

## 石花菜醇提物成分分析

田永奇<sup>1</sup>, 罗海涛<sup>1</sup>, 丁婷<sup>1</sup>, 王奇升<sup>1</sup>, 邓尚贵<sup>2</sup>, 汪少芸<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>福州大学生物科学与工程学院 福州 350108

<sup>2</sup>浙江海洋大学食品与药学院 浙江舟山 316022)

**摘要** 目的:研究石花菜的成分,为其功能食品的研发提供基础数据。方法:采用薄层色谱、液-质谱联用方法分析石花菜醇提物的化学成分丰富度。通过硅胶柱、高效液相等色谱方法对其进行分离纯化,并用气-质谱联用、核磁结合文献确证化合物结构;并对部分化合物抗氧化活性进行测定。结果:薄层色谱、液-质谱联用分析表明石花菜醇提物中含有丰富的次级代谢产物,且很可能是甾醇类成分。采用气-质谱联用方法从中鉴定到 29 个化合物(5 个为甾醇类化合物),其中棕榈酸(46.76%)、棕榈酸乙酯(13.82%)、胆甾醇(7.20%)、胆甾-4,6-二烯(4.99%)为含量最高的 4 个化合物。经色谱分离、核磁鉴定出 9 个单体化合物,分别为胆甾醇(1)、1,2-二醇植烯(2)、帕格甾醇 C(3)、6-羟基-胆甾-4-烯-3-酮(4)、胆甾-5-烯-7-酮(5)、胆甾-5-烯-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -二醇(6)、胆甾-5-烯-3 $\beta$ ,7 $\beta$ -二醇(7)、胆甾-4-烯-6-酮(8)、3-羟乙基-2-甲基-马来酰亚胺(9)。其中,化合物 7 清除 DPPH 自由基和 ABTS 自由基能力最好,其 IC<sub>50</sub> 值分别为 180  $\mu$ g/mL 和 12.2  $\mu$ g/mL。结论:首次系统研究了石花菜醇提物的成分,化合物 3、8、9 为新天然产物。部分甾醇类化合物具有较好的抗氧化活性。

**关键词** 石花菜醇提物;成分;甾体;抗氧化活性

文章编号 1009-7848(2024)02-0269-12 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.02.026

石花菜(*Gelidium amansii*, *G. amansii*)属于石花菜科(Gelidiaceae)石花菜属(*Gelidium*)。石花菜藻体一般为紫红色或红黄色,在不同的海区因阳光辐照强度而使颜色存在一定差异。藻体直立、丛生,高一般在 10~20 cm 范围,也可达 25 cm<sup>[1]</sup>。石花菜是中国、韩国、日本等亚洲国家常见的食用海藻,具有丰富的营养价值。《闽书》记载石花菜夏季可煮成冻,《南越笔记》记载石花菜食之可去上焦浮热,清热解毒<sup>[2]</sup>。现闽南地区将石花菜熬制成膏,用刨刀刮成丝状,做成“四果汤”。石花菜为食药两用,还能作药引,有滋阴降火、润肺化痰、清热解毒、化痰散结、缓下驱蛔等功效,可清热解毒、抗肿瘤和利肠道通便<sup>[3]</sup>。人们常用石花菜治疗矽肺、体癣、甲状腺肿大、肛门肿痛等疾病<sup>[4-5]</sup>。

石花菜含有大量碳水化合物、蛋白质、粗纤维及多种微量元素,长期以来,石花菜的研究主要聚焦于多糖的研究,关于石花菜醇提物的研究报道较少<sup>[6-7]</sup>。实际上,石花菜醇提物广泛的生物活性,值得研究人员深入研究。Seo 等<sup>[8]</sup>及 Lee 等<sup>[9]</sup>研究发

现石花菜醇提物能有效抑制活性氧的生成。Park 等<sup>[10]</sup>和 Kang 等<sup>[11]</sup>发现石花菜醇提物能有效降低小鼠的体质量,具有一定的降血脂作用。林雄平等<sup>[12]</sup>、孙杰等<sup>[13]</sup>研究发现石花菜醇提物有较强的抑制真菌和细菌作用。国内外对于石花菜醇提物的研究主要集中于生物活性方面,对其成分的研究几乎是空白。

为弥补这一缺陷,挖掘石花菜的食药两用的价值,本试验采用薄层色谱、液相-质谱联用方法分析石花菜醇提物的化学成分丰富度;运用通过硅胶柱、高效液相等色谱方法对其进行分离纯化,运用气-质谱联用、核磁结合文献确证化合物结构;并对部分化合物抗氧化活性进行测定。本试验首次系统研究了石花菜醇提物的化学成分,为石花菜功能食品研发及其高值化利用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

300~400 目硅胶,安徽良臣硅源材料有限公司;HSGF254 薄层硅胶板,烟台江友硅胶开发有限公司;色谱纯级甲醇,美国 J.T.BAKER 公司;色谱纯级乙腈、色谱纯级甲酸,美国 J.T.BAKER 公司;

收稿日期:2023-02-23

基金项目:国家重点研发计划项目(2020YFD0900900)

第一作者:田永奇,男,博士,教授

通信作者:汪少芸 E-mail: shywang@fzu.edu.cn

SIGMA-ALDRICH 氘代氯仿,上海贸易有限公司;分析纯级香草醛,国药集团有限公司;其它分析纯级化学试剂,国药集团有限公司。试验用石花菜样品于2020年9月采集于福建福州、漳州海域。

## 1.2 仪器与设备

KQ5200DE 超声清洗仪, 昆山超声仪器有限公司; RE-52AA 旋转蒸发仪, 上海荣生化仪器厂; WFH-203B 三用紫外分析仪, 上海精科有限公司; Primaide 半制备型高效液相色谱仪, 天美科学仪器有限公司; UV-100 紫外-可见分光光度计, 上海美普达仪器有限公司; Bruker AV II-600 MHz 核磁共振仪, 布鲁克科技有限公司; Agilent 1260 HPLC-6500 系列 Q-TOF 液质联用仪, 安捷伦科技有限公司; 气-质谱联用仪 GC×GC HRT 4D plus, 美国 LECO 公司。

## 1.3 方法

1.3.1 石花菜醇提物的制备 称取干燥石花菜 1 kg, 用粉碎机将其打碎, 制成石花菜粉末, 60% 乙醇溶液浸泡提取 3 次, 过滤, 合并提取液, 减压浓缩, 得到石花菜醇提物 20 g。用甲醇将其配制成 10 mg/mL, 用于后续的分析。

1.3.2 石花菜醇提物薄层色谱(TLC)分析 将石花菜醇提物分别用石油醚及乙酸乙酯萃取得到石油醚层和乙酸乙酯层; 将石花菜醇提物小样过 Flash 柱分离(石油醚-乙酸乙酯体系)得到不同极性段。将上述不同极性段分别溶于合适溶剂, 用  $V_{\text{石油醚}}:V_{\text{乙酸乙酯}} = 1:1$  展开, 硫酸香草醛显色剂加热显色。

1.3.3 石花菜醇提物液质联用(LC-MS)分析 采用 Agilent 1260 HPLC-6500 系列 Q-TOF 液-质谱联用仪对石花菜醇提物的化合物进行分析, 波长为 210 nm, 离子源为+ESI, 质量扫描范围为  $m/z$  90~820 u, 色谱柱为 AA12S05-1546WT  $C_{18}$  (150 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 柱温为 35  $^{\circ}\text{C}$ , 体积流量为 1.0 mL/min; 进样量为 5  $\mu\text{L}$ ; 流动相为水(A)和乙腈(B), 梯度洗脱 (0~30 min, 5%~100% B; 31~40 min, 100% B)。

1.3.4 石花菜醇提物气质联用(GC-MS)成分鉴定

顶空萃取瓶中加入 5 mL 石花菜醇提物样品, 再加入 1 g NaCl 和 10  $\mu\text{L}$  内标物 2-辛醇 (10 mg/L), 盖上瓶盖, 在转速 600 r/min 和水温 40  $^{\circ}\text{C}$  水浴下

温育 20 min, 使易挥发成分更好的从溶液中挥发出来。插入固相微萃取针, 萃取纤维吸附易挥发成分 30 min。将萃取完成后的萃取针插入 GC-MS 中分析。柱温箱起始温度 50  $^{\circ}\text{C}$ , 保留 0.2 min, 然后以 20  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升温至 200  $^{\circ}\text{C}$ , 最后再以 6  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升温至 300  $^{\circ}\text{C}$ , 保留 10 min。

1.3.5 石花菜醇提物的分离与纯化 取石花菜醇提物浸膏进行正相硅胶柱色谱分离, 以不同石油醚-乙酸乙酯体积比 (100:1→50:1→20:1→10:1→5:1→2:1→1:1) 混合液为溶剂进行梯度洗脱, 经薄层色谱检识合并得到 13 个组分 (标记为 Fr. 1~13)。组分经硅胶柱、半制备液相色谱等反复分离得到纯化合物。

1.3.6 抗氧化活性研究 DPPH 及 ABTS 自由基清除活性的测定参照文献[14-15]进行。

## 2 结果与分析

本试验对石花菜醇提物化学成分进行了分析, 运用 GC-MS 鉴定出 29 个化合物, 类型包括脂肪酸、苯衍生物、生物碱、甾醇等; 运用硅胶柱、半制备液相色谱等对石花菜醇提物反复分离, 得到化合物 1 (产量为 176 mg)、化合物 2 (产量为 13 mg)、化合物 3 (产量为 4.8 mg)、化合物 4 (产量为 16 mg)、化合物 5 (产量为 65 mg)、化合物 6 (产量为 8.8 mg)、化合物 7 (产量为 9.6 mg)、化合物 8 (产量为 2.4 mg)、化合物 9 (产量为 21 mg)。运用核磁、质谱等手段分离和鉴定了它们的结构, 分别为胆甾醇(1)、1,2-二醇植烯(2)、帕格甾醇 C(3)、6-羟基-胆甾-4-烯-3-酮(4)、胆甾-5-烯-7-酮(5)、胆甾-5-烯-3 $\beta$ ,7 $\alpha$  二醇(6)、胆甾-5-烯-3 $\beta$ ,7 $\beta$  二醇(7)、胆甾-4-烯-6-酮(8)、3-羟乙基-2-甲基-马来酰亚胺(9), 化合物 3、8、9 为新天然产物(图 1)。以下将详细阐明这些化合物的鉴定过程及数据。

### 2.1 石花菜醇提物化学成分丰富度分析

运用 TLC 和 LC-MS 检测石花菜醇提物化学成分的丰富度。经萃取分级后, 石花菜醇提物石油醚层和乙酸乙酯层均具有较多的代谢产物, 且类型较为相近(图 2a)。醇提物经 Flash 柱分离, 展现出更为丰富的代谢产物, 硫酸香草醛显色呈紫色、蓝色、黄色, 提示结构中可能含有有机酸、甾

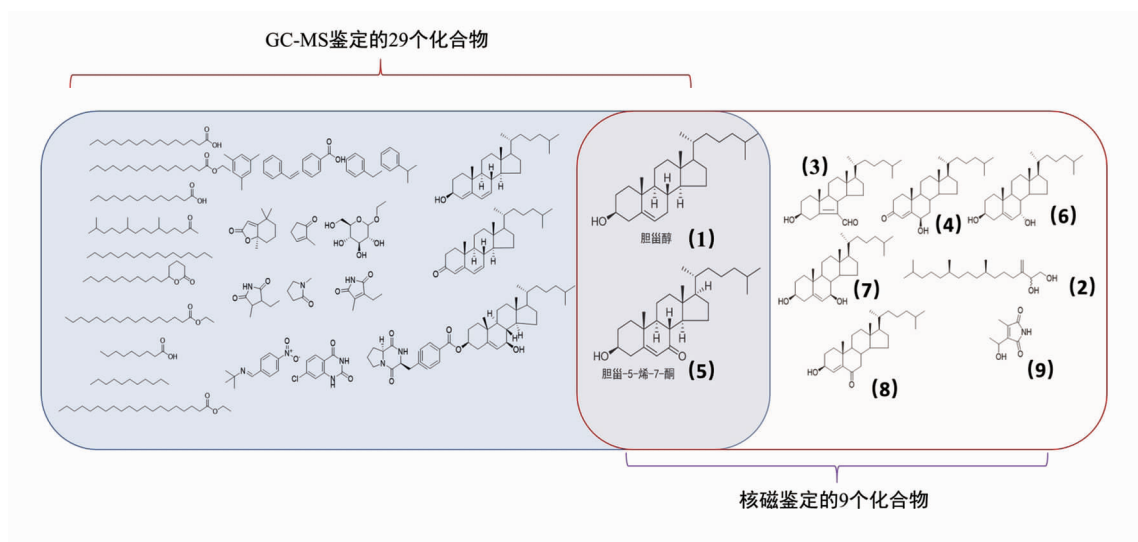
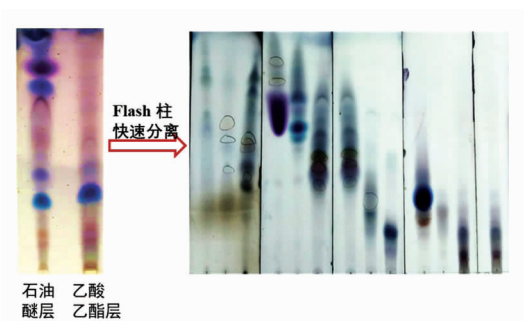


图 1 从石花菜醇提取物中鉴定的化合物

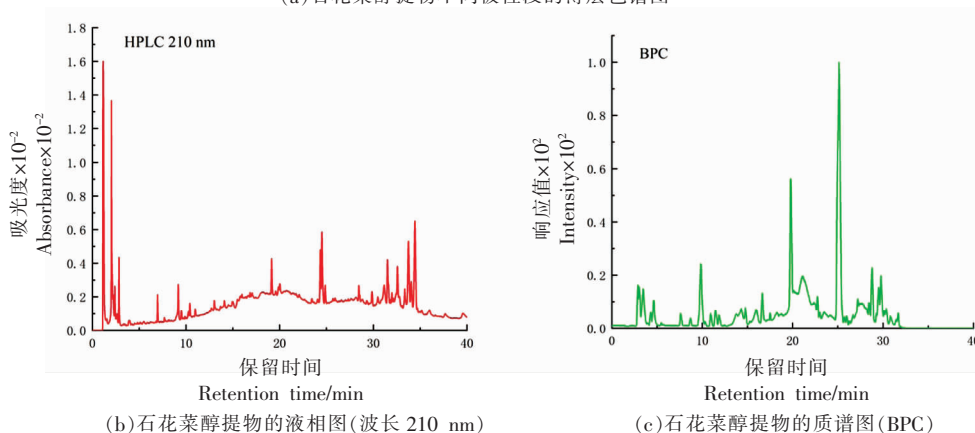
Fig.1 Compounds identified from the ethanol extract of *G. amansii*

体、萜类等成分。石花菜醇提取物按 1.3.3 节的色谱及质谱条件进行分析，得到其 HPLC 图及在正离子模式下的 BPC 图(见图 2b)。石花菜醇提取物虽在小极性段(30 min 后)有丰富的代谢产物,但在质谱 BPC 图上没有对应的峰出现,这提示了其不容

易电离,很可能是甾体类成分。孙杰等<sup>[13]</sup>也以氯仿-浓硫酸试验推测石花菜醇提取物中可能含有甾体皂甙类成分。



(a) 石花菜醇提取物不同极性段的薄层色谱图



(b) 石花菜醇提取物的液相图(波长 210 nm)

(c) 石花菜醇提取物的质谱图(BPC)

图 2 石花菜醇提取物的丰富度检测

Fig.2 Detection of the richness of the ethanol extract of *G. amansii*

## 2.2 石花菜醇提取物 GC-MS 分析

将石花菜醇提取物通过气相色谱质谱联用分析得到图 3。不同的峰对应着不同的化合物,以 80% 匹配度,筛选出 29 个化合物,罗列得到表 1。由表 1 中可知,石花菜醇提取物主要由脂肪酸、甾醇、生物碱、萜类等组成,其中含量较高的为棕榈酸(46.76%)、棕榈酸乙酯(13.82%)、胆甾醇(7.20%)、胆甾-4,6-二烯(4.99%)。石花菜中的甾醇主要以胆甾醇及其类似物为主,分别为胆甾醇、胆甾-4,6-二烯、胆甾-5-烯-7-酮、胆甾-4,6-二烯-3-酮、 $3\beta$ -(Benzoyloxy)-胆甾-5-烯-7 $\beta$ -醇。红藻中富含胆甾醇,国伟杰等<sup>[16]</sup>、夏欢等<sup>[17]</sup>、冯强等<sup>[18]</sup>从鸭毛藻、江蓠、坛紫菜 3 种红藻中也发现了胆甾醇及其衍生物。

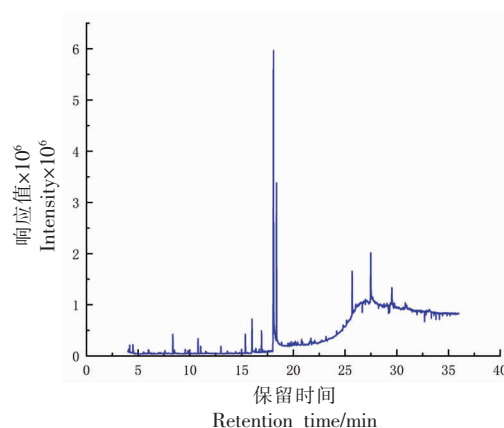


图 3 石花菜醇提取物的 GC-MS 图

Fig.3 GC-MS diagram of the ethanol extract of *G. amansii*

表 1 GC-MS 鉴定的石花菜醇提取物中的化合物

Table 1 Compounds in the ethanol extract of *G. amansii* identified by GC-MS

序号	保留时间/s	化合物	分子式	相对含量/%
1	1 084.54	棕榈酸	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	46.76
2	1 102.18	棕榈酸乙酯	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	13.82
3	1 648.93	胆甾醇	C <sub>27</sub> H <sub>46</sub> O	7.20
4	1 541.33	胆甾-4,6-二烯	C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O	4.99
5	960.13	肉豆蔻酸	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	3.98
6	1 015.07	植酮	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	2.22
7	921.49	十七烷	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	1.8
8	1 771.32	$3\beta$ -(Benzoyloxy)-胆甾-5-烯-7 $\beta$ -醇	C <sub>34</sub> H <sub>50</sub> O <sub>3</sub>	1.52
9	1 849.44	胆甾-5-烯-7-酮	C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	0.79
10	662.77	甲基环戊烯酮	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O	0.78
11	269.82	苯乙烯	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub>	0.68
12	510.07	苯甲酸	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	0.47
13	573.14	3-乙基-4-甲基吡咯-2,5-二酮	C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	0.47
14	1 186.68	丁位十六内酯	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	0.40
15	982.22	珠光脂酸乙酯	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	0.36
16	598.18	洋绣球酸	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	0.31
17	361.97	均三甲苯	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>	0.30
18	455.41	十一烷	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub>	0.29
19	589.36	3-乙基-4-甲基-2,5-吡咯烷二酮	C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	0.28
20	865.55	乙基葡萄糖苷	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>	0.27
21	818.42	二氢猕猴桃内酯	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	0.27
22	1 211.63	花生酸乙酯	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	0.25
23	245.04	乙基苯	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	0.24
24	332.40	异丙苯	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>	0.23
25	977.03	7-氯喹唑啉-(2,4)二酮	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	0.14
26	1 071.94	3-异丁基-2,3,6,7,8,8a-六氢吡咯	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.10
27	1 743.53	胆甾-4,6-二烯-3-酮	C <sub>27</sub> H <sub>42</sub> O	0.10
28	405.06	N-甲基吡咯烷酮	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO	0.03
29	794.41	p-硝基苄烯叔丁胺	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.02



### 2.3 石花菜醇提取物化学成分精细分离及结构鉴定

化合物 1: 白色粉末, 极性较小, 硫酸香草醛显色为红色; EIMS  $m/z$  386.35  $[M]^+$ ; 核磁数据显示结构中有 1 个双键信号, 剩余为典型的甾醇信号, 和标准品及文献 [16] 比对鉴定为胆甾醇 (Cholesterol), 具体核磁数据如下:  $^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  5.35 (1H, m, H-6), 3.54 (1H, m, H-3), 1.02 (3H, s, H<sub>3</sub>-19), 0.96 (3H, d,  $J=6.5$  Hz, H<sub>3</sub>-21), 0.88 (3H, d,  $J=6.6$  Hz, H<sub>3</sub>-26), 0.87 (3H, d,  $J=6.6$  Hz, H<sub>3</sub>-27), 0.68 (3H, s, H<sub>3</sub>-18);  $^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}}$  139.7 (C-5), 122.6 (CH-6), 71.9 (CH-3), 56.7 (CH-14), 56.0 (CH-17), 50.0 (CH-9), 42.3 (C-13), 39.7 (CH<sub>2</sub>-12), 39.7 (CH<sub>2</sub>-24), 38.1 (CH<sub>2</sub>-4), 37.0 (CH<sub>2</sub>-1), 36.6 (C-10), 36.2 (CH<sub>2</sub>-22), 36.1 (CH-20), 31.9 (CH<sub>2</sub>-7), 31.9 (CH-8), 28.3 (CH<sub>2</sub>-16), 28.0 (CH-25), 27.8 (CH<sub>2</sub>-2), 24.3 (CH<sub>2</sub>-15), 24.3 (CH<sub>2</sub>-23), 23.0 (CH<sub>3</sub>-27), 22.7 (CH<sub>3</sub>-26), 21.0 (CH<sub>2</sub>-11), 19.3 (CH<sub>3</sub>-19), 18.8 (CH<sub>3</sub>-21), 11.8 (CH<sub>3</sub>-18)。

化合物 2: 无色油状物; ESIMS  $m/z$  313.30  $[M+H]^+$ ;  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  5.15 (1H, s, H-17), 4.99 (1H, s, H-17), 4.22 (1H,  $J=6.8$ , 2.7 Hz, H-2), 3.72 (1H, d,  $J=10.0$  Hz, H-1a),

3.55 (1H, dd,  $J=10.0$ , 6.4 Hz, H-1b), 2.36 (1H, br s, OH), 2.15~1.90 (2H, m), 1.04~1.55 (20H, m), 0.86~0.89 (12H, m, H<sub>3</sub>-16, 18, 19, 20),  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}}$  148.7/148.6 (C-3), 110.5 (CH<sub>2</sub>-17), 75.1/75.0 (CH-2), 65.7 (CH<sub>2</sub>-1), 39.4 (CH<sub>2</sub>-14), 37.4 (CH<sub>2</sub>-8), 37.3 (CH<sub>2</sub>-10), 37.3 (CH<sub>2</sub>-12), 36.9 (CH<sub>2</sub>-6), 33.0 (CH<sub>2</sub>-4), 32.80 (CH-11), 32.7 (CH-7), 28.0 (CH-15), 25.5 (CH<sub>2</sub>-5), 24.8 (CH<sub>2</sub>-13), 24.5 (CH<sub>2</sub>-9), 22.7 (CH<sub>3</sub>-20), 22.6 (CH<sub>3</sub>-16), 19.8 (CH<sub>3</sub>-19), 19.70/19.71 (CH<sub>3</sub>-18)。数据中 C-2, C-3, C-18, C-10 碳谱都出现 2 组不同的化学位移, 推测为 2 位羟基的异构造成的, 以上数据与文献[19-20]对照, 鉴定化合物 2 为 1,2-二醇植烯 (Phytene-1,2-diol), 且该化合物为差向异构体的混合物(2 位羟基)。

化合物 3: 无色油状物; HREIMS  $m/z$  400.3341  $[M]^+$ ; 核磁谱上明显可以看出 1 个醛基信号 [ $\delta_{\text{C}}$  189.7,  $\delta_{\text{H}}$  9.97, CH-6], 1 个双键信号 ( $\delta_{\text{C}}$  168.9, C-5; 139.4, C-6), 剩余是甾醇的典型信号 (图 4), 具体数据如下:  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  9.97 (1H, s, H-6), 3.71 (1H, m, H-3), 3.47 (1H, ddd,  $J=2.0$ , 4.5, 14.5 Hz, H-4a), 2.55 (1H, dt,  $J=4.0$ , 11.0 Hz, H-8), 2.05 (1H,

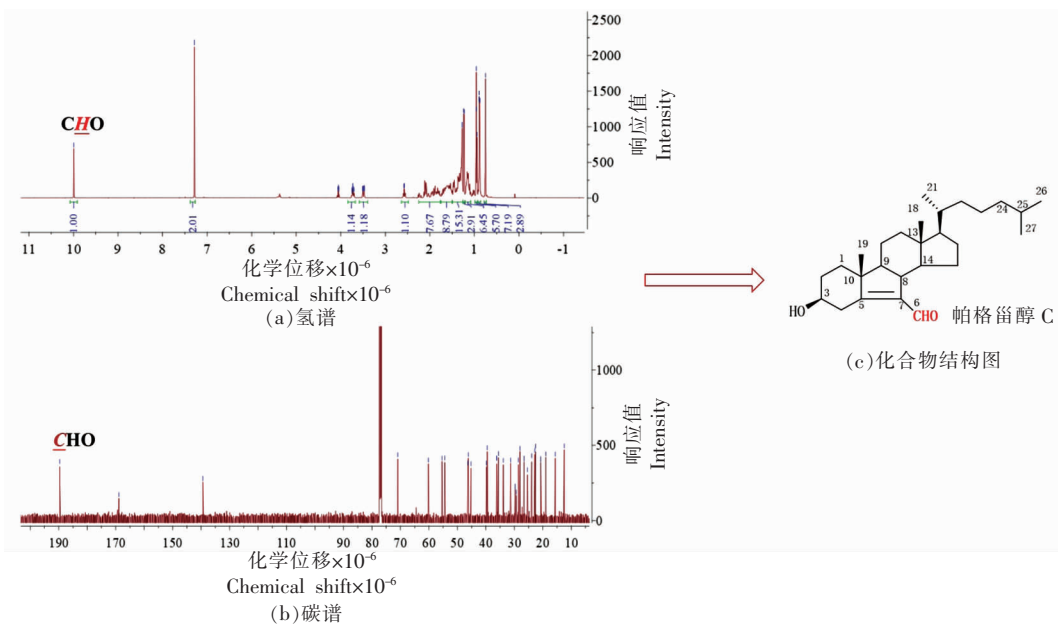


图 4 帕格甾醇 C 的结构鉴定图

Fig.4 Structural characterization of parguesterol C

m, H-4b), 0.95–1.96 (22H, m), 0.93 (3H, s, H<sub>3</sub>-19), 0.92 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz, H<sub>3</sub>-21), 0.87 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz, H<sub>3</sub>-26), 0.85 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz, H<sub>3</sub>-27), 0.73 (3H, s, H<sub>3</sub>-18); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_c$  189.7 (CH-6), 168.9 (C-5), 139.3 (C-7), 70.9 (CH-3), 60.2 (CH-9), 55.4 (CH-17), 54.5 (CH-14), 46.3 (C-10), 46.2 (CH-8), 45.2 (C-13), 39.8 (CH<sub>2</sub>-12), 39.5 (CH<sub>2</sub>-24), 36.2 (CH<sub>2</sub>-1), 36.1 (CH<sub>2</sub>-22), 35.6 (CH-20), 33.9 (CH<sub>2</sub>-4), 31.3 (CH<sub>2</sub>-2), 28.5 (CH<sub>2</sub>-16), 28.0 (CH-25), 26.6 (CH<sub>2</sub>-15), 23.9 (CH<sub>2</sub>-23), 22.8 (CH<sub>3</sub>-26), 22.5 (CH<sub>3</sub>-27), 20.7 (CH<sub>2</sub>-11), 18.9 (CH<sub>3</sub>-21), 15.6 (CH<sub>3</sub>-19), 12.5 (CH<sub>3</sub>-18)。该化合物为帕格甾醇 A (Parguesterol A) 的类似物, 2008 年由 Wei 等<sup>[21]</sup>合成, 未命名, 本文将其命名为帕格甾醇 C (Parguesterol C), 为新天然产物。帕格甾醇类化合物显示出很好的抗分枝结核杆菌活性<sup>[22]</sup>。

化合物 4: 白色粉末; EIMS  $m/z$  400.33 [M]<sup>+</sup>; 核磁谱上显示结构中存在 1 个酮羰基 ( $\delta_c$  200.5, C-3), 1 个双键信号 ( $\delta_c$  126.3,  $\delta_H$  5.81, CH-4;  $\delta_c$  168.6, C-5), 1 个连氧的次甲基信号 ( $\delta_c$  73.2,  $\delta_H$  4.34, CH-6), 剩余为典型的甾醇信号, 具体数据如下: <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$  5.82 (1H, s, H-4), 4.36 (1H, t,  $J = 4.4$  Hz, H-6), 2.52 (1H, m, H-2a), 2.40 (1H, dt,  $J = 16.5, 3.0$  Hz, H-2b), 1.46–2.06 (13H, m), 1.34 (3H, s, H<sub>3</sub>-19), 1.00–1.33 (11H, m), 0.92 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H<sub>3</sub>-21), 0.88 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H<sub>3</sub>-26), 0.87 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H<sub>3</sub>-27), 0.75 (3H, s, H<sub>3</sub>-18); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_c$  200.5 (C-3), 168.6 (C-5), 126.3 (CH-4), 73.2 (CH-6), 56.1 (CH-14), 55.9 (CH-17), 53.6 (CH-9), 42.5 (C-13), 39.6 (CH<sub>2</sub>-12), 39.5 (CH<sub>2</sub>-24), 38.5 (CH<sub>2</sub>-7), 38.0 (C-10), 37.1 (CH<sub>2</sub>-1), 36.1 (CH<sub>2</sub>-22), 35.7 (CH-20), 34.2 (CH<sub>2</sub>-2), 29.7 (CH-8), 28.1 (CH<sub>2</sub>-16), 28.0 (CH-25), 24.1 (CH<sub>2</sub>-23), 23.8 (CH<sub>2</sub>-15), 22.8 (CH<sub>3</sub>-26), 22.6 (CH<sub>3</sub>-27), 21.0 (CH<sub>2</sub>-11), 19.5 (CH<sub>3</sub>-19), 18.7 (CH<sub>3</sub>-21), 12.2 (CH<sub>3</sub>-18)。以上数据与文献[23–25]对照, 故鉴定化合物 4 为 6-羟基-胆甾-4-烯-

3-酮(6-Hydroxy-cholesterol-4-en-3-one)。

化合物 5: 白色粉末; EIMS  $m/z$  400.33 [M]<sup>+</sup>; 核磁谱上显示结构中存在 1 个双键信号 ( $\delta_c$  136.0,  $\delta_H$  5.69, CH-6;  $\delta_c$  165.6, C-5), 1 个连氧的次甲基信号 ( $\delta_c$  73.2,  $\delta_H$  3.67, CH-3), 剩余为典型的甾醇信号, 具体数据如下: <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$  5.69 (1H, s, H-6), 3.67 (1H, m,  $J = 1.1$  Hz, H-3), 2.51 (1H, m), 2.40 (2H, m), 2.03 (1H, m), 1.94 (3H, m), 1.46–1.66 (6H, m), 1.23–1.40 (9H, m), 1.20 (3H, s, H<sub>3</sub>-19), 1.00–1.17 (7H, m), 0.92 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H<sub>3</sub>-21), 0.88 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H<sub>3</sub>-26), 0.86 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H<sub>3</sub>-27), 0.68 (3H, s, H<sub>3</sub>-18); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_c$  202.6 (C-7), 165.6 (C-5), 126.0 (CH-6), 70.3 (CH-3), 54.8 (CH-17), 50.0 (CH-14), 49.9 (CH-9), 45.4 (CH-8), 43.1 (C-13), 41.8 (CH<sub>2</sub>-12), 39.5 (CH<sub>2</sub>-24), 38.7 (CH<sub>2</sub>-4), 38.3 (C-10), 36.4 (CH<sub>2</sub>-1), 36.2 (CH<sub>2</sub>-22), 35.7 (CH-20), 31.2 (CH<sub>2</sub>-2), 28.5 (CH<sub>2</sub>-16), 28.0 (CH-25), 26.3 (CH<sub>2</sub>-15), 23.8 (CH<sub>2</sub>-23), 22.8 (CH<sub>3</sub>-26), 22.5 (CH<sub>3</sub>-27), 21.2 (CH<sub>2</sub>-11), 18.9 (CH<sub>3</sub>-21), 17.3 (CH<sub>3</sub>-19), 12.0 (CH<sub>3</sub>-18)。以上数据与文献[26]对照, 故鉴定化合物 5 为胆甾-5-烯-7-酮(Cholest-5-en-7-one)。

化合物 6、7 是一对差向异构体, TLC 板显色呈蓝色, 它们极性非常接近。波谱学特征也非常接近(图 5)。化合物 6: 白色固体; EIMS  $m/z$  402.35 [M]<sup>+</sup>, 核磁谱上显示结构中存在 1 个双键信号 ( $\delta_c$  123.9,  $\delta_H$  5.63, CH-6;  $\delta_c$  146.3, C-5), 1 个连氧的次甲基信号 ( $\delta_c$  65.4,  $\delta_H$  3.87, CH-7), 剩余为典型的甾醇信号, 具体数据如下: <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$  5.63 (1H, dd,  $J = 5.3, 1.8$  Hz, H-6), 3.87 (1H, m, H-7 $\beta$ ), 3.62 (1H, m, H-3), 2.36 (1H, ddd,  $J = 13.1, 5.0, 1.7$  Hz, H-4a), 2.30 (1H, td,  $J = 13.1, 2.3$  Hz, H-4b), 2.02 (1H, dt,  $J = 12.9, 3.9$  Hz), 1.85–1.94 (3H, m), 1.72 (1H, m), 1.37–1.58 (10H, m), 1.29–1.36 (5H, m), 1.10–1.25 (11H, m), 1.01 (3H, s, H<sub>3</sub>-19), 0.94 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, H<sub>3</sub>-21), 0.89 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H<sub>3</sub>-26), 0.87 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H<sub>3</sub>-27), 0.71 (3H, s, H-18); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

$\delta_C$  146.3 (C-5), 123.9 (CH-6), 71.3 (CH-3), 65.4 (CH-7), 55.9 (CH-17), 49.4 (CH-14), 42.3 (CH-9), 42.2 (C-13), 42.0 (CH<sub>2</sub>-4), 39.5 (CH<sub>2</sub>-12), 39.2 (CH<sub>2</sub>-24), 37.5 (CH-8), 37.4 (C-10), 37.0 (CH<sub>2</sub>-1), 36.2 (CH<sub>2</sub>-22), 35.8 (CH-20), 31.4 (CH<sub>2</sub>-2), 28.3 (CH<sub>2</sub>-16), 28.0 (CH-25), 24.3 (CH<sub>2</sub>-15), 23.7 (CH<sub>2</sub>-23), 22.8 (CH<sub>3</sub>-26), 22.6 (CH<sub>3</sub>-27), 20.7 (CH<sub>2</sub>-11), 18.8 (CH<sub>3</sub>-19), 18.3 (CH<sub>3</sub>-21), 11.6 (CH<sub>3</sub>-18)。以上数据与文献[27-28]对照,故鉴定化合物6为胆甾-5-烯-3 $\beta$ , 7 $\alpha$  二醇(Cholest-5-ene-3 $\beta$ , 7 $\alpha$  diol)。

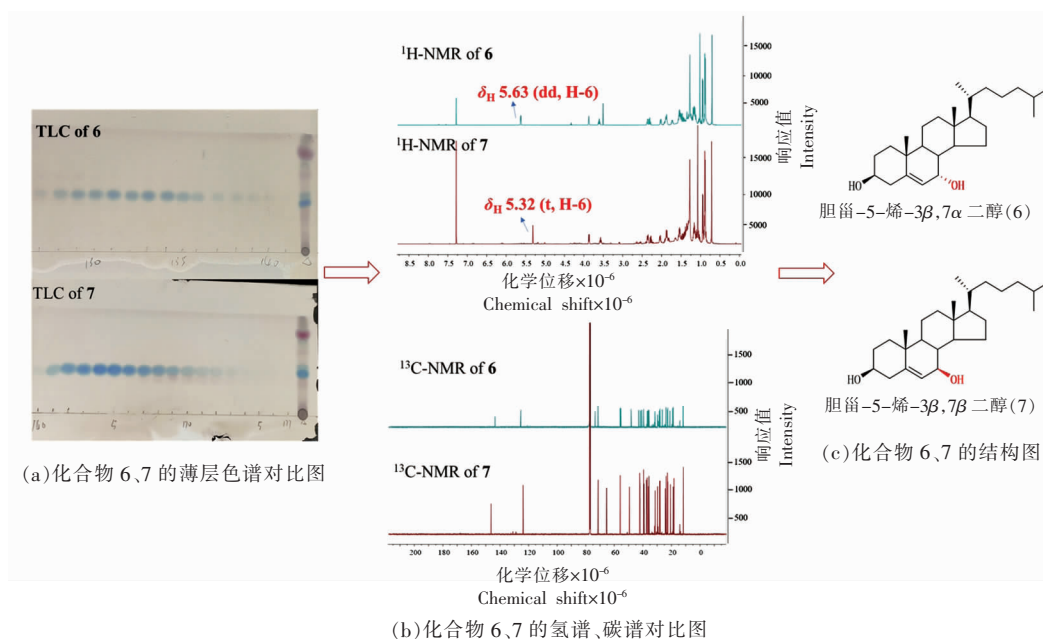


图5 化合物6,7的结构鉴定图

Fig.5 Structural characterization of compound 6, 7

化合物7:白色固体;EIMS  $m/z$  402.35 [M]<sup>+</sup>, 核磁谱与化合物6类似,最大的区别在于化合物7中6位氢往高场移动,由原来的 $\delta_H$  5.63 (dd), 转变为 $\delta_H$  5.32 (t)(图5)。综合判断这是C-7位手性变化所导致的,数据与文献[28]对照,故鉴定化合物7为胆甾-5-烯-3 $\beta$ , 7 $\beta$  二醇(Cholest-5-ene-3 $\beta$ , 7 $\beta$  diol), 具体数据如下:<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$  5.32 (1H, t,  $J$  = 2.1 Hz, H-6), 3.87 (1H, dt,  $J$  = 8.0, 2.3 Hz, H-7 $\alpha$ ), 3.58 (1H, m, H-3), 2.35 (1H, m), 2.27 (1H, m), 2.04 (1H, m), 1.08 (3H, s, H-19), 0.94 (3H, d,  $J$  = 6.5 Hz, H<sub>3</sub>-21), 0.89 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz, H<sub>3</sub>-26), 0.87 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz, H<sub>3</sub>-27), 0.71 (3H, s, H-18); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_C$  143.5 (C-5), 125.4 (CH-6), 73.4 (CH-7), 71.4 (CH-3), 56.0 (CH-14), 55.5 (CH-17), 48.3 (CH-9), 42.9 (C-13), 41.7 (CH<sub>2</sub>-4), 40.9 (CH-8), 39.6 (CH<sub>2</sub>-

12), 39.5 (CH<sub>2</sub>-24), 36.9 (CH<sub>2</sub>-1), 36.4 (C-10), 36.2 (CH<sub>2</sub>-22), 35.7 (CH-20), 31.6 (CH<sub>2</sub>-2), 28.6 (CH<sub>2</sub>-16), 28.0 (CH-25), 26.4 (CH<sub>2</sub>-15), 23.8 (CH<sub>2</sub>-23), 22.8 (CH<sub>3</sub>-26), 22.6 (CH<sub>3</sub>-27), 21.1 (CH<sub>2</sub>-11), 19.2 (CH<sub>3</sub>-21), 18.8 (CH<sub>3</sub>-19), 11.8 (CH<sub>3</sub>-18)。

化合物8:白色固体;EIMS  $m/z$  386.35 [M]<sup>+</sup>, 核磁谱上显示结构中存在1个碳基信号( $\delta_C$  203.2, C-6)和1个双键信号( $\delta_C$  146.9, C-5;  $\delta_C$  132.6,  $\delta_H$  6.17, C-4), 剩余为典型的甾醇信号, 具体数据如下:<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_H$  6.17 (1H, t,  $J$  = 2.2 Hz, H-4), 4.26 (1H, m, H-3), 2.57 (1H, dd,  $J$  = 16.0, 3.7 Hz, H-7a), 2.08 (2H, m), 1.02 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, d,  $J$  = 6.5 Hz, H<sub>3</sub>-21), 0.89 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz, H<sub>3</sub>-26), 0.87 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz, H<sub>3</sub>-27), 0.71 (3H, s, H-18); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_C$  203.2 (C-6),

146.9 (C-5), 132.6 (CH-4), 67.3 (CH-3), 56.7 (CH-14), 56.0 (CH-17), 51.3 (CH-9), 46.4 (CH<sub>2</sub>-7), 42.6 (C-13), 39.5 (CH<sub>2</sub>-24), 39.4 (CH<sub>2</sub>-12), 38.4 (C-10), 36.1 (CH<sub>2</sub>-22), 35.7 (CH-20), 34.8 (CH<sub>2</sub>-1), 34.2 (CH-8), 28.4 (CH<sub>2</sub>-2), 28.0 (CH<sub>2</sub>-16), 28.0 (CH-25), 24.0

(CH<sub>2</sub>-15), 23.8 (CH<sub>2</sub>-23), 22.8 (CH<sub>3</sub>-26), 22.6 (CH<sub>3</sub>-27), 20.8 (CH<sub>2</sub>-11), 19.8 (CH<sub>3</sub>-21), 18.7 (CH<sub>3</sub>-19), 12.0 (CH<sub>3</sub>-18)。根据这些数据及相关文献 [29], 化合物 8 被确证为胆甾-4-烯-6-酮 (Cholest-4-ene-6-one), 为新天然产物。

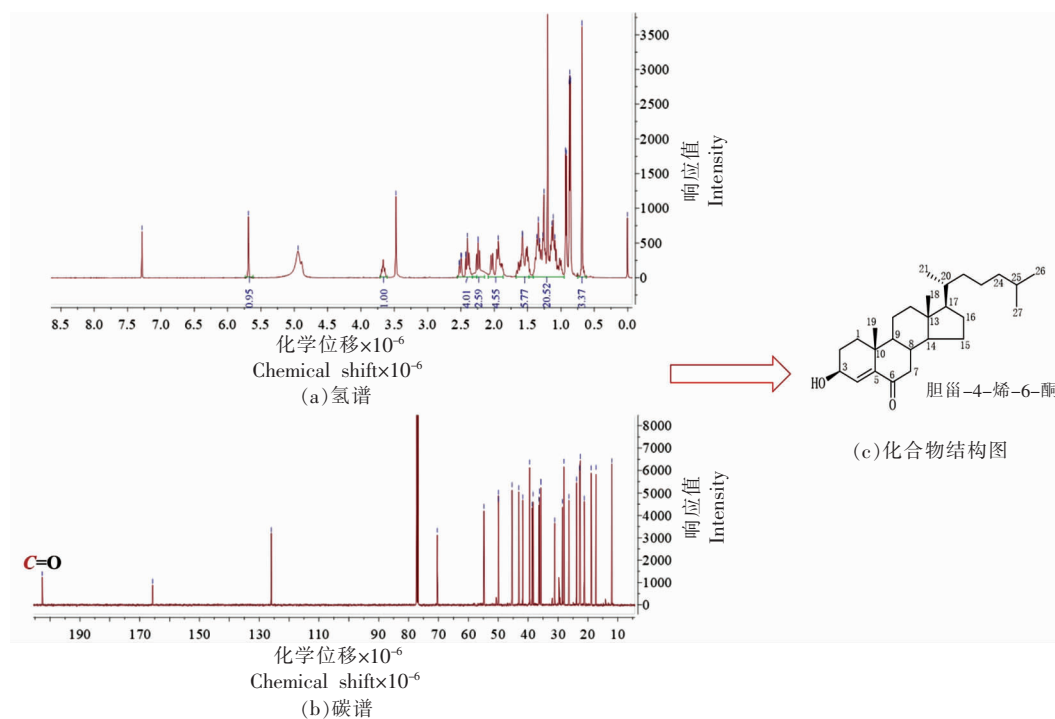


图 6 胆甾-4-烯-6-酮的结构鉴定图

Fig.6 Structural characterization of cholest-4-ene-6-one

化合物 9: 黄色粉末; HRESIMS  $m/z$  333.1059 [2M + Na]<sup>+</sup>, 推测分子式为: C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>; 核磁谱(图 7) 给出 2 个甲基信号、1 个次甲基信号、1 个烯碳信号、1 个羰基信号、1 个连氧的碳信号、2 个酮羰基信号, 具体核磁数据如下: <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{H}}$  4.80 (1H, q,  $J$  = 6.8 Hz, H-5), 2.06 (3H, s, H<sub>3</sub>-7), 1.42 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz, H<sub>3</sub>-6); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta_{\text{C}}$  174.7 (C-1), 139.3 (C-2), 143.7 (C-3), 173.8 (C-4), 63.4 (CH-5), 8.6 (CH<sub>3</sub>-6), 22.5 (CH<sub>3</sub>-7)。以上数据与文献[30]对照, 故鉴定化合物 8 为 3-羟乙基-2-甲基-马来酰亚胺 [2-(1-Hydroxyethyl)-3-methylmaleimide]。

#### 2.4 部分化合物的抗氧化活性

由图 8a 可知, 质量浓度为 0~2.0 mg/mL 时,

不同化合物清除 DPPH 自由基能力随质量浓度增大而增大。由图 8b 可知, 化合物 7 清除 DPPH 自由基的 IC<sub>50</sub> 值最小, 为 0.18 mg/mL。化合物 1、4、5、6, IC<sub>50</sub> 值分别为 1.13, 0.78, 0.24 mg/mL 和 0.20 mg/mL。VC 的 IC<sub>50</sub> 值为 0.08 mg/mL, 化合物 7 清除 DPPH 自由基能力接近 VC。综上, 化合物 7 清除 DPPH 自由基能力最好, 化合物 1 清除 DPPH 自由基能力最弱。

由图 9a 可以看出, 质量浓度为 0~30  $\mu\text{g/mL}$  时, 纯化合物随着质量浓度增加, 清除 ABTS 自由基能力增强。由图 9b 可知, VC 的 IC<sub>50</sub> 值为 1.3  $\mu\text{g/mL}$ , 化合物 1、4、5、6、7 清除 ABTS 自由基能力均低于 VC, 化合物中清除 ABTS<sup>+</sup> 自由基的 IC<sub>50</sub> 值大小顺序为: 7 < 6 < 5 < 4 < 1, 表明化合物 7 清除 ABTS 自由基能力最好, 其 IC<sub>50</sub> 值为 12.2  $\mu\text{g/mL}$ 。



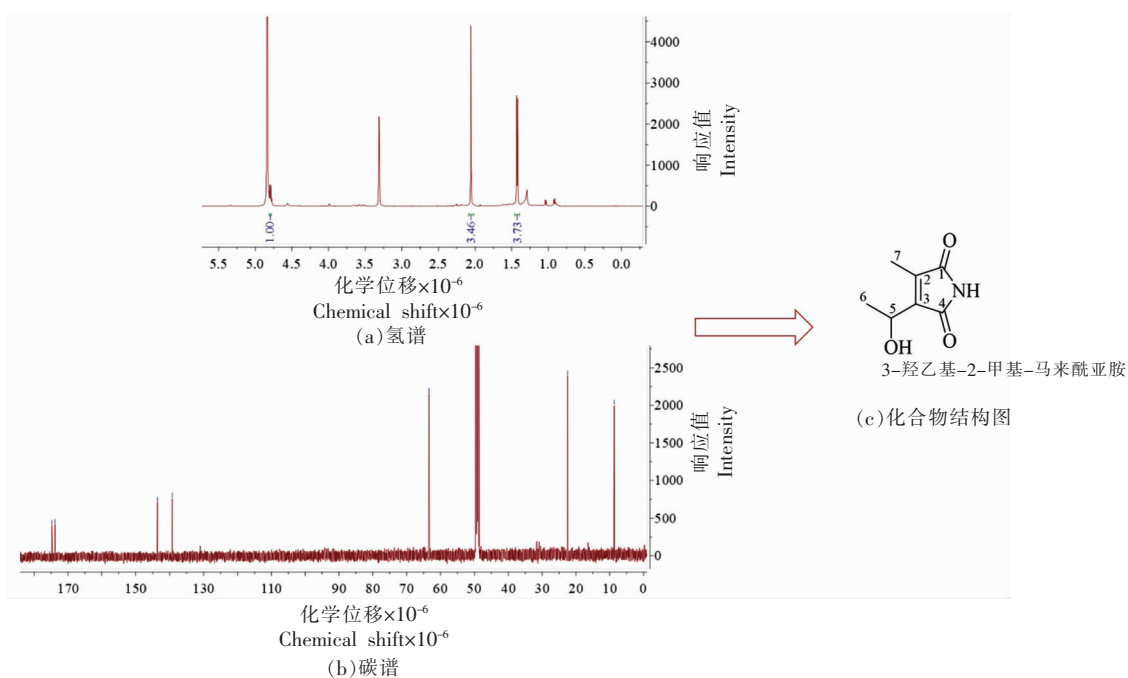


图 7 3-羟乙基-2-甲基-马来酰亚胺结构鉴定图

Fig.7 Structural characterization of 2-(1-Hydroxyethyl)-3-methylmaleimide

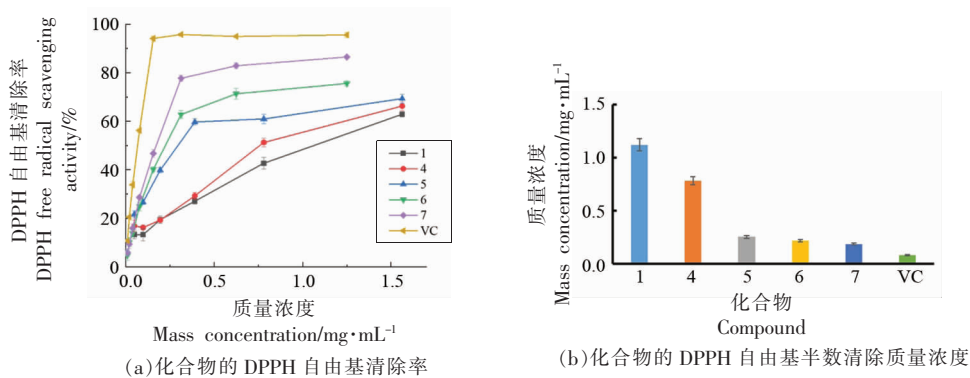


图 8 不同化合物清除 DPPH 自由基能力及 IC<sub>50</sub> 值

Fig.8 DPPH free radical scavenging ability and IC<sub>50</sub> value of different compounds

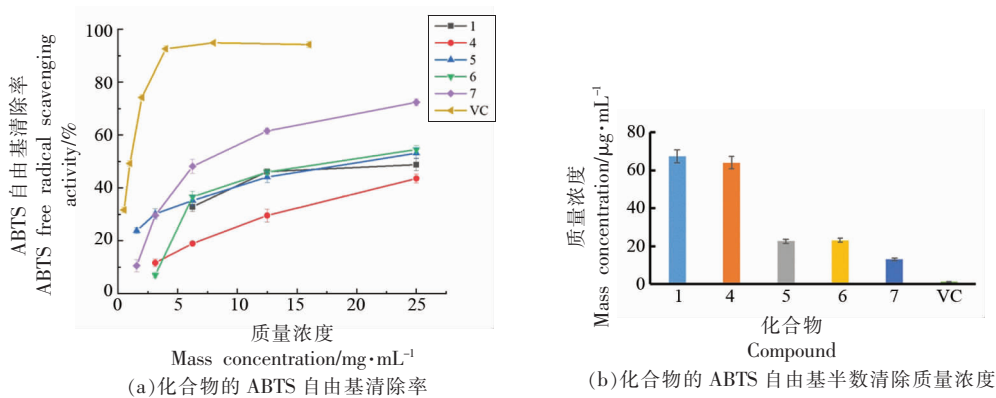


图 9 不同化合物清除 ABTS 自由基能力及 IC<sub>50</sub> 值

Fig.9 ABTS free radical scavenging ability and IC<sub>50</sub> value of different compounds

### 3 结论

为了弥补石花菜醇提物化学成分的研究空白,本文综合运用 TLC、HPLC、LC-MS、GC-MS、NMR 等多种色谱波谱手段,系统鉴定了其化学成分。TLC、LC-MS 分析表明石花菜醇提物中含有丰富的次级代谢产物,且很可能是甾醇类成分。运用 GC-MS 从石花菜乙醇浸膏中鉴定到 29 个化合物,其中 5 个为甾醇类化合物。经正向硅胶柱和 HPLC 分离,NMR 鉴定,得到 9 个单体化合物,分别为胆甾醇(1)、1,2-二醇植烯(2)、帕格甾醇 C(3)、6-羟基-胆甾-4-烯-3-酮(4)、胆甾-5-烯-7-酮(5)、胆甾-5-烯-3 $\beta$ ,7 $\alpha$  二醇(6)、胆甾-5-烯-3 $\beta$ ,7 $\beta$  二醇(7)、胆甾-4-烯-6-酮(8)、3-羟乙基-2-甲基-马来酰亚胺(9);化合物 7 清除 DPPH 自由基和 ABTS 自由基能力最好,其 IC<sub>50</sub> 值分别为 180  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和 12.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。本文首次系统研究了石花菜的化学成分,化合物 3、8、9 为新天然产物;部分甾醇类化合物展现出一定的抗氧化活性。本试验的研究结论明晰了石花菜醇提物活性的物质基础,为石花菜功能食品的研发及高值化利用提供了依据。

### 参 考 文 献

- [1] 裴育,杨胜涛,冯瑞,等. 细毛石花菜多糖自由基清除能力和理化性质的研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(4): 235-242.  
PEI Y, YANG S T, FENG R, et al. Research on the free radical scavenging ability and physicochemical properties of the polysaccharides in *Gelidium crinale*[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(4): 235-242.
- [2] 裴若楠,翟红蕾,戚勃,等. 石花菜多糖的分离纯化及单糖组成分析[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(7): 57-62.  
PEI R N, ZHAI H L, QI B, et al. Isolation, purification and monosaccharide composition analysis of polysaccharide from *Gelidium amansii*[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(7): 57-62.
- [3] 林圣楠,李天骄,田永奇,等. 低场核磁共振技术测定石花菜对酸奶水分迁移及超微结构的影响[J]. 中国酿造, 2018, 37(3): 49-52.

- LIN S N, LI T J, TIAN Y Q, et al. Effects of *Gelidium amansii* on the water mobility and ultra-structure of yogurt by nuclear magnetic resonance[J]. China Brewing, 2018, 37(3): 49-52.
- [4] 张英格,伍冠一,陈曦. 石花菜化学成分与药理作用研究进展[J]. 海洋科学, 2021, 45(1): 129-138.  
ZHANG Y G, WU G Y, CHEN X. Chemical constituents and pharmacological effects of *Gelidium amansii*[J]. Marine Sciences, 2021, 45(1): 129-138.
- [5] 秦祁,栾立宁,邓翔,等. 石花菜应用和加工研究进展[J]. 食品安全导刊, 2022(30): 178-181.  
QIN Q, LUAN L N, DENG X, et al. Research progress on the application and processing of *Gelidium amansii*[J]. Food Science and Technology, 2022(30): 178-181.
- [6] 孙抗. 海洋藻类植物的药用研究整理[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2012.  
SUN K. Summary of medicinal research on marine algae plants[D]. Nanning: Guangxi University of Chinese Medicine, 2012.
- [7] KIM C, RYU H J, KIM S H, et al. Acidity tunable ionic liquids as catalysts for conversion of agar into mixed sugars[J]. Bulletin of the Korean Chemical Society, 2010, 31(2): 511-514.
- [8] SEO M J, LEE O H, CHOI H S, et al. Extract from edible red seaweed (*Gelidium amansii*) inhibits lipid accumulation and ROS production during differentiation in 3T3-L1 cells[J]. Preventive Nutrition and Food Science, 2012, 17(2): 129-135.
- [9] LEE O H, YOON K Y, KIM K J, et al. Seaweed extracts as a potential tool for the attenuation of oxidative damage in obesity-related pathologies [J]. Journal of Phycology, 2011, 47(3): 548-556.
- [10] PARK M H, KANG J H, KIM H J, et al. *Gelidium amansii* ethanol extract suppresses fat accumulation by down-regulating adipogenic transcription factors in ob/ob mice model [J]. Food Science and Biotechnology, 2017, 26(1): 207-212.
- [11] KANG M C, KANG N, KIM S Y, et al. Popular edible seaweed, *Gelidium amansii* prevents against diet-induced obesity[J]. Food and Chemical Toxicology, 2016, 90: 181-187.
- [12] 林雄平,周逢芳,陈晓清,等. 石花菜和海蒿子提取物抗菌活性初步研究[J]. 亚热带植物科学, 2011, 40(1): 28-30.

- LIN X P, ZHOU F F, CHEN X Q, et al. Research on the antimicrobial activities of extracts from *Gelidium amansii* and *Sargassum pallidum*[J]. Subtropical Plant Science, 2011, 40(1): 28–30.
- [13] 孙杰, 王艳杰, 朱路英, 等. 石花菜醇提物抑菌活性和抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2007, 28(10): 53–56.
- SUN J, WANG Y J, ZHU L Y, et al. Study on antifungal and antioxidant activities of alcohol extract of *Gelidium amansii*[J]. Food Science, 2007, 28(10): 53–56.
- [14] CHOE J H, JANG A, CHOI J H, et al. Antioxidant activities of lotus leaves (*Nelumbo nucifera*) and barley leaves (*Hordeum vulgare*) extracts[J]. Food Science and Biotechnology, 2010, 19(3): 831–836.
- [15] AKKARI H, HAJAJI S, B'CHIR F, et al. Correlation of polyphenolic content with radical-scavenging capacity and anthelmintic effects of *Rubus ulmifolius* (rosaceae) against *Haemonchus contortus* [J]. Veterinary Parasitology, 2016, 221: 46–53.
- [16] 国伟杰, 李国梁, 侯玉雪, 等. 红藻鸭毛藻化学成分研究(英文)[J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2017, 26(10): 754–762.
- GUO W J, LI G L, HOU Y X, et al. Chemical constituents from the red alga *Symphyclocladia latiuscula*[J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2017, 26(10): 754–762.
- [17] 夏欢, 孙奕, 田黎, 等. 红藻真江蓠的化学成分研究[J]. 中国药物化学杂志, 2015, 25(2): 132–134, 142.
- XIA H, SUN Y, TIAN L, et al. Chemical constituents from the red alga *Gracilaria asiatica* [J]. Chinese Journal of Medicinal Chemistry, 2015, 25(2): 132–134, 142.
- [18] 冯强, 魏玉西, 齐君, 等. 坛紫菜 (*Porphyra haitanensis*) 化学成分的研究[J]. 海洋科学, 2013, 37(5): 15–18.
- FENG Q, WEI Y X, QI J, et al. Studies on chemical constituents of *Porphyra haitanensis*[J]. Marine Sciences, 2013, 37(5): 15–18.
- [19] BROWN G D, LIANG G Y, SY L K. Terpenoids from the seeds of *Artemisia annua* [J]. Phytochemistry, 2003, 64(1): 303–323.
- [20] WONG H F, BROWN G D. Photo-oxygenation of phytol and the structure revision of phytene-1,2-diol from *Artemisia annua* to phytene-1-ol-2-hydroperoxide[J]. Journal of Chemical Research, 2002, 2002(1): 30–33.
- [21] WEI X M, RODRIGUEZ A D, WANG Y H, et al. Novel ring B abeo-sterols as growth inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from a Caribbean Sea sponge, *Svenzea zeai*[J]. Tetrahedron Letters, 2007, 48(50): 8851–8854.
- [22] WEI X M, RODRIGUEZ A D, WANG Y H, et al. Synthesis and *in vitro* biological evaluation of ring B abeo-sterols as novel inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2008, 18(20): 5448–5450.
- [23] 黄孝春, 刘海利, 郭跃伟, 等. 南海蓖麻海绵 *Biemna fortis* Topsent 化学成分及其生物活性[J]. 中国天然药物, 2008, 6(5): 348–353.
- HUANG X C, LIU H L, GUO Y W, et al. Chemical constituents of marine sponge *Biemna fortis* Topsent[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2008, 6(5): 348–353.
- [24] LANG K L, PALERMO J A, FALKENBERG M, et al. Steroids from the red alga *Acanthophora spicifera* [J]. Biochemical Systematics & Ecology, 2007, 35(11): 805–808.
- [25] LI L Y, DENG Z W, FU H Z, et al. 6-Hydroxy-4-en-3-one sterols from the marine sponge *Iotrochoto birotulata*[J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2005, 7(2): 115–120.
- [26] WANG Y S, WANG L L, HU Y, et al. Isolation and identification of two steroid compounds from *Oviductus ranae*[J]. Natural Product Research, 2010, 24(16): 1518–1522.
- [27] LIU H W, LI J K, ZHANG D W, et al. Two new steroidal compounds from starfish *Asterias amurensis* Lutken [J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2008, 10(6): 521–529.
- [28] 李国强, 邓志威, 管华诗, 等. 中国南海软珊瑚 *Dendronephthya gigantea* 中的多羟基甾醇成分[J]. 中国海洋药物, 2004(1): 1–5.
- LI G Q, DENG Z W, GUAN H S, et al. Polyhydroxy sterols from soft coral *Dendronephthya gigantea* from the South China Sea[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2004(1): 1–5.
- [29] REGA M, JIMÉNEZ C, RODRÍGUEZ J. 6 E-hydroximinosteroid homodimerization by cross-metathesis processes[J]. Steroids, 2007, 72(11–12): 729–

735.  
[30] GAULER R, HESSE U, RISCH N. Derivatives of natural tetrapyrroles for photodynamic therapy. 3.

Oxidative degradation studies on porphyrins with chromic acid[J]. Liebigs Annalen, 1995, 12: 2227-2230.

### Analysis of the Constituents of the Ethanol Extract of *Gelidium amansii*

Tian Yongqi<sup>1</sup>, Luo Haitao<sup>1</sup>, Ding Ting<sup>1</sup>, Wang Qisheng<sup>1</sup>, Deng Shanggui<sup>2</sup>, Wang Shaoyun<sup>\*</sup>

<sup>1</sup>College of Biological Science and Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350108

<sup>2</sup>College of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, Zhejiang)

**Abstract** Objective: To study the chemical constituents of *Gelidium amansii* and lay a foundation for the research and development of functional food of *Gelidium amansii*. Methods: TLC and LC-MS were used to analyze the richness of chemical components in the ethanol extract of *Gelidium amansii*. The ethanol extract of *Gelidium amansii* was separated and purified by silica gel column and HPLC, and the structure of compounds were determined by GC-MS, NMR, and combined with the data reported in the literature. The antioxidant activity of some compounds was determined. Results: TLC and LC-MS analysis showed that the ethanol extract of *Gelidium amansii* was rich in secondary metabolites, and it was likely to be sterols. 29 compounds (5 sterols) were identified from the ethanol extract by GC-MS. Among them, palmitic acid (46.76%), ethyl palmitate (13.82%), cholesterol (7.20%), 4,6-cholestadien-3 $\beta$  ol (4.99%) were the four compounds with the highest content. After chromatographic separation and NMR identification, 9 compounds were obtained, which were cholesterol (1), 1,2-diol phytoene (2), pagosterol C (3), 6-hydroxy-cholest-4-en-3-one (4), cholest-5-en-7-one (5), cholest-5-ene-3 $\beta$ , 7 $\alpha$  diol (6), cholest-5-ene-3 $\beta$ , 7 $\beta$  diol (7), cholest-4-en-6-one (8), 3-hydroxyethyl-2-methyl-maleimide (9). Compound 7 has the strongest ability to scavenge DPPH and ABTS free radical with IC<sub>50</sub> values of 0.18 mg/mL and 12.2  $\mu$ g/mL, respectively. Conclusion: In this paper, the ethanol extract of *Gelidium amansii* were systematically studied for the first time. Compounds 3, 8 and 9 were new natural products. Some sterols showed good antioxidant activity.

**Keywords** the ethanol extract of *Gelidium amansii*; constituents; sterol; antioxidant activity