

小月柳珊瑚中孕甾烷类的化学成分研究

柴兴云, 胡静, 黄晖, 雷辉, 陈显强, 李云秋, 孙见凡, 董光, 刘永宏, 刘学东

(中国科学院南海海洋研究所海洋生物资源可持续利用重点实验室, 广东 广州 510301)

摘要: 从南海小月柳珊瑚 *Menella* sp. 石油醚萃取部位中分离得到 7 个孕甾烷类化合物, 通过波谱分析与文献对照, 其结构分别鉴定为 3 α -羟基-5 β -孕甾-20-酮(1), 3 β -羟基-5 α -孕甾-20-酮(2), 3 β -羟基-孕甾-5-烯-20-酮(3), 5 β -孕甾-3, 20-二酮(4), 5 α -孕甾-3, 20-二酮(5), 孕甾-4-烯-3, 20-二酮(6), 孕甾-1, 4-二烯-3, 20-二酮(7); 除化合物 2 外其他化合物都为首次从该属柳珊瑚中分离得到, 其中化合物 7 是首次报道其核磁数据。

关键词: 小月柳珊瑚 *Menella* sp.; 孕甾烷; 甾体; 化学成分; 结构鉴定

中图分类号: R282.77 文献标识码: A 文章编号: 1009-5470(2011)01-0127-04

Pregnane steroids from a gorgonian *Menella* sp. in South China Sea

CHAI Xing-yun, HU Jing, HUANG Hui, LEI Hui, CHEN Xian-qiang, LI Yun-qiu, SUN Jian-fan, DONG Guang, LIU Yong-hong, LIU Xue-dong

(Key laboratory of Marine Bio-resources Sustainable Utilization, South China Sea Institute of Oceanology, CAS, Guangzhou 510301, China)

Abstract: Seven pregnane steroids were isolated from the petroleum ether extracts of a South China Sea gorgonian *Menella* sp. collected in the Sanya Bay. By means of spectroscopic analysis and comparison with literatures, their structures were identified as 3 α -hydroxy-5 β -pregnan-20-one (1), 3 β -hydroxy-5 α -pregnan-20-one (2), 3 β -hydroxy-pregnan-5-en-20-one (3), 5 β -pregnan-3, 20-dione (4), 5 α -pregnan-3, 20-dione (5), pregnan-4-en-3, 20-dione (6), and pregnan-1, 4-dien-3, 20-dione (7), respectively. All compounds except compound 2 were isolated from this genus for the first time, and the NMR data of compound 7 was reported for the first time.

Key words: *Menella* sp.; pregnane steroids; chemical constituents; structure identification

柳珊瑚俗称海扇或海鞭, 属于腔肠动物门珊瑚纲八放珊瑚亚纲动物, 包括 2 个亚目和 11 科。柳珊瑚因含有结构新颖和活性显著的次生代谢产物受到众多化学和药物学家的关注, 对柳珊瑚的化学成分和生物活性研究是天然产物研究的热点之一^[1-4]。我国南海海域柳珊瑚资源丰富, 已发现有 6 科 44 种之多。近二十年来, 我国科技工作者对柳珊瑚进行了较多的研究, 从中获得了一系列新的或具药理活性的次生代谢产物^[5]。

小月柳珊瑚 *Menella* sp., 属尖柳珊瑚科 Paramuriceidae, 俗称海扇(sea fan), 外表深红或红褐色, 长约 40—60cm, 直径 0.5—1.0cm, 韧性很强, 不易

折断, 常 5—10 支组成扇形。乙醇或其他有机溶剂浸泡, 溶剂较快着色。前人对小月柳珊瑚进行了一定的研究, 从本属数个物种中分离得到了倍半萜、甾醇等次生代谢产物^[6-9]。为了进一步系统研究我国南海海洋无脊椎动物的活性成分, 本研究组对采自中国南海三亚附近的小月柳珊瑚属 *Menella* sp.进行了系统的化学成分研究, 从乙醇提取物的石油醚萃取部位分离得到 7 个孕甾烷类化合物, 经 NMR、MS 鉴定手段及文献对照其理化数据, 分别被鉴定为: 3 α -羟基-5 β -孕甾-20-酮 (1), 3 β -羟基-5 α -孕甾-20-酮 (2), 3 β -羟基-5-烯-20-酮 (3), 5 β -孕甾-3, 20-二酮(4), 5 α -孕甾-3, 20-二酮 (5), 孕甾-4-烯-3, 20-二

收稿日期: 2009-12-31; 修订日期: 2010-04-11。蔡卓平编辑

基金项目: 国家自然科学基金(40706046, 30973679)

作者简介: 柴兴云(1980—), 男, 江西省南昌市人, 博士, 从事植物及海洋天然产物研究。

通信作者: 刘学东。E-mail: xxxdddlll@yahoo.com.cn

酮(6), 及孕甾-1,4-二烯-3, 20-二酮(7)。除化合物 2 外, 其他化合物均为首次从该属柳珊瑚中分离得到, 其中化合物 7 为首次报道其核磁数据。

1 实验部分

1.1 动物材料

小月柳珊瑚 *Menella* sp. 于 2009 年 4 月采集于海南省三亚市梅山岛附近海域, 水深约 7m。经中国科学院南海海洋研究所黄晖研究员鉴定为 *Menella* sp.。样品标本(No. M090402)现存放于中国科学院南海海洋研究所海洋生物资源可持续利用重点实验室。

1.2 仪器与试剂

NMR 谱用 Bruker AV-500 核磁共振仪测定; 质谱图采用 API2000 型 ESI 质谱仪测定; 中压制备柱色谱为 Buchi 公司产品(C615/605); 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20(Pharmacia), ODS 硅胶(Merck)用于化合物分离; 薄层色谱硅胶、柱色谱硅胶和薄层制备板(20cm×20cm×0.03cm)均购自青岛海洋化工厂, 化学试剂均为国产分析纯。

1.3 提取分离

新鲜采制的小月柳珊瑚样品(约 5kg)以 95%和 70%乙醇室温各浸泡 1 周, 再以氯仿-甲醇(体积比 1:1)浸泡 2d, 回收溶剂并合并。总浸膏(约 40g)混溶于水中, 分别以石油醚(PE)、乙酸乙酯(EtOAc)和正丁醇(BuOH)萃取, 得到各自萃取部分 16、9.5 和 11g。石油醚部位(16g)以硅胶中压制备色谱柱分离, PE-EtOAc(100:0, 50:1, 10:1, 2:1, 0:1, 体积比,下同)梯度洗脱, 经 TLC 比对后合并, 得到 14 个洗脱馏分(Frs. 1–14)。Fr. 12 (2.5g)上硅胶柱分离, PE-EtOAc(3:1)洗脱, 得到 4 个小部分(Frs. 12A–D), Fr.12C 经 2 次薄层制备色谱分离, 分别以氯仿-丙酮(A) (9:1)和 PE-EtOAc(1:1)展开, 得到化合物 1 (3mg)和 7 (4mg)。Fr. 11 (1.4g)上硅胶柱, PE-A (8:1)洗脱, 得到 3 个馏分(Frs.11A–C), Fr.11B 经凝胶 Sephadex LH-20(CHCl₃-MeOH 1:2)初步纯化, 取其中一部分以 ODS 柱分离(MeOH-H₂O 90:10), 得到化合物 2 (15mg)、3 (18mg)和 6 (35mg)。Fr. 10 (600mg)上凝胶 Sephadex LH-20 (CHCl₃-MeOH 1:1)后再上硅胶柱色谱, PE-A(10:1)洗脱, 得到 4 个小部分(Frs.10A–D); Fr. 10C (100mg) 经制备薄层分离, PE-CHCl₃-A (3:1:0.5)展开, 得到化合物 4 (22mg)和 5 (15mg)。

2 结构鉴定

化合物 1: 白色固体, Mp. 147—149 °C, 硫酸香草醛显蓝紫色。ESI-MS m/z 341 [M+Na]⁺, 结合其 NMR 数据推测其分子式为 C₂₁H₃₄O₂; ¹H NMR(500MHz, CD₃OD)显示化合物 1 为 C-3 位羟基取代的孕甾烷类特征信号, 包括 3 个甲基单峰 δ_H : 0.61(3H, s, H-18), 0.97(3H, s, H-19), 2.14(3H, s, H-21) 和 δ_H : 3.58(1H, m, H-3), 2.67(1H, t, J = 8.5Hz, H-17); ¹³C NMR(125MHz, CD₃OD) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[10–11], 故鉴定为 3 α -羟基-5 β -孕甾-20-酮 (3 α -hydroxy-5 β -pregnan-20-one)。

化合物 2: 白色固体, Mp. 194—196 °C, 硫酸香草醛显蓝紫色。ESI-MS m/z 341 [M+Na]⁺, 与化合物 1 为同分异构体。¹H NMR(500MHz, CDCl₃)显示特征性孕甾烷类信号: δ_H : 0.59(3H, s, H-18), 1.05(3H, s, H-19), 2.12(3H, s, H-21), 3.52(1H, m, H-3), 2.52(1H, t, J = 8.5Hz, H-17); ¹³C NMR(125MHz, CDCl₃)数据见表 1。以上数据与文献对照相一致^[11–12], 故该化合物鉴定为 3 β -羟基-5 α -孕甾-20-酮 (3 β -hydroxy-5 α -pregnan-20-one)。

化合物 3: 白色粉末, 紫外 UV254 略有吸收, 硫酸香草醛显紫红色。ESI-MS m/z 339 [M+Na]⁺, 推测其分子式为 C₂₁H₃₂O₂; ¹H NMR(500MHz, CDCl₃) δ_H : 0.63(3H, s, H-18), 0.83(3H, s, H-19), 2.14(3H, s, H-21), 3.59(1H, m, H-3), 5.34(1H, t, H-6), 2.51(1H, t, J = 8.5Hz, H-17); ¹³C NMR(125MHz, CDCl₃)数据见表 1。以上数据与文献对照相一致^[13], 鉴定为 3 β -羟基-5-烯-20-酮(3 β -hydroxy-5-en-20-one)。

化合物 4: 白色晶状固体, Mp. 121—123 °C, 硫酸香草醛显棕黄色。ESI-MS m/z 339 [M+Na]⁺, 结合其 NMR 数据确定分子式为 C₂₁H₃₂O₂; ¹H NMR(500MHz, CDCl₃) δ_H : 0.61(3H, s, H-18), 1.02(3H, s, H-19), 2.12(3H, s, H-21), 2.69(1H, dd, J = 14.0Hz, H-4 β), 2.05(1H, m, H-4 α), 2.55(1H, t, J = 9.0Hz, H-17); ¹³C NMR(125MHz, CDCl₃)数据见表 1。以上理化数据与文献相一致^[11], 故该化合物被鉴定为 5 β -孕甾-3, 20-二酮(5 β -pregnan-3, 20-dione)。

化合物 5: 白色固体, Mp. 200—203 °C, 硫酸香草醛显棕黄色。ESI-MS m/z 339 [M+Na]⁺, 结合其 NMR 数据确定分子式为 C₂₁H₃₂O₂, 与化合物 4 为同分异构体。¹H NMR(500MHz, CDCl₃) δ_H : 0.64(3H, s, H-18), 1.01(3H, s, H-19), 2.12(3H, s, H-21), 2.53(1H, t, J = 9.0Hz, H-17); ¹³C NMR(125MHz, CDCl₃) 数据见表 1。以上理化数据与文献对照相一致^[11,13], 鉴定该化合物为 5 α -孕甾-3, 20-二酮(5 α -pregnan-3,

20-dione)。

化合物 6: 白色固体, 紫外 UV254 有吸收, Mp. 129—132 , 硫酸香草醛显紫红色。ESI-MS m/z 337 $[M+Na]^+$, 结合其 NMR 数据确定分子式为 $C_{21}H_{30}O_2$ 。 1H NMR(500MHz, $CDCl_3$) δ_H : 0.66(3H, s, H-18), 1.18 (3H, s, H-19), 2.12(3H, s, H-21), 5.73(1H, s, H-4), 2.53(1H, t, $J=9.0Hz$, H-17); ^{13}C NMR(125MHz, $CDCl_3$) 数据见表 1。以上理化数据与文献比较一致^[13], 该化合物被鉴定为孕甾-4-烯-3, 20-二酮(pregnan-4-en-3, 20-dione)。

化合物 7: 白色固体, 紫外 UV254 下有较强吸收, Mp. 150—152 , 硫酸香草醛显紫红色。ESI-MS m/z 335 $[M+Na]^+$, 结合其 NMR 数据确定分子式为 $C_{21}H_{28}O_2$ 。 1H NMR(500MHz, $CDCl_3$) 中显示有特征

性的 C_{21} 甾的甲基单峰 δ_H : 0.70(3H, s, H-18), 1.24(3H, s, H-19), 2.12(3H, s, H-21), 及 2.52(1H, t, $J=9.0Hz$, H-17)信号; 除此之外在低场可观察到 6.08(1H, brs, H-4), 7.05 (1H, d, $J=10Hz$, H-1) 和 6.24 (1H, dd, $J=10.0, 1.5Hz$, H-2)一组类似于 ABX 系统的信号, 推测此化合物在 A 环有 2 组烯键。 ^{13}C NMR (125MHz, $CDCl_3$) 图谱 (表 1)也显示出同样的特征, 经与化合物 6 比较, 并结合 C-3 位酮基向高场位移至 δ 186.3, 且 C-20 位酮基不变这一事实, 确定另一组双键(1-en-)与 C-3 酮基共轭, 从而最终鉴定化合物的结构为孕甾-1, 4-二烯-3, 20-二酮(pregnan-1, 4-dien-3, 20-dione)。经检索发现, 文献没有此化合物的 NMR 数据, 本文为首次报道(图 1)。

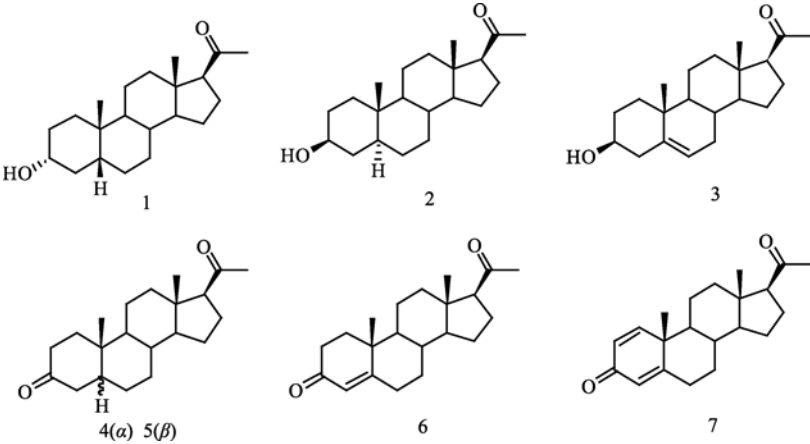


图 1 化合物 1-7 的化学结构式
Fig. 1 Structures of compounds 1 to 7

表 1 化合物 1-7 的 ^{13}C 核磁数据
Tab. 1 ^{13}C NMR data (125MHz) of compounds 1 to 7^a, δ in ppm and J in Hz

核磁碳氢信号	化合物						
	1	2	3	4	5	6	7
1	36.5	37.3	38.8	37.2	38.6	35.7	155.6
2	31.2	32.0	31.5	37.0	38.2	33.9	127.7
3	72.4	71.3	71.7	213.1	211.9	199.5	186.3
4	37.1	39.1	37.3	42.2	44.7	123.9	124.2
5	43.5	44.8	140.8	44.2	46.7	171.0	168.8
6	28.3	28.6	121.4	25.8	28.9	32.8	33.8
7	27.8	31.9	31.8	26.5	31.7	31.9	33.5
8	37.2	31.5	31.9	35.6	35.4	35.6	35.5
9	41.9	50.0	54.3	40.8	53.7	53.7	52.3
10	35.8	35.5	36.5	35.0	35.8	38.6	43.5
11	22.0	21.3	21.1	21.2	21.5	21.0	22.8
12	40.3	38.8	38.2	39.2	39.0	38.7	38.6
13	43.5	44.0	44.3	44.3	44.2	43.9	44.1
14	58.0	56.7	56.9	56.7	56.5	56.0	55.6
15	25.5	24.5	24.5	24.4	24.5	24.4	24.6
16	23.9	22.8	22.8	23.0	22.9	22.9	22.9
17	64.9	63.7	63.8	63.8	63.8	63.5	63.4
18	23.9	12.3	19.4	22.6	11.5	17.4	18.7
19	13.8	13.2	13.5	13.5	13.5	13.3	13.2
20	212.5	209.6	209.7	209.4	209.5	209.3	209.1
21	31.7	31.6	31.6	31.5	31.5	31.5	31.5

注: 化合物 1 用 CD_3OD 测定, 其他用 $CDCl_3$ 测定。

甾体尤其是孕酮类化合物, 作为激素类物质, 是一种重要生物体生理功能调节物质。本研究首次从小月柳珊瑚中分离得到的多个孕甾烷类, 与侧扁

柳珊瑚有一定相似之处, 从而为小月柳珊瑚的化学分类, 以及对孕甾类化合物的进一步研究, 提供有用的依据。

参考文献

- [1] 张文, 郭跃伟. 海洋生物柳珊瑚的化学成分及生物活性研究进展[J]. 中国天然药物, 2003, 1(2): 69–75.
- [2] BERRUE F, KERR R G. Diterpenoids from gorgonian coral [J]. Nat Prod Rep, 2009, 26: 681–718.
- [3] BLUNT J W, COPP B R, HU W P, et al. Marine natural products [J]. Nat Prod Rep, 2008, 25: 35–94.
- [4] BLUNT J W, COPP B R, HU W P, et al. Marine natural products [J]. Nat Prod Rep, 2009, 26: 170–244.
- [5] 杨晋. 两种南海柳珊瑚化学成分及其生物活性的研究[D]. 广州: 中国科学院南海海洋研究所, 2006.
- [6] 邓松之, 李凤英, 彭胜石, 等. 南海针小月柳珊瑚化学成分的研究[J]. 应用化学, 1997, 14(5): 80–82.
- [7] ZHANG W, GUO Y W, MOLLO E, et al. Menverins A–D, new highly oxygenated guaiane lactones from Hainan gorgonian *Menella verrucosa* (Brundin)[J]. Helv Chim Acta, 2004, 87: 2919–2925.
- [8] ZHANG W, HUANG H, DING Y, et al. Three new polyoxygenated steroids from two species of the South China Sea gorgonian *Muricella flexuosa* and *Menella verrucosa* Brundin[J]. Helv Chim Acta, 2006, 89: 813–820.
- [9] LI L, WANG C Y, HUANG H, et al. Further highly oxygenated guaiane lactones from the South China Sea gorgonian *Menella* sp.[J]. Helv Chim Acta, 2008, 91: 111–117.
- [10] 龚运淮, 丁立生. 天然产物核磁共振碳谱分析[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2005: 385.
- [11] MACNEVIN C J, ATIF F, SAYEED I, et al. Development and screening of water-soluble analogues of progesterone and allopregnanolone in models of brain injury[J]. J Med Chem, 2009, 52: 6012–6023.
- [12] 温燕梅, 漆淑华, 张隰. 南海脆灯芯柳珊瑚的化学成分研究[J]. 热带海洋学报, 2007, 26(1): 73–77.
- [13] QI S H, ZHANG S, YANG L H, et al. Antifouling and antibacterial compounds from the gorgonians *Subergorgia suberosa* and *Scripearia gracilis*[J]. Nat Prod Res, Part A: Structure and Synthesis, 2008, 22(2): 154–166.