

玉足海参中一个新的三萜皂苷脱硫衍生物[△]

韩华^{1,2}, 易杨华^{1*}, 李玲¹, 闫冰³, 刘宝珠¹, 孙鹏¹

(1. 第二军医大学药学院海洋药物研究中心, 上海 200433; 2. 上海水产大学食品学院, 上海 200090;
3. 南京军区南京总医院制剂科, 江苏 南京 210002)

摘要:目的 分离并鉴定玉足海参体内皂苷类化合物的结构。方法 将自玉足海参体内提取得到的皂苷 leucospilotaside A 溶于吡啶:二氧六环(1:1)的混合液中。120℃加热 3h, 应用多种色谱技术对回流产物进行分离纯化, 根据化合物的理化性质和波谱数据鉴定其结构。结果 分离并鉴定了 1 个三萜皂苷类化合物: 3-O- β -D-吡喃奎诺糖(1(2)- β -D-吡喃木糖)-海参烷-9-烯-22-酮-3 β , 12 α , 17 α , 25 α -四醇。结论 玉足海参中提取的三萜皂苷 leucospilotaside A 脱硫衍生物为新化合物。

关键词: 玉足海参; 三萜皂苷; 衍生物; 结构鉴定

中图分类号: R959.269 文献标识码: A 文章编号: 1002-3461(2007)05-0021-04

A new desulfated triterpene glycoside from sea cucumber *Holothuria leucospilota*

HAN Hua^{1,2}, YI Yang-hua^{1*}, LI Ling¹, YAN Bing³, LIU Bao-shu¹, SUN Peng¹

(1. Research Center of Marine Drug, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. College of Food Science, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China; 3. Dept. of Pharmaceuticals, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Region, Nanjing 210002, China))

Abstract: **Objective** The structure of triterpene glycosides from the *H. leucospilota* were isolated and elucidated. **Methods** The glycoside leucospilotaside A was dissolved in a mixture of pyridine-dioxane (1:1) and heated under 120℃ reflux for 3h. The reaction mixture was isolated and purified by various chromatography methods. The structure of compound was elucidated by chemical and spectral analyses. **Result** The structure of compound was elucidated as: 3-O- β -D-quinovopyranosyl (1(2)- β -D-xylopyranosyl)-holosta-9-ene-22-ketone-3 β , 12 α , 17 α , 25 α -tetraol. **Conclusion** Desulfated structure of leucospilotaside A was a new compound. **Key words:** *Holothuria leucospilota*; triterpene glycoside; derivative; structure elucidation

玉足海参(*Holothuria leucospilota*)属楯手目(Aspidochirota)海参科(Holothuriidae)海洋动物。体长 200~300mm, 直径 40~50mm, 该物种在我国福建南部、台湾、广东、广西、海南岛和西沙群岛均有分布, 广

泛分布于印度-西太平洋区域。是海南最普通的一种食用参, 广东澳头和盐田一带称它为“乌虫参”或“乌参”, 广西北海称它为“红参”。它的商品质量不高, 是一种次等参。玉足海参在我国分布比较广泛, 资源丰富, 可作

△基金项目: 国家高新技术发展计划(“863”计划)课题(2003AA624100)

作者简介: 韩华, 女, 博士 E-mail: hhan05@126.com

* 通讯作者: E-mail: yiyanghua@126.com

为药物开发的有效资源^[1]。

国内对该种海参体内的皂苷类化学成分的报道较少^[2,3]。我们采用稻瘟霉生物活性筛选模型^[4]和体外细胞毒活性追踪方法对其体内的三萜皂苷类成分进行了系统研究^[5],并从玉足海参中提取到的 1 个新三萜皂苷脱硫衍生物进行结构鉴定。

1 材料和方法

1.1 材料,仪器和试剂

玉足海参于 2005 年 3 月采自海南三亚,经中国科学院海洋研究所廖玉麟研究员鉴定为 *Holothuria leucospilota*,标本现存放于第二军医大学药学院海洋药物研究中心,样品编号 HY200503。北京市科仪电光仪器厂 XT5 显微熔点测定仪(温度未校正);Bruker Vector22 型红外光谱仪;Varian Inova-100 磁共振仪;Quattro 质谱仪(Micromass 公司);Sephadex LH-20(Pharmacia 公司);层析用硅胶和 HSGF₂₅₁ 硅胶预制板(烟台芝罘黄务硅胶开发试验厂);青岛海洋化工集团公司薄层层析硅胶 H(60 型);HPLC 仪;Agilent1100Series;RID 检测器;反相柱为 Zorbax 300 SB-C18(9.1mm×250mm)。甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

1.2 提取、分离和纯化

新鲜玉足海参材料洗净、切碎后用 80% 乙醇热回流提取 4 次,回收乙醇的流浸膏。将流浸膏均匀分散在水中,用石油醚(1500mL/次)萃取,待石油醚萃取液颜色变得极浅后,再用正丁醇(1500mL/次)萃取 5 次。回收正丁醇即可得到玉足海参总皂苷。将总皂苷通过正、反相柱层析,高效液相等色谱分离技术得到不同的皂苷单体。取皂苷 leucospilotaside A 20mg,溶于 40ml 吡啶:二氧六环(1:1)混合液中,120℃加热 3h,反应物冷却后,回收溶剂,所得浸膏用硅胶低压柱层析处理,氯仿:甲醇:水(7.5:2.5:1 下层)洗脱,得到的主要成分再进行高效液相

柱层析纯化,层析柱为 Zorbax SB C18 ODS 反相柱,洗脱剂为 80% 甲醇,流速为 1.5mL/min,得到一个化合物 1(13mg),对其进行理化常数测定和光谱分析鉴定。

2 结果和讨论

2.1 leucospilotaside A 的结构鉴定

白色无定形粉末, m. p. 247.5 ~ 249.5℃(MeOH-H₂O), $[\alpha]_D^{20}$ 6.2°(c 0.7, pyridine)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均呈阳性。由电喷雾-飞行时间-阳离子质谱(ESI-MS)中的准分子离子峰 m/z 921 $[M+Na]^+$ 和负离子质谱(ESI-MS⁻)中的准分子离子峰 m/z $[M-Na]^-$ 推测化合物的相对分子质量为 898。HRESI-MS 中的准分子离子峰 m/z 921.3534 $[M+Na]^+$ (Calc. Mass 921.3531) 给出分子式 C₄₁H₆₂O₁₈SNa。结合¹³CNMR、¹HNMR 谱和 DEPT 谱,确定该化合物的分子式为 C₄₁H₆₂O₁₈SNa。根据化合物的¹³CNMR、¹HNMR 和 HMQC 谱,对化合物各个碳原子及其所连接的质子的化学位移进行归属分析(见表 2 和表 3)。结果表明:leucospilotaside A 为三萜皂苷。磺酸基的推断还由正离子质谱碎片峰 m/z 801 $[M+Na-NaHSO_4]^+$ 的存在得以支持。并通过酸水解表明化合物中糖链的组成及连接顺序。leucospilotaside A 的结构为:β-D-吡喃奎诺糖(1(2)-4-O-磺酸钠-β-D-吡喃木糖)-海参烷-9-烯-22-酮-3β,12α,17α,25α-四醇,这是一个新的三萜皂苷类化合物,命名为 leucospilotaside A^[5](结构式见图 1)。

2.2 化合物 1 的结构鉴定

白色无定形粉末, mp: 248 ~ 250℃(MeOH-H₂O), Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均呈阳性。由电喷雾-飞行时间-阳离子质谱 ESI-MS⁺ 提供的准分子离子峰 m/z 797 $[M+H]^+$ 和负离子质谱 ESI-MS⁻ 提供的准分子离子峰 m/z 795 $[M-H]^-$, 推测化合物分子量为 796。结合¹HNMR,

^{13}C NMR谱和 DEPT 谱,确定该化合物的分子式 $\text{C}_{41}\text{H}_{64}\text{O}_{15}$ 。根据化合物的 ^{13}C NMR, ^1H NMR和 HMQC 谱,对化合物各个碳原子及其所连接的质子的化学位移进行归属分析(见表 2 和表 3)。结果表明:化合物 1 为三萜皂苷类成分。与 leucospilotaside A 的结构极为相似^[5],只是组成皂苷糖链的单糖化学位移值有明显不同。化合物 1 中与苷元直接相连的木糖 C-4' (C 68.9) 化学位移向高场移动 8.0;以及两者分子量相差 102。综合分析化合物 1 为 leucospilotaside A 的脱硫衍生物^[6]。通过酸水解表明化合物 1 中糖链的单糖组成及连接顺序,与 leucospilotaside A 的组成和顺序是完全一致的。

综上所述,化合物 1 的结构确定为: β -D-吡喃奎诺糖(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃木糖}-海参烷-9-烯-22-酮- $3\beta, 12\alpha, 17\alpha, 25\alpha$ -四醇,这是一个

新的三萜皂苷类化合物,命名为 desulfated leucospilotaside A(结构式见图 1)。

3 结论

研究表明:玉足海参体内的三萜皂苷类成分具有较强的抗肿瘤细胞毒性,是一类很有前途的抗肿瘤药物的先导化合物。本文报道的 leucospilotaside A 的脱硫衍生物为新的三萜皂苷类化合物,初步体外抗肿瘤试验结果显示对 HL-60 人白血病、A549 人肺癌等癌细胞株具有一定的细胞毒活性,与 leucospilotaside A 比较有一定提高(表 1),值得进一步开展研究。

表 1 玉足海参中化合物体外抗肿瘤情况

化合物	HL-60	A549
leucospilotaside A	弱效	无效
leucospilotaside A 脱硫衍生物	弱效	弱效

表 2 化合物 leucospilotaside A 和 1 苷元部分 ^{13}C NMR, ^1H NMR 化学位移值

Carbon	化合物 1		化合物 2	
	δ_{C}	$\delta_{\text{H}}(\text{m}, J \text{ in Hz})$	δ_{C}	$\delta_{\text{H}}(\text{m}, J \text{ in Hz})$
1	36.45	1.33(1H, m, α) 1.82(1H, m, β)	36.80	1.32(1H, m, α) 1.76(1H, m, β)
2	27.01 2.09	1.86(1H, m, α) (1H, m, β)	27.33	1.80(1H, m, α) 2.11(1H, m, β)
3	88.66	3.16(1H, dd, 7.6, 4.8, α)	88.93	3.16(1H, dd, 11.2, 4.8, α)
4	40.06		40.26	
5	52.78	0.98(1H, m, α)	52.85	0.97(1H, m, α)
6	28.39	1.76(1H, m, α) 1.51(1H, m, β)	28.50	1.76(1H, m, α) 1.49(1H, m, β)
7	21.22 1.73	1.54(1H, m, α) (1H, m, β)		21.66, 1.54(1H, m, α) 1.72(1H, m, β)
8	40.95	3.27(1H, m, β)	40.99	3.25(1H, m, β)
9	154.26		154.37	
10	39.82		39.93	
11	115.34	5.60(1H, brd, 4.2, β)	115.00	5.52(1H, brd, 4.2, β)
12	71.06	4.94(1H, m, β)	71.02	4.88(1H, m, β)
13	58.67		58.62	
14	46.28		46.34	
15	36.75	1.33(1H, m, α) 1.82(1H, m, β)	37.16	1.34(1H, m, α) 1.79(1H, m, β)
16	37.60	2.20(1H, m, α) 2.40(1H, m, β)	37.69	2.15(1H, m, α) 2.39(1H, m, β)
17	92.35		92.44	
18	173.70		173.76	
19	22.56	1.36(3H, s)	22.70	1.49(3H, s)

20	87.58		87.62	
21	21.54	1.91(3H,s)	21.66	2.0(3H,s)
22	209.18		209.20	
23	34.80	3.19(2H,m)	36.79	3.10(2H,m)
24	39.08	1.17, 1.19	39.16	1.20(2H,m)
25	69.03		70.10	
26	29.99	1.40(3H,s)	30.23	1.78(2H,dd,5,4)
27	29.67	1.39(3H,s)	29.83	1.77(3H,s)
30	16.78	1.12(3H,s)	16.92	1.22(3H,s)
31	28.17	1.26(3H,s)	28.34	1.45(3H,s)
32	18.56	1.60(3H,s)	18.85	1.70(3H,s)

表 3 化合物 leucospilotaside A 和 1 糖链部分¹³CNMR,¹HNMR 化学位移值

Carbon	化合物 1		化合物 2	
	δ_c	$\delta_H(m, J \text{ in Hz})$	δ_c	$\delta_H(m, J \text{ in Hz})$
Xyl				
1	105.23	4.72(1H,d,4.8)	105.95	4.72(1H,d,7.2)
2	83.06	4.05(1H,m)	84.23	3.98(1H,m)
3	75.47	4.32(1H,m)	76.93	4.29(1H,m)
4	76.92	5.10(1H,m)	68.90	4.03(1H,m)
5	64.24	3.74(1H,m, α)	66.93	3.74(1H,m, α)
		4.76(1H,m, β)		4.33(1H,m, β)
Qui				
			78.39	4.08(1H,m)
1	105.78	5.08(1H,d,7.8)	106.47	5.07(1H,d,7.6)
2	77.71	4.08(1H,m)	78.39	4.08(1H,m)
3	76.74	3.66(1H,m)	77.37	3.62(1H,m)
4	76.09	4.03(1H,m)	76.80	4.98(1H,m)
5	73.41	3.77(1H,m)	73.68	3.73(1H,m)
6	19.87	1.62(3H,d,6.4)	20.02	1.51(3H,d,6.4)

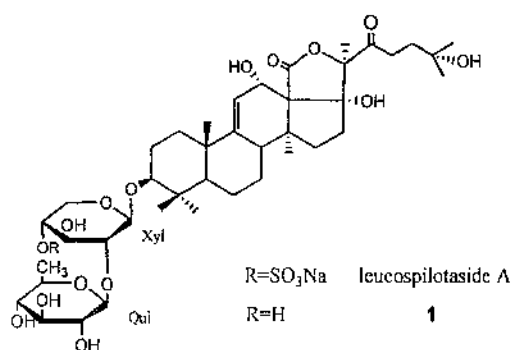


图 1 化合物 leucospilotaside A 和 1 的结构式

参考文献:

[1] 廖玉麟. 中国动物志[M]. 北京: 科学出版社, 1997.

110-116.

[2] 王强基, 李春艳. 玉足海参粘性多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 海洋药物, 1984, (1), 12-15.

[3] 周清凯, 杨惠英, 蔡云见, 等. 玉足海参素的抗真菌作用及其临床应用. 海洋药物, 1985, (4), 43-44.

[4] 汤海峰, 易杨华, 姚新生, 等. 利用稻瘟菌分生孢子筛选有生物活性的海洋生物[J]. 第二军医大学学报, 2002, 23(3): 246-249.

[5] Hua Han, Yang Hua Yi, Ling Li, et al. A new triterpene glycoside from sea cucumber *Holothuria leucospilota*[J]. *Chines Chemical Letters*, 18(2007), 161-164.[6] Isao Kitagawa, Takay Nishino. Structure of holothurin B: A pharmacologically active triterpene oligoglycoside from the sea cucumber *H. leucospilota* brandt[J]. *Tetrahedron letters*, 1978, 11: 985.

(收稿日期: 2007-03-19)