

用 ^{13}C 和 ^1H 核磁共振方法考察肠膜明串珠菌合成的右旋糖酐的结构

陈素明

(中国科学院化学研究所, 北京)

许丹枫

(中国医学科学院血液学研究所, 天津)

本文采用 ^{13}C 和 ^1H 核磁共振方法测定了4个由肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)发酵生成的右旋糖酐的分子结构。其结果表明发酵条件的差异对右旋糖酐分子结构的变化影响不大。

关键词 右旋糖酐; 结构

右旋糖酐(以下简称右酐)是一种经微生物发酵产生的多糖, 它作为一种抗休克和改善微循环的药物已在临床普遍应用。目前国内已推广使用的发酵菌种是肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)^[1], 它是由中国医学科学院血液学研究所筛选的, 由于发酵条件会影响右酐分子结构的变化, 而右酐在临床使用中的疗效和副作用又与它的分子结构有密切关系^[2-3]。为了考察采用肠膜明串珠菌生成的右酐的稳定性, 我们采用 ^{13}C 和 ^1H 核磁共振方法对右酐的结构进行了研究。测定了4个来自不同药厂的制品。

材料与方 法

(一) 菌株

肠膜状明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*) (中国医学科学院血液学研究所提供)。

(二) 发酵条件与方法

生产右酐的培养基配方见参考文献[1]。各药厂生产的右酐其具体条件可能有差异。

(三) 右酐制品

8308106(上海长征制药厂)、790616(天津新华食品厂)、830606(江苏黄海制药厂)、8147(四

川新都解放军某医院药厂)

以上4个样品均为中分子右酐, 特性粘度 $[\eta]$ 为0.191—0.260, 其质量均符合中华人民共和国药典规定。

(四) 结构测定条件

以上4个右酐制品经部分酸水解后, 用核磁共振方法测定。

^{13}C 核磁共振谱用 JEOL JNM-FX100 核磁共振仪测定, 工作频率为25.05MHz。以 D_2O (重水)为溶剂, DSS (4, 4-二甲基-4-硅代戊磺酸钠)为内标, 样品浓度约为400mg/ml, 在90℃测量。

^1H 核磁共振谱用法国 CAMECA 250MHz 超导核磁共振仪测定, D_2O 为溶剂, DSS 为内标, 浓度约为100mg/ml, 在90℃测量。

(五) 参照物

Dextran T70 为瑞典 Pharmacia 药厂生产的右旋糖酐; B-640 为直链右酐。

结果与讨论

(一) ^{13}C -NMR 测定结果

上述样品 ^{13}C 核磁共振谱的化学位移值见表1。图1为830606右酐的 ^{13}C 核磁共振谱。从表1可见四个样品谱峰的化学

本文于1985年2月19日收到。

表 1 右酏中葡萄糖基的 ¹³C-NMR 谱的化学位移

Table 1 Chemical shifts in ¹³C-NMR spectra of dextran containing glucosyl residues at 90°C

	T70	790616	830606	8308106	8147	B-640*
A	101.40	101.40	101.30	101.35	101.35	99.54
		100.48	100.48			
	99.99	99.99	99.94	99.84	99.89	
	99.36	99.30	99.21	99.21	99.30	
		98.68	98.58	98.60		
	84.09	83.98	83.99	83.89	83.89	
	83.40	83.40	83.45	83.31	83.40	
B						75.19
		78.30	78.25	78.20	78.15	
	76.55	76.46	76.45	76.45	76.50	
			76.16		76.35	
	75.77	75.77	75.72	75.62	75.67	
	75.38	75.38	75.33		74.85	
	74.12	74.12	74.02	73.97	74.02	
C	73.77	73.77	73.73	73.68	73.68	73.20
	73.24					
	73.14	73.09	73.19	72.95		
D	72.56	72.56	72.46	72.41	72.46	72.01
E	72.17	72.22	72.12	72.07	72.12	71.62
	71.64		71.34	71.40		
F	68.38	68.38	68.33	68.28	68.33	67.80
	63.13	63.13	63.08	63.03	63.08	

* 直链右酏(化学位移相对于四甲基硅烷)
linear dextran (shifts relative to tetramethylsilane)

位移很相近, 并与 T70 相似。

除观察到右酏分子中 α -D-(1→6) 糖苷键形成的 A、B、C、D、E、F 6 个具有特征的谱峰外^[3], 还出现两个非 α -D-(1→6), 这是侧链分支点的特征谱峰^[4-5]。其化学位移为 83.89—84.09 及 83.39—83.45ppm 处代表右酏分子中侧链分支点的葡萄糖基为 α -D-(1→3) 的糖苷键; 而化学位移 76.45—76.55 和 78.15—78.30ppm 处代表分子中 α -D-(1→2) 糖苷键。上述结果表明所测 4 个样品其糖苷键中葡萄糖残基的主链与侧链位置几乎完全一致, 并与 T70 很类似。由此可以推断由肠膜明串珠菌合成的右酏, 其主链是以 α -D-(1→6) 糖苷键连接, 侧链支点由 α -D-(1→3) 和 α -D-(1→2) 组成。

表 2 右酏中葡萄糖基的 ¹H-NMR 谱的部分化学位移(90℃测定)

Table 2 Chemical shifts in ¹H-NMR spectra dextran containing glucosyl residues

样 品 Sample	化学位移 (1→6)	Shift(ppm) (1→3)	非(1→6)率(%) non-(1→6)
T 70	4.91	5.25	5.0
8147	4.92	5.24	5.3
8308106	4.91	5.24	5.5
790616	4.92	5.27	—

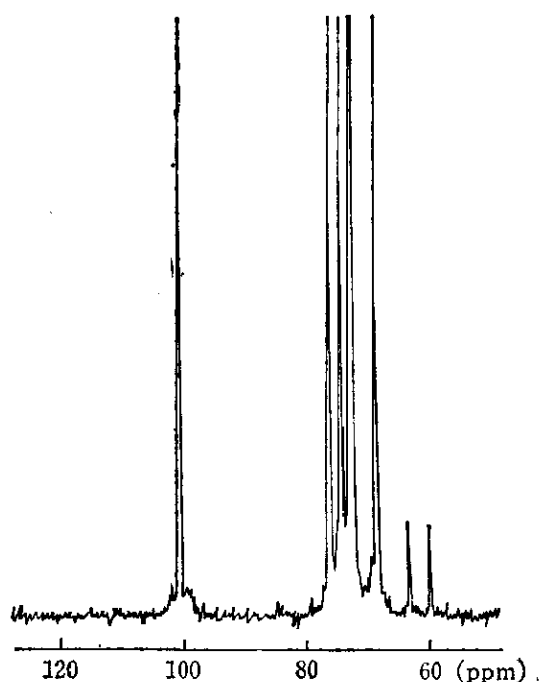


图1 右酏(S30606) ^{13}C 核磁共振光谱

Fig. 1 ^{13}C -NMR spectra for dextran(S30606)

(二) ^1H -NMR 测定结果

^1H -NMR 的部分化学位移参数见表2,图2为右酏(790616)的 ^1H 核磁共振谱。表2参数说明肠膜明串珠菌合成的上述四个右酏其葡萄糖残基1位氢的化学位移几乎完全相同,与T70也一致。化学位移为4.91—4.92ppm处代表右酏分子中葡萄糖残基以 $\alpha\text{-D-(1}\rightarrow\text{6)}$ 连接,化学位移为5.24—5.27ppm处为 $\alpha\text{-D-(1}\rightarrow\text{3)}$ 连接。据文献[6]报道 $\alpha\text{-D-(1}\rightarrow\text{2)}$ 连接1位氢的化学位移是5.11ppm,而 ^1H -NMR的测定中,只观察到天津新华食品厂的右酏(790616批)在5.04—5.11ppm处有一小峰。主要由于 $\alpha\text{-D-(1}\rightarrow\text{2)}$ 糖苷键含量太低所致。从 ^1H -NMR谱的积分计算得主链 $[\alpha\text{-D-(1}\rightarrow\text{6})]$ 和侧链 $[\alpha\text{-D-(1}\rightarrow\text{3})]$ 的

百分率分别为95%和5%(由于2位支点糖苷键含量太少未能单独表示)。

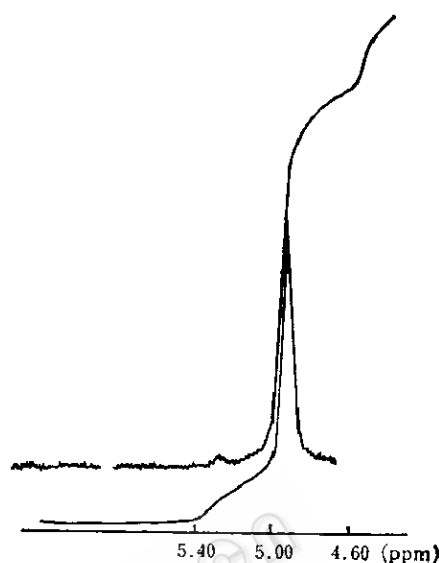


图2 右酏(790616) ^1H 核磁共振光谱

Fig. 2 ^1H -NMR Spectra for Dextran(790616)

综上所述, ^{13}C 和 ^1H -NMR谱的结果说明肠膜明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)在使用过程中,没有因地区、糖源、氮源及水质等条件的差异而改变其合成产物的结构。

参 考 文 献

- [1] 林大钢等: 输血及血液学杂志, 3(3): 10—12, 1979。
- [2] Jeanes, A. et al.: J. A. C. S., 76: 5041, 1954.
- [3] Barker, S. A. et al.: J. Chem. Soc., 2096, 1955.
- [4] Seymour, F. R. et al.: Carbohydrate Research, 71: 231—250, 1979.
- [5] Seymour, F. R. et al.: Carbohydrate Research, 74: 41—62, 1979.
- [6] Sidebotham, R. L.: Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, 30: 371—444, 1974.

STRUCTURE DETERMINATION OF DEXTRAN BY ^1H AND ^{13}C -NMR SPECTROSCOPY

Chen Suming

(Institute of Chemistry, Academia Sinica, Beijing)

Xu Danfeng

(Institute of Hematology, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin)

Clinical dextran is obtained by fermentation of strain *Leuconostoc mesenteroides*. Four samples of dextran were analysed by ^1H and ^{13}C -NMR spectroscopy. The results show that the structure of dextran produced by *L. mesenteroides* is

probably independent of fermenting condition of the strain.

Key words

Dextran; Structure