

· 有效成分 ·

细脚拟青霉多糖 的化学结构

陆 榕¹, 孙立崧¹, 王仲孚¹, 田庚元¹, 吉田 孝²

(1. 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; 2. 日本国北海道大学 理学研究科, 札幌市 060-0810)

摘要: 目的 研究细脚拟青霉多糖 的分离纯化方法、相对分子量、单糖组成及其结合方式。方法 室温下水提取出粗多糖, 采用 Sephadex G-100 柱层析纯化。经过酸全水解, 利用阴离子交换柱测定单糖的组成。甲基化分析测定单糖的结合方式。IR 以及 NMR 光谱的研究确定糖苷键的类型。结果 经高效液相色谱检测为均一性组成, 从以后的 GC-MS 及 NMR 图谱也获得证明。结论 细脚拟青霉多糖 为 α -(1→6) 连结的葡聚糖, 相对分子量为 2.05×10^4 u。

关键词: 细脚拟青霉多糖; 葡聚糖; 甲基化分析

中图分类号: R 284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2001)10-0865-03

Studies on chemical structure of polysaccharide obtained from *Paecilomyces tenuipes*

LU Rong¹, SUN Li-song¹, WANG Zhong-fu¹, TIAN Geng-yuan¹, Takashi YOSHIDA²

(1. Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China; 2. Polymer Science Department, Graduate School of Science, Hokkaido University, Kita-ku, Sapporo 060-0810, Japan)

Abstract: **Object** To study the isolation and purification of a polysaccharide, obtained from *Paecilomyces tenuipes* Samson, its molecular weight, sugar composition, and mode of linkage. **Methods** Crude polysaccharide was extracted by water at ambient temperature and purified on Sephadex G-100 column. Its monosaccharide composition was determined by ionic ion-exchange column after complete hydrolysis with acid. Their mode of linkage was determined by methylation and glycosidic linkage established by IR and NMR spectra. **Results** HPLC spectrum showed that the polysaccharide was of homogeneous composition, which was also proved latter by GC-MS and NMR. **Conclusion** Polysaccharide obtained from *P. tenuipes* Samson is α -(1→6)-linked and composed of only D-glucose. The molecular weight was 2.05×10^4 .

Key words: polysaccharide of *Paecilomyces tenuipes* Samson; glucan; methylation analysis

细脚拟青霉 *Paecilomyces tenuipes* Samson 是一种虫草属真菌, 其多糖具有类似冬虫夏草的生物活性^[1,2], 价格却比冬虫夏草便宜数十倍, 多糖是冬虫夏草的主要有效成分之一。从冬虫夏草中提取出来的虫草多糖, 对于其化学结构的研究已经有很多报道^[3-6], 而根据我们的调查, 对细脚拟青霉多糖的结构研究还未见报道。本文利用 Sephadex G-100 柱对细脚拟青霉多糖进行分离纯化并对其化学结构进行了研究。

1 实验

1.1 分离提取和纯化: 将湿菌体置于红外灯下干燥, 得干品。干品为深棕色片状固体。取干品 100 g 加水浸泡, 24 h 后离心, 浓缩后加入 95% 乙醇于冰箱静置 24 h, 得棕黑色沉淀。倾去上层清液, 沉淀加水溶解, 离心除去不溶物, 得到棕黑色溶液, 冷冻干燥, 得干品粗多糖 6.98 g, 收率约为 7.0%。粗品经液相色谱 (GPC: TOSOH TSK-gel, G2500PW_{XL}, G3000 PW_{XL}, G4000PW_{XL}, 7.6 mm × 300 mm × 3, 66.7 mmol/L, pH6.86 的磷酸缓冲溶液洗脱) 检测, 发现分别由保留时间为 25.8 和 28.0 min 的两个部分组

成,如图 1。粗多糖 3.5 g 用去离子水溶解后,反复上 Sephadex G-100 柱(120 cm × 50 mm),去离子水洗脱,收集多糖部分,冷冻干燥。获得 0.68 g 平均相对分子量为 2.05×10^4 的细脚拟青霉多糖(ptps)。

1.2 单糖成分分析: 15 mg 多糖用 2 mol/L 三氟醋酸 100 封管水解 8 h。上 Amide-80 柱,没有二糖或寡糖峰出现,表明分解完全。在 Amide-80 柱上由于不能分辨葡萄糖和半乳糖,上阴离子交换柱 Car-boPac PA-1 (Dionex, Osaka, Japan), 20 mmol/L NaOH 溶液洗脱。

1.3 甲基化分析: 按 Hakomori 法^[7] 甲基化后, 90% 甲酸 100 封管水解 10 h。反复加甲醇减压抽干。NaBH₄ 还原、乙酰化^[8] 后进行 GC-MS 分析

1.4 红外光谱及核磁共振分析: 多糖微量、KBr 压片、岛津 IR-8300 红外光谱仪上按常规方法进行测定。核磁共振分析在 α -400 MHz NMR 仪上进行, DSS 为内标。

2 结果与讨论

从细脚拟青霉中提取所得多糖,经 Sephadex G-100 柱分离纯化,获得一平均相对分子量为 2.05×10^4 的均一组分 ptps (图 1), 比旋光度为 $[\alpha] = +15.8^\circ$ (c, 1.0, H₂O)。经酸全水解, Amide-80 柱反相 HPLC (洗脱液: 乙腈-水 = 4 : 1; 温度: 80) 和 Dionex 阴离子交换柱层析发现只含有单一葡萄糖, 证明该组分的多糖为葡聚糖。红外光谱存在 $1\,200 \sim 1\,000\text{ cm}^{-1}$ 处的强吸收说明组成的单糖为吡喃型结构。 856 cm^{-1} 处的吸收峰证明该多糖的糖

获得保留时间为 8.034 min 的单一峰, 质谱碎片分析表明是 2,3,4-trimethyl-1,5,6-triacetate-glucitol, 如图 2。

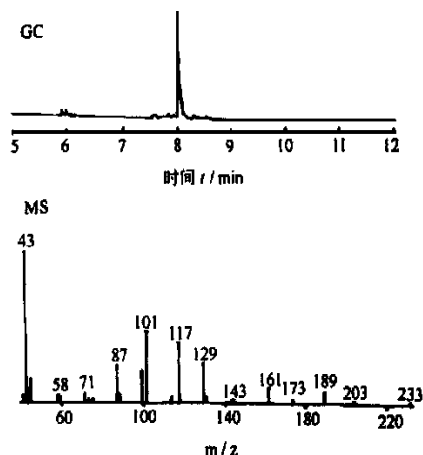


图 2 甲基化细脚拟青霉多糖的 GCMS 谱图

细脚拟青霉多糖的 NMR 图谱及其归属如图 3。H-1 的共振信号出现在 δ 4.97, C-1 的共振信号位于 δ 101.0, 偶合常数 $J_{1,2}$ 太小不易测出, 表明是 α -型的糖苷键结构, 与作者合成并报道的线状 dextran (α -1 $\rightarrow$ 6-Glc) 的核磁共振谱图相类似^[9]。

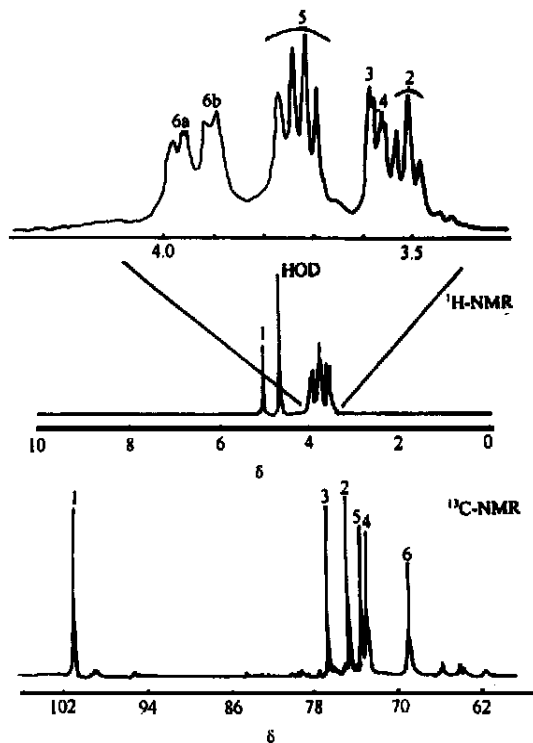


图 3 细脚拟青霉多糖的 ¹³C-NMR 和 ¹H-NMR 谱图

图 1 细脚拟青霉多糖的 HPLC 色谱图

苷键为 α -型, 与比旋光度的结果相符。细脚拟青霉多糖按 Hakomiri 的方法进行甲基化, 甲基化反复进行直至红外光谱中 $\sim 3\,400\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰消失。全甲基化的多糖经 90% 甲酸 100 度封管水解 10 h。还原, 乙酰化后进行 GC-MS 分析。在气相色谱上仅

综上可知细脚拟青霉多糖的化学结构为 α -(1 $\rightarrow$ 6) 结合的葡聚糖, 与天然存在的 dextran 多糖的主链结构相类似。这是首次发现的天然单独存在

的直链状的 α -(1 $\rightarrow$ 6) 结合的葡聚糖。细脚拟青霉多糖 的生理活性正在研究之中。

致谢: 温州医学院吕建新教授提供细脚拟青霉菌体。

参考文献:

- [1] 张 力, 张士善. 冬虫夏草的 药理学研究进展[J]. 药学通报, 1988, 23(9): 521-524.
- [2] 陈召南. 细脚拟青霉与冬虫夏草 化学成分的初步比较[J]. 中成药, 1992, 14(2): 36-37.
- [3] 臧其中, 何光星, 邓振源, 等. 虫草多糖的 药理作用[J]. 中草药, 1985, 16(7): 18-23.
- [4] 龚 敏, 朱 勤, 王 彤, 等. 冬虫夏草多糖的 分子结构与免疫活性[J]. 生物化学杂志, 1990, 6(6): 486-491.
- [5] 褚西宁, 程巧梅, 袁静明. 棒束孢 霉胞外多糖的纯化[J]. 山西

- 大学学报(自然科学版), 1996, 19(3): 315-318.
- [6] Chen Y J, Shiao M S, Lee S S, *et al.* Effect of cordyceps sine-sis on the proliferation and differentiation of human leukmic U 937 cell [J]. Life Sci, 1997, 60(25): 2349-2359.
- [7] Hakomori S I. A rapid permethylation of glycolipid and polysaccharide catalyzed by methylsulfinyl carbonion in dimethyl sulfoxide [J]. J Biochem, 1964, 55(2): 205-208.
- [8] Hans N E, John H. Cummings, simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugara as alditol acetates [J]. Analyst, 1984, 109: 937-942.
- [9] Takashi Yoshida, Hideki Nakashima, Naoki Yamamoto, *et al.* Anti-AIDS virus activity in vitro of detran sulfates obtained by sulfation of synthetic and natural dextrans [J]. Polymer J, 1993, 25(10): 1069-1077.

大蒜有机硫化化合物的研究

陆茂松¹, 闵吉梅², 王 夔²

(1. 启东市药品检验所, 江苏 启东 216200; 2. 北京大学 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100083)

摘要: 目的 对大蒜 *Allium sativum* 的有机硫化化合物进行了研究。方法 利用硅胶柱层析、硅胶薄层层析、高效液相色谱进行分离, 根据化合物的光谱数据鉴定其结构。结果 从大蒜 环己烷提取物中分得 9 个化合物, 分别鉴定为 Z-1, 6, 11-三烯-4, 5, 9-三硫杂十二烷-9-氧化物(*Z*-ajoene,), *E*-1, 6, 11-三烯-4, 5, 9-三硫杂十二烷-9-氧化物(*E*-ajoene,), Z-1, 6, 11-三烯-4, 5, 9-三硫杂十二烷-9, 9-二氧化物(), *E*-1, 6, 11-三烯-4, 5, 9-三硫杂十二烷-9, 9-二氧化物(), *E*-1, 7, 11-三烯-4, 5, 9-三硫杂十二烷-9, 9-二氧化物(), Z-4, 9-二烯-2, 3, 7-三硫杂癸烷-7-氧化物(), 2-乙烯基-4H-1, 3-二硫杂苯(), 3-乙烯基-6H-1, 2-二硫杂苯-2-氧化物(), 2-乙烯基-4H-1, 3-二硫杂苯-3-氧化物()。结论 化合物 , , , 为新化合物。

关键词: 大蒜; 有机硫化化合物; *E*-1, 7, 11-三烯-4, 5, 9-三硫杂十二烷-9, 9-二氧化物; Z-4, 9-二烯-2, 3, 7-三硫杂癸烷-7-氧化物; 3-乙烯基-6H-1, 2-二硫杂苯-2-氧化物, 2-乙烯基-4H-1, 3-二硫杂苯-3-氧化物

中图分类号: R 284. 1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)10-0867-04

Studies on organosulfur compounds in *Allium sativum*

LU Mao-song¹, MIN Ji-mei², WANG Kui²

(1. Qidong Institute for Drug Control, Qidong Jiangsu 216200, China; 2. National Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Beijing University, Beijing 100083, China)

Abstract: **Object** To study the organosulfur compounds in garlic (*Allium sativum* L.). **Methods** Compounds were separated by silica gel column chromatography, TLC, and HPLC. Their structures were elucidated by spectroscopic analysis. **Results** Nine compounds were isolated from the cyclohexane extracts. They were identified as: Z-1, 6, 11-triene-4, 5, 9-trithiadodeca-9-oxide (*Z*-ajoene) (), *E*-1, 6, 11-triene-4, 5, 9-trithiadodeca-9-oxide (*E*-ajoene) (), Z-1, 6, 11-triene-4, 5, 9-trithiadodeca-9, 9-dioxide (), *E*-1, 6, 11-triene-4, 5, 9-trithiadodeca-9, 9-dioxide (), *E*-1, 7, 11-triene-4, 5, 9-trithiadodeca-9, 9-dioxide (), Z-4, 9-diene-2, 3, 7-trithiadeca-7-oxide (), 2-vinyl-4H-1, 3-dithiin (), 3-vinyl-6H-1, 2-dithiin-2-oxide (), 2-vinyl-4H-1, 3-dithiin-3-oxide (). **Conclusion** Compounds , , , and were new.

Key words: *Allium sativum* L.; organosulfur compounds; *E*-1, 7, 11-triene-4, 5, 9-trithiadodeca-9, 9-dioxide; Z-4, 9-diene-2, 3, 7-trithiadeca-7-oxide; 3-vinyl-6H-1, 2-dithiin-2-oxide; 2-vinyl-4H-1, 3-dithiin-3-oxide

收稿日期: 2000-09-21

基金项目: 北京大学天然药物及仿生药物国家重点实验室客座研究资助项目

作者简介: 陆茂松(1965-), 男, 江苏启东人, 主要从事天然产物化学的研究工作。E-mail: Lum s2001@ sina. com

* 通讯联系人