

一步法合成活性多羟基甾醇^{*}

李厚金, 陈意光, 林永成

(中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 以麦角甾醇为原料, KMnO_4 为氧化剂, 一步法氧化反应得到活性四羟基麦角甾醇 ergosta-8(9), 22-diene-3, 5, 6, 7-tetrol (3β , 5α , 6α , 7α , 22*E*) 和 ergosta-8(14), 22-diene-3, 5, 6, 7-tetrol (3β , 5α , 6α , 7α , 22*E*), 该反应操作和分离纯化工艺简单, 产率高, 具有进一步的研究与应用前景。

关键词: 多羟基甾醇; ergosta-8(9), 22-diene-3, 5, 6, 7-tetrol (3β , 5α , 6α , 7α , 22*E*); ergosta-8(14), 22-diene-3, 5, 6, 7-tetrol (3β , 5α , 6α , 7α , 22*E*); 合成; 生理活性

中图分类号: O624.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2004) 03-0126-03

甾醇是一类重要的化合物, 在自然界, 动物和植物的体内广泛存在。很多甾醇具有独特的生理作用, 特别是具有较强的抗癌活性。上个世纪, 尤其是 90 年代以后, 在海洋天然产物的研究中发现了一批结构新颖的活性多羟基甾醇和多羟基甾醇硫酸酯等, 引起了有机化学家、医药学家广泛关注。

从 *Castaniopsis fissa* (chestnut tree) 树叶中分离的内生真菌的菌体中分离得到四羟基麦角甾醇 ergosta-8(9), 22-diene-3, 5, 6, 7-tetrol (3β , 5α , 6β , 7α , 22*E*), 它具有意义的抗肿瘤活性, 对 Bel-7402, NCI-4460 和 L-02 的 IC_{50} 值分别为 8.445, 5.030 和 13.621 $\mu\text{g/mL}$ ^[1]。由于该真菌不产孢子, 真菌种属暂时还未鉴定, 菌种保藏于中山大学化学与化学工程学院天然产物研究室和中国典型培养物保藏中心 (CCTCC, 保藏号为 CCTCC No. M202030)。在该真菌的菌体中, 还分离得到麦角甾醇 (ergosterol), 三羟基麦角甾醇 (3β , 5α , 6β trihydroxyergosta-7, 22-diene) 和 5, 8 位过氧化麦角甾醇 (3β hydroxy- 5α , 8α -epidioxyergosta-6, 22-diene)。研究发现, 麦角甾醇在海洋真菌的菌体中普遍存在, 1998 年, Watson 等报道了麦角甾醇在酵母应激反应中的作用, 结果表明, 细胞中麦角甾醇的含量较高, 细胞耐热和耐乙醇的能力就越强^[2-4]。

本文报道以麦角甾醇为原料, 以 KMnO_4 为氧化剂, 一步法氧化反应得到多羟基甾醇, 产物包括: 三羟基麦角甾醇 3β , 5α , 6α trihydroxyergosta-7, 22-diene, 活性四羟基麦角甾醇 ergosta-8(9), 22-diene-3, 5, 6, 7-tetrol (3β , 5α , 6α , 7α , 22*E*); ergosta-8

(14), 22-diene-3, 5, 6, 7-tetrol (3β , 5α , 6α , 7α , 22*E*)。反应转化率大于 90%。

1 实验部分

1.1 反应原料 麦角甾醇, 购于 Sigma 公司; KMnO_4 , 广州化学试剂厂, 分析纯; 叔丁醇, 上海凌峰化学试剂有限公司永华特种化学试剂厂, 化学纯。

1.2 反应操作 396 mg 麦角甾醇 (0.001 mol) 溶于 20 mL 叔丁醇中, 回流搅拌。1.5 g KMnO_4 (0.009 5 mol) 溶于 20 mL 蒸馏水中, 滴加反应。加完后继续回流反应 0.5 h。反应完毕, 蒸除叔丁醇, 残余物用 30 mL 乙酸乙酯提取 3 次, 合并浓缩, 得到反应总产物。

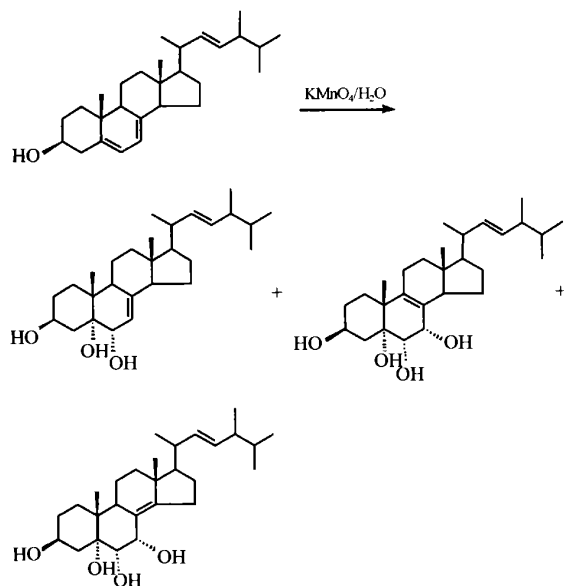
1.3 产物提取与分离 反应提取物拌样过柱, 以石油醚/乙酸乙酯 (体积比为 3:1) 洗脱收集得到未反应的原料 (20 mg), 然后以乙酸乙酯/甲醇 (体积比为 10:1) 洗脱, 先后收集得到三羟基麦角甾醇 (45 mg, 转化率 10.4%) 和四羟基麦角甾醇 (366 mg, 81.9%)。三羟基麦角甾醇, 在薄层层析中, 以乙酸乙酯为展开剂, R_f 值约为 0.5; 以氯仿/甲醇 (体积比为 8:1) 展开, R_f 值约为 0.7。四羟基麦角甾醇 ergosta-8(9), 22-diene-3, 5, 6, 7-tetrol (3β , 5α , 6α , 7α , 22*E*) 和 ergosta-8(14), 22-diene-3, 5, 6, 7-tetrol (3β , 5α , 6α , 7α , 22*E*) 在极性上没有差别, 因此, 它们以混合物的形式分离。在薄层层析中, 以乙酸乙酯为展开剂, R_f 值约为 0.4; 以氯仿/甲醇 (体积比为 8:1) 展开, R_f 值约为 0.5, 以 I_2 显色, 斑点

* 收稿日期: 2004-03-23

基金项目: 国家科委 863 基金资助项目 (2001AA624010); 中山大学青年教师科研启动基金资助项目 (31110-1131037); 中山大学化学与化学工程学院创新实验基金资助项目

作者简介: 李厚金 (1974 年生), 男, 讲师, 博士; 通讯联系人: 林永成; E-mail: ceslyc@zsu.edu.cn

均匀。



2 实验结果

2.1 化合物的波谱数据

3 β , 5 α , 6 α trihydroxyergosta-7, 22 diene: 针状固体; FAB MS m/z : 413[$M+1-H_2O$]⁺, 395, 377, 341, 269, 251, 227, 183, 69.

IR ν/cm^{-1} (KBr): 3 610, 3 442, 2 956, 2 870, 1 657, 1 457, 1 381, 1 310, 1 256, 1 163, 1 107, 1 030, 969, 938, 867.

¹³C NMR (DMSO- d_6 , TMS): 139.5 (C), 135.2 (CH), 131.3 (CH), 119.3 (CH), 74.4 (C), 72.0 (CH), 65.9 (CH), 55.3 (CH), 54.1 (CH), 42.9 (C), 42.2 (CH), 41.9 (CH), 40.1 (CH₂), 39.8 (CH), 38.9 (CH₂), 36.6 (C), 32.4 (CH), 32.4 (CH₂), 31.1 (CH₂), 27.5 (CH₂), 22.5 (CH₂), 21.2 (CH₂), 20.8 (CH₃), 19.6 (CH₃), 19.3 (CH₃), 17.5 (CH₃), 17.2 (CH₃), 11.9 (CH₃).

¹H NMR (DMSO- d_6 , TMS): 5.25 (1H), 5.19 (1H), 5.10 (1H), 3.78 (m, 1H), 3.37 (1H), 1.84 ~ 2.01 (m), 1.60 (2H), 1.45 ~ 1.50 (m), 1.24 ~ 1.28 (m), 1.1 (d, 6.5, 3H), 0.9 (s, 3H), 0.89 (d, 6.5, 3H), 0.82 (d, 6.5, 3H), 0.80 (d, 6.5, 3H), 0.55 (s, 3H).

Ergosta 8(9), 22 diene-3, 5, 6, 7 tetrol (3 β , 5 α , 6 α , 7 α , 22 E)和 ergosta 8(14), 22 diene-3, 5, 6, 7 tetrol (3 β , 5 α , 6 α , 7 α , 22 E): 薄片状白色固体。

IR ν/cm^{-1} (KBr): 3 423, 2 959, 2 872, 1 668, 1 634, 1 461, 1 378, 1 276, 1 158, 1 067, 969, 915, 878, 805, 733.

APCI MS m/z : 429[$M+H_2O$]⁺, 411[$M+2H_2O$]⁺.

+H]⁺, 393[$M-3H_2O+H$], 375[$M-4H_2O+H$], 267, 251, 187, 171, 131, 105.

¹³C NMR (Acetone- d_6 , TMS): 149.8 (C), 138.8 (C), 136.8 (CH), 136.5 (CH), 133.1 (CH), 132.9 (CH), 130.6 (C), 128.7 (C), 79.7 (C), 78.7 (C), 72.2 (CH), 71.1 (CH), 69.9 (CH), 69.3 (CH), 66.8 (CH), 66.7 (CH), 57.6 (CH), 55.6 (CH), 50.9 (CH), 43.9 (CH), 41.4 (CH), 39.9 (CH), 39.6 (CH₂), 38.0 (CH₂), 37.9 (CH₂), 37.5 (CH), 37.3 (CH₂), 33.9 (CH), 32.2 (CH₂), 32.0 (CH₂), 31.7 (CH₂), 30.8 (CH₂), 29.7 (CH₂), 28.2 (CH₂), 25.6 (CH₂), 24.3 (CH₂), 24.0 (CH), 23.7 (CH₂), 21.8 (CH₃), 21.5 (CH₃), 20.4 (CH₃), 20.3 (CH₃), 20.0 (CH₃), 18.6 (CH₃), 18.1 (CH₃), 17.4 (CH₃), 11.9 (CH₃).

¹H NMR (Acetone- d_6 , TMS): 5.30 (dd, 15.0, 6.0 Hz, m), 5.26 (dd, 15.0, 6.0 Hz), 4.48 (brs), 4.30 (brs), 4.19 (brs), 4.01 (brs), 3.92 (m), 3.70 (dd), 3.66 (d), 3.37 (d), 3.31, 3.18, 3.14, 3.08, 2.62 ~ 2.33 (m), 2.30 ~ 2.27 (m), 2.21 ~ 2.11 (m), 2.04 ~ 1.96 (m), 1.93 ~ 1.74 (m), 1.53 ~ 1.22 (m), 1.17 (s, CH₃), 1.08 (d, 6.5 Hz, CH₃), 0.95 (d, 6.5 Hz, CH₃), 0.87 (d, 8.0 Hz, CH₃), 0.84 (d, 6.5 Hz, CH₃), 0.70 (s, CH₃).

2.2 抗微生物活性试验 在初步的抗微生物活性实验中, 反应的乙酸乙酯提取物对金黄色葡萄球菌有较强的抑制活性, 对枯草芽孢杆菌有中等强度的抑制活性, 对绿脓杆菌和铜绿假单胞菌有较弱的抑制活性。

3 结论

在反应的介质选择上, 先后选用直接用水溶液添加麦角甾醇固体; 以环己烷为有机溶剂; 以丙酮为有机溶剂等, 它们的转化产率都明显低于使用叔丁醇为有机溶剂。

麦角甾醇在海洋真菌的菌体中广泛存在, 反应原料来源丰富。用 KMnO₄ 来实现氧化转化, 由于只有一种有机原料, 其余基本上都是氧化产物。麦角甾醇中含有 3 个双键, 在支链上的双键氢处于反式位置, 3 个双键的氧化反应活性顺序为: $\Delta^5 > \Delta^7 > \Delta^{22}$ 。在该反应条件下, 甾醇支链不发生氧化。在产物的分离纯化方面, 由于原料和产物之间的羟基数目不同, 极性差别比较大, 因此, 用常规的柱层析就能得到较好的分离。

该反应操作和分离纯化工艺简单, 产率高, 具有很好的应用前景。

参考文献:

- [1] LI H J, LIN Y C, VRIJMOED L L P, et al. A new cytotoxic sterol produced by an endophytic fungus from *Castaniopsis fissa* at the South China Sea coast[J]. Chinese Chemical Letters, 2004, 15(4): 419—422.
- [2] 李厚金, 林永成, 王立, 等. 南海海洋真菌 *Hypoxylon oceanicum* (326 号) 的代谢产物[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2001, 40(4): 70—72, 80.
- [3] LIN Y C, LI H J, JIANG G C, et al. A novel gamma-lactone, eutypoid-A and other metabolites from marine fungus *Eutypa* sp. (#424) from the South China Sea[J]. Indian J Chem (B), 2002, 41(7): 1542—1544.
- [4] SWAN T M, WATSON K. Stress tolerance in a yeast sterol auxotroph: role of ergosterol, heat shock proteins and Trehalose[J]. FEMS Microbiology Letters, 1998, 169: 191—197.

One Pot Synthesis of Bioactive Polyhydroxy Sterols

LI Hou jin, CHEN Yi guang, LIN Yong cheng

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

Abstract: The oxidation of ergosterol with aqueous permanganate affords bioactive polyhydroxy sterol. The products include: 3β , 5α , 6α trihydroxyergosta 7, 22 diene, ergosta 8 (9), 22 diene 3, 5, 6, 7 tetrol (3β , 5α , 6α , 7α , $22E$) and ergosta 8 (14), 22 diene 3, 5, 6, 7 tetrol (3β , 5α , 6α , 7α , $2E$). Considering the common reaction condition, the simple isolation procedure, the high yield rate and the interesting bioactive of the products, the reaction beserves the further investigation and application.

Key words: polyhydroxy sterol; ergosta 8 (9), 22 diene 3, 5, 6, 7 tetrol (3β , 5α , 6α , 7α , $22E$); ergosta 8 (14), 22 diene 3, 5, 6, 7 tetrol (3β , 5α , 6α , 7α , $2E$); synthesis; bioactivities