

金叶子叶化学成分的研究

宋丽华^{1,2}, 杨胜祥^{1,2*}, 李跃中¹, 姜 坤¹

(1. 淮南联合大学, 安徽 淮南 232038; 2. 西北农林科技大学, 陕西 杨凌 712100)

摘要:目的 研究金叶子叶的化学成分。方法 利用柱色谱(正相硅胶、RP-18、大孔吸附树脂和 Sephadex LH-20)、制备 HPLC 和光谱方法分离鉴定化学成分。结果 从金叶子的叶中分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为 $2\alpha, 3\beta, 23$ -trihydroxyurs-5, 12-dien-28-oic acid (), $2\alpha, 3\beta, 23$ -trihydroxyurs-12-en-28-oic acid (), $1-O-(\beta-D$ -glucopyranosyl)-(2S, 3S, 4R, 8Z)-2-[(2'R)-2'-hydroxydocosanoilamino]-8(Z)-octadecene-1, 3, 4-triol (), 槲皮素-3-O- β -半乳吡喃糖苷 (), 槲皮素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (), 槲皮素-3-O- α -阿拉伯呋喃糖苷 (), 山柰酚-3- α -鼠李吡喃糖苷 (), 金叶子毒素- (), 金叶子毒素- (), proanthocyanidin A-2 ()。结论 化合物 和 为首次从该植物叶中获得。

关键词:金叶子; 黄酮苷; 化学成分

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)09-1377-04

杜鹃花科植物金叶子 *Craibiodendron yunnanese* Smith 为常绿小乔木。除滇东北外, 云南全省均有分布, 常生于海拔 1 600 ~ 3 200 m 的干燥向阳处。金叶子味涩, 微辛, 性温, 有剧毒; 常以叶入药, 有发表温经、活络止痛之功效, 用于治疗跌打损伤, 风湿麻木, 外感风寒, 也可用于治疗骨折、瘫痪和胃疼。金叶子有大毒, 人食叶七片, 即发生呕吐, 头晕, 嘴舌发麻, 重者可昏迷数天才恢复正常, 有“半天昏”之称^[1]。我国学者对金叶子叶的化学成分进行了研究, 从中分离出多种二萜、三萜、黄酮和多酚类化合物等^[2,3]。为了进一步了解金叶子的化学成分及生物活性, 为其作为治疗风湿关节痛和跌打损伤的药物提供科学的物质基础, 对金叶子叶的化学成分进行了研究, 从金叶子叶的甲醇提取液的正丁醇部分分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为 $2\alpha, 3\beta, 23$ -trihydroxyurs-5, 12-dien-28-oic acid (), $2\alpha, 3\beta, 23$ -trihydroxyurs-12-en-28-oic acid (), $1-O-(\beta-D$ -glucopyranosyl)-(2S, 3S, 4R, 8Z)-2-[(2'R)-2'-hydroxydocosanoilamino]-8(Z)-octadecene-1, 3, 4-triol (), 槲皮素-3-O- β -半乳吡喃糖苷 (), 槲皮素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (), 槲皮素-3-O- α -阿拉伯呋喃糖苷 (), 山柰酚-3- α -鼠李吡喃糖苷 (), 金叶子毒素- (), 金叶子毒素- (), proanthocyanidin A-2 ()。其中化合物 和 为首次从该植物中分离得到。

1 仪器和试剂

熔点仪为 XRC-1 型显微熔点仪, 四川大学科

仪厂出品。NMR 用 Bruker AM-400 和 Bruker DRX-500 型核磁共振仪测定 (500 MHz, TMS 为内标); 质谱用 VG AUTO Spec-3000 质谱仪测定; 制备 HPLC 用 ODS-2 MAG 柱。柱色谱用硅胶 (300 ~ 400 目) 和薄层色谱用硅胶 G 均由青岛海洋化工厂生产。反相用材料 RP-18 为 Merck 公司产品。大孔吸附树脂为天津化工厂生产的 D-101 聚苯乙烯型大孔吸附树脂。显色为 254、365 nm 荧光, 10% 硫酸-乙醇溶液加热显色。其余试剂均为分析纯。样品金叶子采自昆明植物园, 由云南省药物研究所生药室鉴定为 *C. yunnanese* Smith。

2 提取分离

样品 1.5 kg, 粉碎, 工业甲醇加热回流提取 3 次, 合并提取液减压浓缩得总浸膏, 加水悬浮后分别用醋酸乙酯和正丁醇萃取, 得正丁醇浸膏 30 g。正丁醇浸膏溶解后用大孔树脂粗分 (MeOH-H₂O, 30:1, 60:1, 90:1, 100:0)。90:1 部分经反复的硅胶柱色谱、RP-18、制备 HPLC、Sephadex LH-20 处理后得到化合物 ~。

3 结构鉴定

化合物 : 白色粉末; C₃₀H₄₆O₄; FAB⁺-MS *m/z*: 471 [M+H]⁺ (30), 437 (32), 409 (65), 248 (100), 203 (70), 133 (65); ¹H-NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ : 3.61 (1H, s, H-2 β), 3.39 (1H, d, *J* = 9.4 Hz, H-3 α), 4.07 (1H, t, *J* = 9.7 Hz, H-5), 5.47

* 收稿日期: 2009-03-16

作者简介: 宋丽华, 副教授, 从事天然产物化学的教学和研究工作。

* 通讯作者 杨胜祥 Tel: (029) 87092515 E-mail: ysx19821028@yahoo.com.cn

(1H, br s, H-12), 2.63 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-18), 1.22, 1.21, 1.19, 1.00, 0.98, 0.96 (6 $\times$ 3H, s, 6 $\times$ CH₃), 1.06 (3H, d, $J = 8.4$ Hz, 29-CH₃); ¹³C-NMR (C₅D₅N, 125 MHz) δ : 48.2 (t, C-1), 68.7 (d, C-2), 83.9 (d, C-3), 39.9 (s, C-4), 139.4 (s, C-5), 125.6 (d, C-6), 33.6 (t, C-7), 39.5 (s, C-8), 48.2 (d, C-9), 39.6 (s, C-10), 25.0 (t, C-11), 122.5 (d, C-12), 144.9 (s, C-13), 44.0 (s, C-14), 28.7 (t, C-15), 26.2 (t, C-16), 48.1 (s, C-17), 56.0 (d, C-18), 40.1 (d, C-19), 39.9 (d, C-20), 31.1 (t, C-21), 37.5 (t, C-22), 29.4 (q, C-23), 17.6 (q, C-24), 17.5 (q, C-25), 18.9 (q, C-26), 23.8 (q, C-27), 180.2 (s, C-28), 17.0 (q, C-29), 21.4 (q, C-30)。以上数据与文献报道^[41]一致, 确定化合物为 2 α , 3 β , 23-trihydroxyurs-5, 12-dien-28-oic acid。

化合物: 白色粉末; C₃₀H₄₈O₅; FAB⁺ - MS m/z : 489 [M + H]⁺ (25), 543 (4), 488 (5), 419 (7), 356 (6), 299 (14), 282 (12), 264 (17), 207 (100), 172 (43), 115 (50); ¹H-NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ : 4.24 (1H, m, H-2 β), 4.28 (1H, m, H-3 α), 5.45 (1H, s, H-12), 2.60 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-18), 3.71 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-23 α), 4.23 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-23 β), 1.05, 1.11, 1.18, 1.12 (4 $\times$ 3H, s, 4 $\times$ CH₃), 0.89 (3H, d, $J = 5.9$ Hz, H-29), 0.84 (3H, br s, H-30); ¹³C-NMR (C₅D₅N, 125 MHz) δ : 48.0 (t, C-1), 68.9 (d, C-2), 78.2 (d, C-3), 43.7 (s, C-4), 48.0 (d, C-5), 18.5 (t, C-6), 33.2 (t, C-7), 40.1 (s, C-8), 47.9 (d, C-9), 38.3 (s, C-10), 23.8 (t, C-11), 125.6 (d, C-12), 139.3 (s, C-13), 42.6 (s, C-14), 28.7 (t, C-15), 24.9 (t, C-16), 48.1 (s, C-17), 53.5 (d, C-18), 39.4 (d, C-19), 39.3 (d, C-20), 31.0 (t, C-21), 37.5 (t, C-22), 66.4 (t, C-23), 14.5 (q, C-24), 17.5 (q, C-25), 23.9 (q, C-27), 180.0 (s, C-28), 17.5 (q, C-29), 21.4 (q, C-30)。以上数据与文献报道^[51]一致, 确定化合物为 2 α , 3 β , 23-trihydroxyurs-12-en-28-oic acid。

化合物: 白色粉末; C₄₆H₈₉NO₁₀; FAB⁻ - MS m/z : 814 [M - H]⁻ (100), 652 [M - H - C₆H₁₁O₅]⁻ (23), 339 (20), 311 (32), 183 (28), 159 (12), 119 (21), 99 (44), 80 (22); ¹H-NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ : 8.59 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, -NH), 4.72 (1H, dd, H-1 α), 4.51 (1H, m, H-1 β), 4.21 (1H, dd, H-3), 4.20 (1H, m, H-4), 5.49 (1H, m, H-8), 5.49 (1H, m, H-9), 4.57 (1H, dd, H-2), 4.95 (1H, d, H-1'); ¹³C-NMR (C₅D₅N, 125 MHz) δ : 70.5 (t, C-1), 51.7 (d, C-2), 75.9 (d, C-3), 72.4 (d, C-4), 34.0 (t, C-5), 26.8 (t, C-6), 28.0 (t, C-7), 130.9 (d, C-8), 130.2 (d, C-9), 27.6 (t, C-10), 23.0 ~ 32.0 (t, C-11 ~ 17), 14.3 (q, C-18, C-22), 175.7 (s, C-1), 72.5 (d, C-2), 35.6 (t, C-3), 23.0 ~ 32.2 (t, C-4' ~ C-21), 105.6 (d, C-1'), 75.2 (d, C-2'), 78.5 (d, C-3'), 71.4 (d, C-4'), 78.6 (d, C-5'), 62.6 (t, C-6')。以上数据与文献报道^[61]一致, 确定化合物为 1-O-(β -D-glucopyranosyl)-(2S, 3S, 4R, 8Z)-2-[(2'R)-2'-hydroxydocosanoilamino]-8(Z)-octadecene-1, 3, 4-triol。

化合物: 黄色粉末; C₂₁H₂₀O₁₂; FAB⁻ - MS m/z : 463 [M - H]⁺ (100), 300 (25); ¹H-NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ : 6.63 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6), 6.68 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-8), 8.44 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 7.25 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 8.09 (1H, dd, $J = 1.9, 8.4$ Hz, H-6), 6.02 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 4.79 ~ 4.13 (5H, m, H-2' ~ 6'); ¹³C-NMR (C₅D₅N, 125 MHz) δ : 158.0 (s, C-2), 135.6 (s, C-3), 178.9 (s, C-4), 162.8 (s, C-5), 99.9 (d, C-6), 166.0 (s, C-7), 94.6 (d, C-8), 157.7 (s, C-9), 105.3 (s, C-10), 122.4 (s, C-1), 116.3 (d, C-2), 146.8 (s, C-3), 150.8 (s, C-4), 118.0 (d, C-5), 122.8 (d, C-6), 105.6 (d, C-1'), 73.5 (d, C-2'), 75.5 (d, C-3'), 69.9 (d, C-4'), 77.7 (d, C-5'), 62.0 (t, C-6')。以上数据与文献报道^[71]一致, 确定化合物为 槲皮素-3-O- β -半乳糖糖苷。

化合物: 黄色粉末; C₂₁H₂₀O₁₂; FAB⁻ - MS m/z : 463 [M - H]⁺ (100), 447 (5), 300 (22), 171 (17), 97 (24); ¹H-NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ : 8.42 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2), 8.10 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-6), 7.22 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.67 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.61 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.04 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.79 ~ 4.15 (5H, m, H-2' ~ 6'); ¹³C-NMR (C₅D₅N, 125 MHz) δ : 178.9 (C-4), 166.0 (C-7), 162.7 (C-5), 157.8 (C-9), 157.6 (C-2), 150.8 (C-4), 146.8 (C-3), 135.8 (C-3), 122.8 (C-1), 122.3 (C-6), 117.8 (C-5), 116.3 (C-2), 105.5 (C-10), 105.2 (C-1'), 99.8 (C-6), 94.6 (C-8), 77.5 (C-5'), 75.5 (C-3'), 73.4 (C-2'), 69.8 (C-4'), 61.9 (C-6')。以上数据与文献报道^[81]一致, 确定化合物为 槲皮素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物: 黄色粉末; C₂₀H₁₈O₁₁; FAB⁻ - MS m/z : 463 [M - H]⁺ (100), 447 (5), 300 (22), 171 (17), 97 (24); ¹H-NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ : 8.42 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2), 8.10 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-6), 7.22 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.67 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.61 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.04 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.79 ~ 4.15 (5H, m, H-2' ~ 6'); ¹³C-NMR (C₅D₅N, 125 MHz) δ : 178.9 (C-4), 166.0 (C-7), 162.7 (C-5), 157.8 (C-9), 157.6 (C-2), 150.8 (C-4), 146.8 (C-3), 135.8 (C-3), 122.8 (C-1), 122.3 (C-6), 117.8 (C-5), 116.3 (C-2), 105.5 (C-10), 105.2 (C-1'), 99.8 (C-6), 94.6 (C-8), 77.5 (C-5'), 75.5 (C-3'), 73.4 (C-2'), 69.8 (C-4'), 61.9 (C-6')。以上数据与文献报道^[81]一致, 确定化合物为 槲皮素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷。

m/z : 433 $[M - H]^+$ (100), 301 (40); 1H -NMR (C_5D_5N , 400 MHz) δ : 6.47 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.69 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 8.26 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.32 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 7.95 (1H, dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz, H-6), 5.19 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-1), 3.88 ~ 4.86 (4H, m, H-2' ~ 5'); ^{13}C -NMR (C_5D_5N , 125 MHz) δ : 157.8 (s, C-2), 134.8 (s, C-3), 179.3 (s, C-4), 162.9 (s, C-5), 99.8 (d, C-6), 166.0 (s, C-7), 94.6 (d, C-8), 158.1 (s, C-9), 105.3 (s, C-10), 122.5 (s, C-1), 117.2 (d, C-2), 147.2 (s, C-3), 150.7 (s, C-4), 116.7 (d, C-5), 122.4 (d, C-6), 109.9 (d, C-1), 83.5 (d, C-2), 79.0 (d, C-3), 88.7 (d, C-4), 62.6 (t, C-5)。以上数据与文献报道^[7]一致, 确定化合物为槲皮素-3- α -阿拉伯呋喃糖苷。

化合物: 黄色粉末; $C_{21}H_{20}O_{10}$; FAB⁺-MS m/z : 431 $[M - H]^+$ (100), 382 (12); 1H -NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ : 6.27 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 6.48 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 7.03 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 7.86 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 5.56 (1H, s, H-1), 4.07 ~ 2.06 (3H, m, H-2' ~ 5'), 0.91 (3H, d, $J = 5.8$ Hz, H-6); ^{13}C -NMR (CD_3OD , 125 MHz) δ : 157.9 (s, C-2), 135.7 (s, C-3), 179.2 (s, C-4), 163.1 (s, C-5), 99.5 (d, C-6), 164.9 (s, C-7), 94.5 (d, C-8), 160.8 (s, C-9), 105.7 (s, C-10), 122.4 (s, C-1), 131.6 (d, C-2', 6'), 116.2 (d, C-3', 5'), 158.4 (s, C-4), 105.7 (d, C-1), 71.4 (d, C-2), 72.1 (d, C-3), 72.9 (d, C-4), 71.3 (d, C-5), 17.7 (q, C-6)。以上数据与文献报道^[8]一致, 确定化合物为山柰酚-3- α -鼠李吡喃糖苷。

化合物: 白色粉末; $C_{20}H_{34}O_6$; ESFMS m/z : 393 $[M + Na]^+$, 369 $[M - H]^+$; 1H -NMR (C_5D_5N , 400 MHz) δ : 2.83 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, H-1), 4.88 (1H, dd, $J = 4.0, 9.1$ Hz, H-2), 3.93 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-3), 4.04 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-6), 1.96 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-9), 1.65 (3H, s, H-17), 1.20 (3H, s, H-18), 1.75 (3H, s, H-19), 1.51 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (C_5D_5N , 125 MHz) δ : 70.8 (d, C-1), 74.8 (d, C-2), 83.3 (d, C-3), 48.0 (s, C-4), 85.5 (s, C-5), 70.6 (d, C-6), 49.8 (t, C-7), 46.3 (s, C-8), 59.1 (d, C-9), 78.2 (s, C-10), 19.7 (t, C-11), 27.4 (t, C-12), 49.6 (d, C-13), 37.8 (t, C-14), 60.5 (t, C-15), 78.6 (s, C-16), 24.9 (q, C-17), 21.9 (q, C-18), 21.6 (q, C-19), 25.5 (q, C-20)。以上数据与文献报

道^[3]一致, 确定化合物为金叶子毒素-。

化合物: 无色油状物; $C_{20}H_{32}O_5$; ESFMS m/z : 375 $[M + Na]^+$, 351 $[M - H]^+$; 1H -NMR (C_5D_5N , 400 MHz) δ : 3.21 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1), 5.02 (1H, dd, $J = 7.7, 3.0$ Hz, H-2), 4.00 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-6), 2.33 (1H, d, $J = 6.1$ Hz, H-9), 1.55 (3H, s, H-17), 1.35 (3H, s, H-18), 1.84 (3H, s, H-19), 5.65, 5.40 (各 s, H-20), 2.23 (1H, brs, H-13); ^{13}C -NMR (C_5D_5N , 125 MHz) δ : 68.0 (d, C-1), 74.3 (d, C-2), 84.6 (d, C-3), 48.7 (s, C-4), 86.6 (s, C-5), 71.3 (d, C-6), 48.8 (t, C-7), 45.9 (s, C-8), 55.6 (d, C-9), 153.0 (s, C-10), 26.9 (t, C-11), 26.8 (t, C-12), 49.9 (d, C-13), 35.7 (t, C-14), 57.5 (t, C-15), 78.7 (s, C-16), 24.9 (q, C-17), 22.3 (q, C-18), 21.3 (q, C-19), 110.0 (t, C-20)。以上数据与文献报道^[3]一致, 确定化合物为金叶子毒素-。

化合物: 浅棕色粉末; $C_{30}H_{24}O_2$; FAB⁺-MS m/z : 577 $[M + H]^+$ (100); 1H -NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ : 7.13 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-10), 7.07 (1H, dd, $J = 8.5, 2.5$ Hz, H-14), 7.03 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-10), 6.99 (1H, dd, $J = 8.5, 2.5$ Hz, H-14), 6.86 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-13), 6.82 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-13), 6.13 (1H, s, H-6), 5.97 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-8), 5.92 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-6), 4.97 (1H, brs, H-2), 4.39 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-4), 4.23 (1H, m, H-3), 4.00 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-3), 2.97 (1H, dd, $J = 17.5, 2.0$ Hz, H-4 β), 2.82 (1H, dd, $J = 17.5, 2.0$ Hz, H-4 α); ^{13}C -NMR (CD_3OD , 125 MHz) δ : 99.3 (s, C-2), 66.9 (d, C-3), 28.1 (d, C-4), 103.4 (s, C-4a), 156.3 (s, C-5), 97.5 (d, C-6), 157.3 (s, C-7), 95.8 (d, C-8), 153.3 (s, C-8a), 131.7 (s, C-9), 115.5 (d, C-10), 145.4 (s, C-11), 144.4 (s, C-12), 115.0 (d, C-13), 119.1 (d, C-14), 81.0 (d, C-2), 65.3 (d, C-3), 28.7 (t, C-4), 101.7 (s, C-4'a), 155.4 (s, C-5), 95.8 (d, C-6), 151.2 (s, C-7), 106.2 (s, C-8), 151.0 (s, C-8'a), 130.2 (s, C-9), 114.6 (d, C-10), 145.4 (d, C-11), 145.0 (s, C-12), 114.7 (s, C-13), 120.1 (t, C-14)。以上数据与文献报道^[9]一致, 确定化合物为 proanthocyanidin A-2。

参考文献:

- [1] 陈冀胜, 郑 硕. 中国有毒植物 [M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [2] 李蓉涛, 李晋玉, 王京昆, 等. 金叶子的化学成分 [J]. 云南植物研究, 2005, 27(5): 565-571.

- [3] Zhang H P, Wang L Q, Qin G W. Grayanane diterpenoids from the leaves of *Craibiodendron yunnanense* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2005, 13: 5289-5298.
- [4] Mahato S B, Kundu A P. Anti-inflammatory triterpene saponins of *pithecellobium dulce*: Characterization of an echinocystic acid bisdesmoside [J]. *Phytochemistry*, 1987, 34(9): 1389-1397.
- [5] Adnyana I K, Tezuka A, Banskota H, et al. Quadranside, new triterpene glucoside from the seed of *Combretum quadrangulare* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(4): 496-500.
- [6] Cateni F, Zilic J, Falsone G, et al. Preliminary biological assay on cerebroside mixture from *Euphorbia nicaeensis* All. Isolation and structure determination of five glucocerebroside [J]. *IL Farmaco*, 2003, 58(9): 809-817.
- [7] Xu B A, Su H, Zhang M Z. Flavonoids from *Craibiodendron yunnanense* [J]. *Acta Scient Nat Univ Pekinen*, 1996, 32(6): 700-702.
- [8] Markham K R, Ternai B, Stanley R, et al. Carbon-13 NMR studies of flavonoids: Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives [J]. *Tetrahedron*, 1978, 34(9): 1389-1397.
- [9] Hongxiang L, Yoshimitsu Y, Tsutomu S, et al. A-type proanthocyanidins from peanut skins [J]. *Phytochemistry*, 1999, 51(2): 297-308.

块菌多糖的相对分子质量测定和单糖组成分析

刘娟, 屈效源*

(佳木斯大学化学与药学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘要:目的 测定从块菌菌丝体中分离得到的均一多糖 KJB-1 的平均相对分子质量, 并分析其单糖组成。方法 块菌菌丝体通过水提醇沉, 再以 Sevage 法去除蛋白质, 得到粗多糖 KJB。经 Sepharose CL6B 柱色谱分离纯化得到均一多糖 KJB-1。利用高效液相色谱法测定 KJB-1 的平均相对分子质量; 三氟乙酸完全酸水解后进行糖醇衍生化, 之后运用气相色谱法, 与标准品对照后分析其单糖组成。结果 KJB-1 在高效液相下呈单一对称峰, 其平均相对分子质量大于 2×10^6 , 单糖组成分析该多糖是由单一组分葡萄糖组成。结论 KJB-1 为分子质量大于 2×10^6 的葡聚糖。

关键词:块菌; 多糖; 气相色谱; 单糖组成

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)09-1380-02

块菌属子囊菌亚门盘菌纲块菌目块菌科, 是生长在森林地下的最为珍贵的一类药食两用真菌, 又称“松露”。其中一些种类如黑块菌、白块菌在欧美被誉为“厨房里的钻石”、“地下黄金”, 具有极大的经济价值, 故有“真菌王子”之称。块菌是一种典型的共生菌, 其主要活性成分有 α -雄烷醇、神经酰胺、块菌多糖等成分^[1], 块菌多糖具有抗肿瘤并参与免疫调节等功能。为了寻找块菌多糖的活性部位, 本实验对块菌的水热提多糖进行了分离并纯化, 得到 KJB-1, 测定其平均相对分子质量, 并分析其单糖组成, 旨在为后续的结构和功能的进一步研究提供科学依据。

1 材料与仪器

1.1 材料与试剂: 块菌菌丝体 (购于云南誉成隆经贸有限公司), 由北京大学医学部韩晓强博士鉴定。标准单糖对照品 (鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、半乳糖、葡萄糖、葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸) 均为分

析纯, 购于 Merck 公司。多糖相对分子质量测定用标准品 Dextran T 系列, 均为 Pharmacia 公司产品。肌醇为国产生化试剂, 三氟乙酸 (TFA)、醋酸酐、氯仿、四氢硼钠、甲醇均为分析纯。

1.2 仪器: Agilent HP6890N 型气相色谱仪, 氢火焰离子检测器 (FID), HP-5 毛细管色谱柱 (30 m $\times$ 0.32 mm); Agilent 1100 series 高效液相色谱系统, 蒸发光散射检测器 (ELSD), Shodex KS-805 凝胶色谱柱。

2 实验方法

2.1 块菌多糖的分离纯化: 块菌经乙醇脱脂后沸水浸提, 减压浓缩后醇沉, 再经 Sevage 法去蛋白^[2]得到粗多糖。再经 CL6B 凝胶细分后得 KJB-1, HPLC 示单一对称峰。

2.2 相对分子质量测定^[3,4]: 先采用标准葡聚糖 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洗脱体积或保留时间, 用标准

* 收稿日期: 2009-02-18

作者简介: 刘娟 Tel: (0454) 8610828 E-mail: liujuan1949@163.com

* 本院 2006 级硕士研究生