

中国南海软珊瑚 *Nephthea bayeri* 化学成分研究^{*} —— 一种类脱皮激素五羟基甾醇的分离鉴定

李瑞声 温文坚 张维汉 汪波 邓一军

(中山大学化学系, 广州 510275)

摘要 从南海软珊瑚 *Nephthea bayeri* 中分离得到 7 种结晶性化合物, 通过 IR, MS, ¹H NMR, ¹³C NMR 和 UV 波谱技术以及化学方法、理化常数, 推导了它们的结构. 报道其中一种类脱皮激素的多羟基甾醇—— $2\alpha, 3\beta, 15, 16, 19$ -五羟基- $\Delta^{4,7}$ -6-烯酮-24-亚甲基甾醇.

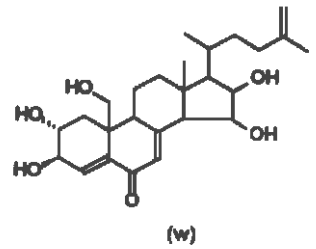
关键词 软珊瑚, 类脱皮激素, 多羟基甾醇, 鉴定

分类号 O 656.4

随着海洋天然产物化学的发展, 从珊瑚的代谢产物中发现了许多结构独特的生理活性物质. 我们对软珊瑚 *Nephthea bayeri* 的乙醇浸提物的脂溶性部分, 运用硅胶柱层析和重结晶等方法, 分离得到 7 种结晶化合物, 经鉴定为: 24-亚甲基胆甾醇; $3\beta, 19$ -羟基-24-亚甲基胆甾醇; $3\beta, 7\beta, 19$ -三羟基-24-亚甲基胆甾醇; $3\beta, 5\alpha, 8\beta, 19$ -四羟基-24-亚甲基胆甾醇; $2\alpha, 3\beta, 15, 16, 19$ -五羟基- $\Delta^{4,7}$ -6-烯酮-24-亚甲基甾醇 (w); 鲨肝醇以及一种不饱和神经酰胺等. 通过现

代波谱技术和化学分析, 推导了它们的结构. 本文报道化合物 (w) 的结构分析, 这是一种类脱皮激素结构的化合物, 未见文献报道.

从硅胶柱梯度分离的 50% 乙酸乙酯-石油醚 (60~90°C) 组分中分离到粘稠物质, 小柱分离及重结晶, 得白色针状结晶, θ_{mp} 171~173°C (甲醇), UV λ_{max}^{EtOH} 240.6 nm (X 8 820). MS 指出其分子量为 446. 结合 ¹³C NMR, 推定分子式为 C₂₆H₃₈O₆, 不饱和度为 8. 通过 IR, MS, ¹H NMR, ¹³C NMR 等波谱数据分析, (w) 是一个类脱皮激素的化合物 $2\alpha, 3\beta, 15, 16, 19$ -五羟基- $\Delta^{4,7}$ -6-烯酮-24-亚甲基甾醇.



1 结果与讨论

1.1 W 的结构分析

w 是含 α, β -不饱和羰基的多羟基甾醇化合物.

在 Liebermann-Burchard 试验中显示甾体化合物的特征颜色反应, 说明 w 是一个甾醇.

* 国家自然科学基金重点基金 (9287005-13) 资助项目

收稿日期: 1995-11-28 李瑞声, 男, 60 岁, 教授

IR 中 3416 cm^{-1} 强的吸收峰,表明分子中存在多个羟基. MS 中可找到失去多个 H_2O 的碎片峰, m/e 446(M^+), 428, 410, 392, 382, 364, 326. $^{13}\text{C NMR}$ 上可见到 5 个连氧的 sp^3 碳, W/ppm 72.0(d), 69.2(d), 66.6(d), 65.9(t), 60.4(d), 说明分子中有 5 个羟基, 其中 4 个为仲羟基, 1 个为伯羟基.

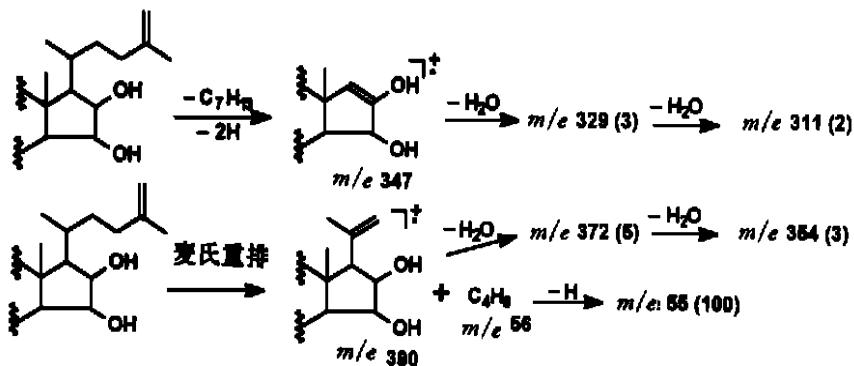
$^1\text{H NMR}$ 中 W/ppm 4.64(1H, br, s), 4.72(1H, br, s); $^{13}\text{C NMR}$ 上 W/ppm 155.6(s), 106.2(t) 的信号以及 IR 上的 888 cm^{-1} ($\nu=\text{C}=\text{C}$ 面外) 的吸收峰, 表明分子中存在末端双键.

IR (ν/cm^{-1}) 中 1640, 1671 的吸收峰显示存在双键及共轭羰基. $^{13}\text{C NMR}$ 上 W/ppm 201.3(s) 是羰基的信号. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 240.5 nm (X8820) 的 K 谱, 表明存在共轭的烯酮.

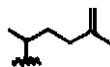
w 的 IR, UV 和 $^1\text{H NMR}$ 与脱皮激素的相类似^[1-3], 显示 w 为含有 α, β 不饱和羟基的多羟基甾醇化合物.

1.2 支链结构的确定

MS 中观察到 $347[\text{M}^+ - (\text{C}_7\text{H}_{13} + 2\text{H}), 2]$, $329[\text{M}^+ - (\text{C}_7\text{H}_{13} + 2\text{H}) - \text{H}_2\text{O}, 3]$, $311[\text{M}^+ - (\text{C}_7\text{H}_{13} + 2\text{H}) - 2\text{H}_2\text{O}, 2]$ 等一组碎片峰, 是由分子失去支链伴随着两个质子转移后连续失去 H_2O 分子所形成的, 表明支链的构成为 C_7H_{13} , 不含有羰基及羟基, 含有一个不饱和度. 由于分子中共含有 26 个碳, 扣除支链上 7 个, 剩下 19 个, 恰好是 19 个碳的甾核, 因此分子中存在的末端双键应在支链上.



此外, MS 中 m/e 390($\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_8, 1$), 372($\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_8 - \text{H}_2\text{O}, 5$), 354($\text{M}^+ - \text{C}_4\text{H}_8 - 2\text{H}_2\text{O}, 5$) 的碎片峰, 说明支链上发生麦氏重排失去 C_4H_8 的中性分子, 可推出支链的结构为

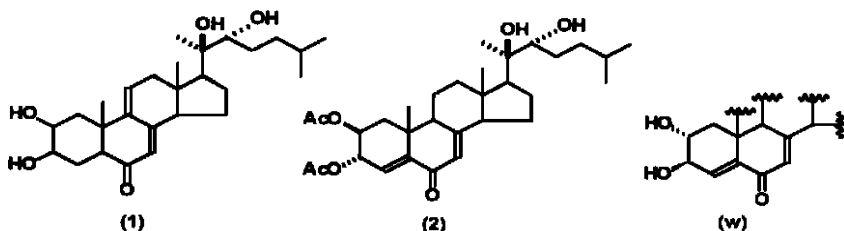


1.3 甾核上官能团位置的确定

1.3.1 甾核上共轭烯酮的位置 分子中有 8 个不饱和度, 扣除支链上 1 个, 甾环 4 个外, 甾核上还应 有 3 个不饱和度. $^1\text{H NMR}$ 上 W/ppm 5.77(1H, d, $J=2.2\text{ Hz}$) 及 5.90(1H, t, $J=12\text{ Hz}$) 的信号, 表明甾核上存在两个取代双键的烯质子, $^{13}\text{C NMR}$ (DEPT) 上 W/ppm 127.4(d), 162.9(s), 142.4(s), 131.4(d) 的信号也证实了 2 个三取代双键的存在, 而 $^{13}\text{C NMR}$ W/ppm 201.3(s) 的信号是羰基的信号. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 240.6nm 的 K 谱, 表明环上存在着共轭的烯酮^[2,3].

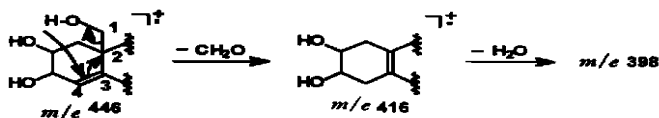
将 w 的 $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 的数据与已知化合物 (1), (2) 的 $^1\text{H NMR}$ 数据比较^[2-4], 可以推定 W 3.56(1H, m) 是 $3\alpha\text{-H}$ 的信号, δ 3.68(1H, ddd, $J=10.3, 7$ 和 3.5 Hz) 是 $3\beta\text{-H}$ 的信号, W 5.77(1H, d, $J=2.5\text{ Hz}$) 是 C-7 烯质子的信号, W 5.90(1H, d, $J=1.2\text{ Hz}$) 是 C-4 烯质子的信号, W 2.49(1H, ddd, $J=12, 7$ 和 2.5 Hz) 是 9-H 的信号, δ 2.14(1H, ddd, $J=12,$

6.5 和 3.5 Hz) 是 14- H 的信号. 双照射实验中, 当照射 W5.77 时, W2.14, 2.49 处发生变化, 即 C-7 烯质子与 C-9 及 C-14 上的氢有偶合, 这也可佐证 W2.49 是 9- H 的信号. W2.14 是 14- H 的信号; 当照射 W5.90 时, W3.56 (1H, m) 发生变化, 也说明 W5.90 是 C-4 烯质子的信号, W3.56 是 3 α - H 的信号, 两者之间有偶合作用. 至此推出 w 甾核上 A, B 环片断结构为



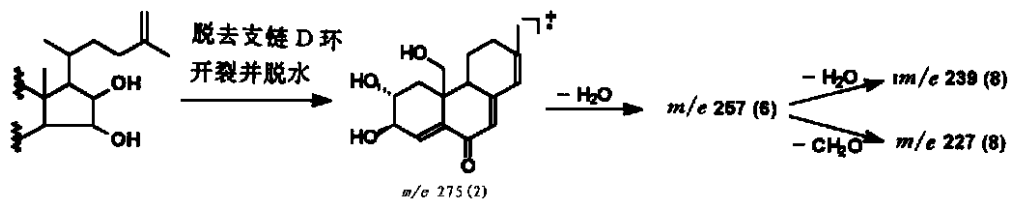
根据 Fiesher 有关 α, β 不饱和酮的紫外吸收 λ_{\max} 的计算规则^[5], 计算出 A, B 环结构的 λ_{\max} 为 244 \pm 3 nm, 与实验值 240.6 nm 相符, 进一步说明了 A, B 环的烯酮结构.

1.3.2 C-19 上羟基的确定 分子中有 5 个羟基, 扣除 A, B 环上 2 个仲羟基外, 还剩 1 个伯羟基和 2 个仲羟基. 在 MS 中观察到分子失去 30 个质量单位的碎片峰 m/e 416 [$M^+ - CH_2O$, 4], 398 [$M^+ - CH_2O - H_2O$, 8] 的峰, 说明存在着 C-19 的伯羟基, 因为质谱中失去 CH_2O (m/e 30) 是由于 C-19 的伯羟基的 3, 4 位双键参与六元环重排而特征形成的^[6,7].



在 1H NMR 中, 只找到 W0.72 (3H, 18- CH_3), W0.97 (3H, s, 21- CH_3), 1.06 (3H, s, 25- CH_3) 的信号, 而没有 19- CH_3 的信号; ^{13}C NMR 中也只有 3 个甲基信号 W21.5 (q), 18.5 (q), 11.8 (q), 扣除支链上 21- CH_3 , 25- CH_3 两个甲基, 甾核上仅有一个角甲基 (即 18- CH_3), 这也佐证了伯羟基在 C-19 位上.

1.3.3 甾核上其它两个仲羟基位置的确定 扣除 C-2, C-3 两个仲羟基及 C-19 上的伯羟基, 甾核上还有两个仲羟基. 从质谱中可以找到 m/e 275 [$M^+ - C_{10}H_{19}O_2$], 257 [$M^+ - C_{10}H_{19}O_2 - H_2O$], 239 [$M^+ - C_{10}H_{19}O_2 - 2H_2O$] 的碎片峰, 分别是分子断去支链并产生 D 环开裂时, 连续失去 H_2O 分子所形成的碎片峰, 说明 D 环上 C_{15} , C_{16} 位存在着两个仲羟基. 前述的 m/e 347 [$M^+ - (C_7H_{13} + 2H)$], 329 [$M^+ - (C_7H_{13} + 2H) - H_2O$] 和 311 [$M^+ - (C_7H_{13} + 2H) - 2H_2O$] 的碎片峰, 也是 C_{15} , C_{16} 位存在仲羟基的佐证.



综合推导 *w* 的分子结构为 α , β , 15, 16, 19-五羟基- $\Delta^{4,7}$ -6-烯酮-24-亚甲基甾醇.

表 1 *w* 的 IR, MS, $^1\text{H NMR}$ 和 $^{13}\text{C NMR}$ 波谱数据

Tab. 1 The IR, MS, $^1\text{H NMR}$ and $^{13}\text{C NMR}$ data of *w*

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} / \text{cm}^{-1}$	3 416, 2 955, 2 870, 1 671, 1 640, 1 378, 1 057, 1 025, 888, 835
MS <i>m/e</i> (丰度)	446(M^+ , 1), 428(12), 416(4), 410(5), 398(8), 392(3), 390(1), 382(5), 372(5), 364(22), 354(3), 347(2), 329(3), 311(2), 275(2), 239(8), 227(8), 55(100)
$^1\text{H NMR}$ (W/ppm) CDCl ₃ /TMS	5.90(1H, d, H-4), 5.77(1H, d, H-7), 3.68(ddd, β -H), 3.56(1H, m, α -H), 2.49(1H, ddd, H-9), 2.14(1H, ddd, H-14), 1.06(3H, s, 25-CH ₃), 0.97(3H, d, 21-CH ₃), 0.72(3H, s, 18-CH ₃)
$^{13}\text{C NMR}$ (W/ppm) DM SO-d ₆ /TMS	201.3(s), 162.4(s), 155.6(s), 142.4(s), 131.4(d), 127.4(d), 106.2(t), 72.0(d), 69.2(d), 66.6(d), 65.9(t), 60.4(d), 21.6(s), 18.5(s), 11.8(s)

2 实验部分

2.1 仪器

JEOL FX-90Q核磁共振仪; NICO LET 5D-FTIR光谱仪; VG ZAB-HS型质谱仪; 日本岛津 UV-240型光谱仪.

2.2 软珊瑚化学成分的提取与分离

将来自中国南海的软珊瑚 *Nephthea bayeri* 晒干, 切碎, 用工业酒精冷浸抽提 6 次, 减压蒸去溶剂得棕黑色粘稠物. 粘稠物用乙酸乙酯抽提, 蒸去溶剂得 450 g 脂溶物, 拌以 40~100 目硅胶, 柱层析, 依次用石油醚/乙酸乙酯/乙醇的溶剂系统洗脱.

从 50% 乙酸乙酯/石油醚 (60~90 $^{\circ}\text{C}$) 洗脱液中得粘稠物, 小柱分离, 从 30% 丙酮/石油醚 (60~90 $^{\circ}\text{C}$) 洗脱液中得无定形物质, 经丙酮反复重结晶, 得白色针状晶体 *w*, $R_f = 0.60$ (乙酸乙酯: 甲醇 = 4: 1)

参 考 文 献

- 1 Fukuzawa A, Miyamoto M, Kumagi Y, et al. Ecdsone-like metabolites, 14 α -hydroxypinnasterols, from the red alga *laurencia pinnata*. *Phytochemistry*, 1986, 25(6): 1305
- 2 侯嵩生, 王国亮, 夏克敏. 陆均松植物中蜕皮激素的分离与鉴定. *植物学报*, 1982, 24(4): 347
- 3 Nakanish K, Koreeda M, Sasaki S, et al. Insect hormones. The structure of ponasterone A, an insect-moulting hormone from the leaves of *podocarpus nakaii* hay. *Chem Commun*, 1966, 24: 915
- 4 Fukuzawa A, Kumagai Y, Masamune T, et al. Acetypinnasterol and pinnasterol, ecdysone like metabolites, from the marine red alga *laurencia pinnata yamada*. *Tetrahedron Letters*, 1981, 22(41): 4085
- 5 R. M. 西尔弗斯坦. 有机化合物光谱鉴定. 北京: 科学出版社, 1982. 214
- 6 Bortolotto M, Braekman J C, Daloz D, et al. Chemical studies of marine invertebrates. XXIII. Steroids, 1976, 28: 461
- 7 Li Ruisheng, Wang Shanyong, Tan Guili. Two polyhydroxylated steroids from the Chinese soft

coral lithophy ton arboreum. steroids, 1994, 59 503

Studies on the Chemical Constituents of the Chinese Soft Coral *Nephtea bayeri*

—— The Isolation and Determination of an Ecdysone-like Polyhydroxysterol

Li Ruisheng * *Wen Wenjian* *Zhang Weihai* *Wang Bo* *Deng Yijun*

Abstract Seven crystalline compounds have been isolated from the Chinese soft coral *Nephtea bayeri* collected from the South China Sea. Their structures were elucidated with the date of IR, MS, ^1H NMR, ^{13}C NMR, UV and chemical methods. An ecdysone-like polyhydroxysterol — α , β , 15, 16, 19-pentahydroxy- $\Delta^{4,7}$ -6-ketone-24-methylene-cholesterol was reported.

Keywords soft coral, ecdysonoid, polyhydroxysterol, determination

* Department of Chemistry, Zhongshan University, Guangzhou 510275