

องค์ประกอบทางเคมีของฟองน้ำทะเล *Ircinia* sp.

นาย สุวิภาค พีชรประดับ



สถาบันวิทยบริการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2540

ISBN 974 - 638 - 263 - 2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE MARINE SPONGE, *IRCINIA* SP.

Mr. Suwigarn Pedpradoup

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for Degree of Master of Science Program in Marine Science
Department of Marine Science

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 1997

ISBN 974 - 638 - 263 - 2

Thesis Title Chemical constituents of a marine sponge, *Ircinia* sp.

By Mr. Suwigarn Pedpradoup

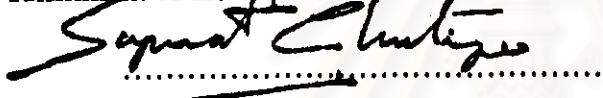
Department Marine Science

Thesis advisor Associate Professor Somkiat Piyatiratitivorakul, Ph.D.

Thesis Co-advisor Mr. Prasat Kittakoop, Ph.D.

" Mr. Khanit Suwanborirux, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in partial
fulfillment of the requirement for the Master's Degree

 Dean of Graduate School

(Professor Supawat Chutivongse, M.D.)

Thesis Committee

 Chairman

(Assistant Professor Suraphol Sudara, Ph.D.)

 Thesis Advisor

(Associate Professor Somkiat Piyatiratitivorakul, Ph.D.)

 Thesis Co-advisor

(Mr. Prasat Kittakoop, Ph.D.)

 Thesis Co-advisor

(Mr. Khanit Suwanborirux, Ph.D.)

 Member

(Assistant Professor Amorn Petsom, Ph.D.)

ศิริภานต์ ตันตระกูล บัณฑุณฑล ยังวิภากร โนราห์ ภูริภานต์ ภูริภานต์ ภูริภานต์

สุวิกาล เพ็ชรประดับ : องค์ประกอบทางเคมีของฟองน้ำทะเล *Ircinia* sp. (CHEMICAL CONSTITUENTS OF A MARINE SPONGE, *Ircinia* sp.) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร. สมเกียรติ ปะชาธิรัชต์ วรกุล, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ดร.ประสาท กิตติคุปต์, ตร.คณิต สุวรรณบริรักษ์, 158 หน้า ISBN 974-638-263-2

จากการแยกสกัดสารควบคู่ไปกับการทดสอบฤทธิ์ในการป่าในน้ำเค็มของสิ่งสกัดในไดคลอโรเมเทนจากฟองน้ำทะเล *Ircinia* sp. สามารถแยกสารในกลุ่ม linear furanoterpenes ได้ 3 ชนิด คือ anhydrofurospongin-1, furodendin และ furospongolide รวมทั้งสารในกลุ่ม methyl scalaranes ได้ 1 ชนิด คือ 22-acetoxy-16 β -hydroxy-24-methyl-24-oxoscalarane-25,12 β -olactone การพิสูจน์เอกสารนี้และการหาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารทั้ง 4 ชนิดนี้ ทำโดยการวิเคราะห์ข้อมูลจากสเปกตรัมของ ir, uv, ms, 1-D nmr และ 2-D nmr ร่วมกับการเปรียบเทียบกับข้อมูลที่เดิมพิมพ์แล้ว เมื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบร่วมสาร anhydrofurospongin-1 มีฤทธิ์ป่าในน้ำเค็มที่ค่า LD₅₀ 2.38 มก./ml. และมีฤทธิ์ปานกลางในการต้านเชื้อ HSV-1 ที่ความเข้มข้น 20 มก./ml ในขณะที่สาร furospongolide มีฤทธิ์ต้านเชื้อ HSV-1 เช่นเดียวกับสาร anhydrofurospongin-1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล
ปีการศึกษา 2540

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา Somkiat Piyathittharak
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

พิมพ์ด้วยบันทึกด้วยวิทยานิพนธ์ภาษาไทยในกรอบสีเขียวเพียงแผ่นเดียว

** C826082 : MAJOR MARINE SCIENCE

KEY WORD: *Ircinia* sp. / SPONGES / MARINE NATURAL PRODUCTS / BRINE SHRIMP

TOXICITY / ANTI HSV-1 ACTIVITY / FURANOTERPENES / METHYL
SCALARANES

SUWIGARN PEDPRADOU : CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE MARINE
SPONGE, *Ircinia* sp. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SOMKIAT

PIYATIRATITIVORAKUL, Ph. D., THESIS CO-ADVISORS : PRASAT

KITTAKOOP, Ph.D., KHANIT SUWANBORIRUX, Ph.D. 158 pp. ISBN 974-
638-263-2

The brine shrimp lethality assay-directed fractionation of the dichloromethane extract from a marine sponge *Ircinia* sp. led to the isolation of 3 linear furanoterpenes including, anhydrofurospongin-1, furodendin, and furospongolide, together with one methyl scalarane, 22-acetoxyl-16 β -hydroxy-24-methyl-24-oxoscalarane-25,12 β -olactone. Structure elucidations of the isolated compounds were executed by extensive analysis of their ir, uv, ms, 1-D nmr and 2-D nmr spectral data, as well as comparison with the literatures. Anhydrofurospongin-1 showed activity in brine shrimp lethality assay at LD₅₀ 2.38 μ g/ml and also showed moderate anti HSV-1 activity at concentration 20 μ g/ml, while furospongolide showed only moderate anti HSV-1 activity at the same concentration.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา..... Marine Science

ลายมือชื่อนิสิต *Suwigarn Pedpradou*

สาขาวิชา..... Marine Science

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *Somkiat Piyatiratitivorakul*

ปีการศึกษา..... 2540

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม *Khunith Suwanborirux*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.. *Lee.. T. S.*



ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to take this opportunity to express my sincere thanks to my thesis advisor, Associate Professor Dr. Somkiat Piyatiratitivorakul for his guidance and encouragement throughout the course of this study.

I am deeply indebted to my thesis co-advisor, Drs. Khanit Suwanborirux and Prasat Kittakop who gave me advice and helpful support to solve the problems which were beyond my knowledge. I am greatly appreciated for his endless support, inspiration and valuable advice.

I am appreciated to Assistant Professor Dr. Rutt Suttisri for his valuable technical suggestions and critical comments for this research. I would also like to thank Assistant Professor Dr. Thitima Pengsuparp for her kindness in anti Herpes Simplex Virus (HSV) activity test. I am appreciated to all staff at the Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences for their kindness and helpful assistance. This research was partially subsidized by Professor Piamsak Menasveta.

My special thanks go to Mr Phudhi Chaychuwong for his helpful assistance on preparation of spicules from marine sponges. I would also like to thank anonymous scientists from the Marine Biotechnology Institute, Japan for collection of samples from Republic of Palau.

Finally, I wish to express my respect to my beloved parents for their understanding and support. Without them, this thesis would not have been completed.

CONTENTS

	Page
ABSTRACT (THAI).....	iv
ABSTRACT (ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF FIGURES	x
LIST OF SCHEMES.....	xv
LIST OF TABLES.....	xvi
ABBREVIATION	xviii
CHAPTER	
I INTRODUCTION	1
II HISTORICAL	7
1 Biology of sponges.....	7
1.1 Taxa and description of a marine sponge, <i>Ircinia</i> sp	8
1.2 Biology of the genus <i>Ircinia</i>	8
2 Chemical constituents of the genus <i>Ircinia</i>	9
3 The linear furanoterpenes	18
3.1 Naturally occurring of linear furanoterpenes	18
3.1.1 The C-21 furanoterpenes	18
3.1.2 The furanosesterterpenes	23

4 Bioactivities of linear furanoterpene	29
4.1 Bioactivities of linear furanoterpenes	29
4.2 Bioactivities of furanosesterterpenes	29
5 The scalarane sesterterpenes	30
5.1 Naturally occurring of scalarane sesterterpenes	31
5.2 Bioactivities of scalarane sesterterpenes from marine sponges.....	35
III MATERIALS AND METHODS	36
1 Source of sample material	36
2 General techniques	38
3 Crystallization technique.....	42
4 Spectroscopy	42
5 Bioactivity determination.....	44
5.1 Brine shrimp lethality activity test.....	44
5.2 Anti hepes simplex virus assay (HSV-test)	47
IV RESULTS AND DISCUSSION	48
1 Isolation of chemical constituents from <i>Ircinia</i> sp.....	48
1.1 Isolation of compound P1	49
1.2 Isolation of compounds P44 and P45	50
1.3 Isolation of compound KP9	53
1.3.1 Acetylation reaction of KP9	53
2 Spectral data of the isolated compounds.....	57

3 Structure elucidation of the isolated compounds.....	60
3.1 Compound P1	60
3.2 Compound P45.....	67
3.3 Compound P44.....	73
3.4 Compound KP9	78
4 Bioactivities of the isolated compounds	88
V CONCLUSION.....	89
REFERENCES	91
APPENDIX	96
VITA.....	158

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF FIGURES

Figure	Page
1. Chemical structures of the isolated compounds from genus <i>Ircinia</i>	14
2. Structures of C-21 furanoterpenes isolated from marine sponges	20
3. Structures furano sesterterpenes isolated from marine sponge.....	25
4. Structures of scalarane sesterterpenes isolated from marine sponges.....	33
5. Spicules of <i>Ircinia</i> sp.....	37
6. The electron impact mass spectrum of compound 1.....	97
7. The IR spectrum of compound P1	98
8. The UV spectrum of compound P1	99
9. The 300 MHz ¹ H nmr spectrum of compound P1 (in CDCl ₃)	100
10. The 300 MHz ¹ H nmr spectrum of compound P1 (in CDCl ₃) (expanded from 1.6-2.8 ppm).....	101
11. The 75 MHz ¹³ C nmr spectrum of compound P1 (in CDCl ₃).....	102
12. The 75 MHz DEPT 135 spectrum of compound P1 (in CDCl ₃).....	103
13. The 300 MHz HETCOR spectrum of compound P1 (in CDCl ₃)	104
14. The 300 MHz HETCOR spectrum of compound P1 (in CDCl ₃) (expanded from 10-40 ppm)	105
15. The 300 MHz COSY 45 spectrum of compound P1 (in CDCl ₃)	106

16. The 300 MHz COSY 45 spectrum of compound P1 (in CDCl ₃) (expanded from 0.5-2.5 ppm)	107
17. The 300 MHz COSY 45 spectrum of compound P1 (in CDCl ₃) (expanded from 5.0-7.0 ppm).	108
18. The 300 MHz COLOC spectrum of compound P1 (in CDCl ₃)	109
19. The 300 MHz COLOC spectrum of compound P1 (in CDCl ₃) (expanded from 10-40 ppm).	110
20. The 300 MHz COLOC spectrum of compound P1 (in CDCl ₃) (expanded from 110-150 ppm).	111
21. The 300 MHz COLOC spectrum of compound P1 (in CDCl ₃) (expanded from 110-140 ppm).....	112
22. The 300 MHz COLOC spectrum of compound P1 (in CDCl ₃) (expanded from 10-40 ppm).....	113
23. The electron impact mass spectrum of Compound P44	114
24. The IR spectrum of compound P44	115
25. The UV spectrum of compound P44	116
26. The 300 MHz ¹ H nmr spectrum of compound P44 (in CDCl ₃).....	117
27. The 300 MHz ¹ H nmr spectrum of compound P44 (in CDCl ₃) (expanded from 1.2-2.5 and 4.6-5.2 ppm)	118
28. The 75 MHz ¹³ C nmr spectrum of compound P44 (in CDCl ₃).....	119
29. The 75 MHz DEPT 135 spectrum of Compound P44 (in CDCl ₃).....	120
30. The 300 MHz HETCOR spectrum of compound P44 (in CDCl ₃)	121

31. The 300 MHz HETCOR spectrum of compound P44 (in CDCl ₃) (expanded from 14-42 ppm)	122
32. The 300 MHz COSY 45 spectrum of compound P44 (in CDCl ₃)	123
33. The electron impact mass spectrum of compound P45 (in CDCl ₃).....	124
34. The IR spectrum of compounded P45	125
35. The UV spectrum of compound P45	126
36. The 300 MHz ¹ H nmr spectrum of compound P45 (in CDCl ₃)	127
37. The 300 MHz ¹ H nmr spectrum of compound P45 (in CDCl ₃) (expanded from 1.6-2.7 and 4.5-5.3 ppm)	128
38. The 75 MHz ¹³ C nmr spectrum of compound 45 (in CDCl ₃)	129
39. The 75 MHz DEPT spectrum of compound P45 (in CDCl ₃)	130
40. The 300 MHz HETCOR spectrum of compound P45 (in CDCl ₃)	131
41. The 300 MHz HETCOR spectrum of compound P45 (in CDCl ₃) (expanded from 10-45 ppm)	132
42. The 300 MHz COLOC spectrum of compound P45 (in CDCl ₃)	133
43. The 300 MHz COLOC spectrum of compound P45 (in CDCl ₃) (expanded from 5-50 ppm)	134
44. The 300 MHz COLOC spectrum of compound P45 (in CDCl ₃) (expanded from 160-185 ppm).....	135
45. The 300 MHz COSY 45 spectrum of compound P45 (in CDCl ₃).....	136
46. The electron impact mass spectrum of compound KP9.....	137
47. The IR spectrum of compound KP9	138
48. The UV spectrum of compound KP9	139

49. The 300 MHz ^1H nmr spectrum of compound KP9 (in CDCl_3)	140
50. The 300 MHz ^1H nmr spectrum of compound KP9 (in CDCl_3) (expanded from 2.8-4.7 ppm)	141
51. The 300 MHz ^1H nmr spectrum of compound KP9 (in CDCl_3) (expanded from 0.7-2.5 ppm)	142
52. The 75 MHz ^{13}C nmr spectrum of compound KP9 (in CDCl_3)	143
53. The 75 MHz DEPT 135 spectrum of compound KP9 (in CDCl_3)	144
54. The 500 MHz HSQC spectrum of compound KP9 (in CDCl_3)	145
55. The 500 MHz HSQC spectrum of compound KP9 (in CDCl_3) (expanded from 10-100 ppm)	146
56. The 500 MHz HSQC spectrum of compound KP9 (in CDCl_3) (expanded from 10-70 ppm)	147
57. The 500 MHz HSQC spectrum of compound KP9 (in CDCl_3) (expanded from 32-42 ppm)	148
58. The 500 MHz HMBC ($J = 8 \text{ Hz}$) of compound KP9 (in CDCl_3)	149
59. The 500 MHz HMBC ($J = 8 \text{ Hz}$) of compound KP9 (in CDCl_3) (expanded from 15-45 ppm)	150
60. The 500 MHz HMBC ($J = 8 \text{ Hz}$) of compound KP9 (in CDCl_3) (expanded from 20-90 ppm)	151
61. The 500 MHz HMBC ($J = 8 \text{ Hz}$) of compound KP9 (in CDCl_3) (expanded from 30-90 ppm)	152
62. The 500 MHz HMBC ($J = 8 \text{ Hz}$) of compound KP9 (in CDCl_3) (expanded from 60-90 ppm)	153

63. The 500 MHz HMBC ($J = 8$ Hz) of compound KP9 (in CDCl_3) (expanded from expanded 170-210 ppm).	154
64. The COSY 45 spectrum of compound KP9.	155
65. The COSY 45 spectrum of compound KP9 (expanded from 1.2-2.7ppm) ..	156
66. The 300 MHz ^1H nmr spectrum of acetylation product of compound KP9 (in CDCl_3)	157

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF SCHEMES

Scheme	Page
1. Brine shrimp lethality test at the concentration 1,000, 100 and 10 $\mu\text{g/ml}$	46
2. Isolation and purification of chemical constituents from <i>Ircinia</i> sp.	55

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Table	Page
1 List of C-21 furanoterpenes from the marine sponges	19
2 List of furanosesterterpenes from marine sponge	24
3 List of scalarane sesterterpenes from marine sponges.....	32
4 Isolation of compound P1 and P4	49
5 Purification of P2 with gel filtration on Sephadex LH-20.....	50
6 Purification of P16 with gel filtration on Sephadex LH-20	51
7 Purification of P34 by a silica gel flash column.....	52
8 ^1H -NMR, ^{13}C -NMR and C-H long range correlation data of compound P1	63
9 ^1H - ^1H COSY correlation of compound P1	64
10 ^1H -NMR, ^{13}C -NMR with ^1H - ^1H COSY and COLOC correlations of atoms in a molecule of compound P45.....	71
11 The comparative of ^1H -NMR and ^{13}C -NMR between compound P45 and furospongolide.....	72
12 Chemical shift of ^1H , ^{13}C -NMR and ^1H - ^1H COSY of compound P44	76
13 The comparison of ^{13}C and ^1H - NMR data between P44 and furodendin	77
14 Chemical shift of ^1H and ^{13}C -NMR of compoun KP9	84
15 ^1H - ^1H correlation of compound KP9	85

16 HMBC correlation of KP9	86
17 Comparison of chemical shift of ^{13}C and $^1\text{H-NMR}$ data between compound KP9 known compound	87

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ABBREVIATIONS

br	= broad
c	= concentration
°C	= degree celsius
¹³ C	= carbon -13
CDCl ₃	= deuterated chloroform
CH ₂ Cl ₂	= dichloromethane
CHCl ₃	= chloroform
cm	= centimeter
COLOC	= Correlation spectroscopy via Long- range Coupling.
COSY	= Correlation spectroscopy
δ	= chemical shift
dd	= doublet of doublets
d	= doublet
ε	= molar absorptivity
eV	= electron volt
g	= gram
HETCOR	= heteronuclear shift correlation spectroscopy.
¹ H nmr	= proton

HMBC	= proton detected heteronuclear multiple bond coherence
HSQC	= proton detected high sensitive quantum coherence
Hz	= hertz
ID ₅₀	= 50% inhibition dose
IR	= infrared
J	= coupling constant
kg	= kilogram
λ _{max}	= wavelength at maxima absorption
LD ₅₀	= 50% lethal dose
M ⁺	= molecular ion
MeOH	= methanol
MHz	= megahertz
μg	= microgram
m	= multiplet
ml	= milliliter
mm	= millimeter
MS	= mass spectrum
ν _{max}	= wave number at maximum absorption
nmr	= nuclear magnetic resonance
p	= pentet
ppm	= part per million
q	= quartet
s	= singlet

sp.	= species
t	= triplet
TLC	= thin layer chromatography
uv	= ultraviolet



สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย