

侧扁软柳珊瑚中倍半萜和甾烷类化学成分研究

陈显强^{1,2}, 高程海¹, 邢楠楠³, 杨斌², 柴兴云², 孙见凡², 刘永宏^{1,2*}

1. 广西中医药大学海洋药物研究院, 广西 南宁 530200

2. 中国科学院南海海洋研究所 热带海洋生物资源与生态重点实验室, 广东 广州 510301

3. 广西中医药大学广西中医药科学实验中心, 广西中医基础重点实验室, 广西 南宁 530200

摘要: 目的 研究中国南海侧扁软柳珊瑚 *Subergorgia suberosa* 的化学成分。方法 采用中压制备色谱、硅胶色谱、sephadex LH-20 柱色谱、ODS 柱色谱、薄层制备色谱 (PTLC) 等手段从侧扁软柳珊瑚中的乙醇提取物分离次生代谢产物。利用核磁共振、质谱等波谱技术结合参考文献数据对照方法对单体化合物进行结构鉴定。结果 分离得到倍半萜和甾烷类化合物共 14 个, 其结构分别鉴定为 subergorgic acid methyl ester (1)、2 β -hydroxy subergorgic acid methyl ester (2)、subergorgic acid (3)、suberosenol A (4)、suberosenol B (5)、suberosenone (6)、suberosanone (7)、3 β -羟基-5 β -孕甾-20-酮 (8)、3 β -羟基-5 α -孕甾-20-酮 (9)、3 α -羟基-5 β -孕甾-20-酮 (10)、孕甾-4-烯-3,20-二酮 (11)、3 β -羟基-5-烯-孕甾-20-酮 (12)、胆甾醇 (13)、过氧麦角甾醇 (14)。结论 化合物 5 和 10 首次从软柳珊瑚科中分离得到, 化合物 14 首次从侧扁软柳珊瑚 *S. suberosa* 中分离得到。

关键词: 倍半萜; 甾烷; 侧扁软柳珊瑚; 柳珊瑚烷型倍半萜; 侧扁软柳珊瑚烷型倍半萜; 孕甾烷; 胆甾醇; 麦角甾醇

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)23-5683-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.23.007

Sesquiterpenes and steroids from *Subergorgia suberosa*

CHEN Xian-qiang^{1,2}, GAO Cheng-hai¹, XING Nan-nan³, YANG Bin², CHAI Xing-yun², SUN Jian-fan², LIU Yong-hong^{1,2}

1. Institute of Marine Drugs, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

2. Key Laboratory of Marine Bio-resources Sustainable Utilization, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China

3. Guangxi Key Laboratory of Chinese Medicine Foundation Research, Guangxi Scientific Experimental Center of Traditional Chinese Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents of *Subergorgia suberosa* from South China Sea. **Methods** We carried out the chemical separation of EtOH extract of *S. suberosa* based on the chromatographic techniques such as medium pressure preparative chromatography, silica, sephadex LH-20, ODS column chromatography, and preparative thin layer chromatography (PTLC). The NMR and MS spectroscopic techniques, together with comparison with literature data, were used for structural elucidation of compounds. **Results** Fourteen compounds including sesquiterpenes and steroids were isolated from *S. suberosa*. These compounds were identified as subergorgic acid methyl ester (1), 2 β -hydroxy subergorgic acid methyl ester (2), subergorgic acid (3), suberosenol A (4), suberosenol B (5), suberosenone (6), suberosanone (7), 3 β -hydroxy-5 β -pregnan-20-one (8), 3 β -hydroxy-5 α -pregnan-20-one (9), 3 α -hydroxy-5 β -pregnan-20-one (10), pregnan-4-ene-3,20-dione (11), 3 β -hydroxy-pregnan-5-ene-20-one (12), cholesterol (13), and 5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (14), respectively. **Conclusion** Compounds 5 and 10 are isolated from the family Subergorgiidae for the first time. Compound 14 is isolated from *S. suberosa* for the first time.

Key words: sesquiterpenes; steroids; *Sebergorgia suberosa* (Pallas); subergane-type sesquiterpene; suberosane-type sesquiterpene; pregnane; cholesterol; ergosterol

收稿日期: 2019-07-13

基金项目: 八桂学者专项资金 (05019055); 广西中医药大学岐黄工程高层次人才团队培育项目 (2018006); 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目 (2019KY0309); 广西中医药大学海洋药物研究院团队科研专项经费项目 (2018ZD005-A01、2018ZD005-A02)

作者简介: 陈显强, 男, 博士, 从事海洋天然产物化学成分研究。E-mail: xianqiangchen@yeah.net

*通信作者 刘永宏, 男, 教授, 从事海洋创新药物研究。E-mail: yonghongliu@scsio.ac.cn

侧扁软柳珊瑚 *Subergorgia suberosa* (Pallas) 属于软柳珊瑚科 (Subergorgiidae) 软柳珊瑚属 *Subergorgia* (Pallas) 动物, 在我国常见于广东沿海及海南岛。倍半萜和甾烷类化合物是侧扁软柳珊瑚中常见的化合物类型。目前侧扁软柳珊瑚中被报道的倍半萜有石竹烷型、柳珊瑚烷型、侧扁软柳珊瑚烷型 3 种骨架类型^[1-2], 具有抗肿瘤、抗污损、抗菌作用^[1,3-4]。侧扁软柳珊瑚中的甾烷类化合物主要是孕甾烷类、9,11-开环甾醇类化合物和多羟基甾醇类

化合物, 具有抗肿瘤、抗藤壶附着、抗炎、抗菌、抗病毒和卤虫致死活性等生物活性^[1,5-9]。为了深入发掘侧扁软柳珊瑚的活性物质, 本课题组开展了侧扁软柳珊瑚化学成分的研究工作, 采用各种色谱技术手段对侧扁软柳珊瑚的乙醇提取物中分离得到 7 个倍半萜和 7 个甾烷类化合物 (图 1), 分别鉴定为 subergorgic acid methyl ester (1)、2 β -hydroxy subergorgic acid methyl ester (2)、subergorgic acid (3)、suberosenol A (4)、suberosenol B (5)、suberosenone (6)、suberosanone (7)、3 β -羟基-5 β -孕甾-20-酮 (3 β -hydroxy-5 β -pregnan-20-one, 8)、3 β -羟基-5 α -孕甾-20-酮 (3 β -hydroxy-5 α -pregnan-20-one, 9)、3 α -羟基-5 β -孕甾-20-酮 (3 α -hydroxy-5 β -pregnan-20-one, 10)、孕甾-4-烯-3,20-二酮 (pregnan-4-ene-3,20-dione, 11)、3 β -羟基-5-烯-孕甾-20-酮 (3 β -hydroxy-pregnan-5-ene-20-one, 12)、胆固醇 (cholesterol, 13)、过氧麦角甾醇 (5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol, 14)。其中, 化合物 5 和 10 为首次从软柳珊瑚科中分离得到, 化合物 14 首次从侧扁软柳珊瑚中分离得到。

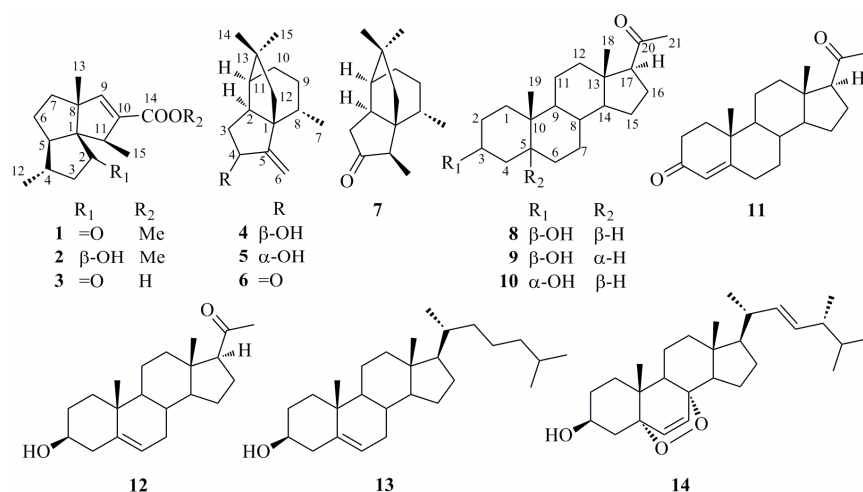


图 1 化合物 1~14 结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—14

(6)、suberosanone (7)、3 β -羟基-5 β -孕甾-20-酮 (3 β -hydroxy-5 β -pregnan-20-one, 8)、3 β -羟基-5 α -孕甾-20-酮 (3 β -hydroxy-5 α -pregnan-20-one, 9)、3 α -羟基-5 β -孕甾-20-酮 (3 α -hydroxy-5 β -pregnan-20-one, 10)、孕甾-4-烯-3,20-二酮 (pregnan-4-ene-3,20-dione, 11)、3 β -羟基-5-烯-孕甾-20-酮 (3 β -hydroxy-pregnan-5-ene-20-one, 12)、胆固醇 (cholesterol, 13)、过氧麦角甾醇 (5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol, 14)。其中, 化合物 5 和 10 为首次从软柳珊瑚科中分离得到, 化合物 14 首次从侧扁软柳珊瑚中分离得到。

1 仪器与材料

Bruker Avance 500 MHz 核磁共振仪 (Bruker 公司); 中压制备柱色谱仪 C615/605 (Buchi 公司); ESI-MS 质谱仪 (美国 Waters 公司); EYELAN 1100V-W 型旋转蒸发仪 (日本东京理化株式会社); 葡聚糖凝胶 sephadex LH-20 (Pharmacia 公司); 薄层色谱 (TCL) 硅胶、柱色谱硅胶和薄层制备板 (20 cm $\times$ 20 cm $\times$ 0.05 cm, 青岛海洋化工厂); 分析级化

学试剂 (天津市富宇精细化工有限公司)。

侧扁软柳珊瑚样品于 2010 年 4 月在海南省三亚市东锣岛附近海域约 10 m 水深处采集所得。经中国科学院南海海洋研究所黄晖研究员鉴定为侧扁软柳珊瑚 *Subergorgia suberosa* (Pallas)。样品标本 (LSH-201003) 现存放于中国科学院南海海洋研究所热带海洋生物资源与生态重点实验室。

2 提取与分离

侧扁软柳珊瑚剪碎后, 用 95%乙醇浸提 3 次, 每次 3 d。合并提取液, 减压回收乙醇溶液, 加水混悬, 氯仿萃取 3 次, 合并萃取液, 减压回收溶剂, 得到氯仿萃取物 70.2 g。氯仿萃取物经中压硅胶柱色谱分离, 用石油醚-醋酸乙酯 (100:0 $\rightarrow$ 0:100) 进行梯度洗脱, 得到 6 个组分 (F1~F6)。硅胶柱色谱分离 F1, 正己烷-醋酸乙酯 (100:0 $\rightarrow$ 20:80) 梯度洗脱得到 6 个组分 (F1.1~F1.6), F1.6 通过 Sephadex LH-20 柱色谱脱色后, 再通过薄层制备色谱 (PTLC) 制备得到化合物 1 (40.6 mg)。F2 首先用 ODS 柱 (甲醇-水 20:80 $\rightarrow$ 100:0) 进行分离得

到 19 个组分 (F2.1~F2.19), 每组分均过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 然后再用硅胶柱色谱反复分离, 再结合 PTLC 制备, 最终从 F2 中分离得到化合物 **2** (10.3 mg)、**4** (5.9 mg)、**5** (20.4 mg)、**6** (13.1 mg) 和 **7** (28.2 mg)。F3 部分用硅胶柱色谱进行分离, 石油醚-丙酮 (100:0→0:100) 梯度洗脱, TLC 检测各个流分, 合并流分得 6 个组分 (F3.1~F3.6)。F3.5 经过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱后得到 2 个组分 (F3.51~F3.52), 每个组分再经过硅胶柱色谱、PTLC 反复分离, 最终得到化合物 **8** (7.6 mg)、**9** (9.2 mg)、**11** (4.0 mg)、**12** (10.1 mg) 和 **13** (2.8 mg)。F4 先用硅胶柱色谱分离, 以氯仿-丙酮 (20:1→0:1) 系统梯度洗脱得 5 个组分 (F4.1~F4.5), F4.2 经 sephedex LH-20 凝胶柱色谱分离得到 2 个组分 F4.21 和 F4.22, F4.21 经过 ODS 柱、硅胶柱色谱以及 PTLC 分离得到化合物 **14** (16.3 mg), F4.22 经 ODS 柱、硅胶柱色谱分离得到化合物 **3** (39.4 mg)。F4.5 通过 PTLC 制备得到化合物 **10** (15.3 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状物。ESI-MS m/z : 263.165 0 $[M+H]^+$, 提示相对分子质量为 262。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 1.09 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-15), 1.09 (3H, d, $J = 7.5$ Hz, H-12), 1.18 (3H, s, H-13), 1.76

(1H, dd, $J = 11.5, 5.5$ Hz, H-7 β), 1.97 (1H, dd, $J = 16.5, 7.5$ Hz, H-3 α), 2.05 (1H, brt, $J = 8.0$ Hz, H-5), 2.32 (1H, dd, $J = 16.5, 6.5$ Hz, H-3 β), 3.00 (1H, q, $J = 6.8$ Hz, H-11), 3.70 (3H, s, -OMe), 6.26 (1H, s, H-9)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) 数据见表 1。 $^1\text{H-NMR}$ 谱图上有 3 个甲基信号峰 (δ_{H} 1.18、1.09 和 1.00)。 $^1\text{H-NMR}$ 谱双键质子信号 δ_{H} 6.26, 结合 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱 δ_{C} 149.5 (CH)、136.9 (C) 2 个信号峰, 可推测有 1 个三取代的双键片段。 $^1\text{H-NMR}$ 谱的甲氧基信号峰 (δ_{H} 3.70) 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱的 2 个信号 δ_{C} 164.8 和 51.3 推测甲酯 COOMe 片段存在。 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱和 DEPT135 谱的分析结果显示化合物 **1** 中有 4 个甲基碳信号 (包括 1 个为氧甲基碳信)、3 个亚甲基碳信号、3 个次甲基碳信号、2 个季碳信号、2 个烯烃碳信号、1 个酮基和 1 个羧基碳信号。经文献检索, 核磁数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **1** 为 subergorgic acid methyl ester。

化合物 **2**: 无色油状物。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 1.04 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-12), 1.11 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-15), 1.33 (1H, m, H-6a), 1.38 (3H, s, H-13), 1.43 (1H, dt, $J = 12.5, 3.5$ Hz, H-3 α), 1.58 (1H, dt, $J = 10.0, 2.5$ Hz, H-6b), 1.63 (1H, m, H-5), 1.76(1H, m, H-7a), 1.81 (1H, ddd, $J = 12.5, 6.0, 2.0$

表 1 化合物 1~7 的 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz) 数据
Table 1 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz) data of compounds 1—7

碳位	1 ^a	2 ^a	3 ^b	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a
1	68.4	67.9	70.1	58.4	59.1	57.8	56.9
2	217.6	76.0	220.3	46.0	49.0	45.2	43.9
3	49.9	45.6	49.4	39.0	37.9	41.9	40.7
4	33.2	39.7	34.5	77.3	76.8	208.6	220.6
5	62.7	63.6	64.3	162.7	162.2	151.8	50.0
6	28.3	30.3	29.1	104.2	107.5	115.2	8.1
7	38.3	40.0	39.2	17.5	17.8	17.3	17.0
8	61.6	59.1	62.8	38.2	36.9	36.4	35.7
9	149.5	153.6	150.7	26.3	26.6	26.5	26.9
10	136.9	137.0	139.0	28.1	27.9	27.9	28.3
11	51.9	50.6	53.3	49.3	49.7	49.7	49.7
12	19.9	20.4	20.0	55.6	55.0	54.3	47.7
13	23.5	22.3	24.1	39.1	39.6	40.2	39.2
14	164.8	165.5	167.8	26.9	26.9	27.0	27.0
15	17.8	17.5	18.3	35.1	34.8	35.0	34.3
-OMe	51.3	51.3					

^a 溶剂为 CDCl_3 ; ^b 溶剂为 CD_3OD

^a data were determined in CDCl_3 ; ^b data were determined in CD_3OD

Hz, H-3 β), 1.93 (1H, dd, $J = 12.0, 3.5$ Hz, H-4), 1.96 (1H, m, H-7b), 3.73 (3H, s, -OMe), 2.68 (1H, q, $J = 7.0$ Hz, H-11), 4.37 (1H, brs, H-2), 6.43 (1H, s, H-9); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) 数据见表 1。根据化合物的氢谱与碳谱化学位移信号, 初步推测该化合物 **2** 与 **1** 结构相似, 为柳珊瑚烷型倍半萜。与化合物 **1** 核磁数据比较分析可知, 化合物 **2** 的 ^1H -NMR 谱上出现 1 个宽单峰 δ_{H} 4.37, ^{13}C -NMR 谱没有酮基信号但是多了 1 个含氧次甲基碳信号 (δ_{C} 76.0)。经查阅文献, 核磁谱数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **2** 为 2 β -hydroxy subergorgic acid methyl ester。

化合物 **3**: 无色块状晶体 (甲醇)。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 1.10 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-15), 1.19 (3H, s, H-13), 1.65~1.82 (5H, m, H-4, 6, 7), 1.14 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-12), 2.09 (1H, dd, $J = 16.5, 12.5$ Hz, H-3 α), 2.13 (1H, dd, $J = 9.0, 6.5$ Hz, H-5), 2.33 (1H, dd, $J = 17.0, 7.0$ Hz, H-3 β), 3.01 (1H, q, $J = 7.0$ Hz, H-11), 6.30 (1H, s, H-9); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) 数据见表 1。上述数据显示, 化合物 **3** 与 **1** 相似, 为柳珊瑚烷型倍半萜。然而, ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 显示化合物 **3** 没有甲氧基。经查阅文献, 核磁数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **3** 为 subergorgic acid。

化合物 **4**: 白色粉末。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.87 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-7), 1.10 (3H, s, H-14), 1.19 (3H, s, H-15), 1.24 (1H, m, H-9 α), 1.46 (1H, dt, $J = 11.0, 2.5$ Hz, H-10 α), 1.61 (1H, brd, H-10 β), 1.79 (1H, m, H-11), 1.78 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-12 α), 1.82 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-12 β), 1.81 (1H, m, H-3 β), 1.95 (1H, dt, $J = 11.0, 7.0$ Hz, H-2), 1.98 (1H, m, H-8), 2.02 (1H, m, H-9 β), 2.14 (1H, dt, $J = 11.5, 6.5$ Hz, H-3 α), 4.29 (1H, m, H-4), 4.78 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-6a), 5.05 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-6b); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) 数据见表 1。经文献检索, 波谱数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **4** 为 suberosenol A。

化合物 **5**: 白色粉末。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.95 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-7), 1.10 (3H, s, H-14), 1.16 (3H, s, H-15), 1.28 (1H, m, H-9 α), 1.49 (1H, m, H-10 α), 1.57 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-12 β), 1.61 (1H, m, H-10 β), 1.66 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-12 α), 1.78 (1H, ddd, $J = 13.5, 7.5, 4.0$ Hz, H-3 α), 1.78 (1H, m, H-11), 2.01 (2H, m, H-8, 9 β), 2.07 (1H,

ddd, $J = 13.5, 7.0, 4.5$ Hz, H-3 β), 2.38 (1H, dd, $J = 11.5, 7.5$ Hz, H-2), 4.56 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-4), 4.78 (1H, s, H-6b), 5.17 (1H, s, H-6a); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) 数据见表 1。经查阅文献, 波谱数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **5** 为 suberosenol B。

化合物 **6**: 无色油状物。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.90 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-7), 1.17 (3H, s, H-14), 1.34 (1H, ddd, $J = 13.0, 5.5, 1.0$ Hz, H-9 α), 1.21 (3H, s, H-15), 1.60 (1H, m, H-10 α), 1.70 (1H, d, $J = 14.5$ Hz, H-12 β), 1.70 (1H, m, H-10 β), 1.81 (1H, d, $J = 14.5$ Hz, H-12 α), 1.89 (1H, brs, H-11), 2.08 (1H, m, H-9 β), 2.14 (2H, m, H-8), 2.32 (1H, t, $J = 11.5$ Hz, H-2), 2.46 (1H, dd, $J = 19.0, 9.5$ Hz, H-3 α), 2.67 (1H, dd, $J = 19.0, 11.5$ Hz, H-3 β), 4.99 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-6b), 5.97 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-6a); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) 数据见表 1。经查阅文献, 核磁数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **6** 为 suberosenone。

化合物 **7**: 无色油状物。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-6), 1.02 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-7), 1.08 (3H, s, H-14), 1.13 (3H, s, H-15), 1.32 (1H, m, H-9 α), 1.33 (1H, d, $J = 14.5$ Hz, H-12 α), 1.39 (1H, d, $J = 14.5$ Hz, H-12 β), 1.61 (1H, ddd, $J = 13.0, 6.0, 2.5$ Hz, H-10 α), 1.65 (1H, m, H-10 β), 1.75 (1H, brt, $J = 3.0$ Hz, H-11), 1.88 (1H, m, H-8), 2.05 (1H, m, H-9 β), 2.34 (1H, dd, $J = 7.5, 1.5$ Hz, H-3 β), 2.37 (1H, m, H-2), 2.39 (1H, q, $J = 6.8$ Hz, H-5), 2.46 (1H, dd, $J = 7.5, 1.5$ Hz, H-3 α); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) 数据见表 1。经查阅文献, 核磁数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **7** 为 suberosanone。

化合物 **8**: 白色粉末。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.60 (3H, s, H-18), 0.96 (3H, s, H-19), 2.11 (3H, s, H-21), 2.52 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-17), 4.12 (1H, brs, H-3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) 数据见表 2。经文献检索, 核磁数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **8** 为 3 β -羟基-5 β -孕甾-20-酮。

化合物 **9**: 白色粉末。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.80 (3H, s, H-19), 0.62 (3H, s, H-18), 2.10 (3H, s, H-21), 2.52 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-17), 3.53 (1H, m, H-3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) 数据见表 2。以上核磁数据与化合物 **8** 相似, 初步推测化合物 **9** 为孕甾烷类化合物。经文献检索, 光谱数据

表 2 化合物 8~14 的 ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) 数据
Table 2 ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) data of compounds 8—14

碳位	8	9	10	11	12	13	14
1	27.9	37.2	36.2	35.7	38.9	37.2	34.2
2	26.3	32.1	30.3	34.0	31.3	31.7	30.0
3	67.1	71.4	71.4	199.6	71.8	71.7	66.7
4	33.5	39.1	35.3	124.0	37.5	42.3	36.9
5	36.5	44.8	40.3	171.0	140.6	140.2	82.3
6	26.5	28.6	26.3	31.9	121.5	121.7	135.2
7	30.0	31.9	27.0	32.8	31.8	31.7	130.9
8	35.7	31.5	35.7	35.6	31.7	31.8	79.9
9	39.8	54.0	41.9	53.7	54.5	50.1	51.6
10	35.2	35.5	34.5	38.7	36.3	36.2	37.1
11	21.1	21.3	20.7	21.0	21.1	21.0	23.4
12	39.3	38.7	39.1	38.6	38.2	39.7	39.2
13	44.4	44.2	44.2	44.0	44.3	43.1	44.6
14	56.9	56.7	56.6	56.6	56.8	56.7	51.7
15	24.4	24.6	24.3	24.4	24.6	24.2	20.8
16	22.9	22.9	22.8	22.9	22.7	28.3	28.8
17	64.0	63.9	63.7	63.8	63.9	56.1	56.2
18	13.5	12.3	13.3	13.5	13.7	12.0	12.7
19	23.9	13.5	23.2	17.4	19.5	19.3	18.1
20	209.7	209.9	209.7	209.4	209.7	35.8	39.8
21	31.6	31.6	31.4	31.5	31.5	18.7	20.9
22						35.7	135.2
23						23.8	132.4
24						39.4	43.0
25						29.0	33.2
26						22.9	19.6
27						23.1	20.3
28							17.9

文献报道基本一致^[13],故鉴定化合物 **9** 为 3 β -羟基-5 α -孕甾-20-酮。

化合物 **10**: 白色粉末。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.55 (3H, s, H-18), 0.88 (3H, s, H-19), 2.07 (3H, s, H-21), 2.49 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-17), 3.60 (1H, m, H-3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) 数据见表 2。以上核磁数据与化合物 **8** 和 **9** 相似,初步判断化合物 **10** 为孕甾烷类化合物。经查阅文献,波谱数据和文献报道一致^[13],故鉴定化合物 **10** 为 3 α -羟基-5 β -孕甾-20-酮。

化合物 **11**: 白色固体。 ^1H -NMR (500 MHz,

CDCl_3) δ : 0.67 (3H, s, H-18), 1.18 (3H, s, H-19), 2.12 (3H, s, H-21), 2.53 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-17), 5.73 (1H, s, H-4); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) 数据见表 2。 ^1H -NMR 谱低场区有 1 个单峰质子信号 δ_{H} 5.73, 结合 ^{13}C -NMR 谱和 DEPT₁₃₅ 谱 δ_{C} 171.0 和 124.0 处信号推测有 1 个三取代的双键片段;在 ^{13}C -NMR 谱可以观察到 2 个酮基信号 (δ_{C} 209.4 和 199.6)。根据碳谱和氢谱信号推测化合物 **11** 为孕甾烷类化合物,经查阅文献,核磁数据与文献报道基本一致^[13-14],故鉴定化合物 **11** 为孕甾-4-烯-3,20-二酮。

化合物 **12**: 白色粉末。 ^1H -NMR (500 MHz,

CDCl_3) δ : 0.59 (3H, s, H-18), 1.00 (3H, s, H-19), 2.12 (3H, s, H-21), 2.52 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-17), 3.59 (1H, m, H-3), 5.34 (1H, brs, H-6); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) 见表 2。从氢谱和碳谱判断化合物 **12** 为孕甾烷类化合物。根据 ^1H -NMR 谱上的烯烃质子 (δ_{H} 5.34) 和 ^{13}C -NMR 谱 δ_{C} 140.6 和 121.5 信号, 推测化合物 **12** 有 1 组双键片段。经查阅文献, 波谱数据与文献报道一致^[13,15], 故鉴定化合物 **12** 为 3 β -羟基-5-烯-孕甾-20-酮。

化合物 **13**: 无色针晶(醋酸乙酯)。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.68 (3H, s, H-18), 0.80~0.90 (6H, H-26, 27), 0.92 (3H, d, $J = 5.2$ Hz, H-21), 1.01 (3H, s, H-19), 3.53 (1H, m, H-3), 5.34 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-6)。 ^1H -NMR 谱上可观察到 5 个甲基质子信号 (δ_{H} 1.01, 0.92, 0.80~0.90 和 0.68)、1 个多重峰质子信号 δ_{H} 3.53、1 个烯质子信号 δ_{H} 5.34。从 ^1H -NMR 谱信号可推断化合物 **13** 甾体化合物, ^1H -NMR 数据与文献报道基本一致^[16]。化合物 **13** 和胆甾醇对照品在 TLC 板的 R_f 值相同, 硫酸香草醛显色一样, 并且与标对照品混合后熔点不下降, 故鉴定化合物 **13** 为胆甾醇。

化合物 **14**: 无色针晶(醋酸乙酯)。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.80 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-26), 0.81 (3H, s, H-18), 0.83 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-27), 0.88 (3H, s, H-19), 0.90 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-28), 0.98 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 3.96 (1H, m, H-3), 5.10 (1H, dd, $J = 15.0, 8.2$ Hz, H-22), 5.17 (1H, dd, $J = 15.0, 8.2$ Hz, H-23), 6.23 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 6.50 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7)。根据 ^1H -NMR 谱和 ^{13}C -NMR 谱初步判断化合物 **14** 为甾醇类化合物。在 ^1H -NMR 谱上可以观察到 6 个甲基信号 (δ_{H} 0.98、0.90、0.88、0.83、0.81 和 0.80) 和 4 个烯烃质子信号 (δ_{H} 6.50、6.23、5.10 和 5.17), 结合 ^{13}C -NMR 谱上 4 个信号峰 δ_{C} 135.2、135.2、132.4 和 130.9, 推断化合物 **14** 中存在 2 个二取代双键。根据氢谱质子的偶合常数推断 1 个双键构型为 *Z*, 另一个双键构型为 *E*。碳谱 δ_{C} 82.3、79.9 和 66.7 信号峰提示有 3 个与氧相连的碳。经查阅文献, 核磁数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **14** 为过氧麦角甾醇。

4 讨论

目前, 在海洋生物中已发现了 10 个柳珊瑚烷型倍半萜和 9 个侧扁软柳珊瑚烷型倍半萜^[2], 这些萜类化合物中的绝大多数已在侧扁软柳珊瑚中被报

道^[18]。本研究在侧扁软柳珊瑚中发现了柳珊瑚烷型和侧扁软柳珊瑚烷型的倍半萜, 包括 3 个柳珊瑚烷型倍半萜 (**1**~**3**) 和 4 个侧扁软柳珊瑚烷型倍半萜 (**4**~**7**), 其中, suberosenol B (**5**) 在侧扁软柳珊瑚及其所在科首次被发现。此外, 侧扁软柳珊瑚中已有大量的甾烷类化合物被报道, 尤其是孕甾烷类和多羟基甾醇类, 本研究也从侧扁软柳珊瑚分离 5 个孕甾烷类化合物 (**8**~**12**)、1 个胆甾烷类 (**13**) 和 1 个麦角甾烷类化合物 (**14**)。然而, 化合物 **10** 首次从软柳珊瑚科中分离得到, 化合物 **14** 首次从侧扁软柳珊瑚中分离。因此, 本研究结果进一步丰富了侧扁软柳珊瑚的化学多样性。

侧扁软柳珊瑚中的甾烷类和萜类化合物具有抗肿瘤、抗菌、抗污损和抗病毒等多种生物活性, 对卵巢癌、肾癌、黑色素瘤、乳腺癌细胞等有细胞毒活性^[1,12]。通过构效关系研究表明, 化合物 **3** 中的双键和 2 位的酮基对抗污损活性起关键性的作用^[3]。侧扁软柳珊瑚中的孕甾烷类也显示较好的抗流感病毒作用^[8]。综上所述, 侧扁软柳珊瑚的甾烷类和倍半萜类化合物相关活性的研究结果表明, 侧扁软柳珊瑚是具有开发价值的海洋药用资源。本研究从侧扁软柳珊瑚中发现了多个倍半萜和甾烷类化合物, 化合物 **5**、**10** 和 **14** 均首次在该种中分离得到。此外, 某些化学成分如 subergorgic acid methyl ester(**1**) 含量较高, 为侧扁软柳珊瑚化学成分的生物活性进一步深入的研究提供物质基础。Huang 等^[4]报道化合物 **3** 通过 NaBH_4 的还原作用转化为 2-hydroxysubergorgic acid 后, 在特定的条件下甲酯化形成化合物 **2**。为了验证化合物 **1** 和 **2** 是否为人工产物, 化合物 **3** 溶解于甲醇中在室温下放置长达 1 个月, 经 TLC 和 HPLC 检测, 未发现化合物 **3** 发生变化, 也没有在甲醇溶液发现化合物 **1** 和 **2**。因此, 推测化合物 **1** 和 **2** 不是人工产物。

参考文献

- [1] Amir F, Yam W S, Koay Y C. Chemical constituents and biological activities of the genus *Subergorgia* [J]. *Pharmacogn Rev*, 2012, 6(11): 74-80.
- [2] Le Bideau F, Kousara M, Chen L, et al. Tricyclic sesquiterpenes from marine origin [J]. *Chem Rev*, 2017, 117(9): 6110-6159.
- [3] Zhang J, Ling W, Yang Z, et al. Isolation and structure-activity relationship of subergorgic acid and synthesis of its derivatives as antifouling agent [J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(2): 101.

- [4] Huang Q, Cheng W, Long H, *et al.* Subergane-type sesquiterpenes from gorgonian coral *Subergorgia suberosa* with antibacterial activities [J]. *Helv Chim Acta*, 2015, 98(9): 1202-1209.
- [5] Liu M, Shao C L, Chen M, *et al.* Bioactive 9, 11-secosteroids from gorgonian *Subergorgia suberosa* collected from the South China sea [J]. *Chem Biodiver*, 2014, 11(7): 1109-1120.
- [6] Zhang J, Liang Y, Wang K L, *et al.* Antifouling steroids from the South China Sea gorgonian coral *Subergorgia suberosa* [J]. *Steroids*, 2014, 79(1): 1-6.
- [7] Sun X P, Cao F, Shao C L, *et al.* Subergorgiaols A-L, 9, 10-secosteroids from the South China Sea gorgonian *Subergorgia rubra* [J]. *Steroids*, 2015, 94(1): 7-14.
- [8] Cheng W, Ren J, Huang Q, *et al.* Pregnane steroids from a gorgonian coral *Subergorgia suberosa* with anti-flu virus effects [J]. *Steroids*, 2016, 108(1): 99-104.
- [9] Liao X J, Tang L D, Liang Y W, *et al.* New pentahydroxylated steroids from the South China Sea gorgonian *Subergorgia suberosa* [J]. *Chem Biodiv*, 2012, 9(2): 370-375.
- [10] Parameswaran P S, Naik C G, Kamat S Y, *et al.* Studies on the secondary metabolites from the Indian gorgonian *Subergorgia suberosa*: Isolation and characterization of four analogues of the cardiotoxin subergorgic acid [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61(8): 1074-1074.
- [11] Sheu J, Hung K, Wang G, *et al.* New cytotoxic sesquiterpenes from the gorgonian *Isis hippuris* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(12): 1603-1607.
- [12] Bokesch H, McKee T, Cardellina J. Suberosenone, a new cytotoxin from *Subergorgia suberosa* [J]. *Tetrahedron Lett*, 1996, 37(19): 3259-3262.
- [13] 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(19): 6012-6023.
- [14] Qi S, Zhang S, Yang L, *et al.* Antifouling and antibacterial compounds from the gorgonians *Subergorgia suberosa* and *Scrippearia gracillis* [J]. *Nat Prod Res*, 2008, 22(2): 154-166.
- [15] 漆淑华, 苏国琛, 张 偲. 中国南海侧扁软柳珊瑚中孕甾烷类化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(1): 1-4.
- [16] 严小红, 宋国强, 周秀红, 等. 一种南海海绵 (*Acanthella* sp.) 的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(3): 199-202.
- [17] Rösecke J, König W A. Constituents of the fungi *Daedalea quercina* and *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor* [J]. *Phytochemistry*, 2000, 54(8): 757-762.
- [18] Sun D W, Liu M, Cao F, *et al.* Chemical constituents of the gorgonian *Subergorgia suberosa* from the South China Sea [J]. *Chem Nat Compd*, 2017, 53(1): 185-188.