

鲍鱼多糖 Hal B 的组成研究^{*}

吴耀文, 余志刚, 胡谷平, 林永成

(中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 从鲍鱼中分离一种硫酸酯多糖 Hal-B, 甲醇解反应后, 经三甲硅醚衍生化, GC/MS 检测, 结果表明该多糖主要是由半乳糖、葡萄糖和少量木糖、岩藻糖、葡萄糖醛酸组成。

关键词: 杂色鲍鱼; 多糖; 甲醇解

中图分类号: O636.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2002) 02-0119-02

多糖和糖复合物是其在生物体内重要的的生物功能和很好的生物活性, 在生命科学与医药应用上有巨大价值, 已经越来越受到人们的重视^[1]。鲍是软体动物门、复足纲、鲍科、鲍属的双壳类海洋软体动物, 古今中外都是极受重视的海珍产品。从杂色鲍(*Halotis diversicolor* Reeve) 中提取分离到鲍鱼多糖 Hal B (Halotide B), 药理实验表明鲍鱼多糖具有很好的抗肿瘤、提高免疫力等作用^[2,3]。对鲍鱼多糖 Hal B, 利用改进的甲醇解方法进行结构研究, 结合 GC/MS 进行分析, 实验结果显示鲍鱼多糖 Hal B 主要是由 D-半乳糖、D-葡萄糖, 还有少量的 D-木糖、L-岩藻糖以及葡萄糖醛酸组成, 是一种杂多糖。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 鲍鱼多糖由作者等从杂色鲍中提取分离制得; 绝对无水甲醇 HCl 溶液按文献 [4] 方法制备; 氯化三甲基硅烷为 Merck 公司产品; 其余试剂均为市售分析纯试剂; 杂色鲍鱼 (*Halotis diversicolor* Reeve) 来自汕尾市鲍鱼养殖场, 由中山大学生命科学院吕军仪教授鉴定; 所用仪器为美国 Finnigan 公司 Vayager GC/MS 气相色谱质谱联用仪。

1.2 实验方法 真空干燥的多糖样 1 mg 和约 10 mg 醋酸钡, 置于 10 mL 的 Ampule 瓶中, 注入 5 mL 1 mol/L 的 HCl 无水甲醇溶液, 充 N₂ 封管。80 °C 加热分解 20 h, 取出冷至室温后打开反应管, 减压抽干溶剂, 置于真空干燥器充分干燥。甲醇解产物注入 0.5 mL 吡啶, 充分溶解后再注入 0.2 mL 六甲基二硅烷烷和 0.1 mL 三甲基氯硅烷, 充分振荡后在室温放置 30 min, 离心。取 1~5 μ L 上层清液进行 GC/MS 分析。

GC/MS 分析条件: SE 54 石英毛细管柱 (0.25 mm $\times$ 30 m), 进样口温度 270 °C, 程序升温 150 °C, 保持 1 min, 以 10 °C/min 升温至 230 °C, 保持 4

min。MS 接口 230 °C, 离子源 EI+, Enege70 eV, 检测器电压 280 eV, 质谱扫描范围 43.00~650.00。

2 结果与讨论

在 1 mol/L HCl 无水甲醇液中 80 °C 加热 24 h 拆开多糖链, 形成相应的甲基糖苷和甲酯, 同时脱去硫酸根和氨基糖的 N-乙酰基, 所有单糖 (包括中性糖、己糖醛酸、乙酰胺脱氧己糖) 都是稳定的^[4], 从而可以很好的分析多糖的单糖组分及相对含量。而对于含硫酸酯的鲍鱼多糖, 根据 Zanetta 等^[5]对含硫酸酯的糖胺聚糖 (GAG) 甲醇解的研究, 经典的甲醇解方法, 由于在这过程中释放出硫酸的作用, 从而对单糖组分 (糖醛酸、五碳糖、脱氧己糖和半乳糖等) 造成不同程度的破坏, 使用在甲醇中有很好的溶解性的过量的醋酸钡除去释放出的硫酸根, 可以消除这一影响。

GC/MS 分析是研究多糖组成的重要手段, 能使单糖的三甲基硅醚化衍生物得到很好的分离和鉴定。各单糖组分都有多个峰出现, 被称作“指纹”^[4], 这对于单糖组分的定性有利, 结果如表 1 所示。解离出来的单糖大部分都是生成了它们的甲基糖苷, 但也有少量单糖残基在不同的位置发生了甲基化 (如峰 6, 7, 5, 8, 10, 11, 12, 9, 14), 而在以前有关甲醇解的文献报道中, 并没有见到对以上结果的提及和讨论, 一般都认为多糖甲醇解后生成的是相应单糖的 (α , β) 甲基糖苷吡喃环和呋喃环的异构体 (3~4 个峰), 而且我们在对不含硫酸酯多糖的甲醇解研究中也未发现以上反常现象。对于以上结果的出现, 我们认为可能与鲍鱼多糖含有硫酸酯有关, 使得多糖在甲醇解脱硫酸的过程中发生了不同的立体化学反应。对于以上结果的解释探讨, 可能有助于对甲醇解的机理作进一步的补充, 对解决多糖的结构问题将有很大的帮助。

^{*} 收稿日期: 2002-01-22

基金项目: 国家八六三计划资助项目 (819-04-03); 中山大学化学与化学工程学院综合化学创新基金资助项目

作者简介: 吴耀文 (1979-), 男, 现清华大学化学与化学工程学院硕士研究生;

通讯联系人: 林永成; E-mail: ceslyc@zsu.edu.cn

表 1 Hal B 甲醇解产物的 GC/MS 结果

Tah 1 The results of GC/MS analysis for Hal B

峰号	化合物	R_t /min	峰面积比/%	峰号	化合物	R_t /min	峰面积比/%	峰号	化合物	R_t /min	峰面积比/%
1	fucose	4.57	5.2	8	glucose	6.25	21.8	9	galactose	6.33	67.0
2	fucose	4.85		10	glucose	6.51		13	galactose	6.88	
3	fucose	4.99		11	glucose	6.60		14	galactose	7.01	
4	xylose	5.34	5.3	12	glucose	6.70		15	galactose	7.19	0.7
6	xylose	6.03		16	glucose	7.24	7.47	18	galactose	7.68	
7	xylose	6.14		17	glucose	7.47		19	glucouronic acid	8.21	
5	glucose	5.52									

参考文献:

[1] HURTLEY S, SERVICE R, SZUROMI P, et al. Cinderella' s coach is ready[J] . Science, 2001, 291: 2337—2378.

[2] 王兵,蒋建敏,许东晖,等. 鲍鱼多糖对人鼻咽癌裸鼠抗癌作用的研究[J] . 中草药,2000,31(8): 597—599.

[3] 王兵,许东晖,许实波,等. 鲍鱼多糖对环磷酰胺的增效减毒作用[J] . 中药材,1999,22(4): 198—200.

[4] CHAMBERS R E, CLAMP J R. An assessment of methanolysis and other factors used in the analysis of carbohydrate-containing materials[J] . Biochem J, 1971, 125: 1009—1018.

[5] ZANETTA J P, TIMMERMAN P, LEROY Y. Detemination of constituents of sulphated proteoglycand using a methanolysis procedure and gas chromatography/mass spectrometry of heptafluoroborate derivatives[J] . Glycoconjugate J, 1999, 16: 617—627.

Study on the Methanolysis of a Kind of Heterosaccharide,
Hal B from *Haliotis diversicolor* Reeve

WU Yao wen, SHE Zhi gang, HU Gu ping, LIN Yong cheng

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat sen (Zhongshan) University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: A sulfated heterosaccharide Hal B, was isolated from *Haliotis diversicolor* Reeve. Its composition was studied by methanolysis and trimethylsilylation together with GC/MS analysis. The unusual methylation phenomenon during methanolysis of Hal B was discussed.

Key words: *Haliotis diversicolor* Reeve; polysaccharide; methanolysis

(上接第 118 页)

参考文献:

[1] 李德仁. 数据、软件及产品模式——试论发展我国地理信息产业的若干问题 //中国地理信息系统协会. 第三届年会论文集[C] . 1997: 1—4.

[2] 陈俊,宫鹏. 实用地理信息系统[M] . 北京: 科学出版社, 1998: 171—178.

[3] 龚健雅. 空间数据共享的形式、内涵和方法 //中国地理信息系统协会. 第三届年会论文集[C] . 1997: 166—179.

[4] 吴华意, 龚健雅. 无边界游程编码及其矢栅直接相互转换算法[J] . 测绘学报, 1998, 27(1) : 63—68.

[5] 龚健雅. GIS 中面向对象时空数据模型[J] . 测绘学报, 1997, 26(4): 289—298.

[6] 龚健雅. 规范化空间对象模型与实现技术[J] . 测绘学报, 1996, 25(4): 309—314.

[7] VANCE D, SMITH C, APPELL J. Inside Autodesk World [M] . Onward: Onward Press, 1998: 393—399.

A Study of GIS based Direct Reading of Nonstandard Geographic Spatial Data

CHEN Xiao xiang, KE Dong, LI Fang, CHEN Xiao yue

(Center for Remote Sensing, Sun Yat sen (Zhongshan) Unversity, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Until now, any GIS software can not process the data of different GIS data sources and other geographic spatial data with format different from its own. In order to use such data, we usually transform the format of the data. A research reported that, in the developed countries, the money used to transform the data format is up to 30 percents of those of data building. A method called “the Back Door” was used to perform the directly reading of nonstandard geographic spatial data with the API and data structure provided by GIS itself. The technique was successfully applied to the PEIOS (Pearl River Estuary Integrated Observing System) .

Key words: geographic spatial data; geographical information system; directly reading