

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00421

块花柳珊瑚化学成分的研究

徐圆缘, 李玲, 易杨华*, 张文*

第二军医大学药学院海洋药物研究中心, 上海 200433

[摘要] **目的** 对采自中国广西省北海附近的块花柳珊瑚(*Anthogorgia* sp.)进行化学成分的研究。**方法** 用硅胶柱层析(石油醚:丙酮=99:1, 49:1, 39:1, 34:1, 29:1, 24:1, 19:1, 14:1, 11:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 100%丙酮;氯仿:甲醇=24:1, 19:1, 14:1, 9:1, 7:1, 5:1, 3:1, 1:1, 1:4, 1:9, 1:39, 100%甲醇)梯度洗脱和 Sephadex LH-20 凝胶柱层析(正己烷:氯仿:甲醇 2:1:1 洗脱)对块花柳珊瑚丙酮提取物的乙醚部分进行分离纯化,并利用经¹H NMR、¹³C NMR、MS等现代光谱技术对其进行结构鉴定。**结果** 分离得到6个甾醇类化合物以及1个神经酰胺,其结构分别为:麦角甾-5,24(28)-二烯-3 β -醇(1)、(22E,24R)-麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇(2)、(22E,24S)-麦角甾-5,22-二烯-3 β -醇(3)、胆甾-5-烯-3 β ,7 β ,19 α -三醇(4)、(22E)-胆甾-5,22-二烯-3 β -醇(5)、胆甾醇(6)、N-正十六碳酰基-正十八碳-4(E)-烯鞘胺醇(7)。**结论** 这些化合物均首次从该种海洋动物中分离得到。

[关键词] 块花柳珊瑚;甾醇类;神经酰胺类

[中图分类号] R 927.13

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2010)04-0421-04

Studies on chemical constituents of *Anthogorgia* sp.

XU Yuan-yuan, LI Ling, YI Yang-hua*, ZHANG Wen*

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

[Abstract] **Objective** To study the chemical constituents of *Anthogorgia* sp. collected from Beihai area of Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. **Methods** The Et₂O extract of *Anthogorgia* sp. was subjected to repeated silica gel (eluted with Pe:Ac=99:1, 49:1, 39:1, 34:1, 29:1, 24:1, 19:1, 14:1, 11:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 100%Ac; CHCl₃:MeOH=24:1, 19:1, 14:1, 9:1, 7:1, 5:1, 3:1, 1:1, 1:4, 1:9, 1:39, 100% MeOH) and Sephadex LH-20 column chromatography(n-hexane:CHCl₃:MeOH=2:1:1) for isolation and purification. The structures of the resultant compounds were elucidated using spectroscopic analysis(¹H NMR, ¹³C NMR and MS). **Results** Six steroids and one ceramide were isolated and identified as: Ergost-5,24(28)-dien-3 β -ol(1), (22E,24R)-ergost-7,22-dien-3 β ,5 α ,6 β -triol(2), (22E,24S)-ergost-5,22-dien-3 β -ol(3), cholesta-5-en-3 β ,7 β ,19 α -triol(4), (22E)-cholesta-5,22-dien-3 β -ol(5), cholesterol(6), and N-palmitoyloctadecaphinga-4(E)-ene(7). **Conclusion** All the six compounds are isolated from *Anthogorgia* sp. for the first time.

[Key words] *Anthogorgia* sp.; steroids; ceramides

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(4): 421-424]

甾醇是生物膜的重要组成部分和一些激素的前体,几乎存在于所有生物体内。近年来,海洋有机体已经成为甾体化合物的一个重要来源,许多新颖的骨架和活性化合物已经从海洋有机体中分离出来^[1],而柳珊瑚里存在丰富的甾醇类化合物,由于甾醇侧链结构的多样化和氧化程度的不同,使其结构较为复杂。通过药理学活性和作用机制的研究,研

究者发现这些化合物具有抗炎、抗菌、抗肿瘤和抗结核等多种多样的生物活性^[1-3]。

本实验对我国广西北海附近海域块花柳珊瑚(*Anthogorgia* sp.)的化学成分进行研究,将采集到的珊瑚样品用丙酮提取,丙酮提取物分别用乙醚和正丁醇萃取,经反复柱层析结合 HPLC 分离出 7 个化合物。经¹H NMR、¹³C NMR、MS 等波谱技术分

[收稿日期] 2010-01-18 **[接受日期]** 2010-03-01

[基金项目] 国家高技术研究发展计划重点项目("863"计划,2006AA09Z446),上海市重点学科建设项目(B906)。Supported by the National High-tech R&D Program("863" Program,2006AA09Z446) and Shanghai Leading Academic Discipline Project(B906)。

[作者简介] 徐圆缘, 硕士生。E-mail: lincy_xyy@126.com

* 通讯作者(Corresponding authors)。Tel: 021-65384988, E-mail: yiyanghua@126.com; Tel: 021-81871257, E-mail: zhangwen68@hotmail.com

析鉴定, $[\alpha]_D^{20}$ 、熔点等理化常数的测定, 结合文献, 对其结构进行了确定。

1 材料和方法

1.1 样品 块花柳珊瑚(*Anthogorgia* sp.)属于柳珊瑚目(*Gorgonacea*)棘柳珊瑚科(*Acanthogorgiidae*)动物, 样品采自中国广西北海附近海域, 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, 编号为 ZS-1。

1.2 仪器和试剂 Bruker Avance-500、Avance-600 核磁共振仪; MAT-212 质谱仪; XT5 显微熔点测定仪; 柱层析硅胶(200~300 目)由烟台芝罘黄务硅胶开发试验厂生产; 凝胶柱使用 Pharmacia 公司 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶; Aglient 1100 RID 检测器。所有试剂均为分析纯, 由中国医药集团上海化学试剂公司生产。

1.3 化合物的提取和鉴定 将柳珊瑚(2 167.9 g)样品切碎, 用丙酮超声提取, 每次 5 L 提取 5 次至无色, 将丙酮提取液减压浓缩(温度低于 35℃), 浓缩物用 1 L 蒸馏水混悬, 依次用等体积的乙醚和正丁醇萃取 4

次, 合并提取液减压浓缩, 得乙醚层浸膏约 28 g, 正丁醇层浸膏约 7 g。将乙醚层浸膏经 200~300 目硅胶柱层析(石油醚: 丙酮=99:1, 49:1, 39:1, 34:1, 29:1, 24:1, 19:1, 14:1, 11:1, 9:1, 8:1, 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 100% 丙酮, 氯仿: 甲醇=24:1, 19:1, 14:1, 9:1, 7:1, 5:1, 3:1, 1:1, 1:4, 1:9, 1:39, 100% 甲醇)梯度洗脱和 Sephadex LH-20 柱层析(以正己烷: 氯仿: 甲醇=2:1:1 洗脱), 并使用 HPLC(洗脱液为甲醇: 水=4:1, 9:1)分离得到 7 个化合物。

2 结果

分离得到的 6 个甾醇类化合物分别鉴定为: 麦角甾-5, 24(28)-二烯-3 β -醇(1)(16.6 mg), (22*E*, 24*R*)-麦角甾-7, 22-二烯-3 β , 5 α , 6 β -三醇(2)(17.8 mg), (22*E*, 24*S*)-麦角甾-5, 22-二烯-3 β -醇(3)(13.6 mg), 胆甾-5-烯-3 β , 7 β , 19 α -三醇(4)(23.8 mg), (22*E*)-胆甾-5, 22-二烯-3 β -醇(5)(15.7 mg), 胆甾醇(6)(81.3 mg); 神经酰胺化合物鉴定为 N-正十六酰基-正十八碳-4(*E*)-烯鞘胺醇(7)(13.2 mg)。结构式见图 1。

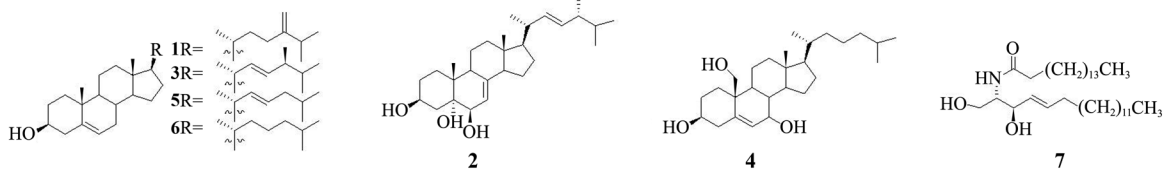


图 1 化合物 17 的结构式
Fig 1 Structures of compounds 1-7

2.1 化合物(1)的结构鉴定 无色细针状结晶, m. p. 140142℃(丙酮); ESI-MS (m/z): 399.13 ($[M+H]^+$), 1H NMR(600 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.35(dd, $J=10.2, 6.0$ Hz, 1H), 4.72(s, 1H), 4.66(s, 1H), 3.53(m, 1H), 1.02(s, 3H), 0.96(d, $J=7.4$ Hz, 3H), 0.88(dd, $J=6.7, 6.9$ Hz, 6H), 0.69(s, 3H); ^{13}C NMR(150 MHz, $CDCl_3$) δ : 156.91(s), 140.75(s), 121.72(d), 105.92(t), 71.82(d), 56.76(d), 55.98(d), 50.12(d), 42.31(s), 42.24(t), 39.78(t), 37.26(t), 36.51(s), 35.77(d), 34.68(t), 33.81(d), 31.91(t), 31.90(d), 31.67(t), 30.98(t), 28.23(t), 24.30(t), 22.02(q), 21.88(t), 21.09(q), 19.42(q), 18.72(q), 11.88(q). 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据与文

献^[4]一致, 确定为麦角甾-5, 24(28)-二烯-3 β -醇。
2.2 化合物(2)的结构鉴定 无色细针状结晶, m. p. 228230℃(丙酮); ESI-MS (m/z): 431.17 ($[M+H]^+$), 1H NMR(600 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.36(m, 1H), 5.18(dd, $J=8.1, 4.0$ Hz, 1H), 5.17(dd, $J=10.2, 6.0$ Hz, 1H), 4.03(m, 1H), 3.57(m, 1H), 1.98(m, 1H), 1.09(s, 3H), 1.02(d, $J=6.6$ Hz, 3H), 0.92(d, $J=7.0$ Hz, 3H), 0.85(d, $J=6.7$ Hz, 3H), 0.83(d, $J=6.5$ Hz, 3H), 0.61(s, 3H); ^{13}C NMR(150 MHz, $CDCl_3$) δ : 143.99(s), 135.59(d), 132.27(d), 117.53(d), 77.00(s), 73.65(d), 67.74(d), 55.94(d), 54.77(d), 43.75(s), 43.45(d), 43.07(s), 40.49(t), 39.45(t), 39.22(t), 37.13(s), 33.20(d), 32.95

(t), 30.84(t), 28.19(t), 22.93(t), 22.04(t), 21.13(q), 20.14(q), 19.65(q), 18.82(q), 18.01(q), 12.28(q)。¹H NMR 和¹³C NMR 数据与文献^[5]一致,确定为(22*E*,24*R*)-麦角甾-7,22-二烯-3 β ,5 α ,6 β -三醇。

2.3 化合物(3)的结构鉴定 白色粉末, [α]_D²⁰-48.7°(c 0.25, CHCl₃), ESI-MS(*m/z*): 399.15 ([M+H]⁺), ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 5.35(t, *J*=10.2, 6.8 Hz, 1H), 5.18(m, 2H), 3.55(m, 1H), 1.02(s, 3H), 1.01(d, *J*=6.6 Hz, 3H), 0.91(d, *J*=7.1 Hz, 3H), 0.83(d, *J*=6.7 Hz, 3H), 0.81(d, *J*=6.6 Hz, 3H), 0.69(s, 3H); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 140.76(s), 135.84(d), 131.72(d), 121.72(d), 71.82(d), 56.85(d), 56.02(d), 50.17(d), 42.80(t), 42.32(s), 40.24(d), 40.16(t), 39.69(t), 37.27(t), 36.53(s), 33.11(d), 31.91(t), 31.69(d), 28.54(t), 24.82(t), 21.08(t), 21.97(t), 19.97(q), 19.65(q), 19.41(q), 18.7(q), 17.63(q), 12.09(q)。¹H NMR 和¹³C NMR 数据与文献^[6]一致,确定为(22*E*,24*S*)-麦角甾-5,22-二烯-3 β -醇。

2.4 化合物(4)的结构鉴定 白色针状结晶, ESI-MS(*m/z*): 418.86 ([M+H]⁺), ¹H NMR(600 MHz, CDCl₃) δ : 5.67(s, 1H), 3.84(m, 2H), 3.65(d, *J*=8.7 Hz, 1H), 3.61(m, 1H), 0.93(d, *J*=6.8 Hz, 3H), 0.88(d, *J*=7.2 Hz, 6H), 0.75(s, 3H); ¹³C NMR(150 MHz, CDCl₃) δ : 138.18(s), 130.00(d), 72.48(d), 71.08(d), 62.66(t), 56.88(d), 55.48(d), 48.66(d), 43.16(d), 42.86(s), 41.76(t), 41.47(s), 39.80(t), 39.49(t), 36.20(t), 35.73(d), 33.17(t), 31.32(t), 28.56(t), 28.01(d), 26.10(t), 23.84(t), 22.80(q), 22.55(q), 21.72(t), 18.75(q), 12.16(q)。¹H NMR 和¹³C NMR 数据与文献^[7]一致,确定为胆甾-5-烯-3 β ,7 β ,19 α -三醇。

2.5 化合物(5)的结构鉴定 白色粉末, ESI-MS(*m/z*): 384.83([M+H]⁺), ¹H NMR(600 MHz, CDCl₃) δ : 5.36(m, 1H), 5.27(m, 1H), 5.22(m, 1H), 3.53(m, 1H), 1.02(s, 3H), 1.01(d, *J*=6.6 Hz, 3H), 0.88(d, *J*=7.0 Hz, 3H), 0.86(d, *J*=6.7 Hz, 3H), 0.70(s, 3H); ¹³C NMR(150 MHz, CDCl₃) δ : 140.76(s), 138.10(d), 126.23(d), 121.70(d), 71.82(d), 56.86(d),

55.94(d), 50.17(d), 42.32(s), 42.25(t), 41.96(t), 40.11(d), 39.69(t), 37.27(t), 36.52(s), 31.91(t), 31.69(d), 28.63(t), 28.56(d), 24.30(t), 22.31(q), 22.26(q), 21.08(t), 20.85(t), 19.40(q), 12.05(q)。¹H NMR 和¹³C NMR 数据与文献^[8]一致,确定为(22*E*)-胆甾-5,22-二烯-3 β -醇。

2.6 化合物(6)的结构鉴定 无色针状结晶, [α]_D²⁰-38.6°(c 0.50, CHCl₃), ESI-MS(*m/z*): 387.13 ([M+H]⁺), ¹H NMR(600 MHz, CDCl₃) δ : 5.35(m, 1H), 3.50(m, 1H), 1.01(s, 3H), 0.91(d, *J*=6.5 Hz, 3H), 0.88(d, *J*=6.0 Hz, 6H), 0.68(s, 3H); ¹³C NMR(150 MHz, CDCl₃) δ : 140.74(s), 121.72(d), 71.81(d), 56.76(d), 56.14(d), 50.12(d), 42.32(s), 42.28(t), 39.78(d), 39.52(t), 37.25(t), 36.50(s), 36.19(t), 35.79(d), 31.91(t), 31.91(t), 31.64(d), 28.24(t), 28.02(d), 24.30(t), 23.82(t), 22.83(q), 22.57(q), 21.08(t), 19.40(q), 18.82(q), 11.89(q)。¹H NMR 和¹³C NMR 数据与文献^[9]一致,确定为胆甾醇。

2.7 化合物(7)的结构鉴定 白色粉末, m. p. 9899°C(丙酮); ESI-MS(*m/z*): 537.86 ([M+H]⁺), ¹H NMR(500 MHz, CDCl₃) δ : 6.26(1H, brd, *J*=8.0 Hz), 5.81(1H, dt, *J*=15.0, 6.5 Hz), 5.53(1H, dd, *J*=15.5, 6.5 Hz), 4.32(1H, m), 3.92(1H, brd, *J*=9.6 Hz), 3.72(1H, dd, *J*=11.5, 5.3 Hz), 3.90(1H, m), 2.70(2 \times OH), 2.21(2H, t, *J*=8.0 Hz), 2.07(2H, m), 1.65(2H, m), 1.26(42H, brs, 21 \times CH₂), 0.88(6H, t, *J*=8.0 Hz, 2 \times CH₃); ¹³C NMR(125 MHz, CDCl₃) δ : 173.91(s), 134.34(d), 128.83(d), 74.72(d), 62.55(t), 54.52(d), 36.86(t), 32.29(t), 2(31.93(t)), 29.70-29.13(t), 25.77(t), 2(22.69(t)), 2(14.11(q))。¹H NMR 和¹³C NMR 数据与文献^[2]报道一致,确定为 N-正十六碳酰基-正十八碳-4(*E*)-烯鞘胺醇。

3 讨论

珊瑚是海洋无脊椎动物,属于腔肠动物门,种类繁多,约占海洋生物的 22.4%^[10],是可以大量利用的海洋生物资源。而柳珊瑚具有十分独特的生物转化系统,有时从同一珊瑚中分离出的化合物结构差异很大,具有独特的骨架,这正是柳珊瑚的魅力所在。

块花柳珊瑚(*Anthogorgia* sp.)属于柳珊瑚目

(*Gorgonacea*) 棘柳珊瑚科 (*Acanthogorgiidae*) 动物,文献检索未见其化学研究的相关报道。通过对采自中国广西北海附近的块花柳珊瑚 (*Anthogorgia* sp.) 化学成分的研究,分离得到 6 个甾醇类化合物和 1 个神经酰胺,这些化合物均为首次从该种海洋动物中分离得到。本研究是我国南海无脊椎动物化学成分研究的重要组成部分,为我国南海海洋生物资源的有效保护和开发提供了理论依据。

[参考文献]

[1] Ioannou E, Abdel-Razik A F, Zervou M, Christofidis D, Alexi X, Vagias C, et al. 5 α , 8 α -Epidioxysterols from the gorgonian *Eunicella cavolini* and the ascidian *Trididemnum inarmatum*: isolation and evaluation of their antiproliferative activity[J]. *Steroids*, 2009, 74: 73-80.

[2] 温燕梅, 漆淑华, 张 德. 南海脆灯蕊柳珊瑚化学成分的研究[J]. *热带海洋学报*, 2007, 26: 73-77.

[3] Boonananwong S, Kongkathip B, Kongkathip N. First synthesis of 3, 16, 20-polyoxygenated cholestanes new cytotoxic steroids from the gorgonian *Leptogorgia sarmentosa* [J]. *Steroids*, 2008, 73: 1123-1127.

[4] 张广文, 马祥全, 曾陇梅, 苏镜娉. 南海短足软珊瑚 *Cladiella* sp. 的化学成分[J]. *应用化学*, 2003, 20: 1121-1124.

[5] 张广文, 马祥全, 闫素君, 曾陇梅, 苏镜娉. 南海短足软珊瑚 *Cladiella* sp. 中两个新甾醇苷的分离[J]. *高等学校化学学报*, 2005, 26: 81-83.

[6] Wright J L C, McInnes A G, Shimizu S, Smith D G, Walter J A. Identification of C-24 alkyl epimers of marine sterols by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *Can J Chem*, 1978, 56: 1898-1930.

[7] 邵志宇, 朱大元, 郭跃伟. 中国东海桂山厚丛柳珊瑚 (*Hicksonella guishanensis* Zou) 化学成分研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2001, 13: 1-3.

[8] Han Y L, Lin C W, Ou A J, Huang K J. Studies on the sterols of *Spongia zimocca* subspecies *irregularia* (Lendenfeld). *Frontiers on Separation Science and Technology, Proceedings of the 4th International Conference on Separation Science and Technology, Nanning, February 18-21, 2004* [C]. 798-800.

[9] 段 琳, 方玉春, 朱伟明, 顾谦群, 管华诗. 海仙人掌 *Cavernularia* sp. 的化学成分研究[J]. *中国海洋药物*, 2006, 25: 22-25.

[10] 艾小红, 陈亿新, 漆淑华. 中国珊瑚化学成分与生物活性研究新进展[J]. *广州大学学报: 自然科学版*, 2006, 5: 49-56.

[本文编辑] 尹 茶

· 书 讯 ·

《LARS 人工韧带重建膝交叉韧带实用手术技巧》已出版

该书由康一凡、李明、林志金主编,第二军医大学出版社出版,ISBN 978-7-5481-0010-2,16开,定价:60.00元。

内容简介:该书是关于应用 LARS 人工韧带重建膝关节交叉韧带,以恢复膝关节稳定性的微创外科专著,是作者多年来从事膝关节微创外科的经验总结。书中较详细地描述了膝关节前交叉韧带、后交叉韧带的解剖结构、损伤机制以及应用 LARS 人工韧带在关节镜辅助下进行重建的手术步骤及手术技巧,探讨了应用 LARS 人工韧带治疗膝关节脱位、恢复膝关节稳定性的方法,为规范使用 LARS 人工韧带重建膝关节交叉韧带提供帮助。全书共分为 6 章,第一章对 LARS 人工韧带进行了详尽的介绍,为术者在临床工作中正确应用奠定了基础;第二章及第三章分别介绍了应用 LARS 人工韧带重建膝关节前交叉韧带及膝关节后交叉韧带的手术步骤及手术技巧等内容,步骤详细,观点明确,为同行的正确应用提供了参考;第四章及第五章介绍了应用 LARS 人工韧带同时重建膝关节前、后交叉韧带的方法以及 LARS 人工韧带在膝关节脱位中的应用,并着重提出手术技巧、注意事项及经验总结;第六章对膝关节交叉韧带重建手术的现状存在问题进行了分析,并对其今后的基础研究及临床应用进行了展望。

全书彩色印刷,共附图 130 余幅,内容详尽,观点清晰,图文并茂,是应用 LARS 人工韧带重建膝关节交叉韧带的一部较为实用的参考书。适合骨科医师及研究生、进修生阅读。

该书由第二军医大学出版社发行科发行,全国各大书店均有销售。

通讯地址:上海市翔殷路 800 号,邮编:200433

邮购电话:021-65344595,65493093

<http://www.smmup.com>