

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.00819

中国南海小月柳珊瑚 *Menella kanisa* 中过氧化甾体成分研究

王 潘^{1,2}, 周 巍², 汤 华², 刘宝姝², 孙 鹏², 朱 文¹, 骆焱平^{1*}, 张 文^{2*}

1. 海南大学环境与植物保护学院, 海口 570228

2. 第二军医大学药学院海洋药物研究中心, 上海 200433

[摘要] **目的** 研究中国南海小月柳珊瑚 *Menella kanisa* 中的化学成分。**方法** 应用正相硅胶、Sephadex LH-20 凝胶、半制备反相高效液相色谱法(RP-HPLC)等多种分离手段对小月柳珊瑚 *Menella kanisa* 的乙醚提取物进行分离纯化, 根据现代波谱技术结合文献报道进行结构鉴定。**结果和结论** 从南海小月柳珊瑚 *Menella kanisa* 中分离得到 5 个过氧化麦角甾, 分别鉴定为: 5 α , 8 α -过氧化胆甾-6-烯-3 β -醇(1)、(22E)-5 α , 8 α -过氧化胆甾-6, 22-二烯-3 β -醇(2)、(22E, 24R)-5 α , 8 α -过氧化麦角甾-6, 22-二烯-3 β -醇(3)、5 α , 8 α -过氧化麦角甾-6, 24(28)-二烯-3 β -醇(4)、24(E)-5 α , 8 α -过氧化胆甾-24-乙基-6, 24(28)-二烯-3 β -醇(5)。这 5 个过氧化甾醇均为首次从该种珊瑚中分离得到。

[关键词] 小月柳珊瑚; 过氧化甾醇; 天然产物; 结构鉴定

[中图分类号] R 931.77 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2013)08-0819-04

Research on 5 α , 8 α -epidioxy sterols from the South China Sea gorgonian *Menella kanisa*

WANG Pan^{1,2}, ZHOU Wei², TANG Hua², LIU Bao-shu², SUN Peng², ZHU Wen¹, LUO Yan-ping^{1*}, ZHANG Wen^{2*}

1. The Environment and Plant Protection College, Hainan University, Haikou 570228, Hainan, China

2. Research Center for Marine Drugs, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To investigate the chemical components of gorgonian *Menella kanisa* collected from the South China Sea. **Methods** The Et₂O extract of gorgonian *Menella kanisa* was purified by repeated column chromatography on silica gel, Sephadex LH-20, and reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC). The structures of the obtained compounds were determined on the basis of spectroscopic analysis and compared with the reported data. **Results and Conclusion** Five 5 α , 8 α -epidioxy sterols were isolated from gorgonian *Menella kanisa* collected from the South China Sea, and their structures were determined as: 5 α , 8 α -epidioxy-cholest-6-en-3 β -ol (1), (22E)-5 α , 8 α -epidioxy-cholesta-6, 22-dien-3 β -ol (2), (22E, 24R)-5 α , 8 α -epidioxy-24-methyl-cholesta-6, 22-dien-3 β -ol (3), 5 α , 8 α -epidioxy-24-methyl-cholesta-6, 24(28)-dien-3 β -ol (4), (24E)-5 α , 8 α -epidioxy-24-ethyl-cholesta-6, 24(28)-dien-3 β -ol (5). All the five epidioxy sterols have been separated from the title *Menella kanisa* for the first time.

[Key words] *Menella kanisa*; epidioxy sterols; natural product; structural elucidation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(8): 819-822]

柳珊瑚俗称海扇、海鞭或海柳, 在我国海域分布有 7 个科: 花柳珊瑚科(Anthothelidae)、软柳珊瑚科(Subergorgiidae)、海底柏科(Melitodidae)、棘柳珊瑚科(Acanthogorgiidae)、类尖柳珊瑚科(Paramuriceidae)、丛柳珊瑚科(Plexauridae)及鞭柳珊瑚科(Ellisellidae), 主要分布于广东、广西、海南岛、西沙等海域^[1]。国际上对柳珊瑚化学成分的研究始于 20 世纪 60 年代。

1969 年, 美国学者 Weinheiner 等^[2]从柳珊瑚中发现了丰富的具有独特活性结构和生理活性的前列腺素前体。自此, 吸引了大量的天然产物化学家将目光转向柳珊瑚的研究, 从中分离得到主要包括脂类、萜类、甾体类、生物碱类和鲨肝醇类等化合物^[3-4]。体外活性测试表明, 柳珊瑚中的众多化合物都有良好的生物学活性, 主要表现在抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗

[收稿日期] 2013-04-10 **[接受日期]** 2013-06-09

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81172979), 国家高技术研究发展计划(“863”计划, 2013AA092902)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81172979) and National High-Tech R&D Program (“863” Project, 2013AA092902).

[作者简介] 王 潘, 硕士生。E-mail: w. p1008@hotmail.com

* 通信作者 (Corresponding authors). Tel: 0898-66192915, E-mail: yanpluo2012@hainu.edu.cn; Tel: 021-81871257, E-mail: wenzhang1968@163.com

炎等方面^[5-6]。

小月柳珊瑚 *Menella kanisa* 属于柳珊瑚目 (Gorgonacea) 类尖柳珊瑚科小月柳珊瑚属 (*Menella*) 动物。以往研究表明,该属柳珊瑚中含有倍半萜、二萜、多羟基甾体、脂肪醇及胸苷等化学成分,这些化合物在体外筛选中表现出抗病毒、抗炎、抗氧化等生物活性^[7-15]。目前尚未见对 *Menella kanisa* 化学成分的研究报道。在对南海珊瑚化学成分系统研究的过程中^[16-21],我们对中国南海小月柳珊瑚 *Menella kanisa* 的化学成分进行了分离、鉴定,得到 5 个过氧化甾体,结构见图 1。

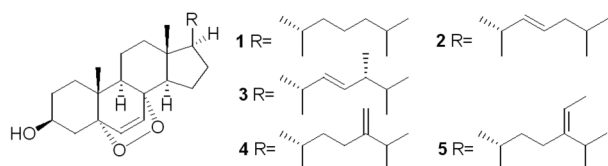


图 1 化合物 1~5 的结构式

Fig 1 Structures of compounds 1-5

1 材料和方法

1.1 样品 实验样品于 2011 年 8 月采自我国广西北海海域水下 10 m 处,立即冷冻备用。种属由中国科学院南海海洋研究所李秀保助理研究员鉴定,样品标本保存于第二军医大学药学院海洋药物研究中心,编号 SG-7。

1.2 主要仪器与试剂 HZQ-F280 型全温震荡培养箱; LDZH-200KBS 型立式压力蒸汽灭菌器; Bruker Varian Inova-600、Avance-500、Avance-400 核磁共振仪; MAT-212 质谱仪; XT5 显微熔点测定仪; SGW-1 自动旋光仪; Agilent 1100 高效液相色谱仪 [RID 检测器, Zorbax 300-C₁₈ 柱 (250 mm × 9.4 mm, 5 μm)]; Sephadex LH-20 凝胶由 Amersham Pharmacia Biotech 生产; TLC 薄层板和柱色谱硅胶均由烟台黄务硅胶开发实验厂提供; 开放柱色谱所用溶剂为分析纯, 高效液相色谱 (HPLC) 所用试剂为色谱纯, 均由国药集团上海化学试剂公司生产。

1.3 化合物的提取与分离 样品湿质量 7.1 kg, 剪碎, 丙酮超声提取 5 次 (2 L/次, 30 min), 合并丙酮提取液, 减压浓缩得粗浸膏 50.0 g, 用 1 L 的蒸馏水混悬, 用乙醚萃取 5 次 (1 L/次), 减压浓缩得乙醚浸膏 22.5 g。乙醚层浸膏经硅胶柱层析梯度洗脱 (从石油醚: 乙酸乙酯 = 99:1 至纯乙酸乙酯) 分成 21 个

部分 (Fr. 1~Fr. 21)。Fr. 7 部分 (100 mg) 再经过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (CHCl₂: MeOH = 2:1)、正相硅胶柱色谱 (400~600 目硅胶、正己烷: 丙酮 = 5:1 洗脱)、反相高效液相色谱 (RP-HPLC; 流动相: 90% 甲醇-水, 流速: 1.5 mL/min, 柱温: 30℃) 进一步纯化, 得到化合物 1 (1.5 mg, 54.8 min)、化合物 2 (1.3 mg, 40.5 min)、化合物 3 (1.6 mg, 42.6 min)、化合物 4 (1.8 mg, 39.2 min)、化合物 5 (1.0 mg, 49.2 min)。

2 结果

2.1 化合物 1 的结构鉴定 白色无定形粉末 (CHCl₃), m. p. 150~152℃; $[\alpha]_D^{20} = -6.0^\circ$ (c 0.15, CHCl₃); ESI-MS (*m/z*): 417.33 ([M+H]⁺); ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃): 3.97 (1H, m, H-3), 6.25 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6), 6.51 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-7), 0.82 (3H, s, H-18), 0.88 (3H, s, H-19), 0.90 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 0.86 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-26), 0.87 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-27)。结合文献 [21-23] 可以推断出化合物 1 为 5α,8α-过氧化胆甾-6-烯-3β-醇。

2.2 化合物 2 的结构鉴定 白色粉末 (CHCl₃), m. p. 168~170℃; $[\alpha]_D^{20} = -12^\circ$ (c 0.13, CHCl₃); ESI-MS (*m/z*): 415.32 ([M+H]⁺); ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃): 3.98 (1H, m, H-3), 6.25 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6), 6.51 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-7), 0.82 (3H, s, H-18), 0.89 (3H, s, H-19), 0.96 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 5.16 (1H, dd, *J* = 15.1, 8.0 Hz, H-22), 5.28 (1H, dd, *J* = 15.1, 8.1 Hz, H-23), 0.85 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-26), 0.86 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-27)。MS 及 ¹HNMR 数据与文献 [21-22] 一致, 确定化合物 2 为 (22*E*)-5α,8α-过氧化胆甾-6,22-二烯-3β-醇。

2.3 化合物 3 的结构鉴定 白色针状结晶 (CHCl₃), m. p. 178~180℃; $[\alpha]_D^{20} = -28^\circ$ (c 0.16, CHCl₃); ESI-MS (*m/z*): 429.33 ([M+H]⁺); ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃): 3.96 (1H, m, H-3), 6.24 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6), 6.50 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-7), 0.82 (3H, s, H-18), 0.89 (3H, s, H-19), 1.00 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 5.13 (H, dd, *J* = 15.1, 7.7 Hz, H-22), 5.20 (1H, dd, *J* = 15.1, 7.7 Hz, H-23), 0.81 (3H, d, *J* = 6.9 Hz, H-26), 0.82 (3H, d, *J* = 6.9

Hz, H-27), 0.91 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-28); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): 34.7 (t, C-1), 30.1 (t, C-2), 66.5 (d, C-3), 36.9 (t, C-4), 82.2 (s, C-5), 135.4 (d, C-6), 130.8 (d, C-7), 79.4 (s, C-8), 51.1 (d, C-9), 37.0 (s, C-10), 23.4 (t, C-11), 39.4 (t, C-12), 44.6 (s, C-13), 51.7 (d, C-14), 20.7 (t, C-15), 28.9 (t, C-16), 56.2 (d, C-17), 12.9 (q, C-18), 18.2 (q, C-19), 39.8 (d, C-20), 20.9 (q, C-21), 135.4 (d, C-22), 132.4 (d, C-23), 43.1 (d, C-24), 33.2 (d, C-25), 19.7 (q, C-26), 20.1 (q, C-27), 17.6 (q, C-28)。C-28 化学位移值为 17.6, 因而确定该化合物 24 位为 R 构型; 其 S 构型异构体 C-28 化学位移值在 18.0 左右, 相差约 0.4^[24]。MS、 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文献[21]一致, 确定化合物 **3** 为 (22*E*, 24*R*)-5 α , 8 α -过氧化麦角甾-6, 22-二烯-3 β -醇。

2.4 化合物 **4** 的结构鉴定 白色针状结晶 (CHCl_3), m. p. 165~167°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -8.0^\circ$ (c 0.18, CHCl_3); ESI-MS (m/z): 429.33 ($[\text{M} + \text{H}]^+$); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 3.96 (1H, m, H-3), 6.24 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 6.50 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7), 0.82 (3H, s, H-18), 0.89 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-21), 1.00 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-26), 1.01 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-27), 4.72 (1H, s, H-28), 4.65 (1H, s, H-28); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): 34.7 (t, C-1), 30.1 (t, C-2), 66.5 (d, C-3), 36.9 (t, C-4), 82.2 (s, C-5), 135.4 (d, C-6), 130.8 (d, C-7), 79.4 (s, C-8), 51.1 (d, C-9), 37.0 (s, C-10), 23.4 (t, C-11), 39.4 (t, C-12), 44.6 (s, C-13), 51.7 (d, C-14), 20.7 (t, C-15), 28.9 (t, C-16), 56.2 (d, C-17), 12.9 (q, C-18), 18.2 (q, C-19), 35.1 (d, C-20), 18.5 (q, C-21), 34.6 (t, C-22), 31.3 (t, C-23), 156.3 (s, C-24), 34.4 (d, C-25), 22.0 (q, C-26), 21.9 (q, C-27), 106.2 (d, C-28)。 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文献[22]一致, 确定化合物 **4** 为 5 α , 8 α -过氧化麦角甾-6, 24(28)-二烯-3 β -醇。

2.5 化合物 **5** 的结构鉴定 白色针状结晶 (CHCl_3), m. p. 182~184°C; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -10^\circ$ (c 0.10, CHCl_3); ESI-MS (m/z): 443.35 ($[\text{M} + \text{H}]^+$); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 3.96 (1H, m, H-3), 6.24 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 6.50 (1H, d,

$J = 8.5$ Hz, H-7), 0.82 (3H, s, H-18), 0.89 (3H, s, H-19), 0.96 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-21), 0.96 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-26), 0.95 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-27), 5.10 (1H, q, $J = 6.3$ Hz, H-28), 1.60 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-29); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): 34.7 (t, C-1), 30.1 (t, C-2), 66.5 (d, C-3), 36.9 (t, C-4), 82.2 (s, C-5), 135.4 (d, C-6), 130.8 (d, C-7), 79.4 (s, C-8), 51.1 (d, C-9), 37.0 (s, C-10), 23.4 (t, C-11), 39.4 (t, C-12), 44.6 (s, C-13), 51.7 (d, C-14), 20.7 (t, C-15), 28.9 (t, C-16), 56.2 (d, C-17), 12.9 (q, C-18), 18.2 (q, C-19), 35.8 (d, C-20), 18.7 (q, C-21), 34.9 (t, C-22), 25.5 (t, C-23), 146.7 (s, C-24), 34.8 (d, C-25), 22.0 (q, C-26), 21.9 (q, C-27), 115.8 (d, C-28), 13.2 (q, C-29)。MS、 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文献[22]一致, 确定化合物 **5** 为 24(*E*)-5 α , 8 α -过氧化胆甾-24-乙基-6, 24(28)-二烯-3 β -醇。

3 讨论

本实验得到的 5 个过氧化甾醇均为首次从该珊瑚中分离得到。化合物 **1**~**5** 对人类乳腺癌细胞 MCF-7 的生长有不同程度的抑制作用^[22], 化合物 **3** 对人类癌细胞(A549、H460、HGC27)也显示有抑制作用^[25]。我们之前的研究表明, 化合物 **1**~**3** 对巨大芽孢杆菌、大肠杆菌、壳针孢叶枯病菌、花药黑粉菌和小球藻均显示不同程度的抗生长抑制活性^[21], 提示这些化合物在小月柳珊瑚 *Menella kanisa* 的化学防御过程中可能发挥重要作用。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 黄宗国. 中国海洋生物种类与分布[M]. 北京: 海洋出版社, 2008: 300-326.
- [2] Weinheimer A J, Spraggins R L. Occurrence of two new prostaglandin derivatives (15-epi-PGA2 and its acetate, methyl ester) in the gorgonian *Plexaura homomalla* chemistry of coelenterates. XV [J]. Tetrahedron Lett, 1969(59): 5185-5188.
- [3] 邱蕴绮, 漆淑华, 张 恩. 柳珊瑚中甾醇类化合物及其生物活性研究进展[J]. 中草药, 2009, 40: 985-991.
- [4] 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: 69-75.
- [5] Blunt J W, Copp B R, Munro M H, Northcote P T, Prinsep M R. Marine natural products [J]. Nat Prod Rep, 2011, 28: 196-268.
- [6] Zhang W, Guo Y W, Gu Y C. Secondary metabolites from the South China Sea invertebrates; chemistry and biological activity [J]. Curr Med Chem, 2006, 13: 2041-2090.
- [7] Deng S Z, Li F Y, Peng S S, Rao Z G, Wu H M, Xu J H. Chemical constituents of the South China Sea gorgonian *Menella spinifera* Kukenthal [J]. Chin J Appl Chem, 1997, 14: 80-82.
- [8] Zhang W, Guo Y W, Mollo E, Cimino G, Menverins A-D, new highly oxygenated guaiane lactones from Hainan gorgonian *Menella verrucosa* (Brundin) [J]. Helv Chim Acta, 2004, 87: 2919-2925.
- [9] Zhang W, Huang H, Ding Y, Gavagnin M, Mollo E, Cimino G, 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.
- [10] Li L, Wang C Y, Huang H, Mollo E, Cimino G, Guo Y W. Further highly oxygenated guaiane lactones from the South China Sea gorgonian *Menella* sp. [J]. Helv Chim Acta, 2008, 91: 111-117.
- [11] Chai X Y, Sun J F, Tang L Y, Yang X Y, Li Y Q, Huang H, et al. A novel cyclopentene derivative and a polyhydroxylated steroid from a South China Sea gorgonian *Menella* sp. [J]. Chem Pharm Bull, 2010, 58: 1391-1394.
- [12] Kao S Y, Su J H, Hwang T L, Sheu J H, Wen Z H, Wu Y C, et al. (-)-Hydroxylindrestrenolide, a new sesquiterpenoid from a gorgonian coral *Menella* sp. (Plexauridae) [J]. Chem Pharm Bull, 2011, 59: 1048-1050.
- [13] Kao S Y, Su J H, Hwang T L, Sheu J H, Wen Z H, Wu Y C, et al. Menelloides C and D, new sesquiterpenoids from the gorgonian coral *Menella* sp. [J]. Mar Drugs, 2011, 9: 1534-1542.
- [14] Kao S Y, Su J H, Hwang T L, Sheu J H, Su Y D, Lin C S, et al. Discovery of novel sesquiterpenoids from a gorgonian *Menella* sp. [J]. Tetrahedron, 2011, 67: 7311-7315.
- [15] Lee C H, Kao C Y, Kao S Y, Chang C H, Su J H, Hwang T L, et al. Terpenoids from the octocorals *Menella* sp. (Plexauridae) and *Lobophytum crassum* (Alcyonacea) [J]. Mar Drugs, 2012, 10: 427-438.
- [16] Li C, La M P, Li L, Li X B, Tang H, Liu B S, et al. Bioactive 11,20-epoxy-3,5(16)-diene briarane diterpenoids from the South China Sea gorgonian *Dichotella gemmacea* [J]. J Nat Prod, 2011, 74: 1658-1662.
- [17] Sun P, Meng L Y, Tang H, Liu B S, Li L, Yi Y H, et al. Sinularosides A and B, bioactive 9,11-secosteroidal glycosides from the South China Sea soft coral *Sinularia* sp. [J]. J Nat Prod, 2012, 75: 1656-1659.
- [18] Li C, La M P, Sun P, Kurtán T, Mándi A, Tang H, et al. Bioactive (3Z,5E)-11,20-epoxybriara-3,5-diene-7,18-olide diterpenoids from the South China Sea gorgonian *Dichotella gemmacea* [J]. Mar Drugs, 2011, 9: 1403-1418.
- [19] Liu T F, Lu X, Tang H, Zhang M M, Wang P, Sun P, et al. 3 β ,5 α ,6 β -Oxygenated sterols from the South China Sea gorgonian *Muriceopsis flavida* and their tumor cell growth inhibitory activity and apoptosis-inducing function [J]. Steroids, 2013, 78: 108-114.
- [20] 徐圆缘, 李玲, 易杨华, 张文. 块花柳珊瑚化学成分的研究 [J]. 第二军医大学学报, 2010, 31: 421-424.
- Xu Y Y, Li L, Yi Y H, Zhang W. Studies on chemical constituents of *Anthogorgia* sp. [J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31: 421-424.
- [21] 刘桃芳, 汤华, 李玲, 张文. 中国南海紫柳珊瑚中过氧化甾醇类化学成分的研究 [J]. 第二军医大学学报, 2011, 32: 469-472.
- Liu T F, Tang H, Li L, Zhang W. 5 α ,8 α -Epidioxy sterol components in gorgonian *Muriceopsis flavida* collected from the South China Sea [J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32: 469-472.
- [22] Ioannou E, Abdel-Razik A F, Zervou M, Christofidis D, Alexi X, Roussis V, et al. 5 α ,8 α -Epidioxy sterols from the gorgonian *Eunicell cavolini* and the ascidian *Trididemnum inarmatum*; isolation and evaluation of their antiproliferative activity [J]. Steroids, 2009, 74: 73-80.
- [23] 吴旭东, 梅文莉, 邵长伦, de Voogd N J, 王辉, 王长云, 等. 中国南海蜂海绵 *Haliclona cymaeformis* 的化学成分研究 [J]. 中国海洋药物, 2011, 30(5): 12-17.
- [24] Zhang W, Guo Y W, Mollo E, Fontana A, Cimino G. Acanthogasteroids A-D, four new 19-hydroxylated steroids from the South China Sea gorgonian *Acanthogorgia vagae* Aurivillius [J]. J Nat Prod, 2004, 67: 2083-2085.
- [25] Wu S B, Bao Q Y, Hu J F. Cytotoxic triterpenoids and sterols from the bark of *Melia azedarach* [J]. Plant Med, 2011, 77: 922-928.