

星骨海绵 *Stelletta tenuis* Lindgren 中的甾类化合物^{*}

闫素君, 苏镜娛, 张广文, 王艳红, 李 红
(中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 报道从星骨海绵 *Stelletta tenuis* Lindgren 中分离及鉴定的甾类化合物. 其中甾酮 3 β -羟基-豆甾-5-烯-7-酮、3 β -羟基-胆甾-5-烯-7-酮是第 1 次从该种海绵中由高效液相色谱分离得到, 根据 IR、MS、NMR、²D-NMR 等波谱数据确定其结构. 其它 11 个甾类化合物由 GC-MS 结合质谱裂解规律鉴定.
关键词: 星骨海绵 *Stelletta tenuis* Lindgren; GC-MS; 高效液相色谱; 甾类化合物
中图分类号: O624.421 文献标识码: A 文章编号: 0529-6579 (2001) 02-0054-04

星骨属 (*Stelletta*) 海绵属寻常海绵纲 (As-trophorida), 其化学成分的研究始于 1974 年, 从中分离出来的化合物主要包括甾类、萜类、生物碱及脂肪酸等化合物^[1-4]. 本文报道从星骨海绵 *Stelletta tenuis* Lindgren 的脂溶性部分经高效液相色谱分离到 2 个纯甾酮化合物, 经波谱分析确定为 3 β -羟基-豆甾-5-烯-7-酮 (1), 3 β -羟基-胆甾-5-烯-7-酮 (2), 它们是首次从该种属中分离得到的 α 、 β -不饱和甾酮化合物, 二者结构上只是在支链上相差一个 ($-\text{CH}_2\text{CH}_3$) 基团. 其中甾酮 1 主要存在于陆生植物中^[3], 具有抗霉菌作用, 直到 1993 年才由 Francesco 等^[6]从海绵中发现. 甾酮 2 具有抗肿瘤活性, 它对癌细胞 MGC、HepG2 有一定的毒性. 此外还经 GC-MS 分离鉴定了 11 个甾类化合物 (3~13), 大大地丰富了星骨海绵甾类化合物的研究. 各化合物结构见图 1.

1 结果与讨论

1.1 化合物 1

白色粉末状固体, θ_{mp} : 124 ~ 125 °C(甲醇/水). 根据 HRMS (429.374 7, $M+1$) 和 EIMS (428, M^+) 确定分子式为 $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_2$, 不饱和度 $n=6$.
1 的紫外吸收: 233.2 nm (λ_{max} , 乙醚为溶剂)、IR ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$) 1 665 (s) 表明共轭羰基的存在, ¹³C NMR: 202.4 (s, 共轭酮羰基), 165.1 (s), 126.1 (d) (三取代双键中烯碳信号); ¹H NMR: 5.69 (1H, s, 烯质子) 进一步证明分子中存在 α 、 β -不饱和羰基. 除去 α 、 β -不饱和羰基的 2 个不饱和度, 分子中还含有 4 个碳环. ¹H NMR 表明分子中含有

2 个角甲基: 0.68 (H-18, s), 1.20 (H-19, s); 而且 70.5 (d) 和 3.68 (1H, m) 为甾类化合物 3 β 位羟基取代的叔碳及叔碳质子的特征信号, 完全符合甾核的特征^[7]. EIMS 碎片峰 m/z 141 ($-\text{C}_{10}\text{H}_{21}$) 说明含有 10 个碳的饱和支链结构, ¹³C NMR 数据与文献报道的豆甾醇的支链相符^[8] (见表 1). 此外, 在 ¹H NMR 中还出现 5 个甲基氢的信号: 0.937 (H-21, d, 6.5), 0.854 (H-29, t, 7.5), 0.829 (H-26, d, 7.0), 0.809 (H-27, d, 7.0).
综上分析, 推定 (1) 是一个含有 3 β -羟基取代和 α 、 β -不饱和羰基结构的豆甾醇类化合物. EIMS 碎片峰 m/z 287 ($M-\text{C}_{10}\text{H}_{21}$), 269 ($M-$

表 1 (1) 的 ¹³C NMR、¹H NMR 数据¹⁾
Tab 1 ¹³C and ¹H NMR data of compound 1

碳号	¹ H NMR	¹³ C NMR	碳号	¹ H NMR	¹³ C NMR
1	1.14, 1.34(m)	36.3	16	1.92(2H, m)	28.5
2	1.9(m), 2.04(dm)	31.1	17	1.10(m)	54.6
3	3.68(m)	70.5	18	0.68(s)	12.0
4	2.40(dd), 2.52(d)	41.8	19	1.20(s)	17.3
5		165.1	20	1.93(m)	36.2
6	5.69(s)	126.1	21	0.937(d, 6.5 Hz)	18.9
7		202.4	22	1.02, 1.3(m)	33.9
8	2.24(t, 11 Hz)	45.4	23	1.34, 2.40(m)	26.3
9	1.52(dt)	49.9	24	0.94(m)	46.0
10		38.3	25	1.68(m)	28.8
11	1.66, 1.50(m)	21.2	26	0.829(d, 7.0 Hz)	19.6
12	1.12(m), 2.04(d)	38.6	27	0.809(d, 7.0 Hz)	18.9
13		43.1	28	1.2(m)	22.9
14	1.34(m)	49.9	29	0.854(t, 7.5 Hz)	12.3
15	1.0, 1.28(m)	26.3			

1) TMS 内标, 氘代氯仿为溶剂

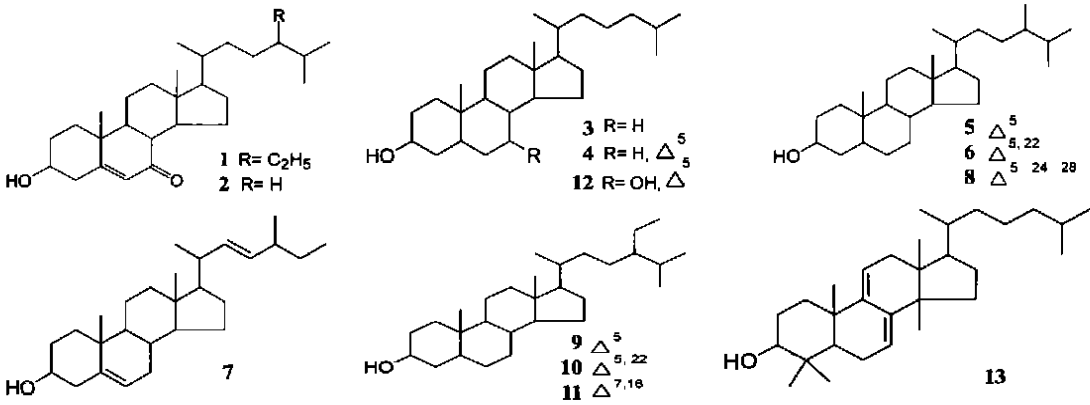


图 1 化合物 1~13 的结构
Fig 1 The structures of compounds 1~13

C₁₀H₂₁—H₂O) 表明 α, β - 不饱和羰基在甾核上。由 HMQC、HMBC 可确定此官能团在甾核上的位置(见右图)。因此确定化合物(1)为 3 β -羟基-豆甾-5-烯-7-酮, 其¹³C NMR 谱数与文献值相比较基本一致^[9, 10]。本文首次通过 HMQC 及¹H—¹H COSY 关系对¹³C、¹H NMR 化学位移进行了肯定的归属, 见表 1。

1.2 化合物 2

白色粉末状固体, θ_{mp} 168 ~ 169 °C(甲醇/水)。EIMS 给出分子离子峰 m/z 400, 高分辨质谱 m/z 401. 341 7(M+1), 确定分子式为 C₂₇H₄₄O₂, 不饱和度 $n=6$ 。

化合物 2 与 1 的 IR 吸收峰与紫外吸收完全一致, ¹³C NMR、¹H NMR 相比较, 在低场区的信号一致(见实验部分波谱数据), 从而证明化合物 2 的甾核与 1 的相同; 二者的 δ 在高场区的差别说明 2 只是在支链上比 1 的支链 (—C₁₀H₂₁) 少了 1 个甲基碳和 1 个次甲基碳, 结合 EIMS 碎片峰 m/z 287 (M—支链, 11%) 说明 2 的支链为 —C₈H₁₇, ¹³C NMR 数据表明为胆甾醇的支链结构(见实验部分 C—20 ~ C—27 数据)^[11]。综合以上分析, 可知 2 为胆甾烯酮化合物, 其波谱数据与文献^[12]报道数据比较相符合, 因此确定 2 为胆甾-5-烯-7-酮-3 β -醇。这是该化合物首次从星骨海绵中分离得到的报道。

1.3 化合物 3~11

白色固体 I, 以乙酸乙酯重结晶, θ_{mp} 133 ~ 135 °C, 其 TLC 检验显示 1 个椭圆点, Liebermann-

Burchard 反应呈阳性, 初步推测为甾类化合物。该固体的 IR、¹³C NMR 及¹H NMR 数据进一步表明其主要为含单羟基的甾醇混合物。

表 2 化合物 3~11 的保留时间和相对质量分数

Tab 2 Retention time and relative content of 3~11					
化合物			化合物		
<i>t</i> /min	<i>w</i> /%		<i>t</i> /min	<i>w</i> /%	
3	21. 314	7. 9	8	21. 974	2. 5
4	21. 256	100	9	23. 126	93. 8
5	22. 183	24. 9	10	22. 502	18. 5
6	21. 63	47. 2	11	22. 973	15. 7
7	20. 916	37. 6			

将固体 I 进行 GC-MS 色谱联用分析, 总离子流谱图见图 2, 保留时间和相对质量分数见表 2。根据甾醇的质谱裂解规律^[13]结合质谱库检索, 从中共鉴定了 9 个甾醇化合物: 胆甾-3 β -醇(3), 胆甾-5-烯-3 β -醇(4), 麦角甾-5-烯-3 β -醇(5), 麦角甾-5, 22-二烯-3 β -醇(6), 27-失碳-麦角甾-5, 22-二烯-3 β -醇(7), 麦角甾-5, 24(28)-二烯-3 β -醇(8), 豆甾-5-烯-3 β -醇(9), 豆甾-5, 22-二烯-3 β -醇(10), 豆甾-7, 16-二烯-3 β -醇(11)。

1.4 化合物 12, 13

白色粉末状固体 B, θ_{mp} 145 ~ 147 °C, Liebermann-Burchard 反应呈阳性, 结合 IR、NMR 数据(见实验部分)判断 B 为甾醇混合物。其¹H NMR 在 2. 16 处有 1 个单峰, 是与羰基相连的甲基质子的信号; ¹³C NMR 信号 146. 2, 143. 4, 126. 0, 123. 8 和 73. 3, 71. 4, 71. 3, 65. 3 表明含有烯碳与连氧碳。将其进行 GC-MS 分析, 根据分析结果及质谱库检索, 结合以上波谱信息, 确定 B 含有的甾醇化合物为: 胆甾-5-烯-3, 7-二醇(12), 羊毛甾-7, 9(11)-

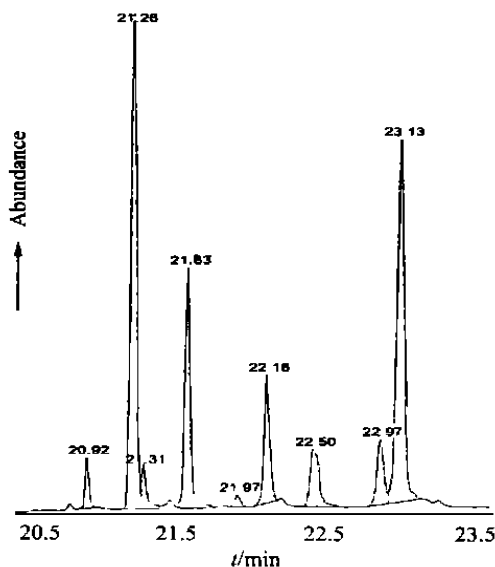


图 2 化合物 3~11 的总离子流谱图

Fig 2 Diagram of total ion current of compounds 3~11

二烯 3 醇(13), 二者的保留时间和相对质量分数分别为: 21.25 min, 19.4%; 21.51 min, 10.8%。

2 实验部分

2.1 实验材料与仪器

2.1.1 材料 星骨海绵 *Stelletta tenuis* Lindgren 采自中国南海西沙群岛, 由中国科学院海洋研究所李锦和教授鉴定。生物标本存放在中山大学化学与化学工程学院海洋天然产物研究室。

2.1.2 仪器 国产显微熔点测定仪(温度计未校正); NICOLET 5DX-FTIR 光谱测定仪; 核磁共振仪: UNITY INOVA-500MHz 核磁共振仪; JOEL 90Q 核磁共振仪; 质谱仪: VG ZAB-MS 型质谱仪; GC-MS: 美国 HP 公司 GC-6890, MSD-5973 型气质联用仪; 紫外光谱仪: 岛津 160A 型紫外分光光度计。

2.2 提取与分离

星骨海绵 *Stelletta tenuis* Lindgren(干物质质量 1.5 kg)用工业酒精浸提 3 次, 浓缩后用乙酸乙酯萃取。将萃取物(5 g)进行减压硅胶柱层析, 当用石油醚-丙酮($V(\text{石油醚}):V(\text{丙酮})=20:80$)洗脱时得到白色固体 I 约 1.0 g, 用石油醚-丙酮($V(\text{石油醚}):V(\text{丙酮})=30:70$)洗脱时得到白色固体 II (70 mg)。取少量固体 I 进行乙酰化, 水解后经 GC-MS 分析鉴定了化合物 3~11。固体 II 再经减压柱层析得到白色固体 A(30 mg)和 B(10 mg), 其中 A 以甲醇- H_2O ($V(\text{甲醇}):V(\text{H}_2\text{O})=12:88$)为洗脱剂进行高效液相色谱分离后得到 2 个纯化合物 1 和 2, 各约 10 mg; 固体 B 进行 GC-MS 分析, 鉴

定了化合物 12 和 13。

2.3 GC-MS 联用仪分析条件

色谱柱: HP-5MS, 30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm ;

载气: He, 流速: 1 mL/min;

电离方式: EI, 电离源: 70 eV; 接口温度 280 $^{\circ}\text{C}$; 起始温度: 100 $^{\circ}\text{C}$, 进样温度: 280 $^{\circ}\text{C}$, 程序升温 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$; 终止温度: 300 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.4 物理常数和波谱数据

化合物 1: θ_{mp} 124~125 $^{\circ}\text{C}$; UV(λ_{max} , 乙醚为溶剂) 233.2 nm; HRMS: m/z 429.374 7($M+1$); EIMS(m/z): 428(23.3), 410($M-\text{H}_2\text{O}$, 17), 395($M-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3$, 7), 287(M -支链, 4), 269(M -支链- H_2O , 5), 223(6), 174(23), 149(93), 141(支链); IR(ν/cm^{-1}): 3 528, 3 346(s), 2 952(s), 2 868(s), 1 665(s), 1 461(m), 1 377(m), 1 068(m); ^1H NMR(δ), ^{13}C NMR(δ)数据见结果与讨论部分。

化合物 2: θ_{mp} 168~169 $^{\circ}\text{C}$; HRMS: m/z 401.341 7($M+1$, 100); EIMS(m/z): 400(35), 382($M-\text{H}_2\text{O}$, 26), 367($M-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3$, 91), 287(M -支链, 7), 269(M -支链- H_2O , 11), 187(28), 161(42), 129(43); IR 数据与 1 一致; ^1H NMR(δ J/Hz, TMS 内标, 氘代氯仿为溶剂): 5.69(H-6, s), 3.68(1H, m), 1.20(H-19, s), 0.68(H-18, s), 0.91(H-21, d, 6.5), 0.85(H-26, d, 3.3), 0.86(H-27, d, 3.3); ^{13}C NMR: 202.4(s, C-7), 165.1(s, C-5), 126.1(d, C-6), 70.4(d, C-3), 54.8(d, C-17), 49.9(d, C-9, C-14), 45.4(d, C-8), 43.1(s, C-13), 43.0(t, C-4), 41.8(t, C-12), 39.5(t, C-24), 38.7(t, C-22), 38.2(s, C-10), 36.3(t, C-1), 35.7(d, C-20), 31.1(t, C-2), 28.5(t, C-16), 28.0(d, C-25), 26.3(t, C-23), 23.8(t, C-15), 22.8(q, C-26), 22.6(q, C-27), 21.2(t, C-11), 18.8(q, C-21), 17.3(q, C-19), 11.9(q, C-18)。

化合物 3~11: IR($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 3 423(s, brs.), 2 952, 2 938, 2 968(s), 1 651(w), 1 461, 1 377(m), 1 053(m), 962(m); ^1H NMR(δ J/Hz, TMS 内标, 氘代氯仿为溶剂): 5.35~5.17(双键氢), 3.52(1H, m), 1.0(s), 0.67(s), 0.68(s); ^{13}C NMR(δ , 氘代氯仿为溶剂): 140.8, 121.7, 71.8, 56.8, 56.1, 50.2, 42.3, 39.8, 37.3, 36.5, 32.0, 31.7, 28.2, 24.3, 21.1, 19.6, 19.4, 19.0, 18.9, 11.9, 11.8;

GC-MS 分析结果(m/z), 化合物 3: 388(2.5), 373(4.4), 370(1.5), 331(1.3), 355(2.8), 306

(1. 8), 215(6), 95(2); 化合物 4: 386(93. 3), 368(43. 3), 353(38. 3), 301(56. 7), 275(70), 255(30), 231(26. 7), 207(60), 145(50); 化合物 5: 400(100), 382(44), 367(41), 315(72), 289(63), 273(32), 255(43) 231(32), 207(90), 145(63); 化合物 6: 398(80), 383(10), 365(14), 337(16), 300(50), 271(66), 255(81), 207(34), 159(62), 69(90); 化合物 7: 384(90), 369(48), 366(10), 351(12), 255(15), 213(20), 159(40); 化合物 8: 398(6), 383(10), 380(30), 296(17), 281(10), 213(18), 229(10), 255(15), 127(30); 化合物 9: 414(94. 3), 396(48. 6), 381(35. 7), 329(64. 3), 303(60), 273(34. 3), 255(41. 4), 231(31. 4), 213(57. 1), 145(61. 4); 化合物 10: 412(56. 2), 397(7. 9), 369(12. 2), 351(20), 300(39), 282(41. 5), 271(52), 255(54), 207(91), 159(44); 化合物(11): 412(20), 394(7. 5), 379(6), 355(8), 327(10. 2), 281(42), 271(33), 253(19), 207(90).

化合物 12, 13, IR ($\lambda_{\max}/\text{cm}^{-1}$): 3 339(s), 3 078(w), 2 959(s), 2 931(s), 2 868(s), 1 658(w), 1 461(m), 1 377(m), 1 053(m), 1 011(m), 955(m); ^1H NMR(δ TMS 内标, 氘代氯仿为溶剂): 5. 7~5. 2(双键氢), 3. 89(s), 3. 61(m), 1. 28(s), 1. 08(s), 1. 03(s), 0. 7~1. 0(多个氢); ^{13}C NMR(δ 见结果与讨论); GC-MS 分析结果(m/z): 化合物 12: 474($M+72$, 19. 4); 化合物 13: 426(M), 411(40), 363(15), 281(10), 253(8), 207(26), 129(15).

参考文献:

[1] SHEIKH YOUNUS M, DJERASSI C. Steroids from sponges[J]. Tetrahedron, 1974, 30: 4095—4103.

- [2] ZIELINSKI J, KOKKE W C M C, TAM H T B, et al. Isolation, partial synthesis, and structure determination of sterols with the four possible 23, 24 dimethyl-substituted side chains[J]. J Org Chem, 1983, 48(20): 3471—3477.
- [3] SU J Y, MENG Y H, ZENG L M, et al. Stelletin A, a new triterpenoid pigment from the marine sponge of the genus stelletta[J]. J Nat Prod, 1994, 57(10): 1450—1451.
- [4] HIROTA H, MATSUNAGA S, FUSEYANI N. Stelletamide A, an antifungal alkaloid from a marine sponge of the genus stelletta[J]. Tetrahedron Lett, 1990, 31(29): 4163—4164.
- [5] CHOPRA R N. Glossary of Indian medicinal plants[M]. New Delhi: CSIR, 1956. 120.
- [6] FRANCESCO De R, LUIGI M, IORIZZI M, et al. Marine sterols Side chain-oxygenated sterols, possibly of a biotic origin, from the new caledonian sponge stelodoryx chlorophylla[J]. J Nat Prod, 1993, 56(2): 282—287.
- [7] 于德泉, 杨峻山. 分析化学手册(第七分册), 核磁共振波谱分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 1999, 470.
- [8] 龚运淮. 天然有机化合物的 ^{13}C 核磁共振波谱学[M]. 昆明: 云南科技出版社, 1985, 244.
- [9] SHOOOLERY J N, PRADHAN B P, HASSAN A. Use of two-dimensional NMR spectroscopy for structure elucidation of sepesteonol[J]. Indian J Chemistry, 1983, 22B: 727—728.
- [10] GRECA M D, MONACA P, PREVITERA L. Stigmatsterols from typha latifolia[J]. J Nat Prod, 1990, 53(6): 1430—1435.
- [11] 于德泉, 杨峻山. 分析化学手册(第七分册), 核磁共振波谱分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 1999, 891.
- [12] NOTARO G, CCIALLI V P, SICA D. New steroidal hydroxyketones and closely related diols from the marine sponge cliona copiosa[J]. J Nat Prod, 1992, 55(11): 1588—1594.
- [13] 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用[M]. 北京: 科学出版社, 1987. 740.

Steroids from the Marine Sponge *Stelletta tenuis* Lindgren

YAN Su-jun, SU Jing-yu, ZHANG Guang-wen, WANG Yan-hong, LI Hong

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: 3β -hydroxy-Stigmasta-5-en-7-one (**1**) and 3β -hydroxy-cholesta-5-en-7-one (**2**) were isolated from the marine sponge *Stelletta tenuis* Lindgren. Their structures were determined on the basis of IR, UV, MS, NMR, 2D-NMR techniques. This is the first report of the ketosterol isolation in this species. In addition sterols (**3**) ~ (**13**) were also identified by GC-MS.

Keywords: *Stelletta tenuis* Lindgren; steroids; HPLC; GC-MS; spectroscopy