

1995, 17(3): 36-38.

[3] Takaishi Y, Wariishi N, Tateishi H, et al. Phenolic diterpenes from *Tripterygium wilfordii* var. *regelii* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(2): 979-984.

[4] Morota T, Qin W Z, Takagi K, et al. Diterpenoids from *Tripterygium wilfordii* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(3): 865-870.

[5] Nakano K, Yoshida C, Furukawa W, et al. Terpenoids in transformed root culture of *Tripterygium wilfordii* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(6): 1821-1824.

[6] Zhang X M, Wang C F, Wu D G. The abietane type diterpenes from root of *Tripterygium hypoglauca* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1992, 14(3): 319-322.

[7] Li K H, Duan H Q, Kawazoe K, et al. Terpenoids from *Tripterygium wilfordii* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45(4): 791-796.

## 转基因西洋参冠瘿组织中多糖的分离和纯化

陈教青, 于荣敏\*

(暨南大学药学院, 广东 广州 510632)

**摘要:**目的 分离纯化转基因西洋参冠瘿组织中多糖组分,为从该转基因材料中寻找重要生物活性前体多糖药物提供科学依据。方法 用水醇提取法,以 DEAE Sepharose FF 和 Sephacryl S-100 柱色谱进行多糖的分离纯化,采用高效液相色谱测定单糖组成,色谱和光谱学方法鉴定其纯度和化学结构。结果 分离得到 4 个精多糖(PPQ50-1、PPQ50-2、PPQ70-1 和 PPQ70-2),凝胶色谱法(Sephadex G-200)和旋光法证实了它们为化学均一性多糖;凝胶色谱法测得 4 种精多糖的相对分子质量分别为  $4.7 \times 10^4$ 、 $2.9 \times 10^5$ 、 $7.5 \times 10^4$  和  $1.3 \times 10^5$ ,对得量较多的 PPQ50-2 和 PPQ70-2 进行了结构分析,证明二者均为葡萄糖,并利用  $\text{NaIO}_4$  氧化反应和核磁共振谱等方法对 PPQ50-2 的化学结构进行了初步的糖基键合分析。结论 首次从转基因西洋参冠瘿组织中分离得到 4 种化学均一性多糖成分,其中 PPQ50-2 和 PPQ70-2 均为葡萄糖。

**关键词:**转基因西洋参;冠瘿组织;多糖;分离;纯化

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)11-1606-05

### Isolation and purification of polysaccharides from transgenic crown gall cultures of *Panax quinquefolium*

CHEN Min-qing, YU Rong-min

(College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract; Objective** To investigate the polysaccharides constituents from the transgenic crown gall cultures of *Panax quinquefolium*. **Methods** The crude polysaccharides PPQ50 and PPQ70 were extracted by water-ethanol method from the crown gall of *P. quinquefolium*. Four polysaccharides, named PPQ50-1, PPQ50-2, PPQ70-1, and PPQ70-2, were isolated and purified by DEAE Sepharose and Sephacryl S-100 column chromatography. **Results** The homogeneity of four polysaccharides was examined by gel chromatography and polarimetry. Their molecular weights were determined by gel filtration chromatography. They were  $4.7 \times 10^4$ ,  $2.9 \times 10^5$ ,  $7.5 \times 10^4$ , and  $1.3 \times 10^5$ , respectively. The sugar composition was analyzed by HPLC. The polysaccharides are mainly composed of neutral sugar particularly of *D*-glucose. The structure elucidation of PPQ50-2 was also supported by  $^1\text{H-NMR}$  and  $^{13}\text{C-NMR}$  spectroscopy. **Conclusion** All of the four polysaccharides are first isolated and purified from the transgenic crown gall cultures of *P. quinquefolium*. The result shows the PPQ50-2 and PPQ70-2 are both glucans.

**Key words:** transgenic *Panax quinquefolium* L.; crown gall; polysaccharides; isolation; purification

西洋参 *Panax quinquefolium* L. 又称洋参、花旗参、西洋人参,为五加科人参属阴性草本植物,原产于美国东部和加拿大,多年生宿根,具有补气生

血、生精养神之功效。西洋参具有提高免疫力、强心、健胃、降血脂、镇静、造血和抑制肿瘤等作用,且其某些药理作用是人参无法替代的。其主要活性成分为

皂苷类、多糖类和氨基酸类成分,为临床抗疲劳、抗衰老、抗癌的滋补佳品<sup>[1,2]</sup>。野生或栽培西洋参生长缓慢,5~6 年才能入药,故西洋参药材市场供应紧张且价格较贵。

西洋参多糖(polysaccharide from *Panax quinquefolium*, PPQ)、西洋参皂苷(*Panax quinquefolium* saponin, PQS)及西洋参复方合剂的免疫药理作用研究是科学家们关注的焦点。如 PPQ 对环磷酰胺(cyclophosphamide, CY)所致的外周血白细胞减少有明显保护作用,并能拮抗 CY 作用下的胸腺、脾脏质量降低,增强正常及免疫低下小鼠网状内皮系统的吞噬功能<sup>[3,4]</sup>;增加小鼠的非特异性免疫和细胞免疫功能,其免疫增强作用随剂量增加而增强,具有一定的量效关系<sup>[4]</sup>。另有报道西洋参果实中的多糖提取液对肥胖小鼠有降血糖作用,可以治疗糖尿病,但不改变其体重<sup>[5]</sup>。随着分子生物学的发展,将基因工程用于组织培养中生产代谢产物已引起众多科学家们的高度关注。其中利用发根农杆菌的 Ri 质粒和根瘤农杆菌的 Ti 质粒转化形成转基因器官(如毛状根和冠瘿瘤)方面的研究为药用植物代谢产品的生产开辟了新的途径。转基因西洋参冠瘿组织培养及其皂苷类成分的产生已由本研究组进行了较系统研究<sup>[6~10]</sup>,但西洋参冠瘿组织培养物中多糖的研究尚未见报道。本实验在前期工作基础上,报道转基因西洋参冠瘿组织中 4 种多糖组分的分离纯化及初步结构分析。

## 1 材料和仪器

转基因西洋参冠瘿组织由本研究组诱导所得,系由胭脂碱型根瘤农杆菌 *C<sub>58</sub>* 菌株感染诱导西洋参茎,获得冠瘿组织,并经多年筛选驯化形成稳定、优良的培养体系<sup>[7]</sup>。

TDL80-2B 离心机;N-1000 旋转蒸发仪(东京理化);冷冻干燥器(丹麦 Heto MAXI-DRYPLUS);UV-2450 紫外可见分光光度仪(日本岛津);傅立叶红外分光光度仪(德国 Bruker IFS-55);Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪和 Agilent Chemical Station(美国 Agilent 公司);WZZ-2S 旋光仪(上海物理光学仪器厂);核磁共振仪(德国 Bruker Advance 400 MHz)。

D-甘露糖、L-鼠李糖、L-阿拉伯糖、D-葡萄糖和 D-木糖均为美国 Sigma 公司产品;DEAE Sepharose FF、Sephacryl S-100、Sephadex G-200、Sephacryl S-300HR 和蓝色葡聚糖均为瑞典 Pharmacia 公司产品;标准葡聚糖  $T_{10}$ 、 $T_{40}$ 、 $T_{70}$  和  $T_{500}$  为香港 Farco

Chemical 产品;其他试剂均为国产分析纯。

## 2 实验方法

2.1 多糖提取:干燥的西洋参冠瘿组织用 EtOH 脱脂,所得药渣用热水提取,滤过,滤液用 Sevag 法除蛋白,除蛋白后的溶液加乙醇至体积分数为 50%,离心。沉淀洗涤后冷冻干燥,得粗多糖 PPQ50。上清液加乙醇至体积分数为 70%,离心,所得沉淀洗涤,冷冻干燥,得粗多糖 PPQ70。

2.2 多糖的分离纯化<sup>[11~14]</sup>;离子交换色谱:填料为 DEAE Sepharose FF,用蒸馏水将其洗至中性,湿法装柱,缓冲液平衡。柱规格:40 cm×2.6 cm。样品:精密称取粗多糖样品 150 mg,用 2 mL 缓冲液溶解,上样。洗脱液:1.0 mol/L NaCl 溶液,Tris-HCl(pH 7.4)缓冲溶液,各 500 mL,线性梯度洗脱。体积流量:0.8 mL/min。每管收集体积:8 mL。收集出峰处多糖液,冷冻干燥。凝胶填料:Sephacryl S-100。柱规格:70 mm×1.5 cm。样品:精确称取样品 10 mg,溶于 1 mL 蒸馏水中,上样,洗脱液:蒸馏水,0.1 mol/L NaCl 溶液。体积流量:0.3 mL/min;每管收集体积:3 mL。检测方法:苯酚-硫酸法。收集出峰处多糖液,冷冻干燥。检测方法:苯酚-硫酸法:取洗脱液 0.1 mL 于试管中(以 0.1 mL 蒸馏水作空白),加入 0.2 mL 5% 苯酚储备液,摇匀,迅速加入 1 mL 浓硫酸,摇匀,室温放置 30 min,在 490 nm 波长处测定吸光度。以管号对吸光度绘制洗脱曲线。根据吸光度的分布曲线合并同峰部分。

### 2.3 精多糖的纯度验证和性质考察

2.3.1 多糖纯度验证:凝胶过滤色谱法:凝胶填料:Sephadex G-200。柱规格:80 cm×1.1 cm。样品:10 mg,溶于 0.5 mL 洗脱液中,上样。洗脱液:蒸馏水。体积流量:0.2 mL/min;每管收集体积:3 mL。检测方法:苯酚-硫酸法。以吸光度对管数做图。旋光法:将 PPQ70-1、PPQ70-2 溶于蒸馏水中,分为 2 份,分别加乙醇至含醇量为 70% 和 90%,离心,沉淀干燥后重新溶于蒸馏水中,分别测其旋光度;将 PPQ50-1 和 PPQ50-2 分别溶于水中,各分为 2 份,分别加乙醇至含醇量为 50% 和 70%,离心,沉淀干燥后重新溶于蒸馏水中,分别测其旋光度。

2.3.2 凝胶色谱法测定相对分子质量:凝胶:Sephacryl S-300HR。柱规格:60 cm×1.1 cm。样品:5 mg,溶于 0.5 mL 洗脱液中,上样。洗脱液:蒸馏水。体积流量:0.3 mL/min。每管收集体积:3 mL。检测方法:苯酚-硫酸法。精密称取葡聚糖  $T_{10}$ 、 $T_{70}$ 、 $T_{100}$ 、 $T_{250}$  各 5 mg,溶于 0.5 mL 洗脱液中,分别上

柱,测得 $V_e$ 值。另以蓝色葡聚糖5 mg上样,测得 $V_0$ 值。以 $V_e/V_0$ 值对 $\lg M_r$ 制得标准曲线。 $\lg M_r$ 对 $V_e/V_0$ 的洗脱方程: $\lg M_r = -4.054 1X + 10.696 (R^2 = 0.992 6)$

样品测定:取多糖纯品5 mg,用0.5 mL洗脱液溶解上样,测得 $V_e$ 值,代入标准曲线计算相对分子量。

精多糖的物理性质:多糖的形状、气味、颜色及其在水中有机溶剂中的溶解度。

精多糖的化学性质:将精多糖PPQ50-1、PPQ50-2、PPQ70-1和PPQ70-2分别配制成1 mg/mL的水溶液,备用。

Molish反应:分别取1 mL上述多糖溶液,滴加2滴Molish试剂,摇匀,将试管倾斜,沿试管壁慢慢加入1 mL浓硫酸,竖直试管,观察浓硫酸和糖交界面颜色变化,以蒸馏水作为阴性对照,淀粉溶液(1 mg/mL)作为阳性对照。

碘-碘化钾反应:分别取1 mL上述多糖溶液,滴加2滴碘-碘化钾试剂,观察颜色变化。以蒸馏水作为阴性对照,淀粉溶液(1 mg/mL)作为阳性对照。

苯酚-硫酸反应:同苯酚-硫酸法。

Fehling试剂反应:分别取1 mL上述多糖溶液,滴加2滴Fehling试剂,观察颜色变化。

咪唑-硫酸反应:分别取1 mL上述多糖溶液,滴加2滴咪唑-硫酸试剂(临用前现配),观察颜色变化。

多糖旋光度的测定:将精多糖配成2 mg/mL的溶液,按《中国药典》2005年版测其比旋度。

2.3.3 苯酚-硫酸法检测中性糖:称取在105℃干燥至恒重的葡萄糖25 mg,加水溶解,定容于250 mL量瓶中。精密吸取葡萄糖溶液0.2、0.4、0.5、0.8、1.0、1.5 mL置于10 mL量瓶中,加水补足2 mL。分别加入5%苯酚试液1 mL,摇匀,迅速滴加浓硫酸5 mL,摇匀,放置30 min冷却后加蒸馏水定容至刻度,另以试剂空白为参照,于490 nm测定吸光度。以葡萄糖质量浓度(C)对吸光度(A)作图,得标准曲线,曲线方程: $A = 41.435C - 0.037 5 (R^2 = 0.998 6)$

样品中性糖的测定:取PPQ50-1、PPQ50-2、PPQ70-1和PPQ70-2样品各5 mg,置于50 mL量瓶中,蒸馏水溶解并定容至刻度,以上述方法测定吸光度,代入公式中,得到精多糖的中性糖的量。

## 2.4 精多糖的结构分析

### 2.4.1 PPQ50-2和PPQ70-2的单糖组成分析

酸水解:取PPQ50-2和PPQ70-2各10 mg,加

入2 mol/L三氟乙酸(TFA)3 mL,封管100℃水解10 h,得到水解液,于45℃减压浓缩,加入甲醇反复蒸干,以除去剩余的TFA。水解液分成两部分,分别作纸色谱和HPLC检测单糖组成。纸色谱条件:色谱用纸:新华三号滤纸;展开剂:正丁醇-乙酸-水(4:1:5)上层;显色剂:苯胺-二苯胺-磷酸;展开方法:上行法;多糖水解样用少量水溶解,用毛细管点样。

高效液相色谱:色谱柱:Kromasil NH<sub>2</sub>柱;流动相:乙腈-水(80:20);检测器:示差检测器;进样量:20 μL。

### 2.4.2 PPQ50-2和PPQ70-2的糖基键合分析

红外光谱测定:取PPQ50-2和PPQ70-2各2 mg,KBr压片,在4 000~400 cm<sup>-1</sup>进行红外扫描。

过碘酸氧化反应:①NaIO<sub>4</sub>的紫外扫描:0.1 mmol/L NaIO<sub>4</sub>溶液以及精多糖的0.1 mmol/L溶液和NaIO<sub>4</sub>反应5 d的混合反应液,在200~400 nm进行紫外扫描,测得最大的吸收波长均为220 nm。②NaIO<sub>4</sub>溶液浓度对吸光度的标准曲线:准确称量NaIO<sub>4</sub> 21.8 mg,溶解,定容至100 mL。分别量取0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL置于25 mL量瓶中,以水定容至刻度。以水为空白,在220 nm处测吸光度。以吸光度对质量浓度作标准曲线,得到方程: $Y = -0.000 8 + 0.43X (R^2 = 0.999 4)$ 。③碘酸钠溶液质量浓度对吸光度绘制标准曲线:配制14.95 mmol/L碘酸钠标准溶液,分别取1、2、3、4、5 mL标准溶液,加水补足5 mL,取样,于220 nm处测吸光度,以吸光度对质量浓度绘制标准曲线,得到方程: $Y = 0.018 2 + 0.012 31X (R^2 = 0.999 4)$ 。④样品的过碘酸氧化和甲酸生成量的测定:准确称取PPQ50-2和PPQ70-2精多糖各20 mg,各加入25 mg 0.015 mol/L NaIO<sub>4</sub>溶液,4℃避光保存。每隔24 h取出30 μL,加水定容至5 mL,在220 nm处测得吸光度,代入标准曲线,计算NaIO<sub>4</sub>的消耗量。反应6 d后,NaIO<sub>4</sub>溶液不再下降,即氧化完全。加入0.2 mL乙二醇分解未完全反应的NaIO<sub>4</sub>。取2 mL反应液,用0.01 mol/L NaOH滴定,得生成甲酸的量。

4种精多糖的紫外光谱分析:取PPQ50-1、PPQ50-2、PPQ70-1和PPQ70-2水溶液(0.5 mg/mL)在200~400 nm进行扫描。

PPQ50-2的核磁共振波谱测定:取30 mg PPQ50-2溶于0.5 mL重水中,在Bruker Advance 400 MHz共振仪上测其光谱图。

## 3 结果与讨论

3.1 多糖的分离与纯化:PPQ70和PPQ50离子交

换色谱洗脱图见图 1。

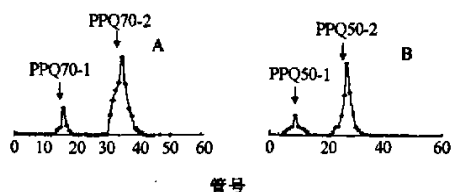


图 1 PPQ70(A)和 PPQ50(B)离子交换色谱洗脱曲线  
Fig. 1 Elution curve of PPQ70 (A) and PPQ50 (B) on ion-exchange column

曾尝试用 Sephacryl S-100 对粗多糖 PPQ50 和 PPQ70 进行分离,但用蒸馏水洗脱时仅见一个重叠峰,0.05 mol/L NaCl 溶液洗脱时则出现两个不能完全分开的峰,且此法分离效率很低,每次只能上样 15 mg。后改用离子交换色谱进行分离,可以看出:该法分离效果好,且上样量大。用此法分离,得到 4 个精多糖:由粗多糖 PPQ70 分得两个组分,分别命名为 PPQ70-1 和 PPQ70-2;从粗多糖 PPQ50 中也得到两个精多糖,分别命名为 PPQ50-1 和 PPQ50-2。

### 3.2 精多糖的纯度验证和性质考察

纯度验证:经 Sephadex G-200 凝胶色谱法洗脱,可以看出图谱基线平整,均为一个单峰,故初步判断所得 4 个多糖纯度较高。

旋光度测定:将 PPQ50-1、PPQ50-2、PPQ70-1 和 PPQ70-2 经不同体积分数乙醇处理后,测定其旋光度,分别为  $-4.02^\circ$ 、 $+86.83^\circ$ 、 $+57.26^\circ$ 、 $+18.46^\circ$ ,数值不变,故判定其为单一组分。

多糖的性质:PPQ50-1 为浅黄色疏松状粉末,PPQ50-2 为浅棕色纤维状粉末,PPQ70-1 为类白色疏松纤维状粉末,PPQ70-2 为浅棕色疏松状粉末。4 种产物均不溶于丙酮、氯仿等有机溶剂,也不溶于高浓度乙醇,易吸潮。Sephacryl S-300HR 测定 4 种精多糖的相对分子质量,结果见表 1。

表 1 多糖相对分子质量测定结果

Table 1 Molecular weight of polysaccharides

多糖	洗脱体积	lgMr	Mr
PPQ50-1	92	4.680	47 863
PPQ50-2	80	5.465	291 742
PPQ70-1	89	4.876	75 162
PPQ70-2	85	5.138	137 404

精多糖的化学性质: Molish 反应阳性,有紫色环产生;苯酚-硫酸反应阳性;Fehling 试剂反应:水解前呈阴性,水解后阳性,提示存在还原性单糖;吡啶-硫酸反应显绿色,说明无糖醛酸;碘-碘化钾反应呈阴性,说明不含淀粉多糖。

中性糖质量分数测定:4 种精多糖的中性糖质

量分数测定结果见表 2。

表 2 多糖的中性糖质量分数

Table 2 Content of neutral sugar in polysaccharides

多糖	多糖质量/mg	中性糖质量分数/%
PPQ50-1	5	99.28
PPQ50-2	5	98.85
PPQ70-1	5	98.34
PPQ70-2	5	99.26

3.3 精多糖的结构分析:由纸色谱结果可知,PPQ50-2 和 PPQ70-2 的水解液中仅有一个点,其 Rf 值与葡萄糖对照品一致。PPQ50-2 和 PPQ70-2 水解液的 HPLC 谱图中仅有一个色谱峰,且其保留时间与葡萄糖对照品一致。由以上结果可知:PPQ50-2 和 PPQ70-2 为均一多糖,且由于其水解液仅检测出 D-葡萄糖,故此二种多糖均为葡聚糖。精多糖 PPQ50-2 和 PPQ70-2 的 IR 结果见表 3、4。

表 3 PPQ50-2 的红外光谱数据

Table 3 IR Data of PPQ50-2

峰( $\text{cm}^{-1}$ )	型	官能团	峰型
3 445	$\nu_{\text{OH}}$	Association-OH	VS
2 923	$\nu_{\text{C-H}}$	C-H( $\text{CH}_2, \text{CH}_3$ )	M
1 741, 1 633	$\nu_{\text{C=O}}$	O=C	M
1 418	$\nu_{\text{C-O}}$	C-O	M
1 225			M
1 070	$\nu_{\text{C-O-C}}$	C-O-C	VS
602			W

表 4 PPQ70-2 的红外光谱数据

Table 4 IR Data of PPQ70-2

峰( $\text{cm}^{-1}$ )	型	官能团	峰型
3 445	$\nu_{\text{OH}}$	Association-OH	VS
2 927	$\nu_{\text{C-H}}$	C-H( $\text{CH}_2, \text{CH}_3$ )	M
1 742, 1 622	$\nu_{\text{C=O}}$	C=O	M
1 074, 1 144	$\nu_{\text{C-O-C}}$	C-O-C	VS
916			W
634			W

PPQ50-2 含有多糖的特征吸收峰  $3\ 500\sim 3\ 400\ \text{cm}^{-1}$ ,  $2\ 923\ \text{cm}^{-1}$ ,  $1\ 460\sim 1\ 350\ \text{cm}^{-1}$ ,  $1\ 150\sim 1\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 。  $1\ 100\sim 1\ 000\ \text{cm}^{-1}$  的吸收峰表明其所含单糖为吡喃型构型,且为  $\alpha$ -构型( $1\ 070\ \text{cm}^{-1}$ )。

在 PPQ70-2 的 IR 谱中,  $3\ 500\sim 3\ 400\ \text{cm}^{-1}$ ,  $2\ 927\ \text{cm}^{-1}$ ,  $1\ 460\sim 1\ 350\ \text{cm}^{-1}$ ,  $1\ 150\sim 1\ 000\ \text{cm}^{-1}$  为多糖的特征吸收峰。  $3\ 445\ \text{cm}^{-1}$  处有一强且宽的吸收峰,系多糖上羟基形成的分子内氢键;  $2\ 927\ \text{cm}^{-1}$  附近的中等强度肩峰为饱和 C-H 伸缩振动的信号;在  $1\ 144, 1\ 074$  和  $1\ 020\ \text{cm}^{-1}$  3 个峰为吡喃糖环特征吸收峰,是其糖苷键 C-O-C 的非对称振动峰;在  $890\ \text{cm}^{-1}$  附近有吸收峰,而在  $850\ \text{cm}^{-1}$  附近无吸收峰表明组成的单糖为  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖。  $770\ \text{cm}^{-1}$  附近的

吸收峰为吡喃糖环 C-O-C 的对称振动峰。

4 种多糖的紫外光谱结果分析: 多糖 PPQ50-1、PPQ50-2、PPQ70-1 和 PPQ70-2 水溶液在 260 nm 和 280 nm 处均无紫外吸收, 表明 4 种多糖中均不含蛋白及核酸, 即它们均非糖蛋白复合物。

PPQ50-2 的 NaIO<sub>4</sub> 氧化反应: 由于每含 1 mol (1→4) 糖苷键, 在 NaIO<sub>4</sub> 氧化中消耗 1 mol NaIO<sub>4</sub>, 而每 1 mol (1→6) 糖苷键, 在 NaIO<sub>4</sub> 氧化中消耗 2 mol NaIO<sub>4</sub>, 1 mol PPQ50-2 单糖残基消耗 1.22 mol NaIO<sub>4</sub>, 证明在 PPQ50-2 中既含有 (1→4) 糖苷键, 又含有 (1→6) 糖苷键。此外, 甲酸测定实验表明, 1 mol 单糖残基生成 0.12 mol 甲酸。

在 PPQ50-2 的 <sup>1</sup>H-NMR 谱中, δ 5.02, 5.16, 5.21, 5.30 显示该多糖有 4 个异头碳上的氢质子信号, δ 3.6~4.8 则为糖基上的其他氢质子信号。

在 PPQ50-2 的 <sup>13</sup>C-NMR 谱中, δ 98.57, 99.04, 99.63, 99.98 表示该多糖有 4 个异头碳信号, 根据文献报道<sup>[15]</sup>可知: α-D-葡聚糖的异头碳化学位移小于 103, β-D-葡聚糖的异头碳化学位移大于 103, 故 PPQ50-2 的葡萄糖应为 α-构型。δ 77.55, 73.25, 72.35 处化学位移表明葡萄糖中有未发生取代的 C-2, C-3 和 C-4, 而 δ 78~85 内有很弱的可见峰, 则表明该多糖中也存在少数在 C-2, C-3 和 C-4 位发生取代的葡萄糖残基。δ 69 附近的化学位移表明有发生取代的 C-6, δ 58.61 和 61.03 的化学位移表明还存在未取代的 C-6, 因此可能还具有 α 分支结构。

综合以上各项分析可知, PPQ50-2 糖链的主链结构应为 α-吡喃型 D-葡聚糖。

References:

[1] Wang Y H, Liu Z S, Guan F, et al. Studies on the effect of immunization of *Panax quinquefolium* and its pharmaceutics [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中医学刊), 2004, 22 (3): 566-567.

[2] Wang H M, Ma L. Research progress on the effects of immunization of *Panax quinquefolium* [J]. *Chin J Food Hyg* (中国食品卫生杂志), 2002, 14(5): 43-45.

[3] Li Y, Qu S C, Sun W J, et al. Comparison studies on the effects of rising leucocytes for the crude polysaccharides of *Panax quinquefolium* at different ethanol concentration [J]. *J Changchun Coll Tradit Chin Med* (长春中医药大学学报), 1996, 12(2): 57.

[4] Li Y, Ma X L, Qu S C, et al. Effects of CPPQ on immunologic function of immunosuppressive mice induced with cyclophosphamide [J]. *J Bethune Univ Med Sci* (白求恩医科大学学报), 1996, 22(2): 137-139.

[5] Xie J T, Wu J A, Mehendale S, et al. Anti-hyperglycemic effect of the polysaccharides fraction from American ginseng berry extract in ob/ob mice [J]. *World Phytomed* (国外医药·植物药分册), 2004, 11: 182-187.

[6] Yu R M, Jin Q X, Sun H, et al. The growth characteristics and ginsenosides isolation of suspension-cultured crown gall of *Panax quinquefolium* [J]. *Chin J Biotechnol* (生物工程学报), 2005, 21(5): 754-758.

[7] Yu R M, Song Y B, Zhang H, et al. Study on the culture of crown gall from *Panax quinquefolium* and the production of its secondary metabolites - ginsenosides Re and Rg1 [J]. *Chin J Biotechnol* (生物工程学报), 2003, 19(3): 372-375.

[8] Yu R M, Song Y B, Li X, et al. Study on effects of culture conditions of crown gall tissue from *Panax quinquefolium* on the ginsenoside Rb1 content [J]. *Pharm Biotechnol* (药物生物技术), 2002, 9(4): 216-219.

[9] Song Y B, Xu Z X, Jin Q X, et al. Cultures of transgenic crown gall from *Panax quinquefolium* and its total ginsenosides content [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2005, 28 (3): 165-167.

[10] Yu R M, Jin Q X, Zhao Y. Study on suspension culture and quantitative determination of total ginsenosides from the crown gall of *Panax quinquefolium* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2006, 29(7): 650-652.

[11] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.

[12] Wang L, Yu R M, Zhang H, et al. Hairy-root culture of *Polygonum multiflorum* Thunb. and the production of its active constituents-anthraquinones [J]. *Chin J Biotechnol* (生物工程学报), 2002, 18(1): 69-73.

[13] Zhang W J. *Research Techniques of Biochemistry for Saccharides Complex* (糖复合物生化研究技术) [M]. Hangzhou: Zhejiang University Press, 1994.

[14] Fang J N. Isolation, purification, identification of purity and determination of molecular weight [J]. *Chin Pharm Bull* (药学通报), 1984, 19(10): 46-49.

[15] Yao X S. *Natural Medicinal Chemistry* (天然药物化学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001.

## 松杉灵芝的化学成分研究(II)

刘超<sup>1</sup>, 普琼惠<sup>2</sup>, 王洪庆<sup>1</sup>, 陈若芸<sup>1\*</sup>

(1. 中国医学科学院 中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050; 2. 武警总队医院药局, 云南 昆明 650111)

摘要: 目的 研究松杉灵芝子实体的化学成分。方法 采用硅胶、凝胶色潜法进行分离纯化, 波谱法进行结构鉴定。结果 从乙醇提取物的酯酸乙酯部分分离得到 8 个三萜类化合物。结构鉴定为: 灵芝醇 A (ganoderiol A, I)、灵芝酮三醇 (ganodermanontriol, II)、灵芝三醇 (ganoderatriol, III)、灵芝酸 C (ganoderic acid C, IV)、灵芝酸 A (ganoderic acid A, V)、赤芝酮 A (lucidone A, VI)、赤芝酸 C (lucidenic acid C, VII)、赤芝酸 LM<sub>1</sub> (lucidenic acid LM<sub>1</sub>, VIII)。

收稿日期: 2007-02-18

作者简介: 刘超 (1979-), 理学学士, 中国医学科学院药物研究所天然产物化学研究室研究实习员。

\* 通讯作者 陈若芸 Tel: (010)83161622 E-mail: ruoyunchen@hotmail.com

# 转基因西洋参冠瘿组织中多糖的分离和纯化

作者: 陈敏青, 于荣敏, CHEN Min-qing, YU Rong-min  
作者单位: 暨南大学药学院, 广东, 广州, 510632  
刊名: 中草药 **ISTIC** **PKU**  
英文刊名: CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS  
年, 卷(期): 2007, 38(11)

## 参考文献(15条)

1. Wang Y H;Liu Z S;Guan F Studies on the effect of immunization of Panax quinquefolium and its pharmaceutics[期刊论文]-中医药学刊 2004(03)
2. Wang H M;Ma L Research progress on the effects of immunization of Panax quinquefolium[期刊论文]-中国食品卫生杂志 2002(05)
3. Li Y;Qu S C;Sun W J Comparison studies on the effects of rising leucocytes for the crude polysaccharides of Panax quinquefolium at different ethanol concentration 1996(02)
4. Li Y;Ma X L;Qu S C Effects of CPPQ on immunologic function of immunosuppressive mice induced with cyclophosphamide 1996(02)
5. Xie J T;Wu J A;Mehendale S Anti-hyperglycemic effect of the polysaccharides fraction from American ginseng berry extract in ob/ob mice[外文期刊] 2004(11)
6. Yu R M;Jin Q X;Sun H The growth characteristics and ginsenosides isolation of suspension-cultured crown gall of Panax quinquefolium[期刊论文]-生物工程学报 2005(05)
7. Yu R M;Song Y B;Zhang H Study on the culture of crown gall from Panax quinquefolium and the production of its secondary metabolites-ginsenosides Re and Rg1[期刊论文]-生物工程学报 2003(03)
8. Yu R M;Song Y B;Li X Study on effects of culture conditions of crown gall tissue from Panax quinquefolium on the ginsenoside Rb1 content[期刊论文]-药物生物技术 2002(04)
9. Song Y B;Xu Z X;Jin Q X Cultures of transgenic crown gall from Panax quinquefolium and its total ginsenosides content[期刊论文]-中药材 2005(03)
10. Yu R M;Jin Q X;Zhao Y Study on suspension culture and quantitative determination of total ginsenosides from the crown gall of Panax quinquefolium[期刊论文]-中药材 2006(07)
11. 中华人民共和国药典(一部) 2005
12. Wang L;Yu R M;Zhang H Hairy-root culture of Polygonium multiflorum Thunb. and the production of its active constituents-anthraquinones[期刊论文]-生物工程学报 2002(01)
13. Zhang W J 糖复合物生化研究技术 1994
14. Fang J N Isolation, purification, identification of purity and determination of molecular weight 1984(10)
15. Yao X S 天然药物化学 2001

## 本文读者也读过(8条)

1. 李富贤, 乔博灵, 高昌良 秦岭龙胆化学成分的研究[期刊论文]-陕西中医2000, 21(3)
2. 乔彦茹, 罗永煌, 周帅, 杨焱, 贾薇, 唐庆九, 刘艳芳, 张劲松, 周昌艳, QIAO Yanru, LUO Yonghuang, ZHOU Shuai, YANG Yan, JIA Wei, TANG Qingjiu, LIU Yanfang, ZHANG Jingsong, ZHOU Changyan 灰树花多糖GFP75-2-2B的分离及其对刺激巨噬细胞释放NO的影响[期刊论文]-食用菌学报2010, 17(4)

3. [朱庆银](#), [李清禄](#), [陈强](#), [何海斌](#), [林茹](#) [楮头红多糖的纯化分离及其生物活性初步研究](#)[会议论文]-2006
4. [沈爱英](#), [孙震](#), [刘平](#), [谷文英](#) [姬松茸多糖的分离纯化及其对白血病细胞的抑制作用](#)[期刊论文]-[无锡轻工大学学报](#) 2001, 20(4)
5. [何峰](#), [杨英](#), [敖明章](#), [余龙江](#), [HE Feng](#), [YANG Ying](#), [AO Ming-zhang](#), [YU Long-jiang](#) [链霉菌H03发酵液中多糖的分离纯化及其抗氧化活性的研究](#)[期刊论文]-[食品科学](#)2008, 29(3)
6. [武翠玲](#), [邓永康](#), [孟延发](#), [WU Cui-ling](#), [DENG Yong-kang](#), [MENG Yan-fa](#) [大马勃水溶性多糖的结构研究](#)[期刊论文]-[天然产物研究与开发](#)2008, 20(6)
7. [郭守东](#), [陈荫](#), [徐健](#), [陈艳丽](#), [李红燕](#), [齐晓辉](#), [杨玉品](#), [毛文君](#), [GUO Shou-Dong](#), [CHEN Yin](#), [XU Jian](#), [CHEN Yan-Li](#), [LI Hong-Yan](#), [QI Xiao-Hui](#), [YANG Yu-Pin](#), [MAO Wen-Jun](#) [南极树粉孢属真菌胞外多糖的分离纯化及结构表征](#)[期刊论文]-[中国海洋大学学报\(自然科学版\)](#)2010, 40(5)
8. [贲永光](#), [韦保耀](#), [滕建文](#), [卢洁](#) [火麻种子中水溶性多糖的提取、分离和纯化](#)[期刊论文]-[食品科技](#)2004(6)

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zcy200711003.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200711003.aspx)