文章编号:1673-1689(2007)01-0033-04

葡萄糖基(α-1→6)β-环糊精的波谱学数据与结构确证

崔 波[1,2], 金征宇[1], 周万里[3], 毕春元[3]
(1. 江南大学 食品科学与安全教育部重点实验室,江苏 无锡 214036;2. 山东轻工业学院 食品与生物工程学院,山东 济南 250010;3. 山东科学院 山东省生物传感器重点实验室,山东 济南 250014)

摘 要:对酶法合成的葡萄糖基(α-1→6)β-环糊精的红外(IR)光谱、质谱(MS)、氢谱(^{1}H-NMR)、碳谱(^{13}C-NMR)、氢氢相关谱(^{1}H-^{1}H COSY)、氢氢完全相关谱(^{1}H-^{1}H TCOSY)、异核单量子相干相关谱(HSQC)和异核多键相关谱(HMBC)进行了解析报道,对所有的^{1}H-NMR和^{13}C-NMR谱进行了归属,讨论了红外特征吸收峰所对应的官能团的振动形式。

关键词:葡萄糖基(α-1→6)β-环糊精;红外光谱;质谱;核磁共振谱
中图分类号:O 657.63 **文献标识码**:A

Spectral Data Analysis and Identification of Glucosyl(α-1→6)β-cyclodextrin

CUI Bo[1,2], JIN Zheng-Yu[1], ZHOU Wan-li[3], BI Chun-yuan[3]
(1. Key Laboratory of Food Science and Safety, Ministry of Education, Southern Youngtze University, Wuxi 214036, China; 2. College of Food and Biologic Engineering, Shandong Institute of Light Industry, Jinan 250100, China; 3. Key Laboratory for Biosensors of Shandong Province, Jinan 250014, China)

Abstract: Glucosyl(α-1→6)β-cyclodextrin was synthesized by enzymatic method. The infrared spectrum (IR), mass spectrometetry (MS), ^{1}H nuclear magnetic resonance (^{1}H-NMR), ^{13}C nuclear magnetic resonance (^{13}C-NMR), ^{1}H-^{1}H correlated spectroscopy (^{1}H-^{1}H COSY), ^{1}H-^{1}H total correlated spectroscopy (^{1}H-^{1}H TCOSY), (^{1}H detected) heteronuclear single quantum coherence (HSQC), and (^{1}H detected) heteronuclear multiple bond coherence (HMBC) of Glucosyl(α-1→6)β-cyclodextrin were investigated and interpreted. All the ^{1}H-NMR and ^{13}C-NMR chemical shifts were assigned by means of ^{1}H-^{1}H COSY, ^{1}H-^{1}H TCOSY, HSQC and HMBC. The vibrations of functional groups of this compound were also discussed.

Key words: glucosyl (α-1→6) β-cyclodextrin; infrared spectrum; mass spectrometetry; nuclear magnetic resonance

---

收稿日期:2006-04-25.
基金项目:江苏省自然科学基金(BK2004018)和山东省自然科学基金项目(Y2005B11).
作者简介:崔波(1971-),男,山东诸城人,副教授,食品科学与工程博士研究生. Email:cuiborr@hotmail.com
通讯作者:金征宇(1960-),男,江苏扬州人,工学博士,教授,博导. 主要从事碳水化合物的研究. Email:zijin@sytu.

万方数据cn

环状糊精是由淀粉通过葡萄糖基转移酶合成的 α－1,4 糖苷键连接的环状麦芽低聚糖。根据葡萄糖残基的个数,分别称为 α-CD、β-CD、γ-CD。环糊精的空间结构呈中空的锥形圆筒状,具有疏水性,可以与化合物形成包合物,空腔外由于羟基存在而使整个环糊精分子具有亲水性。由于这种特殊结构,使环糊精在手性分离、分子识别、模拟酶、新材料和超分子化学等领域有很高的研究应用价值,在食品、医药、分析检测、农药和精细化工等行业的应用前景更是诱人。环状糊精最常用的是 β-CD,但由于溶解度低,使其应用受到限制。通过环糊精分子中的羟基反应能制备多种衍生物,从而扩大分子的亲水区,可以改善环糊精的溶解性。开发高水溶性的环糊精产品成为近年来国内外研究的一大热点。

葡萄糖基(α-1→6)β －环糊精就是 β －环糊精在其某个葡萄糖残基的第 6 位碳原子的羟基上偶联一个葡萄糖残基的衍生化产物,即分支环糊精。目前国内外对分支环糊精研究的报道还比较少,对于葡萄糖基(α-1→6)β －环糊精的波谱学性质,国内外报道更少,仅有少量关于利用 ^{13}C-NMR 鉴定环糊精衍生物结构的报道[1-3]。Tsukuba 对以 α-CD 为母体的分支环糊精的 ^{1}H-NMR 进行了研究[4],但未有对葡萄糖基(α-1→6)β －环糊精波谱学数据的完整报道。而研究环糊精的包合作用,环糊精的波谱学数据非常必要。

作者通过酶法合成葡萄糖基(α-1→6)β －环糊精,并用波谱学方法对葡萄糖基(α-1→6)β －环糊精结构进行了鉴定,首次对其红外(IR)光谱、氢谱(^{1}H-NMR)、氢氢相关谱(^{1}H-^{1}H COSY)、氢氢完全相关谱(^{1}H-^{1}H TCOSY)、异核单量子相干相关谱(HSQC)和异核多键相关谱(HMBC)进行了解析报道,并对所有的 ^{1}H-NMR 和 ^{13}C-NMR 谱进行了归属[5-7]。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪:Agilent 1000Seriesm,检测器为 Alltech ELSD 2000ES 蒸发光散射检测器,色谱柱为 Hypersil NH_2柱,Agilent 公司产品;傅立叶变换红外光谱仪(Nicolet Nexus FT-IR spectrometer):Thermo Electron 公司产品;核磁共振波谱仪:AV-400,美国 bruker 公司产品;串联质谱仪:API3000,美国 ABI 公司产品。

酸性普鲁兰芽孢杆菌普鲁蓝酶,糖化酶:诺维信公司产品;Glu-β-CD 标准品:SIGMA 公司产品;麦芽糖,β-环糊精,无水乙醇:分析纯。

1.2 样品制备

样品采用酶法合成,合成途径见图 1。以麦芽糖和环糊精为底物,利用普鲁兰酶合成麦芽糖基环糊精,然后在淀粉糖化酶的作用下,麦芽糖基环糊精水解掉一个葡萄糖,生成葡萄糖基环糊精,然后对产物进行分离纯化。

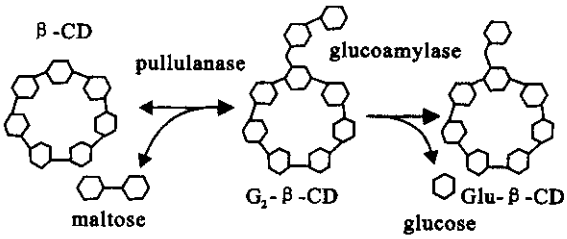


图 1 Glu-β-CD 的合成方法

Fig. 1 Methods to produce Glu-β-CD

2 结果与讨论

2.1 纯度测定

对纯化后的样品进行 HPLC 分析,结果表明纯度大于 99%,符合结构鉴定所需纯度。

2.2 红外光谱

样品 Glu-β-CD 的红外谱光中(见图 2),3 415 cm^{-1}为糖类 O—H 的伸缩振动,存在分子内氢键,2 926 cm^{-1}为糖类 C—H 的伸缩振动,1 402 cm^{-1}为糖类 C—O—H 的弯曲振动,1 156 cm^{-1}为吡喃糖环内醚的 C—O—C 伸缩振动,1 079 cm^{-1}为吡喃环的 C—O—H 伸缩振动,945 cm^{-1}、703 cm^{-1}和 576 cm^{-1}是包括 α-1,4 在内的环糊精骨架振动,1 027 cm^{-1}为 C—H 的伸缩振动,833 cm^{-1}为吡喃糖的 α 型 C-H 弯曲振动的特征峰,表明所含糖全都为 α 构型。

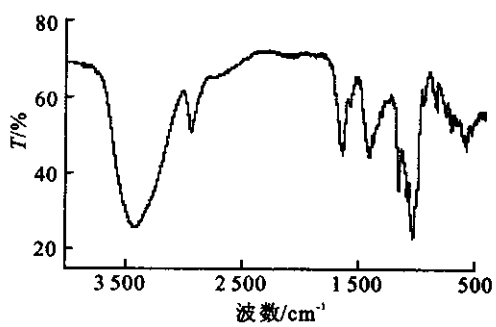


图 2 Glu-β-CD 的红外光谱

Fig. 2 IR spectra of Glu-β-CD

2.3 质谱

样品的电喷雾电离质谱(ESI-MS)(见图 3)显示,样品与 NH_{4+}、Na^+及 H^+分别形成的准分子离子 $[M+NH_4]^+$和 $[M+Na]^+$以及 $[M+H]^+$的 m/z 分

万方数据

别为 1 315.0、1 320.2 和 1 298.0,样品相对分子质量为1 297,与理论计算所得到的 Glu-β-CD 的相对分子质量一致。

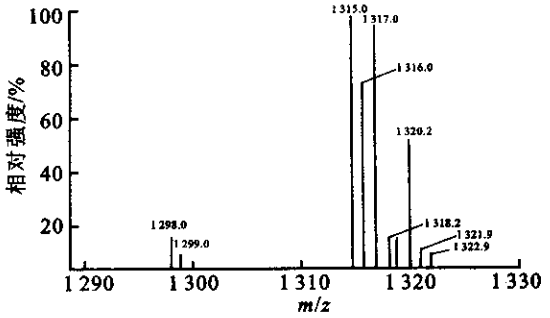


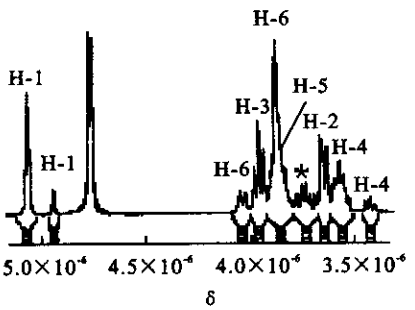
图 3　Glu-β-CD 的质谱

Fig. 2　MS spectrum of Glu-β-CD

2.4　核磁共振谱

2.4.1　^{1}H-NMR 谱　考察 GCD 的结构,依次命名为葡萄糖残基 A-R,其中葡萄糖残基 R 与其他葡萄糖残基的差异较大,葡萄糖残基 A 的 C-6 与其他糖残基差异较大,葡萄糖残基 R 的 C-4 是游离的。

^{1}H-NMR 谱(见图 4)显示出两种糖的异头质子的化学位移 δ 分别为 4.94 和 5.06,分别归属于葡萄糖残基 R 的 H-1 和葡萄糖残基(A-G)的 H-1。根据化学位移(大于 4.8)可判定 R 和 A-G 的异头质子都为 α 型。两种信号面积积分比为 1∶7,即两种异头质子的数目比为 1∶7,表明化合物中葡萄糖残基有两种连接方式,且葡萄糖残基 R 和 A-G 的数目比为 1∶7,这与 Glu-β-CD 的结构相对应。



* 为 H-6,H-5,H-3.

图 4　Glu-β-CD 的氢谱

Fig. 4　^{1}H-NMR spectrum of Glu-β-CD

2.4.2　^{1}H-^{1}H COSY 谱和^{1}H-^{1}H TCOSY 谱　在 ^{1}H-^{1}H TCOSY 谱(图略)中,葡萄糖残基(A-G)与葡萄糖残基 R 的氢谱分属两种自旋体系,这也与 Glu-β-CD 结构中葡萄糖残基 R 以 α-1,6 糖苷键连接到环糊精主环的结构特征相吻合。根据^{1}H-^{1}H COSY 谱(图略)结合^{1}H-^{1}H TCOSY 谱,由葡萄糖残基(A-G)的 H-1 入手,δ 3.65 与(A-G)的 H-1 有耦合关系,可确定 δ 3.65 为(A-G)的 H-2,δ 3.96 与(A-G)的 H-2 有耦合关系,可确定 δ 3.96 为(A-G)的 H-3,δ 3.55 与(A-G)的 H-3 有耦合关系,可确定 δ 3.55 为(A-G)的 H-4,δ 3.83 与(A-G)的 H-4 有耦合关系,可确定 δ 3.83 为(A-G)的 H-5。由葡萄糖残基 R 的 H-1 入手,δ 3.55 与 R 的 H-1 有耦合关系,可确定 δ 3.55 为 R 的 H-2,δ 3.71 与 R 的 H-2 有耦合关系,可确定 δ 3.71 为 R 的 H-3,δ 3.43 与 R 的 H-3 有耦合关系,可确定 δ 3.43 为 R 的 H-4,δ 3.74 与 R 的 H-4 有耦合关系,可确定 δ 3.74 为 R 的 H-5。依据 HSQC 谱(图 5),可确定 δ 4.03 为葡萄糖残基 A 的 H-6,δ 3.76 为葡萄糖残基 R 的 H-6,δ 3.88 为葡萄糖残基(B-G)的 H-6。在^{1}H-NMR 谱中葡萄糖残基(A-G)与葡萄糖残基 R 的有些氢的信号发生重叠。全部^{1}H-NMR 信号归属见表 1。

2.4.3　HSQC 谱　在 HSQC 谱中,根据糖残基的质子信号可以归属与之相连的碳信号,同理依据碳信号也可以归属与之相连的氢信号,氢信号归属见表 1。

表 1　Glu-β-CD 在 D_2O 中氢谱的化学位移(×10^{-6})

Tab. 1　^{1}H-NMR chemical shift of Glu-β-CD in D_2O (×10^{-6})

位置	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6
A-G	5.06 (d)	3.65 (m)	3.96 (t)	3.55 (m)*	3.87 (m)*	
A						4.03 (d)
B-G						3.88 (m)*
R	4.94 (d)	3.55 (m)*	3.71 (d)	3.43 (t)	3.74 (d)	3.76 (d)

标记(*)的为重叠信号。

2.4.4　^{13}C-NMR 谱　在^{13}C-NMR 谱(见图 5)中,葡萄糖残基 R1、R4、A6 比较容易辨认,因为它们的化学位移与其他碳相差较大。根据葡萄糖残基(A-G)和 R 的异头碳 C-1 的化学位移,也可以确定化合物中所有的葡萄糖残基都是 α 构型。结合 HSQC 谱,对^{13}C-NMR 谱的归属见表 2。

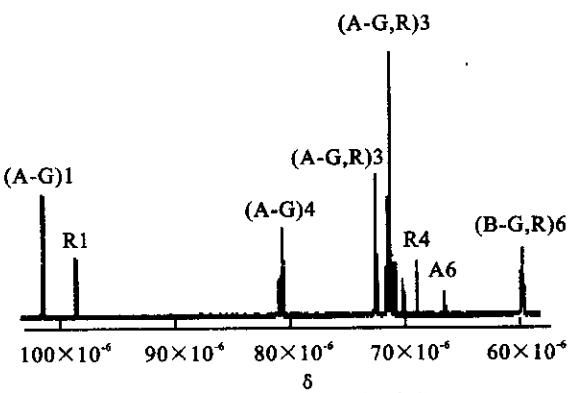


图 5　Glu-β-CD 的碳谱

Fig. 5　^{13}C-NMR spectrum of Glu-β-CD

万方数据

2.4.5 HMBC 谱 HMBC 谱中，葡萄糖残基(A-G)的 δ_H 5.06(H-1) 和 δ_C 80.82(C-4)，(A-G)的 δ_C 101.35(C-1)和 δ_H 3.55(H-4)以及葡萄糖残基 A 的 δ_C 66.62 (C-6)和葡萄糖残基 R 的 δ_H4.94(H-1)有耦合峰。表明葡萄糖残基 A-G 之间的某一个糖残基的 C-1 与另外一个糖残基的 H-4 是相连的，同时糖残基 A-G 之间的某一个糖残基的 C-4 与另外一个糖残基的 H-1 是相连的。这与 Glu-β-CD 的结构中吡喃葡萄糖环以 α-1，4 糖苷键的方式首尾连接成环糊精相符。葡萄糖残基 A 的 δ_C 66.62(C-6)和 R 的 δ_H 4.94(H-1)的耦合峰表明，葡萄糖残基 A 的 C-6 与 R 的 H-1 是相连的，这与 Glu-β-CD 结构中葡萄糖残基 A 和 H 之间的 α-1，6 糖苷键的连接方式相符。

表 2 Glu-β-CD 在 D_2O 中碳谱的化学位移($\times 10^{-6}$)

Tab. 2 ^{13}C NMR chemical shift of Glu-β-CD in D_2O ($\times 10^{-6}$)

位置	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
A-G	101.35	71.58	72.51	80.82	71.41	
A						66.62
B-G						59.82
R	98.54	70.91	72.51	69.01	71.41	59.82

参考文献(References)：

[1] KOIZUMI K, UTAMARA T, SATO M, et al. Isolation and characterization of branched cyclodextrins[J]. **Carbohydrate Res**, 1986, 153: 55 – 67.

[2] Koizumi K, Tanimoto T, Okada Y, et al. Isolation and characterization of three positional isomers of diglucosylcyclomaltoheptaose [J]. **Carbohydrate Res**, 1990, 201: 125 – 134.

[3] Tanimoto T, Sakaki T, Koizumi K. Preparation of $6^1.6^2$-, $6^1.6^3$-, $6^1.6^4$- and $6^1.6^5$-di-O-(-*D*-glucopyranosyl) cyclomalto-octaoses[J]. **Carbohydrate Res**, 1995, 267: 27 – 37.

[4] Yasuko I, Tadashi N, Kenji K, et al. ^{1}H-NMR Spectra of branched-chain cyclomaltohexaoses(α-cyclodextrin) [J]. **Carbohydrate Res**, 2004, 339: 777 – 785.

[5] 宁永成. 有机化合物结构鉴定与有机波谱学[M]. 北京：科学出版社, 2000: 27 – 217.

[6] 常建华，董绮功. 波谱原理及解析[M]. 北京：科学出版社, 2001.

[7] Watanabe N, Yamamoto K, Tsuzuki W, et al. A novel method to produce branched α-cyclodextrins: pullulanase-glucoamylase-mixed method[J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1997, 83(1): 43 – 47.

[8] Abe J, Mizowaki N, Hizukuri S. Synthesis of branched cyclomalto-oligosaccharides using *Pseudomonas isoamylase*[J]. **Carbohydrate Research**, 1986, 154: 81 – 92.

(责任编辑：朱 明)

万方数据