

$[\alpha]_D^{25} = +10.3^\circ$ (c 0.01, MeOH). High-resolution ESI-MS (pos.) gave an ion peak at m/z : 557.254 7 (cal. for $C_{34}H_{37}O_7$ as 557.253 9). ^{13}C -NMR signal at δ : 181.8 suggested the presence of a carboxyl group. Aromatic ^1H -NMR signals at δ : 7.35—7.96 and twelve ^{13}C -NMR signals between δ : 128.2 and δ : 134.1 and two carbonyl carbon signals at δ : 166.1 and δ : 165.9 showed two benzoate moieties. Interpretation of the ^1H -NMR, ^{13}C -NMR revealed the structure of compound **II** [4].

Comparison of physicochemical properties with the reported data allowed to identify compounds **III**—**XI**, isolated from the same fungus, as 3 β -hydroxy-5 α , 8 α -epidioxyergosta-6, 22-dien (**III**) [6], (22 E , 24 R)-ergosta-7, 22-diene-3 β , 5 α , 6 β -triol (**IV**) [7], (22 E , 24 R)-ergosta-7, 22-diene-3 β -ol (**V**) [8], benzoic acid (**VI**), 4-hydroxybenzaldehyde (**VI**), 4-monopropanoylbenzenediol (**VIII**), ethyl- β -D-glucopyranoside (**IX**) [9], thioacetic anhydride (**X**) [9], and (2 S , 2' R , 3 S , 4 R)-2-(2-hydroxyoctadecanoylamino) docosane-1, 3, 4-triol

(**XI**) [10], respectively.

References:

- [1] Yuan M S, Sun P Q. *Sichuan Mushroom* (四川真菌) [M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press, 1995.
- [2] Morelli I, Pistelli L, Catalano S. Some constituents of *Clitocybe nebularis* and *Hydnum repandum* [J]. *Fitoterapia*, 1981, 52: 45-47.
- [3] Takahashi A, Endo T, Nozoe S. Repandiol, a new cytotoxic diepoxide from the mushrooms *Hydnum repandum* and *H. repandum* var. *album* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40: 3181-3184.
- [4] Takako K, Yoshiaki T, Yoshiteru O. Scabronines B, C, D, E, and F, novel diterpenoids showing stimulating activity of nerve growth factor-synthesis, from the mushroom *Sarcodon scabrosus* [J]. *Tetrahedron*, 1998, 54: 11877-11886.
- [5] Hisao S, Takashi T, Den'ei K, et al. Isolation and characterization of new bitter diterpenoids from the fungus *Scarcodon scabrosus* [J]. *Agric Biol Chem*, 1989, 53: 3373-3375.
- [6] Rosecke J, König W A. Constituents of the fungi *Daedalea quercina* and *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor* [J]. *Phytochemistry*, 2000, 54: 757-762.
- [7] Gao J M, Hu L, Liu J K. A novel sterol from Chinese truffles *Tuber indicum* [J]. *Steroids*, 2001, 66: 771-775.
- [8] Keller A C, Maillard M P, Hostettmann K. Antimicrobial steroids from the fungus *Fomitopsis pinicola* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41: 1041-1046.
- [9] Gao J M, Shen J, Yang X, et al. The constituents of *Russula ochroleuca* basidiomycetes [J]. *Acta Bot Yunnan*, 2001, 23: 385-393.
- [10] Inagaki M, Isobe R, Kawano Y, et al. Isolation and structures of three new ceramides from *Starfish acanthasterplanci* [J]. *Euro J Org Chem*, 1998, 1: 129-131.

耙齿菌糖蛋白 I₁₋₂₋₁的化学研究

杨真威¹, 姜瑞芝², 陈英红², 高其品^{3*}

(1. 吉林大学生命科学学院, 吉林 长春 130023; 2. 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021;

3. 吉林省药品检验所, 吉林 长春 130062)

摘要:目的 对均一耙齿菌 *Irpex lacteus* 糖蛋白 I₁₋₂₋₁ 进行化学研究。方法 利用化学方法和光谱方法分析其结构特征。结果 I₁₋₂₋₁ 的相对分子质量为 40 000, 由 Ara, Xyl, Man, Gal, Glu 组成, 甲基化分析表明 I₁₋₂₋₁ 的主链主要以 1→2, 1→6 linked Manp 为主。结论 I₁₋₂₋₁ 为结构复杂的糖蛋白, 为首次从耙齿菌中获得。

关键词: 耙齿菌; 糖蛋白; 甲基化分析

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)08-1130-03

Glycoprotein I₁₋₂₋₁ from *Irpex lacteus*

YANG Zhen-wei¹, JIANG Rui-zhi², CHEN Ying-hong², GAO Qi-pin³

(1. College of Life Science, Jilin University, Changchun 130023, China; 2. Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica of Jilin Province, Changchun 130021, China; 3. Jilin Institute for Drug Control, Changchun 130062, China)

Abstract: Objective To study the chemical structure of a pure glycoprotein I₁₋₂₋₁ from *Irpex lacteus*.

收稿日期: 2004-10-13

作者简介: 杨真威 (1979—), 女, 硕士研究生。

* 通讯作者 高其品 Tel: (0431) 7939919

Methods Based on chemical and spectral analysis, the structural characterization of I_{1-2-1} was investigated.

Results I_{1-2-1} was composed of Ara, Xyl, Man, Gal, and Glu with its mean molecular weight of 40 000. Methylation analysis showed that the main chain of I_{1-2-1} was all 1→2, 1→6 linked Manp. **Conclusion** I_{1-2-1} is a complicated glycoprotein obtained for the first time from *I. lacteus*.

Key words: *Irpex lacteus* Fr.; glycoprotein; methylation analysis

耙齿菌系多孔菌科真菌乳白耙齿菌 *Irpex lacteus* Fr. 的菌丝经深层发酵而成的产物^[1],临床主要用于治疗因肾小球肾炎所导致的尿少、浮肿、腰痛、血压升高等症,能明显消除或减少慢性病人的尿蛋白、血尿。笔者曾对耙齿菌经水提、醇沉、透析所得粗品 I_1 做组分分析,初步确定为糖蛋白,并以二甲苯所致小鼠耳肿胀实验作为依据考察其抗炎活性,证实耙齿菌的活性部位确为大分子部分。本实验研究耙齿菌糖蛋白粗品 I_1 的纯化样品 I_{1-2-1} 的化学结构。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器:耙齿菌 *I. lacteus* Fr. 由吉林通化林海药业有限公司提供。DEAE-Sephadex A-50 和 Sephadex G-150 均为 Sigma 公司产品。标准品:葡萄糖、牛血清白蛋白、Fuc、Ara、Xyl、Man、Gal、Glu 均购自 Sigma 公司,质量分数均为 99%。其余试剂均为国产分析纯。比色用 752 紫外分光光度计为上海精密科学仪器有限公司产品。气相色谱仪为温岭福立分析仪器公司 GC-9790 及 N-2000 双通道色谱工作站,1% OV-225 不锈钢填充柱(2 mm×2 m)。岛津高效液相色谱系统:10AT-VP 泵,示差折光检测器,OHPaK SB-804HQ 凝胶色谱分析柱(8 mm×300 mm),GPC 软件。气质联用仪(GC-MS)为 Trace-MS 美国 FINGAN 产品,IR 用岛津 FTIR 8400S 傅里叶变换红外分光光度计,核磁共振仪为 Bruker AM-500 型。

1.2 分离纯化:粗品 I_1 经 DEAE-Sephadex A-50 柱色谱,依次用蒸馏水,0.2、0.6、1.0 mol/L NaCl 溶液洗脱,在 A_{280} 及 A_{490} (苯酚-硫酸显色)处分别对蛋白质和糖进行间管(每管 10 mL)监测。分离得到 I_{1-1} 、 I_{1-2} 、 I_{1-3} 、 I_{1-4} 。 I_{1-2} 经 Sephadex G-150(6 cm×65 cm)凝胶柱色谱(流动相为蒸馏水)纯化得 I_{1-2-1} 。

1.3 质量分数检查及相对分子质量测定:采用高效液相凝胶色谱分析系统,以标准葡聚糖 Dextran T 系列制作标准曲线,然后根据多糖样品在相同色谱条件下的保留时间,利用 GPC 软件,测定其样品的质量分数及相对分子质量。

1.4 总糖和蛋白质测定:中性多糖量采用苯酚-硫

酸法(以标准葡萄糖为标准品)^[2]测定,蛋白质质量采用 Lowry 法(以牛血清白蛋白为标准品)^[3]测定。

1.5 单糖组成分析:样品 5 mg,用 2 mol/L TFA 1 mL 溶解,封管,121 ℃水解 1.5 h。水解液气泵吹干彻底除尽 TFA。完全酸水解产物以 NaBH_4 还原,醋酐乙酰化制成相应的糖醇乙酸酯衍生物,进行 GC 分析。

1.6 甲基化分析:取样品 15 mg,按改良 Hakomori 法进行甲基化,以 IR 检测样品,确认样品已甲基化完全后,将甲基化产物以甲酸解聚,2 mol/L TFA 121 ℃水解 1.5 h, NaBH_4 还原,醋酐乙酰化制备部分甲基化糖醇乙酸酯衍生物后进行 GC-MS 分析。

1.7 IR 分析:取样品少量,采用 KBr 压片法在 4 000~500 cm^{-1} 处进行红外扫描。

1.8 NMR 分析:取样品 50 mg,溶于 D_2O 0.5 mL 中,在核磁共振仪上测定样品的 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR。

2 结果与讨论

糖蛋白 I_{1-2-1} 系粗品 I_1 经 DEAE-Sephadex A-50 (图 1) 和 Sephadex G-150 柱色谱分离纯化所得样品。笔者已初步确定 I_1 为糖蛋白,含蛋白质 33%,几乎含有所有天然氨基酸。图 1 结果进一步证实 I_1 为蛋白质与糖以共价键结合的糖蛋白。

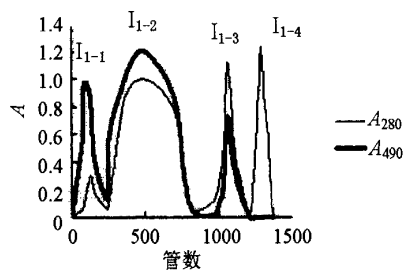


图 1 I_1 经 DEAE-Sephadex A-50 的洗脱形式

Fig. 1 Elution pattern of I_1 on DEAE-Sephadex A-50

I_{1-2-1} 为白色絮状物,收率为 0.69%。IR 光谱表现出糖蛋白的特征振动峰,3 000~3 600 cm^{-1} 宽峰是 O-H 的伸缩振动,1 653、1 625 cm^{-1} 为肽键上酰胺基的吸收峰,1 150~1 080 cm^{-1} 宽峰是多糖分子中 C-O 键的振动吸收,810、870 cm^{-1} 为甘露糖的特

征吸收^[2],另外在 900 cm⁻¹附近有一弱的吸收峰,表明样品中有 β -构型的糖环存在^[4]。

I₁₋₂₋₁ 为 HPLC 纯多糖,相对分子质量为 40 000。GC 结果表明 I₁₋₂₋₁ 由 Ara、Xyl、Man、Gal、Glu 组成,摩尔比为 1:T(微量):19.2:1.1:1。含中性糖 95.46%;含蛋白质 6.23%。

I₁₋₂₋₁ 经两次甲基化后,IR 谱检测,3 000~3 600 cm⁻¹ 处的羟基宽峰基本消失,相反 2 900 cm⁻¹ 处的甲基特征吸收峰显著增大,表明甲基化已完全。甲基化完全样品的 GC-MS 分析结果见表 1。甲基化碎片以峰面积之比作为摩尔比,但戊糖和己糖相比,以各自的响应因子校正^[5]。从表中可以看到,I₁₋₂₋₁ 主要以 1→2,1→6 linked Manp 为主链,末端主要为 Manp。主链 Man 的分支点主要在 3-O、4-O 上,支链可能连接着不同长度的侧链和非还原末端。

表 1 I₁₋₂₋₁ 的甲基化分析

Table 1 Methylation analysis of I₁₋₂₋₁

碎 片	构 型	摩尔比
2,3,4-Me ₃ -Ara	Ara(1-	1.1
2,3,4,6-Me ₄ -Man	Man(1-	17.9
3,4,6-Me ₃ -Man	-2)Man(1-	11.2
2,3,6-Me ₃ -Man	-4)Man(1-	1.0
2,4,6-Me ₃ -Man	-3)Man(1-	1.4
2,3,4-Me ₃ -Man	-6)Man(1-	6.0
3,6-Me ₂ -Man	-2,-4)Man(1-	8.9
2,4-Me ₂ -Glu	-3,-6)Glu(1-	1.7
6-Me-Gal	-2,-3,-4)Gal(1-	2.8

I₁₋₂₋₁ 的 ¹³C-NMR 中,C1 的化学位移 δ =

101.321,表明糖苷键为 β -构型,这与 IR 的分析结果是一致的。I₁₋₂₋₁ 的 ¹H-NMR 分辨率较差,未能给出信息。由于样品中并不含糖醛酸和鼠李糖,且含有较多甘露糖,所以 NMR 不能清楚的给出更多信息。

I₁₋₂₋₁ 的精细结构及糖和蛋白质的连接方式的研

究正在进行中。
用二甲苯所致小鼠耳肿胀实验考察 DEAE-Sephadex A-50 纯化样品的抗炎活性(I₁₋₄收率低,未做药理实验),I₁₋₃显示出较好抗炎作用,而 I₁₋₁、I₁₋₂作用不明显。3 个样品含糖的量依次降低,而蛋白的量依次升高。提示,具有抗炎作用的耙齿菌糖蛋白,其活性部位是蛋白部分还是糖与蛋白存在着比例关系,这一构效及量效关系正在研究中。

References:

- [1] Yan Z K, Li W L. *Colour Pictures of Medicinal Plants of Changbai Mountain of China* (中国长白山药用植物彩色图志) [M]. Peking: People's Medical Publishing House, 1992.
- [2] Zhang W J. *Chemical Research Techniques of Compound Polysaccharides* (复合多糖生化研究技术) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1987.
- [3] Li J W, Xiao N G, Yu R Y, et al. *Theories and Methods of Biochemical Experiment* (生物化学实验原理方法) [M]. Beijing: Peking University Press, 1994.
- [4] Zhang J S, Han W W, Pan Y J. Studies on chemical structure of polysaccharide from fruit body of *Coriolus versicolor* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2001, 36(9): 664-667.
- [5] Sweet D P, Shapiro R H. Quantitative analysis by various GLC response-factor theories for partially methylated and partially ethylatedalditol acetates [J]. *Carbohydrate Res*, 1975(40): 217-225.

川白芷化学成分研究

梁 波,徐丽珍,邹忠梅*,杨世林

(中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所,北京 100094)

摘 要:目的 研究川白芷 *Angelica dahurica* var. *formosana* 的化学成分。方法 利用硅胶柱色谱,Sephadex LH-20 等分离纯化,光谱法鉴定结构。结果 分离得到 19 个化合物,分别为异欧前胡素(I)、欧前胡素(II)、佛手柑内酯(III)、别欧前胡素(IV)、花椒毒酚(V)、8-甲氧基-5-羟基补骨脂素(VI)、比克白芷素(VII)、水合氧化前胡内酯(VIII)、珊瑚菜内酯(IX)、花椒毒素(X)、异茴芹内酯(XI)、别异欧前胡素(XII)、psoralenquinone(XIII)、3-甲氧基-1H-吡咯(XIV)、棕榈酸(XV)、硬脂酸(XVI)、 β -谷甾醇(XVII)、豆甾醇(XVIII)、胡萝卜苷(XIX)。结论 化合物 VI、XIII、XIV 为首次从该植物分离得到,化合物 I~XI 均为线性呋喃香豆素衍生物。

关键词:川白芷;线性呋喃香豆素;8-甲氧基-5-羟基补骨脂素

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)08-1132-04

收稿日期:2005-01-24

基金项目:北京市自然科学基金重点项目(7011003)

作者简介:梁 波,女,博士研究生。 Tel:(0791)7119632 E-mail:beibeiliang@263.net

*通讯作者 邹忠梅 Tel:(010)62899756 E-mail:zhongmeizou@hotmail.com