

# 红参中新化合物——精氨酸衍生物的分离与结构鉴定

郑毅男 松浦幸永\* 韩立坤 高久武司\*  
向 兰 龟田健治\* 李向高 奥田拓道\*

(吉林农业大学中药材学院, 长春 130118; \*日本国爱媛大学医学部, 松山市 791-02)

**摘要** 红参水提液经聚丙烯酰胺(Bio-gel P-2)柱层析, 分离得到五个茛三酮反应阳性物质。其中一个为已知化合物——精氨酸(I)。另一个为新化合物——精氨酸双糖甙(II), 根据红外、紫外、质谱、氢谱及碳谱等光谱解析, 推定为 1-(精氨酸- $N^{\circ}$ 基)-1-去氧-4-O-( $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖基)-D-果糖。并用半合成法进一步确证其结构。化合物 III, IV 和 V 的结构正在研究中。

**关键词** 红参; 精氨酸双糖甙

红参系五加科人参属植物人参(*Panax ginseng* C. A. Meyer)根的加工品, 具悠久的历史。对其中的人参皂甙、多糖和多肽等化学成分已进行了广泛的研究, 但对茛三酮反应阳性物质的化学及其生物活性的研究报道较少<sup>[1,2]</sup>。作者对红参水提取物的透析外液用聚丙烯酰胺凝胶(Bio-gel P-2)柱层析, 分离得到五个茛三酮反应阳性化合物, 其中化合物 I 为已知物 L-精氨酸。本文报道新化合物——精氨酸双糖甙(II)的分离和鉴定。

化合物 II 为白色粉末, mp 158~160°C, UV $\lambda_{max}$  201 nm(末端吸收), IR(KBr) 1678  $cm^{-1}$  为羰基吸收峰。用日立-835 型氨基酸分析仪进行分析, 该化合物吸收峰的保留时间为 130.92'。化合物 II 经碱水解, 水解产物中有精氨酸、果糖与葡萄糖。II 的全去偶 $^{13}CNMR$  示有 18 个碳, 其归属见表 1。糖部分有 12 个碳, 其中  $\delta$  101.38 和 96.19 示有 2 个糖分子存在。其 $^1HNMR$  中,  $J_{1,2} < 4$  Hz, 且  $\alpha$ -葡萄糖酶水解, 只得到了葡萄糖, 表明末端糖链是一个  $\alpha$ -构型葡萄糖。DEPT 谱提示有 3 个季碳、6 个亚甲基和 9 个次甲基。因此推断 II 的结构为精氨酸-果糖-葡萄糖(argininyl-fructosyl-glucose, AFG)(图 1)。

Tab 1  $^{13}CNMR$  chemical shifts of compound II in  $D_2O$

C	$\delta$ ppm(DEPT)	C	$\delta$ ppm(DEPT)	C	$\delta$ ppm(DEPT)
1	173.52(s)	1'	53.14(t)	1''	101.38(d)
2	63.13(d)	2'	96.19(s)	2''	70.49(d)
3	27.26(t)	3'	69.72(d)	3''	73.55(d)
4	24.71(t)	4'	78.38(d)	4''	70.34(d)
5	41.23(t)	5'	70.02(d)	5''	73.19(d)
6	157.57(s)	6'	64.76(t)	6''	61.30(t)

据文献报道<sup>[3,4]</sup>, 果糖的 $^{13}CNMR$  谱有四种异构体, 即  $\alpha$ -吡喃、 $\beta$ -吡喃、 $\alpha$ -呋喃和  $\beta$ -呋喃型。由于  $\alpha$ -吡喃信号较低, 可忽略不计。II 的 $^{13}CNMR$  谱存在着三种异构体, 在 $^1HNMR$  中,  $1''$ -H 呈现三个双峰信号,  $\delta$  ppm: 5.00(d,  $J = 3.66$  Hz), 5.05(d,  $J = 3.66$  Hz), 5.09(d,  $J = 3.66$  Hz), 其强度比为 1:1:4, 可能因果糖的  $\alpha$ -呋喃、 $\beta$ -呋喃和  $\beta$ -吡喃型异构体的影响而形成的。

这些结果表明,果糖的 C-2', C-5', C-6' 不可能与葡萄糖相接。果糖 C-1' 向高场移 10 ppm 以上,提示果糖 C-1' 与精氨酸的  $\alpha$ -氨基氮原子相连接,形成 C-N 键,而不可能与氧相连形成酯键<sup>[5]</sup>。由此葡萄糖的 C-1'' 只能与果糖的 C-3' 或 C-4' 相连接。

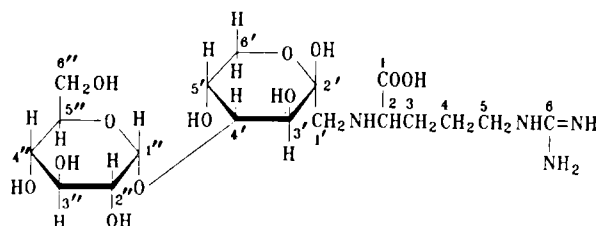


Fig 1 Chemical structure of argininy-fructosyl-glucose (AFG, II) as predominant form.

根据梅拉德(Maillard)反应原理<sup>[6,7]</sup>,用麦芽糖与精氨酸反应所得的化合物——精氨酸双糖甙(Argininy-fructosyl-glucose)与从红参中获得的化合物 II 比较其 TLC,分子量、氨基酸组成和<sup>1</sup>HNMR 数据均一致。

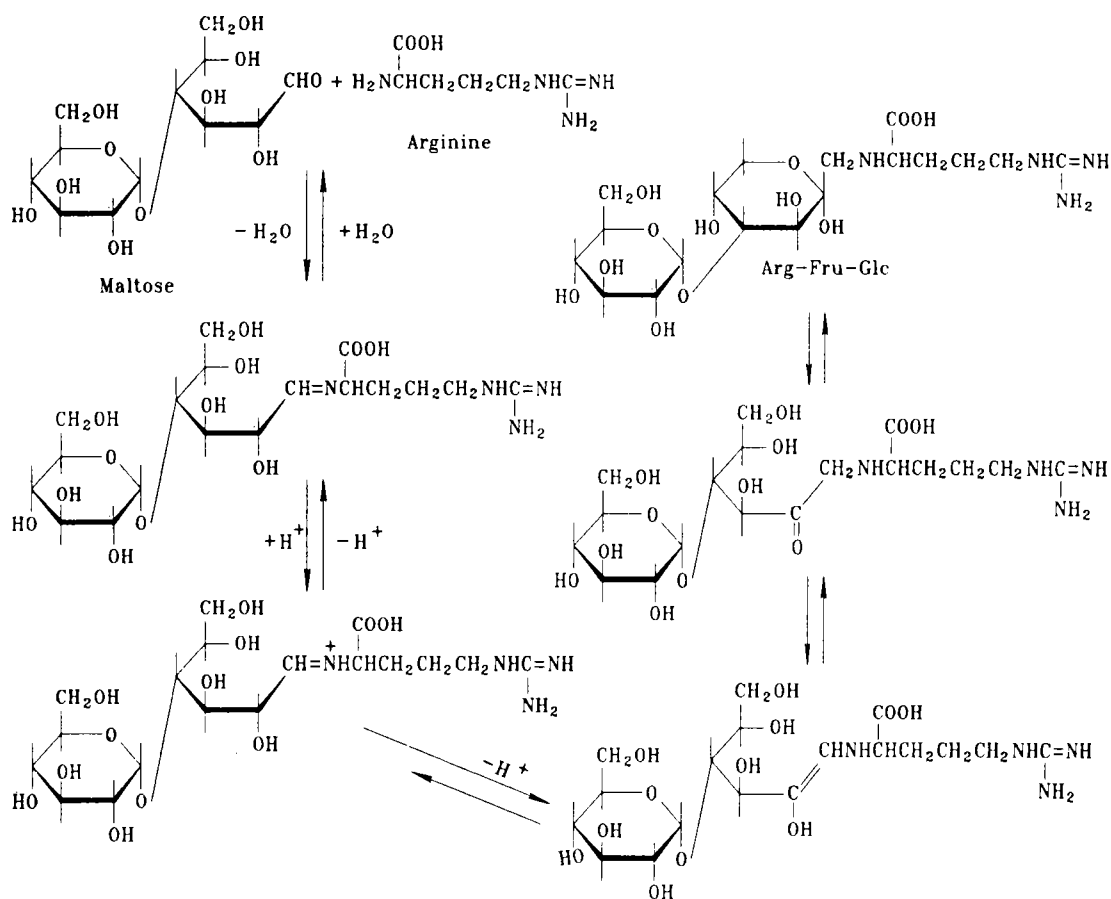


Fig 2 Maillard reaction of maltose and arginine.

综上所述, 化合物 II 的结构确定为 1-(精氨酸-*N*<sup>o</sup>基)-1-去氧-4-O-( $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖基)-D-果糖, 结构式如图 1。命名为精氨酸双糖甙, 缩写 AFG, 其梅拉德反应生成机理如图 2。

药理研究表明, 精氨酸双糖甙(II)对小肠麦芽糖酶有明显的抑制作用, 并能促进小鼠脾淋巴细胞的增殖, 可增强免疫功能。有关其药理研究将另文发表。

据初步分析红参中精氨酸双糖甙的含量为 5.37%, 生晒参为 1.75%。

## 实 验 部 分

熔点用毛细管法, 温度未校正。紫外光谱用 DU-7500 型。红外光谱用 FTS-7 付里叶变换红外光谱仪。<sup>1</sup>HNMR 和 <sup>13</sup>CNMR 用 Jeol GSX-270, 射频分别为 270 MHz 和 67.8 MHz, 溶剂为 D<sub>2</sub>O。分子量测定用 TOF-MS 岛津 Kratos 激光离子化 Maldi III。GC-MS 为岛津 QP-1000。氨基酸分析用日立-835 型氨基酸自动分析仪。元素分析用 1106 型元素分析仪。

实验材料: 红参与生晒参均为吉林省爱林参场提供。

### 提取分离

取干燥红参粉末 100 g, 5 倍量 MeOH, 室温浸提 24 h, 弃去 MeOH 液, 残渣加 10 倍量 H<sub>2</sub>O, 4℃浸提 3 次, 每次 12 h, 合并三次 H<sub>2</sub>O 提取液, 离心 30 min(8000 r·min<sup>-1</sup>), 上清液浓缩至一定体积, 透析, 得透析外液, 浓缩, 冷冻干燥, 得量 9 g。制成含 H<sub>2</sub>O 提取物 80 mg·ml<sup>-1</sup>, 行聚丙烯酰胺凝胶(Bio-Gel P-2)柱(2.7×90 cm)层析, 以 H<sub>2</sub>O 洗脱, 流速 18 ml·h<sup>-1</sup>, 收集 100 只管, 每管 3 ml, 先用茚三酮检查, 茚三酮反应阳性者, 再用日立-835 氨基酸分析仪检查, 合并 t<sub>R</sub> 131.28' 的溶液, 合并液行制备 TLC, 得纯净化合物 II(40 mg)。

### 鉴定

化合物 II 白色粉末, mp 158~160℃(dec), 茚三酮反应呈紫红色, 分子量 498, 元素分析 C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>12</sub>, 实测值%: C 43.84, H 6.24, N 11.08; 计算值%: C 43.38, H 6.88, N 11.24。HPTLC[展开系统: *n*-BuOH—HOAc—H<sub>2</sub>O(2:1:1)] R<sub>f</sub> 0.20。紫外无明显吸收。IR (KBr)cm<sup>-1</sup>: 3425(OH), 2928, 2858(CH), 1678(C=O), 1633(C=N)。DEPT 谱示有 3 个季碳, 6 个亚甲基, 9 个次甲基。<sup>1</sup>HNMR  $\delta$  ppm: 1.64(m, 2H), 1.90(m, 2H), 3.16(t, J=6.72 Hz, 2H), 5.00(d; J=3.66 Hz), 5.05(d, J=3.66 Hz), 5.09(d, J=3.66 Hz), 强度比为 1:1:4。<sup>13</sup>CNMR 数据见表 1。

碱水解 取 II 30 mg 溶于 3 mol·L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>OH 溶液 30 ml 中, 100℃反应 1 h, 反应物经分离, 纯化得到非糖部分 5 mg, 糖部分 9 mg。

非糖部分经 TLC 及氨基酸分析, 与标准精氨酸比较, R<sub>f</sub> 值与 t<sub>R</sub> 均一致。<sup>13</sup>CNMR  $\delta$  ppm:

NH<sub>2</sub>

184.84(-COOH), 160.11(-C=NH), 58.67(-CH-COOH), 44.22(-CH<sub>2</sub>-NH), 34.16(-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 27.69(-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-)。<sup>1</sup>HNMR  $\delta$  ppm: 1.50(m, -CH<sub>2</sub>-), 1.53(m, -CH<sub>2</sub>-), 3.10(t, J=4.88 Hz, -CH<sub>2</sub>-NH), 3.17(t, J=4.88 Hz, -CH-COOH), 与标准精氨酸数据一致。

取糖部分 3 mg, 三甲基硅烷化试剂 0.8 ml, 振荡 30 sec 摇匀, 室温放置 5 min, 离心 3000 r·min<sup>-1</sup>, 取上清液进行 GC-MS 分析。与标准三甲基硅烷化葡萄糖及果糖比较, t<sub>R</sub> 一致, 因此糖部分被鉴定为葡萄糖及果糖。

**酶解** 取 II 0.2 mg 加入  $\alpha$ -D-葡萄糖酶 0.1 U 溶于  $10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸缓冲液 (pH 6.8)  $40 \mu\text{l}$  中, 其中含有  $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDTA,  $37^\circ\text{C}$  培养 1 h。反应物用于 GC-MS 和 TLC 分析。GC-MS 分析结果,  $t_{\text{R}}$  为 16.25 和 21.25 min, 与标准四甲基硅烷葡萄糖 (15.50 和 20.25 min) 一致。TLC (硅胶用 Merck CO.), 展开剂为异丙醇— $\text{Me}_2\text{CO}$ — $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  乳酸 (4:4:2),  $R_{\text{f}}$  0.46, 与标准葡萄糖一致。

**化学合成**<sup>[8]</sup> 取 L-精氨酸 1.9 g, 麦芽糖 4 g 溶于 HOAc 80 ml 中,  $80^\circ\text{C}$  反应 1 h, 反应物经 Bio-Gel P-2 柱层析, 分离得到白色粉末 200 mg, HPTLC, 展开系统:  $n$ -BuOH—HOAc— $\text{H}_2\text{O}$  (2:1:1),  $R_{\text{f}}$  0.20, mp  $156\sim 159^\circ\text{C}$ , mmp 不下降。分子量 498, 氨基酸分析,  $t_{\text{R}}$  131.06。<sup>1</sup>HNMR  $\delta$  ppm: 1.64(m, 2H), 1.90(m, 2H), 3.16(t,  $J=6.72 \text{ Hz}$ , 2H), 5.00(d,  $J=3.66 \text{ Hz}$ ), 5.05(d,  $J=3.66 \text{ Hz}$ ), 5.09(d,  $J=3.66 \text{ Hz}$ ), 强度比为 1:1:4。与化合物 II 一致。

**致谢** 红外光谱由长春应用化学研究所代测, 紫外光谱由本校测试中心代测, 核磁共振谱由日本爱媛大学测试中心代测。

### 参 考 文 献

- 1 李向高, 郑毅男, 魏春雁. 人参止血成分的化学研究. 吉林农业大学学报, 1989, 11: 32
- 2 杨柳, 叶蕴华, 袁洪生等. 人参中  $\gamma$ -氨基丁酸的分离、鉴定及氨基酸的定量分析. 科学通报, 1991, 36: 513
- 3 Doddrell D, Allerhand A. Study of anomeric equilibria of ketoses in water by natural-abundance carbon-13 Fourier transform nuclear magnetic resonance. *D*-fructose and *D*-furanose. *J Am Chem Soc*, 1971, 93: 2779
- 4 Allerhand A. Natural-abundance carbon-13 fourier transform NMR studies of large molecules. *Pure Appl Chem*, 1975, 41: 247
- 5 陈德昌. 碳谱及其在中草药化学中的应用. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 281
- 6 Öste R, Sjödin P, Jägerstad M *et al.* Effect of Maillard reaction products on carbohydrate utilization—studies *in vitro* and *in vivo*. *Food Chemistry*, 1985, 16: 37
- 7 早濑文孝. 生体内メイラード反応とその生体防御機構. 化学と生物, 1993, 31: 592
- 8 Einarsson H. The mode of action of antibacterial Maillard reaction products. The Maillard reaction advances in life sciences. Birkhäuser Verlag, Basel, 1990: 215

## ISOLATION AND STRUCTURE ELUCIDATION OF A NEW AMINO ACID DERIVATIVE FROM RED GINSENG

YN Zheng, Y Matsuura\*, LK Han, T Takaku\*, L Xiang, K Kameda\*, XG Li and H Okuda\*

(College of Chinese Material Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun 130118;

\* School of Medicine, Ehime University, Japan 791-02)

**ABSTRACT** Five compounds were isolated from the water soluble fraction of red ginseng (processed roots of *Panax ginseng* CA Meyer). One of them was identified to be a known compound *L*-arginine (I). Compound II is a new amino acid derivative. Its structure was characterized as 1-(arginine- $N^{\alpha}$ -yl)-1-deoxy-4-O-( $\alpha$ -*D*-glucopyranosyl)-*D*-fructose, named AFG (argininyl-fructosyl-glucose, II), on the basis of chemical evidence and spectral analysis and semisynthesized from maltose with arginine. The identification of compound III, IV and V is in progress.

**Key words** *Panax ginseng* CA Meyer; Argininyl-Fructosyl-Glucose