

# 中国软珊瑚化学成分的研究(一)\*

龙康侯 苏镜娱 简志刚

(化学系)

## 摘 要

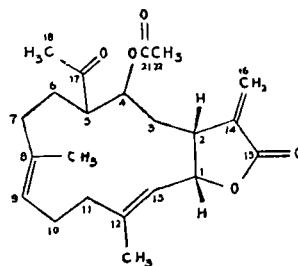
从Lobophytum属软珊瑚-4中分离得四种结晶: L401, L402, L403及鲨肝醇。L403具有细胞毒性, 其结构主要通过核磁共振( $^1\text{H}$ 及 $^{13}\text{C}$ )和双共振实验, 结合质谱、红外及紫外光谱等测定为(I)式。

近几年来, 国外对海洋天然产物的研究相当活跃。从珊瑚、海绵、海藻等海洋生物中分离出不少结构上很有趣而且具有特异的生理活性的化合物。我们将海南岛崖县附近海域采集的软珊瑚\*\* (4号)(Lobophytum属), 切碎, 用苯浸提, 通过硅胶柱层析, 单离出四种结晶——化合物L401, L402, L403和鲨肝醇。其中, 化合物L403经情原法初步试验, 显示有细胞毒性。其他成分的生物活性尚待进行试验。

L403为方块状结晶, 熔点 $121\sim 2^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{25} - 80$  (c=1,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), 由超高分辨质谱确定L403的分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_5$ , 得率占干珊瑚总重0.2%。我们主要通过 $^1\text{H}$  NMR谱(400MHz),  $^{13}\text{C}$  NMR谱和双共振实验以及质谱、红外光谱、紫外光谱等波谱, 结合化学分析测定了化合物L403的结构(如I式)。

化合物L403的 $^{13}\text{C}$ 核磁共振谱中的碳原子和 $^1\text{H}$ 核磁共振谱中部分氢原子的归属<sup>(1,2)</sup>见表1。

按分子式 $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_5$ 推算, 化合物L403的分子中应具有八个不饱和度。 $^{13}\text{C}$  NMR谱有九个 $\text{SP}^2$ 碳原子。除甲基酮的羰基(209.0 ppm, s), 内酯的羰基(170.9 ppm, s)和乙酸酯的羰基(169.7 ppm, s)外, 还有六个 $\text{SP}^2$ 碳原子(三个s峰, 二个d峰, 一个dd峰), 可以认为构成了三个碳碳双键; 其中一个双键是乙烯亚甲基, 其余的两个可能是三取代双键。用Adams催化剂常压催化加氢能吸收近三克分子氢, 与分子中有三个烯键相符合。由此可推测化合物L403是个双环化合物。考虑到cembranoid类型的大环二萜相当



(I)

- \* 本文曾在中美双边天然产物化学讨论会(1980年10月27~31日于上海)介绍。
- 试验所用软珊瑚的种属由南海海洋研究所李楚环鉴定。

普遍地存在于软珊瑚中,结合整个 $^{13}\text{C}$  NMR谱的观察,可以合理地推测化合物L403具有cembranoid型的碳环。因为分子中含有甲基酮\*,所余的碳原子数不足以构成通常的十四元碳环,所以它只能有一个十三元碳环,另一个环则是 $\gamma$ -内酯。

表1 化合物L403的 $^1\text{H}$ 和 $^{13}\text{C}$ 核磁共振谱的归属

Carbon	$^{13}\text{C}$ NMR	$^1\text{H}$ NMR	Carbon	$^{13}\text{C}$ NMR	$^1\text{H}$ NMR
1	76.2 d	5.40 dd J10.05,8.0	12	139.2 s	
2	57.6 d	3.02 m	13	126.1 d	5.12 d, J 10.05
3	34.5 t	1.81 m	14	145.5 s	
4	70.4 d	5.20 ddd J 9.5,3.4,3.5	15	170.8 s	
5	38.1 d	2.40 m	16	121.3 dd	5.49 d, J 3 6.24 d, J 3 } AX
6 <sup>a</sup>	23.6,24.9t	1.63-1.69dt	17	209.0 s	
7 <sup>a</sup>	38.9,40.0t		18 <sup>a</sup>	29.2 q	2.18,2.22 s
8	133.6 s		19 <sup>a</sup>	15.1 q	1.60,1.89 s
9	119.1 d	5.08 m	20 <sup>a</sup>	15.5 q	1.60,1.89 s
10 <sup>a</sup>	23.6,24.9t		21	169.7 s	
11 <sup>a</sup>	38.9,40.0t		22	21.0 q	2.18,2.22 s

化学位移( $\delta$ ),单位ppm,偶合常数(J),单位Hz. 对于 $^{13}\text{C}$  NMR谱:22-628MHz,  $\text{CDCl}_3$ 溶液,以四甲基硅为内标,碳原子编号见(I)式,对于 $^1\text{H}$  NMR谱:200MHz,  $\text{CDCl}_3$ 溶液,以 $\text{SiMe}_4$ 作内标。

$\alpha$  这几个碳或氢原子的归属难以作肯定的划分。

观察红外光谱( $\nu_{\max}$  1755, 1665  $\text{cm}^{-1}$ );紫外光谱( $\lambda_{\max}$  217nm,  $\epsilon$  13180); $^1\text{H}$  NMR谱( $\delta$  5.49, d, J 3 Hz; 6.24, d, J 3 Hz, AX型),确定分子中乙烯亚甲基与 $\gamma$ -内酯的共轭关系。

$^{13}\text{C}$  NMR谱表明有两个连结于氧原子上的 $\text{SP}^3$ 碳原子(76.2d, 70.4d),它们分别归属为连接着内酯氧基的和乙酰氧基的碳( $\text{C}_1, \text{C}_4$ )。

在 $^1\text{H}$  NMR双照射实验中,(200MHz, ppm):照射 $\delta$ 3.02的 $\text{C}_2$ -H,分别看到 $\delta$ 5.49( $\text{C}_{16}$ -Hb), 6.24( $\text{C}_{16}$ -Ha), 1.81( $\text{C}_3$ -H)和5.40( $\text{C}_1$ -H)发生去偶变化。 $\text{C}_{16}$ 氢的信号简并后,由d峰( $J=3.0\text{Hz}$ )变为尖的单峰,表示乙烯亚甲基与 $\text{C}_2$ -H有丙烯偶合。同时, $\text{C}_1$ -H的dd峰( $J=8.0, 10.05\text{Hz}$ )变为d峰( $J=10.05\text{Hz}$ ); $\text{C}_3$ -H的多重峰简化为d峰。照射 $\delta$ 5.40( $\text{C}_1$ -H),可观察到 $\delta$ 5.12( $\text{C}_{13}$ -H) ( $J=10.05\text{Hz}$ )变为宽的单峰,由此可判断第二个双键在 $\text{C}_{12}$ - $\text{C}_{13}$ 位置上。反之,照射 $\delta$ 5.12亦使 $\delta$ 5.40的dd峰简化为d峰( $J=8.0\text{Hz}$ )。照射2.40ppm( $\text{C}_6$ -H)的信号,亦观察到 $\delta$ 1.63( $\text{C}_6$ -H)和 $\delta$ 5.20( $\text{C}_4$ -H)有去偶变化。后者由ddd变为dd峰( $J=9.5,3.4$ )。这可判断为甲基酮连接在 $\text{C}_6$ 而乙酰氧基则位于其相邻的 $\text{C}_4$ 上。

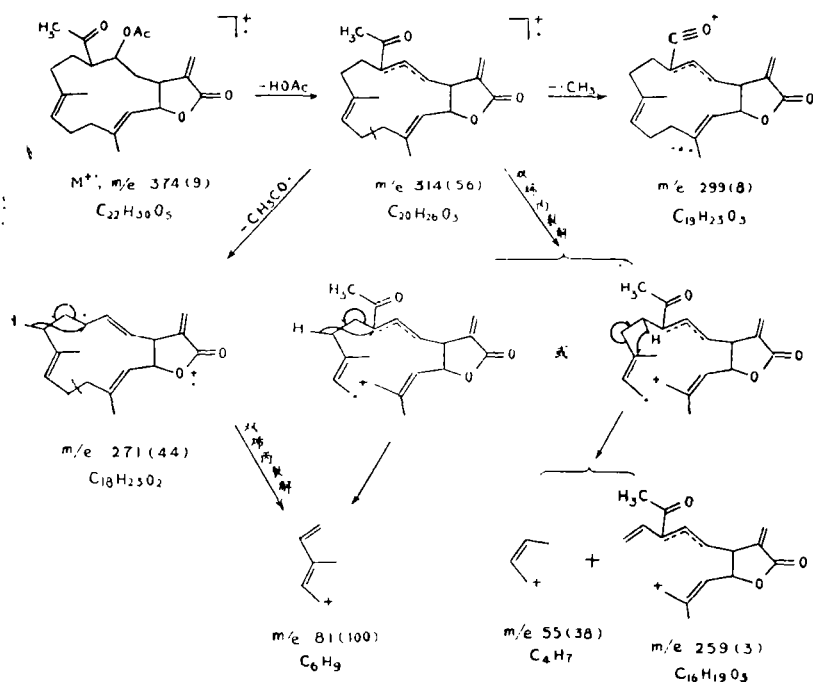
- 化合物L403呈明显的碘仿正反应。

内酯甲基( $C_1-H$ )的化学位移5.40ppm, 及其清楚的dd峰形, 表明这个氢应是烯丙位的而不会是高烯丙位的, 由此亦证明分子中的第二个双键应位于  $C_{12}-C_{13}$  之间而不是在  $C_{11}-C_{12}$  的位置上。两个烯质子的化学位移分别在5.08ppm 及5.12ppm, 表明这是三取代双键, 与上述的 $^{13}C$  NMR 谱的分析相吻合。此外, 微量臭氧化产生一克分子  $\gamma$ -戊酮醛, 说明此两个双键之间相隔二个碳原子, 由此可定出第三个双键在 cembranoid 环上的位置(在  $C_8-C_9$ )。  $^{13}C$  NMR 谱中, 两个烯甲基质子的化学位移特别小, (15.1, 15.5ppm), 可以判断这两个双键均具有反式的构型。根据文献<sup>(1)</sup>, 顺式构型的双键上的甲基, 其化学位移应在低场20ppm以上。

根据偶合常数与双面夹角的经验关系<sup>(2,3)</sup>, 初步推测两环间的立体化学。由于偶合常数较大( $J = 8.0\text{Hz}$ ), 双面夹角可能较小, 我们暂定此两环以顺式相连。

综合以上波谱分析, 可将化合物 L403 的结构表示如 (I) 式。为了进一步考察分子的立体构型, 正在进行 X-光衍射分析。

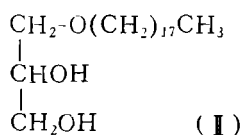
化合物 L403 的质谱主要碎片峰 (见实验部分) 亦支持结构式 (I) 的合理性。其碎裂过程可能如下图所示。



最近, Bowden 等<sup>(4)</sup>和 Yamada 等<sup>(5)</sup>先后报导从 Lobophytum 属软珊瑚中获得一个 cembranoid 二萜内酯, 平面结构与 (I) 式相同。前者报导的是个油状物, 后者报导的是个结晶, 熔点  $119^\circ\text{C}$ 。但他们并未确定其立体化学。

L401 为片状结晶, 熔点  $48\sim 9^\circ\text{C}$ 。L402 为粗针状结晶, 熔点  $185\sim 8^\circ\text{C}$ ,  $C_{22}H_{30}O_5$ , MS:  $m/e$  374.2089 ( $M^+$ ) 红外光谱的指纹区有相当一部分与化合物 L403 很相似。这两个化合物的结构正在进一步分析研究中。

从柱层析40~60%乙酸乙酯-石油醚的洗脱液中分离得一种片状结晶,熔点69~70°C, C<sub>21</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub>, MS: m/e 344(M<sup>+</sup>)。红外光谱及薄层层析R<sub>f</sub>值均与鲨肝醇(batyl alcohol)已知样品的一致。鉴定此结晶为鲨肝醇:



## 实 验 部 分\*

### 分 离

软珊瑚(4号)样品,晒干,切碎。取软质部分于室温用苯反复浸提。蒸去溶剂,得22克褐色粘稠物。将抽提物柱层析(硅胶,450克,60—100目,于120°C烘4小时),用不同比例的乙酸乙酯—石油醚洗脱。层析结果见表2:

表 2

流 分	溶 剂 乙酸乙酯:石油醚	洗脱体积 (升)	粗物质重 (克)	主 要 成 分
9—11	5:95	0.3	3.5	化合物L401 及其他几个组分
12—28	10:90	2	5.8	若干个化合物
29—31	25:75	0.3	0.7	化合物L402
32—34	40:60	0.3	1.9	化合物L403
35—38	60:40	0.4	1.9	鲨肝醇

### 化合物L401

合并9-11流分,再用硅胶柱层析,以不同比例的乙醚—石油醚洗脱。在7%乙醚洗脱部分获得化合物L401。化合物L401为片状结晶,熔点48-49°C(丙酮)。IR谱:

$$\nu_{\max}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1}): 1738, 1728, 1180, 720.$$


### 化合物L402

合并29—31流分,再用硅胶柱层析。从25%乙酸乙酯—石油醚部分获得化合物

\*文中熔点未经校正。质谱数据用MS50超高分辨质谱仪测定。核磁共振谱用Bruker WH400 High field cryospectrometer测定,双照射用Bruker WH200 High field cryospectrometer做试验,<sup>13</sup>C核磁共振谱用Bruker HFX-90型仪器测定。以上三种波谱均用CDCl<sub>3</sub>作溶剂,四甲基硅作内标。以上各谱由加拿大Alberta大学,Dr. T. T. Nakashima和Mrs. Lai-Chu Kong代为测定。

L402. 用乙醇反复重结晶得粗针状晶体, 熔点 $185-8^{\circ}\text{C}$ , IR 谱,  $\nu_{max}^{KBr}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1760, 1735, 1670.

### 化合物 L403

合并32—34流分, 再用硅胶柱层析. 从40%乙酸乙酯—石油醚部分获得化合物 L403. 用乙酸乙酯反复重结晶, 得方块状结晶, 熔点  $121-2^{\circ}\text{C}$ .  $[\alpha]_D -80$ , ( $c=1$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). UV:  $\lambda_{max}$  217nm ( $\epsilon$ , 13180), IR,  $\nu_{max}^{KBr}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1755, 1735, 1700, 1665. MS:  $M^+$  374. 2093,  $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_6$  要求374.2094.  $m/e(\%)$  374.2093(8.63,  $M^+$ ), 314. 1882(55.81,  $M^+-\text{CH}_3\text{COO}$ ), 299.1647 (7.20), 271.1698 (43.96,  $M^+-\text{CH}_3\text{COO}-\text{CH}_3\text{CO}$ ), 259.1335 (3.38,  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_3$ ) 81.0704 (100.  $^+\text{CH}_2$  ) 55.0584 (37.51).

### 鲨肝醇

合并35~38流分, 再用硅胶柱层析. 在60%乙酸乙酯—石油醚部分收集得固体, 经乙酸乙酯反复重结晶, 得叶片状晶体, 熔点 $69-70^{\circ}\text{C}$ . 元素分析: 实验值 C72.61%, H 12.67%; 理论值  $\text{C}_{21}\text{H}_{44}\text{O}_3$ , C 73.19%, H 12.29%. IR,  $\nu_{max}^{KBr}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3450, 1060, 1095, 1140, 728, MS:  $m/e$  344( $M^+$ ). TLC, 用60%乙酸乙酯—石油醚展开, 碘显色,  $R_f=0.38$ , 与已知物一致.

### 化合物L403的催化氢化

100毫克化合物L403和11.5毫克 $\text{PtO}_2$ , 于20毫升乙醇中, 在室温常压下进行氢化. 吸收氢气共16.8毫升(标准状况), 约相当于三摩尔氢.

### 化合物L403的微量臭氧氧化

18.7毫克化合物L403(0.05毫克分子)溶于10毫升乙酸乙酯. 取1毫升溶液, 于冰盐浴中进行臭氧氧化10分钟, 出现蓝色. 加入三苯基膦于反应液中, 15分钟后用GC检出. 柱直径2 mm, 长2 m. 填充物为5%聚乙二醇二万涂于101白色担体. 柱温 $140^{\circ}\text{C}$ , 气化温度 $260^{\circ}\text{C}$ , 检测温度 $208^{\circ}\text{C}$ . 载气流速33毫升/分. 化合物L403的臭氧氧化产物于5分钟出峰. 与5.3毫克角鲨烯在相同的条件下出峰时间一致, 两者主峰面积之比为1:1.

## 参 考 文 献

- [1] J.B.Stothers, *Carbon-13 NMR Spectroscopy* (Volume 24 of Organic Chemistry, A series of Monographs, Editors A.T.Blomquist and H.Wasserman, 1972).
- [2] R.J.Abraham and P.Loftus, *Protons and Carbon-13 NMR Spectroscopy*, (1978).
- [3] 梁晓天, 核磁共振, 科学出版社, 1976.
- [4] B.F.Bowden et al., *Aust. J. Chem.*, 31 (1978), 1303.
- [5] Y.Yamada et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 27 (1979), 2397.

## Studies on the Chinese Soft Corals ( I )

Long Kanghou    Su Jingyu    Jian Zhigang

## Abstract

The soft coral (*Lobophytum* sp.) was collected in the South China Sea near Yaxian in August 1979. From which four crystalline compounds have been isolated. Compound L403,  $C_{22}H_{30}O_5$ , m.p. 121-2°C, is shown to have structure (I). Preliminary bio-assayings showed that it exhibits cytotoxic activity. Elucidation of the structure was mainly based on spectroscopic data, especially on  $^1H$  NMR,  $^{13}C$  NMR, and was consistent with the results of chemical analyses. Finally, the chemical structure and the stereochemical feature is to be confirmed by X-ray diffraction.

The chemical structures of the other two crystals, compound L402,  $C_{22}H_{30}O_5$ , m.p. 185-8°C, and compound L401, m.p. 47-8°C, are under investigation. The last compound eluted from the 40-60% ethyl acetate-petroleum ether fraction, has been identified as batyl alcohol, structure (II).

*Acknowledgements:* The authors are deeply grateful to Dr. T. T. Nakashima and Mrs. Lai-Chu Kong of Chemistry Department, University of Alberta, Canada, for 400 MHz NMR, 200 MHz NMR and  $^{13}C$  NMR spectra, and Mass spectra etc.