

文章编号:1673-1689(2005)05-0075-03

α -糖苷酶抑制剂 SH-9766 的分离和鉴别

孙 敏¹, 王欣荣¹, 隆 泉¹, 张 颖¹, 何璧梅¹, 张 强²

(1. 四川抗菌素工业研究所, 四川 成都 610051; 2. 华西医科大学 药学院, 四川 成都 610041)

摘 要: 在定向筛选 α -糖苷酶抑制剂的实验中, 从游动放线菌 E-3519 发酵液中分离到化合物 SH-9766, 其对 α -淀粉酶和蔗糖酶有强烈的抑制作用. 通过理化性质、质谱、红外和核磁共振等图谱数据的分析, 证明与阿卡波糖同质.

关键词: α -糖苷酶抑制剂; SH-9766; 分离纯化; 阿卡波糖; 波谱分析

中图分类号: TQ 920

文献标识码: A

Studies on Isolation of SH-9766, an Inhibitor of α -Glucosidase from Microorganisms and Its Structure Elucidation

SUN min¹, WANG Xin-rong¹, LONG Quan¹, ZHANG Ying¹, HE Bi-mei¹, Zhang Qiang²

(1. Sichuan Industrial Institute of Antibiotics, Chengdu 610051, China; 2. School of Pharmacy, West China University of Medical Science, Chengdu 610041, China)

Abstract: The α -glucosidase inhibitor screening experiments showed that, the culture broth of *Actinoplanes ueatansis* var E-3519 exhibited amylase and sucrase inhibitory activities. SH-9766 was then isolated from the broth. By the analysis of its physico-chemical properties, as well as the spectra data of MS, IR, and NMR, the structure of SH-9766 was elucidated to identical as acarbose.

Key words: α -glucosidase inhibitor; SH-9766; isolation; acarbose; structure identification

α -糖苷酶抑制剂如阿卡波糖(Acarbose)、伏利波糖(Voglibose)是一类作用机理新颖、治疗确切、毒副作用低的降血糖药物, 主要用于 II 型糖尿病治疗. 第一个用于临床的 α -糖苷酶抑制剂, 是德国拜耳从犹他游动放线菌发酵液中分离出的阿卡波糖. 采用 α -淀粉酶、蔗糖酶和麦芽糖酶抑制模型, 定向筛选 α -糖苷酶抑制剂, 从游动放线菌 E-3519 发酵液中分离到化合物 SH-9766, 其对 α -淀粉酶、蔗糖酶等有强烈的抑制作用, 经理化性质测定和波谱分析, 证明与阿卡波糖同质, 见图 1. 作者报道了 SH-

9766 的分离纯化、理化性质及结构的确认.

1 SH-9766 的分离纯化

菌株 E-3519 的发酵液经板框过滤, 滤液通过由阳离子和阴离子交换树脂组成的混合床吸附. 分离阳离子和阴离子交换树脂, 阳离子交换树脂装柱, 并用 HCl 解吸. 解吸液通过阴离子交换树脂中和、脱色后再由阳离子交换树脂吸附, HCl 洗脱, 分步收集, 将阿卡波糖含量大于 95% 的部分合并. 合并液用阴离子交换树脂中和并浓缩后通过凝胶

收稿日期: 2004-09-13; 修回日期: 2004-12-04.

作者简介: 孙敏(1969-), 女, 四川成都人, 副研究员, 理学硕士.

万方数据

柱纯化,收集阿卡波糖含量大于 98%的部分,经浓缩、干燥得白色无定形粉末 SH-9766.

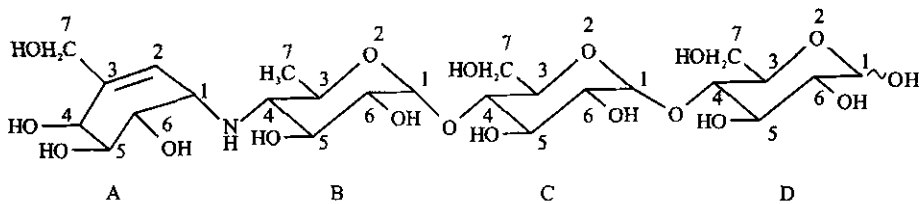


图 1 阿卡波糖的化学结构
Fig. 1 Structure of acarbose (SH-9766)

2 SH-9766 的理化性质和结构确认

2.1 理化性质

SH-9766 为白色无定形粉末,在水中极易溶解,在甲醇中溶解,在乙醇中极微溶解,在丙酮和乙腈中不溶.比旋度 $[\alpha]_D^{20} + 176.2^\circ$ (水),75%乙腈溶液以及磷酸缓冲溶液均呈末端吸收.根据快原子轰击质谱(FABMS)和元素分析结果,确定其相对分子质量为 645,分子式为 $C_{25}H_{49}O_{18}N$.

2.2 红外吸收光谱

2 922 cm^{-1} , 2 855 cm^{-1} 饱和 C—H 的伸缩振动及 1 452 cm^{-1} , 1 419 cm^{-1} 的弯曲振动,说明该化合物中有饱和的—CH₃,—CH₂—;3 377 cm^{-1} 出现—OH 的伸缩振动,1 035 cm^{-1} ,1 080 cm^{-1} 的 C—O 伸缩振动,说明该化合物中有羟基,而且为伯醇、仲醇两种形式;1 647 cm^{-1} 的 C=C 伸缩振动,说明该化合物中有双键;1 511 cm^{-1} 的 C—O—C 伸缩振动,说明分子中有醚键存在;930 cm^{-1} 的振动吸收,说明分子中有六元环;而且在 897 cm^{-1} ,847 cm^{-1} 有六元环的 C—H 弯曲振动出现,774 cm^{-1} ,761 cm^{-1} 的吸收峰,还证明了分子中有吡喃环的存在;715 cm^{-1} 出现了 N—H 的面外弯曲振动吸收峰,说明分子中有=N—H 基团.

2.3 NMR 分析

SH-9766 结构比较复杂,多羟基.在以 DMSO- d_6 为溶剂的氢谱(1H -NMR)中,羟基峰与一般质子峰多处重叠,不利于氢谱的解析.加重水(D_2O)交换以后,大部分活泼氢峰消失,但仍可见有少部分活泼氢未被完全交换掉,影响峰的归属与指认.所以在本品的核磁共振实验中,均用重水为溶剂.同时,为使供试品中活泼氢尽可能完全氘代掉,凡以 D_2O 作溶剂时,供试品都预先经过 D_2O 3 次反复冻干处理.分析中采用了氢氢相关(1H - 1H COSY),碳氢相关(^{13}C - 1H COSY),远程碳氢相关(HMBC)等辅助手段.

SH-9766 的碳谱(^{13}C -NMR)出现了 31 个峰,

DEPT 谱表明其为 1 个—CH₃,3 个—CH₂—,26 个—CH 和一个 C.而由 FABMS 和元素分析结果确定的 SH-9766 的分子式为 $C_{25}H_{43}NO_{18}$,只有 25 个碳.比较 SH-9766 和阿卡波糖的 ^{13}C -NMR 谱和 1H -NMR 谱,发现两个化合物的碳氢的化学位移一致(见表 1).根据 1H - 1H COSY, ^{13}C - 1H COSY, HMBC 等二维核磁共振谱结果(见图 4)确定 SH-9766 和阿卡波糖结构相同,它的 D 环为 1-位羟基游离的糖.文献[1]报道,1-位羟基游离的糖(甙)在溶液中同时存在 α 、 β 两种构型,比例大约 $\alpha : \beta = 40 : 60$,故 SH-9766 在溶液中以两种形式存在(见图 3),所以在 ^{13}C -NMR 和 DEPT 谱中多出 6 个—CH 峰,该结果与阿卡波糖一致.

表 1 SH-9766 和阿卡波糖的氢和碳的化学位移
Tab. 1 1H and ^{13}C chemical shifts of SH-9766 and acarbose

$\delta_C / (\mu g/g)$			$\delta_H / (\mu g/g)$		
SH9766	阿卡波糖	归属	SH9766	阿卡波糖	归属
19.926	19.895	CH ₃	1.327	1.328	B-7
58.583	58.531	CH	3.534	3.554	A-1
63.102	63.063	CH ₂	3.771	3.782	C-7
63.102	63.063	CH ₂	3.880	3.891	
63.102	63.063	CH ₂	3.812	3.823	D-7 α
63.271	63.231	CH ₂	3.927	3.936	
63.271	63.231	CH ₂	3.812	3.823	D-7 β
63.271	63.231	CH ₂	3.927	3.936	
64.135	64.096	CH ₂	4.100	4.106	A-7
64.135	64.096	CH ₂	4.212	4.209	
67.348	67.300	CH	2.474	2.501	B-4
71.812	71.768	CH	3.760	3.761	B-3
72.518	72.478	CH	3.953	3.962	D-3 α
73.068	73.024	CH	3.631	3.641	B-6
73.678	73.648	CH	4.027	4.026	A-4
73.778	73.743	CH	3.817	3.828	C-3
73.846	73.803	CH	3.591	3.601	D-6 α
74.019	73.98	CH	3.653	3.664	C-6

续表 1

$\delta_{\text{C}}/(\mu\text{g/g})$			$\delta_{\text{H}}/(\mu\text{g/g})$		
SH9766	阿卡波糖	归属	SH9766	阿卡波糖	归属
74.119	74.076	CH	3.727	3.736	D-3β
75.257	75.222	CH	3.607	3.619	B-5
75.398	75.354	CH	3.755	3.757	A-5
75.721	75.673	CH	3.771	3.782	A-6
75.894	75.846	CH	3.937	3.947	D-5α
76.545	76.501	CH	3.257	3.233	D-6β
77.105	77.056	CH	3.618	3.639	C-5
78.702	78.649	CH	3.796	3.808	D-5β
79.617	79.623	CH	3.698	3.687	D-4β
79.803	79.809	CH	3.593	3.604	D-4α
79.876	79.873	CH	3.567	3.578	C-4
94.456	94.413	CH	5.212	94.413	D-1α
98.343	98.299	CH	4.631	4.63	D-1β
102.056	102.030	CH	5.378	5.363	C-1β
102.165	102.140	CH	5.378	5.363	C-1α
102.543	102.522	CH	5.297	5.283	B-1
125.710	125.630	CH	5.885	5.89	A-2
142.033	142.008	C			A-3

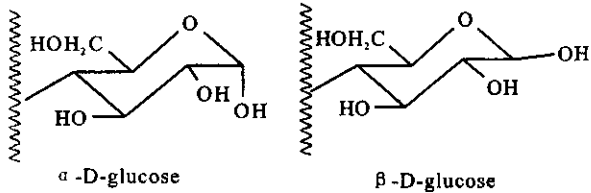


图 3 阿卡波糖在溶液中的两种异构体
Fig. 3 Two isomer of acarbose

3 结 论

通过定向筛选 α-糖苷酶抑制剂,从 E-3519 发酵液中分离到的 SH-9766 经 FABMS 和元素分析确定其相对分子质量为 645,分子式 C₂₅H₄₉O₁₈N. 波谱分析证明 SH-9766 为伪四糖,结构与国外报道的 Acarbose 相同.

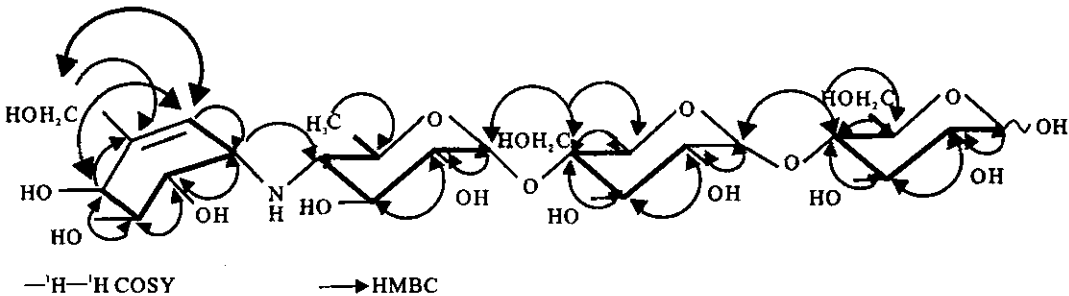


图 2 阿卡波糖的氢氢相关和远程碳氢相关关系
Fig. 2 ¹³C-NMR of SH-9766

参考文献:

[1] 高桥良典,板口史明,森本景子,等. Acarboseの物理化学的性质及び安全性[J]. 医药品研究,1989, 20(4):769—783.
[2] 陈德昌. 碳谱及其在中药化学中的应用[M]. 北京:人民卫生出版社,1991.
[3] 赵瑶兴. 光谱解析与有机结构鉴定[M]. 北京:中国科技大学出版社, 1992.

(责任编辑:李春丽)