1', 5' 有相关信号, H-7' 与 H-5', 9' 有相关信号说明 C-3', 4', C-6', 7' 构成的双键均为反式的, 同时 H-2 和 H-1'' 的 NOESY 有相关, 表示它们位于同侧, 说明 1'-CH₂OH 和 2'-OH 为 *R* 构型。在上述分析的基础上, 确定化合物 **1** 的结构为 *N*-(1-羟甲基-2-羟基)-3, 6-二烯-十七烷基-十六脂肪酸酰胺 (*N*[(1-hydroxymethyl)-2-hydroxy-3, 6-heptadecadienyl]-hexadecanamide)。化合物 **1** 的核磁数据及相关详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载 (www.trew.ac.cn)。

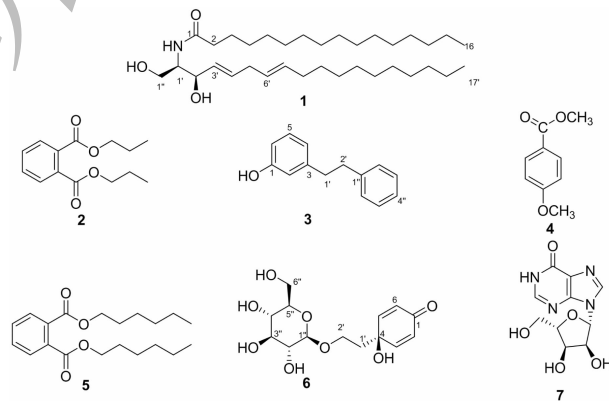


图 1 化合物 1~7 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-7

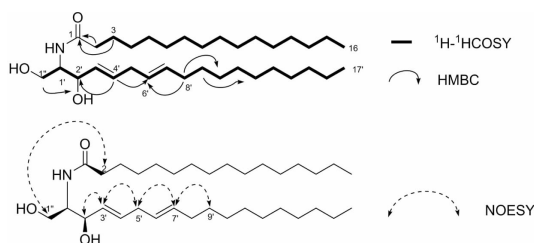


图 2 化合物 **1** 的 ¹H-¹H COSY、NOESY 及 HMBC 主要相关信号

Fig. 2 Key correlations of ¹H-¹H COSY, NOESY and HMBC for Compound **1**

表1 化合物1的¹H、¹³C谱及¹H-¹H COSY和HMBC的主要相关信号Table 1 ¹H, ¹³C NMR data and key ¹H-¹H COSY, HMBC correlations of 1

Position	δ_{H}	δ_{C}	¹ H- ¹ H COSY	HMBC(H→C)
NH	6.26 (1H, d, $J=7.5$ Hz)			
1		174.1		
2	2.23 (2H, t, $J=7.7$ Hz)	37.0	3-H	C-1
3	1.63 (2H, m)	25.9	2-H, 4-H	C-3
4~5	1.34-1.24 (overlapped)	30.9 22.8-29.9	3-H, 4-H, 5-H, 6-H	C-3, C-6
6	2.13 (2H, q, $J=7.2, 6.7$ Hz)	32.5	5-H, 7-H	C-4, C-7
7	2.07 (2H, q, $J=7.2, 6.7$ Hz)	32.3	6-H, 8-H	C-6, C-9
8~9	1.34-1.24 (overlapped)	32.1-32.1	7-H, 8-H, 9-H, 10-H	
10	1.96 (2H, q, $J=7.0$, Hz)	32.8	9-H, 11-H	
11~15	1.34-1.24 (overlapped)	22.8-29.9	10~16-H 之间相互有关联	
16	0.87 (3H, t, $J=6.6$ Hz)	16.5	15-H	
1''	3.95 (1H, dd, $J=11.3, 3.6$ Hz), 3.69 (1H, dd, $J=11.3, 3.6$ Hz)	62.6	1''-H	C-1', C-2'
1'	3.90 (1H, m, H-1')	54.6	1''-H, 2'-H	C-1'', C-2'
2'	4.32 (1H, m, H-2')	74.8	1'-H, 3'-H	C-1', C-3'
3'	5.56 (1H, dt, $J=15.5, 6.6$ Hz)	131.5	2'-H, 4'-H	C-2', C-4'
4'	5.78 (1H, dt, $J=15.5, 6.6$ Hz)	133.7	3'-H, 5'-H	C-2', C-6'
5'	1.34-1.24 (overlapped)	38.3	4'-H, 6'-H	C-4', C-6'
6'	5.38 (1H, dt, $J=15.5, 6.6$ Hz)	129.3	5'-H, 7'-H	C-5', C-7'
7'	5.41 (1H, dt, $J=15.5, 6.6$ Hz)	129.1	6'-H, 8'-H	C-6', C-8'
8'~16'	1.34-1.24 (overlapped)	22.8-29.9	7'~17'-H 之间相互有关联	
17'	0.87 (3H, t, $J=6.6$ Hz)	16.6	16'-H	

化合物2 黄色粉末,溶于甲醇; $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$, ESI-MS: m/z 251 $[\text{M} + \text{H}]^+$; ¹H NMR (600 MHz, MeOD) δ_{H} : 7.73 (2H, dd, $J=6.0, 3.6$ Hz, H-3, 6), 7.62 (2H, dd, $J=6.0, 3.6$ Hz, H-4, 5), 4.07 (2H, t, $J=6.6$ Hz, H-1', 1''), 2.01 (2H, m, H-2', 2''), 0.99 (6H, t, $J=6.6$ Hz, H-3', 3''); ¹³C NMR (150 MHz, MeOD) δ_{C} : 166.8 (CO), 131.9 (C-1, 2), 130.4 (C-4, 5), 129.3 (C-3, 6), 64.9 (C-1', 1''), 31.3 (C-2', 2''), 19.3 (C-3', 3'')。化合物2核磁数据与文献^[12]所报道的邻苯二甲酸二丙酯的核磁数据基本一致,因此该化合物被鉴定为邻苯二甲酸二丙酯 (Dipropyl phthalate)

化合物3 无色结晶,溶于甲醇; $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}$, ESI-MS: m/z 199 $[\text{M} + \text{H}]^+$; ¹H NMR (600 MHz, MeOD) δ_{H} : 7.45 (2H, m, H-3'', 5''), 7.40 (2H, m, H-2'', 6''), 7.34 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-4''), 7.28 (1H, t, $J=1.8$ Hz, H-5), 7.27 (1H, t, $J=2.4$ Hz, H-6),

7.16 (2H, m, H-2, 4), 3.16 (4H, m, H-1', 2'); ¹³C NMR (150 MHz, MeOD) δ_{C} : 156.8 (C-1), 143.9 (C-3), 143.1 (C-1''), 136.6 (C-5), 133.6 (C-3'', 5''), 131.0 (C-2'', 6''), 129.4 (C-4''), 128.9 (C-4), 127.0 (C-2), 121.5 (C-6), 40.7 (C-1'), 33.3 (C-2')。化合物3核磁数据与文献^[13]所报道的3-(2-苯乙基)苯酚的核磁数据基本一致,因此该化合物被鉴定为3-(2-苯乙基)苯酚 (3-(2-phenylethyl) Phenol)。

化合物4 无色结晶,溶于甲醇; $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$, ESI-MS: m/z 166 $[\text{M}]^+$; ¹H NMR (600 MHz, MeOD) δ_{H} : 7.07 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2, 6), 6.71 (2H, m, H-3, 5), 3.66 (3H, s, 4-OCH₃), 3.53 (3H, s, OCH₃); ¹³C NMR (150 MHz, MeOD) δ_{C} : 173.3 (CO), 156.3 (C-4), 130.0 (C-2, 6), 125.0 (C-1), 115.0 (C-3, 5), 55.2 (4-OCH₃), 51.1 (OCH₃)。化合物4核磁数据与文献^[14]所报道的对甲氧基苯甲酸甲酯的核磁数据基本一致,因此该化合物被鉴定为对甲氧基苯甲酸甲

酯 (Methyl ester of *p*-methoxybenzoic acid)。

化合物 5 黄色粉末,溶于氯仿;分子式 $C_{20}H_{30}O_4$,ESI-MS: m/z 335 $[M + H]^+$; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 8.19 (2H, dd, $J = 5.6, 3.6$ Hz, H-3, 6), 7.71 (2H, dd, $J = 5.6, 3.6$ Hz, H-4, 5), 4.22 (4H, m, H-1', 1''), 1.68 (4H, m, H-2', 2''), 1.31 (8H, m, H-3', 4', 3'', 4''), 1.25 (10H, m, H-5', 5''), 0.91 (6H, m, H-6', 6''); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 167.1 (CO), 133.5 (C-4, 5), 131.6 (C-1, 2), 127.5 (C-3, 6), 65.4 (C-1', 1''), 32.6 (C-2', 2''), 31.2 (C-4', 4''), 29.7 (C-3', 3''), 24.5 (C-5', 5''), 15.0 (C-6', 6'')。化合物 5 核磁数据与文献^[15]所报道的邻苯二甲酸二己酯基本一致,因此该化合物被鉴定为邻苯二甲酸二己酯 (Dihexyl phthalate)。

化合物 6 淡黄色粉末,溶于 DMSO;分子式 $C_{14}H_{20}O_8$,ESI-MS: m/z 317.22 $[M + H]^+$; 1H NMR (600 MHz, DMSO) δ_H : 7.03 (2H, $J = 9.0$ Hz, H-3, 5), 6.96 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2, 6), 4.17 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 4.06 (1H, s, H-5''), 3.90-3.78 (2H, m, H-2'', 3''), 3.61-3.45 (4H, m, H-4'', 5'', 6''), 3.05 (2H, m, H-2'), 1.90 (2H, m, H-1'); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO) δ_C : 185.5 (C-1), 153.5 (C-3, 5), 126.5 (C-2, 6), 102.9 (C-1''), 76.9 (C-5''), 76.8 (C-2''), 73.5 (C-4''), 70.1 (C-4), 67.5 (C-2'), 64.0 (C-6''), 42.2 (C-1')。化合物 6 核磁数据与文献^[16]所报道的栝木甙的核磁数据基本一致,因此该化合物被鉴定为栝木甙 (Cornoside)。

化合物 7 白色粉末,溶于 DMSO;分子式 $C_{10}H_{12}N_4O_5$,ESI-MS: m/z 269 $[M + H]^+$; 1H NMR (600 MHz, DMSO) δ_H : 8.29 (1H, s, H-2), 8.04 (1H, s, H-8), 5.85 (1H, d, $J = 6.0$, H-1'), 5.25 (1H, m, 3'-OH), 4.49 (1H, s, H-2'), 4.11 (1H, m, H-3'), 3.94 (1H, m, H-4'), 3.65 (1H, m, H-5'); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO) δ_C : 156.3 (C-6), 148.3 (C-4), 146.9 (C-8), 138.7 (C-2), 124.5 (C-5), 87.6 (C-1'), 85.8 (C-4'), 74.1 (C-2'), 70.4 (C-3'), 61.4 (C-5')。化合物 7 核磁数据与文献^[17]所报道的肌苷的核磁数据基本一致,因此该化合物被鉴定为次黄嘌呤核苷 (Inosine)。

3 抗污损生物附着活性研究

通过测试两种柳珊瑚中的化学成分 1~7 抗藤壶幼虫附着活性发现,除化合物 3,7 外均表现潜在

的抗海洋污损生物藤壶幼虫附着活性,其 EC_{50} 值均低于 25 $\mu g/mL$ (美国海军研究中心认定能做海洋抗污损剂最低标准),且 LC_{50} (半数致死浓度)也均高于 100 $\mu g/mL$ (表 2)。

表 2 化合物 1~7 的抗藤壶幼虫附着活性

Table 2 Anti-larval settlement activity of compounds 1-7 against *B. amphitrite*

化合物 Compound	EC_{50} ($\mu g/mL$)	LC_{50} ($\mu g/mL$)
1	8.72 \pm 0.72	>100
2	12.34 \pm 0.75	>100
3	NA	ND
4	15.33 \pm 0.83	>100
5	18.74 \pm 1.14	>200
6	6.89 \pm 1.22	>100
7	NA	>100

注:NA 表示其 EC_{50} 大于 25 $\mu g mL^{-1}$,无抗污损活性,ND 表示由于化合物质量太少或溶解度太小无法测试。

Note:NA indicated the EC_{50} is more than 25 $\mu g mL^{-1}$,no anti fouling activity,ND indicated the compound quality or solubility is too low to carry out the experiment.

4 结论

通过现代各种分离鉴定方法,从北部湾两种柳珊瑚 *Anthogorgia caerulea* 和 *Menella kanisa* 提取物中共分离鉴定了 7 个化合物,并采用典型海洋污损生物藤壶的幼虫筛选模型,测试了化合物 1~7 的抗海洋污损生物附着能力,发现除化合物 3,7 外均显示出具有开发成海洋抗污剂的潜力 ($EC_{50} < 25 \mu g/mL$),其中以化合物 6 的活性最好,新化合物 1 的活性次之,其抗藤壶幼虫附着 EC_{50} 分别为 6.89, 8.72 $\mu g/mL$ 。

参考文献

- 1 Majik MS, Tilvi S, Mascarenhas S, *et al.* Construction and screening of 2-aryl benzimidazole library identifies a new antifouling and antifungal agent[J]. *RSC Adv*, 2014, 4:28259-28264.
- 2 Qian PY, Xu Y, Fusetani N. Natural products as antifouling compounds: recent progress and future perspectives[J]. *Biofouling*, 2010, 26:223-234.
- 3 Blunt JW, Copp BR, Keyzers RA, *et al.* Marine natural products[J]. *Nat Prod Rep*, 2014, 31:160-258.
- 4 Gao CH, He BJ, Chen YN, *et al.* Two new diterpenoids from the beibu gulf gorgonian *Anthogorgia caerulea* [J]. *Z Naturforsch*, 2014, 69b:116-120.