

## 豆莢软珊瑚 *Lobophyton* sp. 中的次生代谢产物研究\*

刘 虹, 苏镜媛, 曾陇梅

(中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

**摘 要:** 从中国海南岛三亚附近海域采集的软珊瑚 *Lobophyton* sp. 中分离得 3 个甾类生物活性物质。通过近代波谱方法, 鉴定出他们的结构分别为柳珊瑚甾醇, 24-亚甲基胆甾-4-烯-3 $\beta$ , 6 $\beta$ -二醇, 24-亚甲基胆甾-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -三醇。柳珊瑚甾醇具有抗心律失常、减慢心率等活性; 24-亚甲基胆甾-4-烯-3 $\beta$ , 6 $\beta$ -二醇具有强细胞毒活性。

**关键词:** 豆莢软珊瑚; 柳珊瑚甾醇; 24-亚甲基胆甾-4-烯-3 $\beta$ , 6 $\beta$ -二醇; 24-亚甲基胆甾-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -三醇

**中图分类号:** O629.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2004) 01-0122-03

软珊瑚属腔肠动物门, 珊瑚纲中八方珊瑚亚纲的软珊瑚目, 是热带和亚热带海洋中常见的海洋生物。软珊瑚中含有各种结构类型的生物活性物质, 是天然药物的重要源泉。本文对采自海南三亚附近海域的软珊瑚 *Lobophyton* sp. 的次生代谢产物进行了研究, 从中分离得 3 个生理活性甾类化合物。经波谱分析鉴定出他们的结构分别为柳珊瑚甾醇 (1), 24-亚甲基胆甾-4-烯-3 $\beta$ , 6 $\beta$ -二醇 (2), 24-亚甲基胆甾-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -三醇 (3)。

### 1 实验部分

**1.1 仪器与试剂** 熔点由 5X-北京电子仪器厂显微熔点仪测定; 红外光谱由 EQUINOX-55 型红外光谱仪测定; 核磁共振谱由 VARIAN UNITY INOVA-500 核磁共振仪测定,  $^1\text{H}$  NMR 和  $^{13}\text{C}$  NMR 的工作频率分别为 500 MHz 和 125 MHz, TMS 做内标; 质谱用 VG-ZAB-HS 质谱仪测定; 层析硅胶 (200 ~ 300  $\mu\text{m}$ ) 和硅胶 H (10 ~ 14  $\mu\text{m}$ ) 是青岛海洋化工厂产品; 其它试剂为广州化学试剂厂产品, 均为分析纯试剂。层析用石油醚为 60 ~ 90  $^{\circ}\text{C}$ 。

**1.2 实验生物材料** 试验用软珊瑚 *Lobophyton* sp. 于 2000 年 5 月采自中国海南岛三亚附近海域, 由中科院海洋研究所唐质灿教授进行生物分类鉴定。标本存放于中山大学化学与化学工程学院天然有机化学研究室。

**1.3 提取与分离** 将软珊瑚 (干质量 1 350 g) 切碎, 用  $\varphi = 95\%$  乙醇浸提 5 次, 合并浸提液, 减压浓缩, 得棕褐色浸膏。加入  $\varphi = 50\%$  甲醇 300 mL, 加热使浸膏充分溶解, 冷却至室温后, 先后用石油醚和 EtOAc 分别萃取。合并石油醚提取液, 以少量

水洗涤 3 次, 减压下除去溶剂, 得 75 g 褐色膏状物。将乙酸乙酯萃取合并后以少量水洗涤 3 次, 减压浓缩, 得 15 g 褐色膏状物。石油醚粗提取物在 200 ~ 300 目硅胶上进行减压层析, 用石油醚/乙酸乙酯体系梯度洗脱, 用 TLC 跟踪。从  $\varphi = 10\%$  乙酸乙酯、 $\varphi = 40\%$  乙酸乙酯和  $\varphi = 50\%$  乙酸乙酯洗脱液中分别得化合物 1、2 和 3 的粗产物。将粗产物 1 在硅胶柱上进行快速层析, 从乙酸乙酯/石油醚 ( $V/V = 1/9$ ) 洗脱液得柳珊瑚甾醇 (1) (25 mg)。将粗产物 2 在硅胶柱上进行快速层析, 从乙酸乙酯/石油醚 ( $V/V = 2/3$ ) 洗脱液得 24-亚甲基胆甾-4-烯-3 $\beta$ , 6 $\beta$ -二醇 (2) (15 mg)。将粗产物 3 在硅胶柱上进行快速层析, 从乙酸乙酯/石油醚 ( $V/V = 1/1$ ) 洗脱液得 24-亚甲基胆甾-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -三醇 (3) (17 mg)。

### 1.4 物理常数和波谱数据

化合物 (1) 无色针状结晶,  $\theta_{\text{mp}}$  185 ~ 186  $^{\circ}\text{C}$  (丙酮);

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.37 (1H, d,  $J = 6.5$  Hz, H-6), 3.54 (1H, m, H-3), 1.54 (1H, brs, exchangeable), 1.01 (3H, s, M-19), 1.02 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz, H-21), 0.95 (2 $\times$ 3H, d,  $J = 6.5$  Hz, M-26, Me-27), 0.91 (3H, s, Me-29), 0.87 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz, Me-28), 0.68 (3H, s, Me-18), 0.45 (1H, dd,  $J = 9.0, 4.5$  Hz), 0.25 (1H, m, H-30a), 0.18 (1H, m, H-22), -0.12 (1H, dd,  $J = 6.0, 4.5$  Hz, 30b);

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 37.2 (C-1), 31.7 (C-2), 71.7 (C-3), 42.7 (C-4), 140.9 (C-5), 121.7

\* 收稿日期: 2003-12-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (29932030)

作者简介: 刘虹 (1977 年生), 女, 硕士, 现在广州市东山区疾病预防控制中心工作; 通讯联系人: 曾陇梅;

E-mail: ceszlm@zsu.edu.cn

(C-6), 32.0 (C-7), 32.0 (C-8), 50.2 (C-9), 36.5 (C-10), 21.2 (C-11), 39.9 (C-12), 42.8 (C-13), 56.6 (C-14), 24.6 (C-15), 28.2 (C-16), 57.9 (C-17), 12.0 (C-18), 19.4 (C-19), 35.2 (C-20), 22.2 (C-21), 32.2 (C-22), 23.9 (C-23), 50.8 (C-24), 32.7 (C-25), 22.6 (C-26), 21.5 (C-27), 14.3 (C-28), 15.4 (C-29), 21.2 (C-30)。

化合物(2)无色针状结晶,  $\theta_{mp}$  236 ~ 237 °C (丙酮);

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )  $\delta$ : 6.01 (1H, brs), 4.87 (1H, brs), 4.86 (1H, brs), 4.58 (1H, m), 4.55 (1H, m), 1.56 (3H, s), 1.08 (3H, d,  $J = 5.0$  Hz) 1.07 (3H, d,  $J = 5.0$  Hz), 1.00 (3H, d,  $J = 4.0$  Hz), 0.73 (3H, s)。

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )  $\delta$ : 37.7 (t, C-1), 30.2 (t, C-2), 67.5 (d, C-3), 130.0 (d, C-4), 147.2 (s, C-5), 73.7 (d, C-6), 40.2 (t, C-7), 31.0 (d, C-8), 55.0 (d, C-9), 37.3 (s, C-10), 21.4 (t, C-11), 40.7 (t, C-12), 42.8 (s, C-13), 56.4 (d, C-14), 24.6 (t, C-15), 28.5 (t, C-16), 56.5 (d, C-17), 12.2 (q, C-18), 21.7 (q, C-19), 36.0 (d, C-20), 18.9 (q, C-21), 35.0 (t, C-22), 31.3 (t, C-23), 156.8 (s, C-24), 34.1 (d, C-25), 22.0 (q, C-26), 22.2 (q, C-27), 106.7 (t, C-28)。

化合物(3)无色针状结晶,  $\theta_{mp}$  248 ~ 250 °C (丙酮);

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 4.71, 4.65 (2H, brs), 4.10 (1H, m), 3.54 (1H, brs), 1.18 (3H, s), 1.03 (3H, d,  $J = 4.0$  Hz), 1.01 (3H, d,  $J = 4.0$  Hz), 0.94 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz), 0.68 (3H, s);

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 31.6 (t, C-1), 32.4 (t, C-2), 67.4 (d, C-3), 40.8 (t, C-4), 76.8 (s, C-5), 76.8 (d, C-6), 34.7 (t, C-7), 29.6 (d, C-8), 45.9 (d, C-9), 38.3 (s, C-10), 21.2 (t, C-11), 39.9 (t, C-12), 42.8 (s, C-13), 56.1 (d, C-14), 24.2 (t, C-15), 28.2 (t, C-16), 56.1 (d, C-17), 12.2 (q, C-18), 16.9 (q, C-19), 35.8 (d, C-20), 18.7 (q, C-21), 34.6 (t, C-22), 30.9 (t, C-23), 157.2 (s, C-24), 33.8 (d, C-25), 21.9 (q, C-26), 22.0 (q, C-27), 106.0 (t, C-28)。

## 2 结果与讨论

2.1 柳珊瑚甾醇(1) 化合物1为无色针状结,  $\theta_{mp}$  185 ~ 186 °C (丙酮); EIMS  $m/z$  426 [ $(\text{M})^+$ ,

60%];

$^{13}\text{C}$  NMR DEPT 谱显示分别为 7 个  $\text{CH}_3$ , 9 个  $\text{CH}_2$ , 10CH (其中  $\delta_c$  71.7 属连氧 CH) 和 4 个季碳, 推定其分子式为  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ , 不饱和度  $U = 6$ 。

化合物1对 Liebermann-Burchard 试验显示甾醇的特征颜色反应, 表明1属甾醇类化合物。 $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 显示1含有1个仲羟基 [ $\delta_c$  71.7 (d);  $\delta_H$  3.54 (1H, m), 1.54 (1H, brs, exchangeable)] 和1个三取代双键 [ $\delta_c$  140.9 (s), 121.7 (d);  $\delta_H$  5.37 (1H, d,  $J = 6.5$  Hz)]。另外, $^1\text{H}$  NMR 谱中的3个高场质子信号  $\delta_H$  0.25 (1H, m), 0.18 (1H, m) 和 -0.12 (1H, m) 是甾醇的支链上含有三元环的特征。

根据以上分析推测1可能是柳珊瑚甾醇。将1的 $^{13}\text{C}$  NMR 和熔点数据与文献中柳珊瑚甾醇的对照<sup>[1]</sup>, 二者一致, 鉴定1为柳珊瑚甾醇。

生理活性试验显示: 柳珊瑚甾醇具有明显的抗心律失常和减慢心率等作用, 有望开发成心血管疾病药物<sup>[2]</sup>。

2.2 24-亚甲基-胆甾-4-烯-3 $\beta$ , 6 $\beta$ -二醇(2) 化合物2为无色针状结,  $\theta_{mp}$  236 ~ 237 °C (甲醇); Liebermann-Burchard 试验显甾醇的特征颜色反应; EIMS  $m/z$  414 ( $\text{M})^+$  和  $^{13}\text{C}$  NMR DEPT 显示分子中含有5个  $\text{CH}_3$ , 10个  $\text{CH}_2$ , 9个 CH (其中2个为连氧碳, 即 CHO) 和4个季碳, 可推知2的分子式为  $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_2$ 。 $^1\text{H}$  和  $^{13}\text{C}$  NMR 显示2含有1个末端双键 [ $\delta_c$  106.7 (t), 156.8 (s);  $\delta_H$  4.87 (1H, brs), 4.86 (1H, brs)]; 1个三取代双键 [ $\delta_c$  130.0 (d), 147.2 (s);  $\delta_H$  6.01 (1H, brs)]; 2个仲羟基 [ $\delta_c$  73.7 (d), 67.5 (d);  $\delta_H$  4.58 (1H, m), 4.55 (1H, m)] 和5个  $\text{CH}_3$  [ $\delta_H$  1.56 (3H, s), 1.08 (3H, s), 1.07 (6H, d,  $J = 5.0$  Hz), 1.00 (3H, d,  $J = 4.0$  Hz), 0.73 (3H, s)]。2的熔点和 $^{13}\text{C}$  NMR 数据与文献中24-亚甲基-胆甾-4-烯-3 $\beta$ , 6 $\beta$ -二醇<sup>[3]</sup>的一致, 鉴定2为24-亚甲基-胆甾-4-烯-3 $\beta$ , 6 $\beta$ -二醇。

生理活性试验显示: 24-亚甲基胆甾-4-烯-3 $\beta$ , 6 $\beta$ -二醇对白血病细胞 P-388 有显著细胞毒活性,  $\text{IC}_{50}$  值为 1.0  $\mu\text{g/mL}$ 。

2.3 24-亚甲基-胆甾-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -三醇(3) 化合物3为无色针状结晶,  $\theta_{mp}$  248 ~ 250 °C (丙酮); FABMS 测定得相对分子质量为 432 [ $m/z$  433 ( $\text{M} + 1)^+$ ];  $^{13}\text{C}$  NMR 谱有28个碳信号, DEPT 谱进一步表明分子中有5个  $\text{CH}_3$ , 11个  $\text{CH}_2$ , 8个 CH [其中2个 CH ( $\delta_c$  76.8, d; 67.4, d) 与氧连接], 3个

季碳[其中 1 个季碳( $\delta_c$  76.8, s) 与氧连接], 根据以上分析结果, 可推定出 **3** 的分子式为  $C_{28}H_{48}O_3$ , 不饱和度  $U=5$ 。Liebermann-Burchard 试验显示甾醇的特征颜色反应, 提示 **3** 可能是甾醇类化合物。 $^1H$  NMR 显示 **1** 除含有甾醇的 18- $CH_3$  ( $\delta_H$  0.68, 3H, s) 和 19- $CH_3$  ( $\delta_H$  1.18, 3H, s) 外, 还含有甾醇支链上常见的 21- $CH_3$  ( $\delta_H$  0.94, 3H, d,  $J=6.5$  Hz), 26- $CH_3$  ( $\delta_H$  1.03, 3H, d,  $J=7.0$  Hz) 和 27- $CH_3$  ( $\delta_H$  1.01, 3H, d,  $J=7.0$  Hz)。另外, **1** 的 $^1H$ ,  $^{13}C$  NMR 还显示其分子中含有 1 个末端双键 [ $\delta_H$  4.71 (1H, brs), 4.65 (1H, brs);  $\delta_c$  106.0 (t), 156.7 (s)]; 2 个仲羟基 [ $\delta_c$  76.8 (d), 67.4 (d);  $\delta_H$  4.10 (1H, m), 3.54 (1H, brs)] 和 1 个叔羟基 [ $\delta_c$  76.8 (s)]。MS 中的两组关键的碎片峰:  $m/z$  305, 287, 269 和  $m/z$  247, 229, 211 也支持 **3** 含有 3 个羟基<sup>[4,5]</sup>。将 **3** 的 $^{13}C$  NMR 波谱数据与文献中 24-亚甲基胆甾-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -三醇<sup>[6]</sup>的对照, 两者一致, 鉴定 **3** 的结构为 24-亚甲基胆甾-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -三醇。

#### 参考文献:

- [1] HALE R L. Demonstration of biogenetically unprecedented side chain in the marine sterol, gorgosterol[J]. J Am Chem Soc, 1970, 92: 2179–2180.
- [2] FANG Z S, LIU X J, ZHONG H M. The extraction of gorgosterol and its pharmacological activities in the cardiovascular system[J]. Zhongguo Haiyang Yaowu, 1989, 8 (3):10.
- [3] ZENG L M, LI X Q, SU J Y. A new cytotoxic dihydroxy sterol from the *Alcyonim Patagonium*[J]. J Nat Prod, 1995, 5 (2): 296.
- [4] KOBAYASHI M, ANEJANEYULU V, NEGESWARA R K, (24S)-24-methylcholest-4-ene-3 $\beta$ , 6 $\beta$ -diol from a gorgonian (*Rumphella aggregata*) of the Andaman and Nicobar Island [J]. India J Chem, 1995, 34B:78–80.
- [5] MOLDOWAN J M, TAN W L. 24 $\xi$ -methylcholestane-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ , 12 $\beta$ , 25-pentol-25-monoacetate, A Novel hydroxygenated marine sterol[J]. Steroids, 1975, 26:107–126.
- [6] DJERASSI C. Application of mass spectrometry in the steroid field[J]. Pure Appl Chem, 1970, 21: 205–225.

## Studies on the Secondary Metabolites of the Soft Coral *Lobophyton* sp.

LIU Hong, SU Jing-yu, ZENG Long-mei

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

**Abstract:** Three biologically active substances have been isolated from the soft coral *Lobophyton* sp. collected from Sanya bay, Hainan Island. On the basis of the spectroscopic methods, their structures were identified as gorgosterol, 24-methylene-cholest-4-en-3 $\beta$ , 6 $\beta$ -diol and 24-methylene-cholest-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -triol. Bioassay showed that gorgosterol had anti-arrhythmia activity and 24-methylene-cholest-4-en-3 $\beta$ , 6 $\beta$ -diol exhibited potent cytotoxicity toward P-388 tumor cell lines.

**Key words:** *Lobophyton* sp.; gorgosterol; 24-methylene-cholest-4-en-3 $\beta$ , 6 $\beta$ -diol; 24-methylene-cholest-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -triol