

## 二色桌片参中两个新三萜皂苷脱硫衍生物

Two new desulfated triterpene glycosides from sea cucumber *Mensamria intercedens* Lampert巫 军<sup>1</sup>, 邹峥嵘<sup>2</sup>, 易杨华<sup>1\*</sup>, 吴厚铭<sup>3</sup>, 张淑瑜<sup>1</sup>, 周大铮<sup>1</sup>, 姚新生<sup>2</sup>

(1. 第二军医大学药学院海洋药物研究中心, 上海 200433; 2. 深圳清华大学研究院博士后科研工作站, 深圳 518057; 3. 中国科学院上海有机化学研究所生命有机化学国家重点实验室, 上海 200032)

**[摘要]** 目的: 分离并鉴定二色桌片参体内的皂苷类化合物的结构。方法: 从二色桌片参体内提取得到的总皂苷溶于吡啶: 二氧六环(1:1)的混合液中, 120℃加热 2.5 h, 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 2 个三萜皂苷类化合物: 16β-乙酰氧基-3-O-[3-O-甲基-β-D-吡喃葡萄糖-(1→3)-β-D-吡喃木糖-(1→4)-β-D-吡喃奎诺糖-(1→2)-β-D-吡喃木糖]-海参烷-7, 22 Z, 24-三烯-3β-醇(I), 16β-乙酰氧基-3-O-[3-O-甲基-β-D-吡喃葡萄糖-(1→3)-β-D-吡喃木糖-(1→4)-β-D-吡喃奎诺糖-(1→2)-β-D-吡喃木糖]-海参烷-7, 24-二烯-3β-醇(II)。结论: 二色桌片参中提取的 2 个三萜皂苷脱硫衍生物均为新化合物。

**[关键词]** 二色桌片参; 三萜皂苷; 结构鉴定**[中图分类号]** R 282.74 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2005)01-0096-03

二色桌片参(*Mensamria intercedens* Lampert)属枝手目(Dendrochirotrida)瓜参科(Cucumariidae)海洋动物, 体长 30~120 mm, 直径 10~30 mm, 体呈纺锤形, 两端略细, 稍弯曲。该物种在我国从福建东山到海南岛的海域均有分布, 在印度尼西亚和澳大利亚北部海域也有分布。在我国福建沿海以东山湾海域为数最多, 资源丰富, 食用价值不大, 当地渔民用它作肥料, 有可能作为药物开发的有效资源<sup>[1]</sup>。有研究机构对该种海参体内多糖和糖蛋白的分离纯化、化学特征和药理活性进行了研究<sup>[2,3]</sup>, 但有关该种海参体内小分子化学成分的研究报道较少。我们采用稻瘟霉生物活性筛选模型<sup>[4]</sup>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<sup>[5,6]</sup>。本文报告从二色桌片参中得到的 2 个新三萜皂苷脱硫衍生物的提取及结构鉴定。

**1 材料和方法**

**1.1 材料、仪器和试剂** 二色桌片参于 2001 年 2 月采自福建东山, 经福建海洋研究所方金瑞研究员、吴萍茹博士鉴定为 *Mensamria intercedens* Lampert, 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 HYSC2002-01。北京市科仪电光仪器厂 XT5 显微熔点测定仪(温度未校正); Bruker Vector 22 型红外光谱仪; Varian Inova-400 磁共振仪; Quattrro 质谱仪(Micromass 公司); Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司); 层析用硅胶和 HSGF<sub>254</sub> 硅胶预制板(烟台芝罘黄务硅胶开发试验厂); HPLC 仪: Agilent 1100 Series, RID 检测器, 反相柱为 Zorbax 300 SB-C18(9.4 mm×250 mm)。甲醇色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

**1.2 提取、分离和纯化** 新鲜二色桌片参材料洗净、切碎后, 用 85% 的乙醇冷浸, 回收乙醇得流浸膏。将流浸膏均匀分散在水中, 用二氯甲烷(1 000 ml/次)萃取, 待二氯甲烷萃取液颜色变得极浅后, 再用正丁醇(1 000 ml/次)萃取。回收正丁醇即可得到二色桌片参总皂苷。取这种总浸膏 60 mg, 溶于 120 ml 吡啶: 二氧六环(1:1)混合液中, 120℃加热

2.5 h, 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 1.5 ml/min, 得到 2 个化合物: 化合物 I (15 mg), 化合物 II (17 mg), 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 化合物 I 结构鉴定** 白色粉末, m. p. 206~207℃,  $[\alpha]_D^{20} -58.2^\circ (c=0.6, \text{吡啶})$ 。Liebermann-Burchard 反应阳性。由电喷雾-飞行时间-阳离子质谱(ESI-MS<sup>+</sup>)中的准分子离子峰  $m/z$  1 119  $[M+Na]^+$ 、1 135  $[M+K]^+$  和负离子质谱(ESI-MS<sup>-</sup>)中的准分子离子峰 1 095  $[M-H]^-$  推测化合物 I 的相对分子质量为 1 096。HRESI-MS 中的准分子离子峰  $m/z$  1 119.538 1  $[M+Na]^+$  和 1 135.511 0  $[M+K]^+$  分别给出分子式 C<sub>55</sub>H<sub>84</sub>O<sub>22</sub>Na 和 C<sub>55</sub>H<sub>84</sub>O<sub>22</sub>K, 结合 <sup>13</sup>CNMR、<sup>1</sup>NHMR 谱和 DEPT 谱确定该化合物的分子式为 C<sub>55</sub>H<sub>84</sub>O<sub>22</sub>。根据化合物 I 的 <sup>1</sup>NHMR、<sup>13</sup>CNMR 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 1 和表 2)。结果表明: 化合物 I 为三萜皂苷类成分, 与化合物 intercedenside A 的结构极为相似<sup>[4]</sup>, 只是组成皂苷糖链的个别单糖化学位移值有明显不同。化合物 I 中与苷元直接相连的木糖 C-4'(δ68.2) 化学位移向高场移动 7.6, 而 C-3'(δ78.2) 和 C-5'(δ66.5) 分别向低场移动 2.8 和 2.3。综合分析化合物 I 为 intercedenside A 的脱硫衍生物<sup>[4,5]</sup>。ESI-MS<sup>-</sup> 中的碎片离子峰  $m/z$  1 095  $[M-H]^-$ , 919

**[基金项目]** 上海市科技发展攻关项目(02DZ19101)。**[作者简介]** 巫 军(1976-), 男(汉族), 博士, 主管药师。

E-mail: wu919067@sina.com

\* Corresponding author. E-mail: yiyanghua@hotmail.com

[M-H-3-OMe-glu]<sup>-</sup>, 787 [M-H-3-OMe-glu-xy]<sup>-</sup>, 641 [M-H-3-OMe-glu-xy<sup>-</sup>qui]<sup>-</sup>, 509 [M-H-3-OMe-glu-xy<sup>-</sup>qui-xy]<sup>-</sup>表明 I 中糖链的单糖连接顺序与化合物 intercedenside A 完全一致。

表 1 化合物 I 和 II 苷元部分<sup>13</sup>CNMR、<sup>1</sup>NHMR 化学位移值

位置或基因	化合物 I		化合物 II	
	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub>
1	36.3	1.39(2H,br)	35.3	1.25(2H,br)
2	27.3	1.80(1H,m,β),2.06(1H,m,α)	26.4	1.81(1H,m,β),1.92(1H,m,α)
3	89.3	3.24(1H,dd,3.2 Hz,11.6 Hz)	89.0	3.15(1H,dd,3.6 Hz,12 Hz)
4	39.7	-	38.7	-
5	47.9	0.95(1H,m)	47.5	0.88(1H,m)
6	23.4	1.98(2H,m)	23.2	1.76(2H,m)
7	120.5	5.55(1H,bs)	120.0	5.60(1H,bs)
8	145.9	-	145.2	-
9	47.5	3.36(1H,d,13.8 Hz)	46.6	3.24(1H,d,13.8 Hz)
10	35.6	-	35.0	-
11	22.7	1.45(1H,m),1.72(1H,m)	22.1	1.44(1H,m),1.70(1H,m)
12	30.9	1.94(1H,m),2.03(1H,m)	31.0	2.10(2H,m)
13	58.5	-	58.6	-
14	48.2	-	47.1	-
15	43.8	1.60(1H,β), 2.34(1H,dd,α,8.4 Hz,12.6 Hz)	43.2	1.60(1H,m), 2.63(1H,m)
16	72.8	5.89(1H,dd,8.4 Hz,12.6 Hz)	75.2	5.76(1H,dd,7.2 Hz,8.4 Hz)
17	57.6	2.99(1H,d,8.8 Hz)	54.0	2.73(1H,d,9.0 Hz)
18	179.3	-	179.4	-
19	24.0	1.12(3H,s)	23.2	1.07(3H,s)
20	84.0	-	85.3	-
21	29.2	1.59(3H,s)	27.6	1.58(3H,s)
22	132.2	5.67(1H,d,12 Hz)	38.0	1.79(1H,m),2.40(1H,m)
23	120.7	6.00(1H,t,12 Hz)	22.5	1.83(1H,m),2.00(1H,m)
24	121.3	6.37(1H,d,12 Hz)	123.3	5.10(1H,d,8.0 Hz)
25	137.0	-	132.2	-
26	26.2	1.62(3H,s)	25.2	1.55(3H,s)
27	17.7	1.57(3H,s)	17.4	1.60(3H,s)
30	17.3	1.08(3H,s)	16.9	1.01(3H,s)
31	28.8	1.25(3H,s)	28.3	1.12(3H,s)
32	32.7	1.00(3H,s)	31.9	1.15(3H,s)
CH <sub>3</sub> COO	169.8	-	169.7	-
CH <sub>3</sub> COO	21.4	1.90(3H,s)	21.0	1.07(3H,s)

综上所述,化合物 I 的结构确定为 16β-乙酰氧基-3-O-[3-O-甲基-β-D-吡喃葡萄糖-(1→3)-β-D-吡喃木糖-(1→4)-β-D-吡喃奎诺糖-(1→2)-β-D-吡喃木糖]-海参烷-7,22 Z,24-三烯-3β-醇,这是一个新的三萜皂苷类化合物,命名为 desulfated-intercedenside A(结构式见图 1)。

2.2 化合物 II 结构鉴定 白色粉末, m. p. 231~232℃,

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>-32.7°(c=0.5,吡啶)。Liebermann-Burchard 反应阳性。由电喷雾-飞行时间-阳离子质谱(ESI-MS<sup>+</sup>)中的准分子离子峰 m/z 1 121 [M+Na]<sup>+</sup>、1 137 [M+K]<sup>+</sup>和负离子质谱(ESI-MS<sup>-</sup>)中的准分子离子峰 1 097 [M-H]<sup>-</sup>推测化合物 II 相对分子质量为 1 098。HRESI-MS 中的准分子离子峰 m/z 1 121.551 0 [M+Na]<sup>+</sup>和 1 137.531 9 [M+K]<sup>+</sup>分别给出分子式 C<sub>55</sub>H<sub>86</sub>O<sub>22</sub>Na 和 C<sub>55</sub>H<sub>86</sub>O<sub>22</sub>K,结合<sup>13</sup>CNMR、<sup>1</sup>NHMR 谱和 DEPT 谱确定该化合物的分子式为 C<sub>55</sub>H<sub>86</sub>O<sub>22</sub>。根据化合物 II 的<sup>1</sup>NHMR、<sup>13</sup>CNMR 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(表 1 和表 2)。结果表明:化合物 II 为三萜皂苷类成分,与化合物 intercedenside B 的结构极为相似<sup>[5]</sup>,只是组成皂苷糖链的单糖化学位移值有明显不同。化合物 II 中与苷元直接相连的木糖 C-4'(δ68.1)化学位移向高场移动 7.7,而皂苷寡糖链末端 3-O-甲基葡萄糖的 C-6'(δ61.9)化学位移向高场移动 4.9。综合分析化合物 II 为 intercedenside B 脱硫衍生物<sup>[5]</sup>,ESI-MS-中碎片离子峰 m/z 1 097 [M-H]<sup>-</sup>, 921 [M-H-3-OMe-glu]<sup>-</sup>, 789 [M-H-3-OMe-glu-xy]<sup>-</sup>, 643 [M-H-3-OMe-glu-xy<sup>-</sup>qui]<sup>-</sup>, 511[M-H-3-OMe-glu-xy<sup>-</sup>qui-xy]<sup>-</sup>表明化合物 II 中糖链的单糖连接顺序,它与化合物 intercedenside B 的组成和顺序是完全一致的。

综上所述,化合物 II 的结构确定为 16β-乙酰氧基-3-O-[3-O-甲基-β-D-吡喃葡萄糖-(1→3)-β-D-吡喃木糖-(1→4)-β-D-吡喃奎诺糖-(1→2)-β-D-吡喃木糖]-海参烷-7,24-二烯-3β-醇,这是一个新的三萜皂苷类化合物,命名为 desulfated-intercedenside B(结构式见图 1)。

表 2 化合物 I 和 II 糖链部分<sup>13</sup>CNMR、<sup>1</sup>HNMR 化学位移值

位置或基因	化合物 I		化合物 II	
	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub>	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub>
xyl <sub>1</sub>				
1	105.4	4.73(1H,d,J=7.2 Hz)	105.1	4.73(1H,d,J=7.6 Hz)
2	84.3	3.98(1H,m)	84.0	3.96(1H,m)
3	78.2	4.13(1H,m)	78.5	4.12(1H,m)
4	68.2	4.00(1H,m)	68.1	4.04(1H,m)
5	66.5	3.57(1H,m),4.20(1H,m)	66.1	3.56(1H,m),4.18(1H,m)
qui				
1	105.2	4.71(1H,d,J=6.6 Hz)	104.9	4.71(1H,d,J=6.8 Hz)
2	75.1	3.90(1H,m)	75.2	3.87(1H,m)
3	75.6	3.92(1H,m)	76.2	3.92(1H,m)
4	86.0	3.59(1H,m)	87.1	3.60(1H,m)
5	71.8	3.67(1H,m)	71.4	3.68(1H,m)
6	18.0	1.64(3H,s)	19.1	1.68(3H,s)
xyl <sub>2</sub>				
1	105.8	5.17(1H,d,J=7.8 Hz)	105.4	5.16(1H,d,J=7.2 Hz)
2	73.5	3.87(1H,m)	73.1	3.77(1H,m)
3	87.5	4.09(1H,m)	87.7	4.09(1H,m)
4	70.7	4.02(1H,m)	70.3	4.01(1H,m)
5	66.8	3.56(1H,m),4.26(1H,m)	66.4	3.57(1H,m),4.23(1H,m)
OMe-glu				
1	105.6	5.05(1H,d,J=7.2 Hz)	105.2	5.05(1H,d,J=6.8 Hz)
2	74.3	3.87(1H,m)	74.7	3.83(1H,m)
3	88.0	3.61(1H,m)	87.8	3.63(1H,m)
4	70.8	4.07(1H,m)	70.2	4.04(1H,m)
5	76.6	3.85(1H,m)	76.5	3.88(1H,m)
6	62.2	4.23(1H,m),4.35(1H,m)	61.9	4.24(1H,m),4.32(1H,m)
OMe	60.8	3.74(3H,s)	60.3	3.74(3H,s)

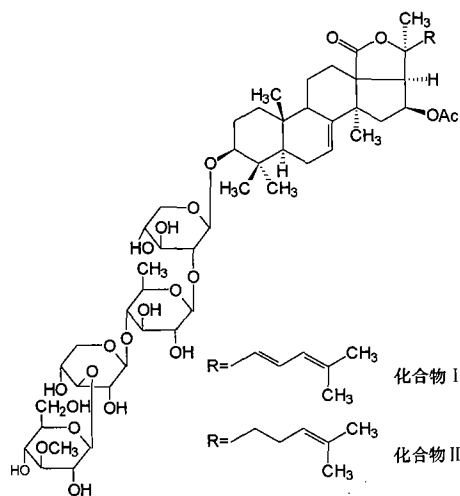


图 1 化合物 I 和 II 的结构式

研究<sup>[6]</sup>表明,二色桌片参体内的三萜皂苷类成分具有较强的抗肿瘤活性,是一类很有前景的抗肿瘤药物的先导化合物。本文所报道的 2 个化合物均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 P388 小鼠白血病和 A-549 人肺癌细胞株具有较强的细胞毒活性,与 intercedenside A、B 比较均有提高(表 3)。

表 3 二色桌片参中化合物体外抗肿瘤试验 ED<sub>50</sub>

化合物	(ρ <sub>B</sub> /μg · ml <sup>-1</sup> )	
	P388	A-549
Intercedenside A	1.7	3.5
Intercedenside B	0.7	1.9
化合物 I	0.8	1.9
化合物 II	0.6	1.5

【参考文献】

[1] 廖玉麟. 中国动物志[M]. 北京: 科学出版社, 1997. 174.  
 [2] 吴萍如, 方金瑞, 陈正明, 等. 二色桌片参的化学成分研究 I. 二色桌片参的化学成分分析[J]. 中国海洋药物, 2000, (1): 17-19.  
 [3] 吴萍如, 陈 粤, 方金瑞, 等. 二色桌片参的化学成分研究 IV. 二色桌片参糖蛋白的分离性质与抗肿瘤活性的研究[J]. 中国海洋药物, 2000, (5): 4-6.  
 [4] 汤海峰, 易杨华, 姚新兰, 等. 利用稻瘟霉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] Zou ZR, Yi YH, Xu QZ, et al. A new disulfated triterpene glycoside from the sea cucumber *Mensamaria intercedens* Lampert [J]. *Chin Chem Lett*, 2003, 14(6): 585-587.  
 [6] Zou ZR, Yi YH, Wu HM, et al. Intercedensides A-C, three new cytotoxic triterpene glycosides from the sea cucumber *Mensamaria intercedens* Lampert [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66: 1055-1060.

【收稿日期】 2004-05-08

【修回日期】 2004-09-13

【本文编辑】 尹 茶