

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C08B 37/00

A61K 35/78



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 00820096.3

[45] 授权公告日 2005 年 5 月 18 日

[11] 授权公告号 CN 1202134C

[22] 申请日 2000.11.27 [21] 申请号 00820096.3

[86] 国际申请 PCT/IB2000/001946 2000.11.27

[87] 国际公布 WO2002/042335 英 2002.5.30

[85] 进入国家阶段日期 2003.6.23

[71] 专利权人 博桑得集团咨询公司

地址 西班牙巴塞罗纳

[72] 发明人 J·M·弗里阿斯潘纳

审查员 鄢来艳

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 李华英

权利要求书 2 页 说明书 10 页 附图 21 页

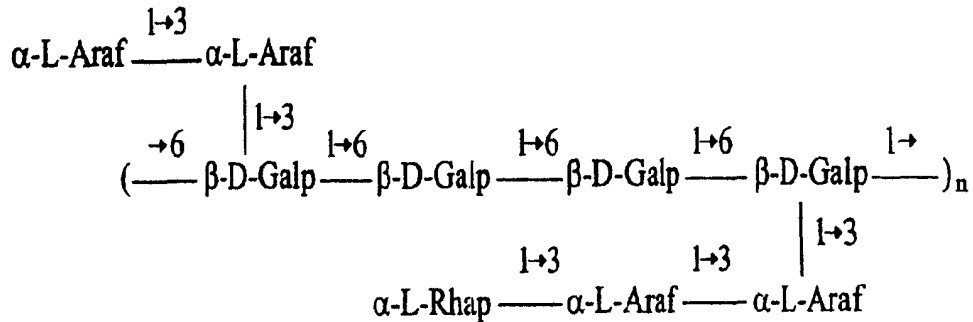
[54] 发明名称 具有免疫刺激活性的多糖化合物

[57] 摘要

本发明涉及呈现免疫刺激活性的式 I 的多糖化合物，其制备方法，其在免疫抑制疾病中的用途以及包含所述化合物的药物组合物。式 I，其中 $n = 7 - 8$ 。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 式 I 的多糖



其中 $n=7$ 或 8 。

2. 获得权利要求 1 中定义的化合物的方法，包括

- (1) 分离植物金盏花的花；
- (2) 将花进行下列提取操作：
 - a) 对花进行去污净化；
 - b) 将花粉碎；
 - c) 对粉碎的花进行激光辐射处理；
 - d) 将步骤 c) 中获得的混合物悬浮于水中；
 - e) 对步骤 d) 中获得的悬浮液进行浸渍处理；
 - f) 分离所得的液体；
 - g) 将步骤 f) 中获得的液体冻干；
 - h) 用甲醇沉淀步骤 g) 中获得的冻干物质；
 - i) 分离固相与液相；
 - j) 用浓度为 25%、50% 和 67% 的甲醇沉淀步骤 i) 中获得的固相；
 - k) 将步骤 j) 中于 50% 和 67% 甲醇浓度时获得的沉淀物溶于水，离心并对上清进行层析分离；
 - l) 通过生物测定确认活性级分；
 - m) 对活性级分进行第二次层析分离；
 - n) 通过生物测定确认活性级分；
 - o) 去除洗脱液。

3. 根据权利要求 2 的方法, 其中用谐波发生波长在 150 至 810nm 范围内、功率为 1 至 60 瓦特以及光点直径为 1 至 6 毫米的红色线性激光二极管来进行激光辐射处理。

4. 根据权利要求 3 的方法, 其中波长在 200 至 400nm 范围内, 优选 250nm, 功率为 20 瓦特, 光点直径为 4 毫米。

5. 根据权利要求 2-4 任一项的方法, 其中每千克的粉碎物质用激光辐射处理 3 至 10 分钟。

6. 根据权利要求 5 的方法, 其中每千克的粉碎物质用激光辐射处理 5 分钟。

7. 权利要求 1 中定义的化合物用作治疗剂。

8. 根据权利要求 1 的化合物用于治疗免疫抑制疾病。

9. 根据权利要求 1 的化合物用于治疗免疫抑制疾病如癌症、结核病、流感、普通感冒、过敏、红斑狼疮、牛皮癣和艾滋病。

10. 根据权利要求 1 的化合物用于治疗肝癌、肺癌、肾癌、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌或前列腺腺癌、脑癌如星形细胞瘤和成胶质细胞瘤、宫颈癌和膀胱癌。

11. 权利要求 1 中定义的化合物用于生产药物的用途。

12. 根据权利要求 11 的用途, 用于生产治疗免疫抑制疾病的药物。

13. 根据权利要求 12 的用途, 用于生产治疗癌症、结核病、流感、普通感冒、过敏、红斑狼疮、牛皮癣和艾滋病的药物。

14. 根据权利要求 13 的用途, 用于生产治疗肝癌、肺癌、肾癌、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌或前列腺腺癌、脑癌如星形细胞瘤和成胶质细胞瘤、宫颈癌和膀胱癌的药物。

15. 一种药物制剂, 包含权利要求 1 的化合物。

16. 根据权利要求 15 的药物制剂, 还包括可药用载体。

17. 权利要求 15 或 16 的药物制剂, 还包括至少另一种药物活性化合物。

具有免疫刺激活性的多糖化合物

发明领域

本发明涉及呈现免疫刺激活性的式 I 的多糖化合物、其获得方法、其在治疗免疫抑制疾病中的用途以及包含该化合物的药物组合物。

发明背景

免疫系统可以定义为分子、细胞和器官的集合，其复杂的相互作用形成通常能保护个体免受外部侵袭及其自身变异细胞的应急系统。

免疫系统可分为两个功能不同的部分：先天的元件和获得性的元件。先天免疫是指非特异性和非适应性的免疫元件，它们能区分外来组织/生物体但不能识别特定的入侵者，它们可最佳地被分成屏障（皮肤和粘膜）、非特异性化学物质（存在于粘膜分泌物中的酶、奎宁和组胺）和非特异性效应细胞（巨噬细胞）。获得性免疫是指特异性并且适应性的元件。它们能将外来细胞与自身区分开来，并能区分一种外来抗原与另一种。获得性免疫具有记忆，这使得对于相同微生物的再次感染产生免疫和抵抗。负责获得性免疫的细胞是淋巴细胞，其存在两个亚群：B 细胞和 T 细胞。

获得性免疫可通过自然感染或疫苗接种（以主动方式），或者通过给予免疫细胞（以被动方式）来获得。前种方式呈现出长期持久的效应甚至可以是永久的作用，而后种方式并不持久。

免疫抑制疾病患者通过免疫刺激物来治疗以激活其免疫系统。不同的免疫刺激物在 US 4801578, US 5417979, WO 9851319 中有所记载。多糖免疫刺激物在 DE 19817177 和 EP 0 225 496 中有所记载。这些专利公开了具有免疫刺激活性的多糖化合物以及它们可从植物细胞培养物中获得，其中使用了植物紫松果菊（*Echinacea purpurea*）、*Echinacea angustifolia* 和金盏花（*Calendula*

officinalis)。

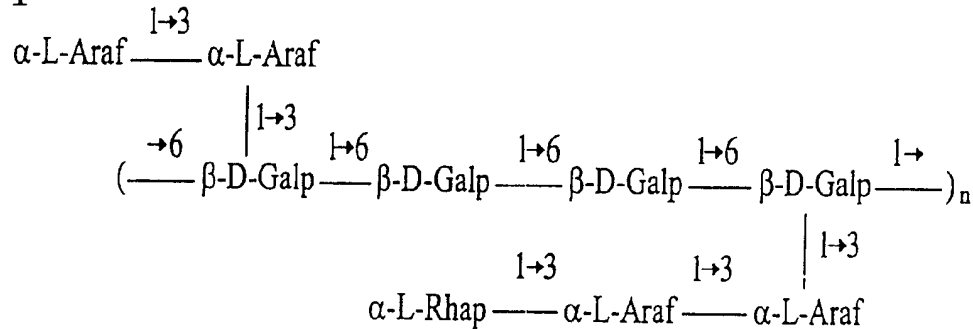
但是，这些免疫刺激化合物对于免疫抑制疾病都没有呈现出令人满意的活性。因此，本领域中需要呈现改善而广泛活性的可供选择的免疫刺激物。

发明概述

本发明提供了呈现出免疫刺激活性的式 I 的多糖化合物、其获得方法、其在治疗免疫抑制疾病中的用途以及包含该化合物的药物组合物。

本发明一方面涉及式 I 的多糖化合物

图解 I



其中 $n=7-8$ 。

本发明第二方面涉及获得式 I 多糖化合物的方法。该方法包括：首先，根据我们同时待审的一项申请中所公开的方法而从植物金盏花 (*Calendula officinalis*) 中获得含水提取物；其次，通过采用由生物测定指导的分离技术的组合来分离该多糖。

本发明的另一方面涉及本发明的式 I 多糖化合物作为治疗剂在治疗免疫抑制疾病中的用途，所述疾病如癌症、结核病、流感、普通感冒、过敏、红斑狼疮、牛皮癣和艾滋病。

本发明的另一方面涉及包含式 I 多糖化合物的药物组合物。

本申请包括下列附图和表格：

图 1 是分离 PF2 的图解。

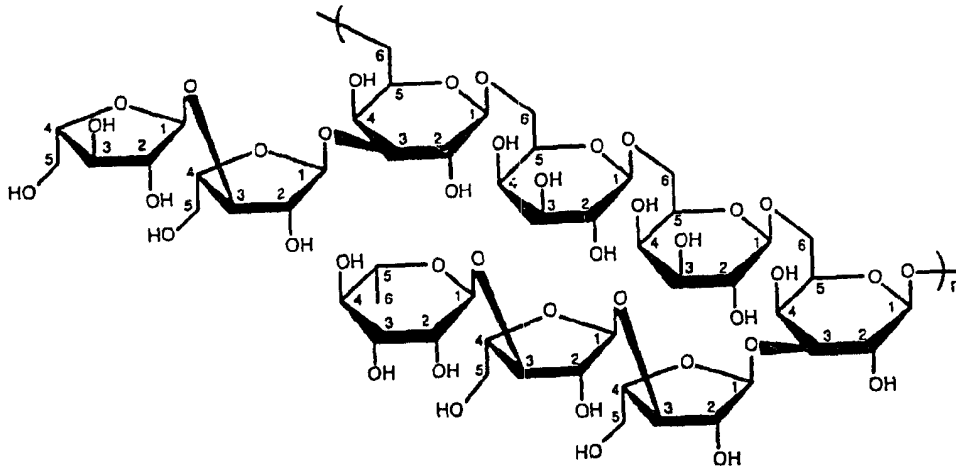
图 2 是分离 PF2R 的图解。

图 3 是 PF2RS8A 的 $^1\text{H-RMN}$ 谱。

图 4 是 PF2RS8A 的 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱。

式 I 化合物的构型结构为:

图解 II



其中 $n=7-8$

该多糖化合物的平均分子量为约 10000。

本发明第二方面涉及获得式 I 多糖化合物的方法。此方法包括：首先，根据我们同时待审的与本申请同时提交的名为“制备植物的含水提取物的方法以及如此获得的提取物”的专利申请中公开的方法从植物金盏花 (*Calendula officinalis*) 中获得一种含水提取物；其次，通过由生物测定指导的分离技术的组合来分离该多糖。

金盏花 (*Calendula officinalis*) 的含水提取物通过使该植物的花经历以下过程来获得：

- a) 对花进行去污净化；
- b) 将花粉碎；
- c) 对粉碎的花进行激光辐射处理；
- d) 将步骤 c) 获得的混合物悬浮于水中；
- e) 对步骤 d) 中获得的悬浮液进行浸渍处理；
- f) 分离所得的液体。

去污净化 (步骤 a) 通过用水清洗金盏花 (*Calendula officinalis*) 的花来完成。此步骤中所用水量不是决定性的，可根据植物的污染状况而变化。尽管不排除较高和较低的温度，水温应在 $10-40^{\circ}\text{C}$ 之间，优选在 $20-35^{\circ}\text{C}$ 之间，最优选 28°C 。可用洗涤槽来

易化此步骤。水量和植物在洗涤槽内停留的时间这两者都不是决定性的，并因此可以根据植物的污染状况而变化。清洗步骤可进行数次，每两次之间要有干燥的步骤。该干燥步骤优选通过将植物置于阳光下来完成。

一旦花得到完全净化后，通过传统方法诸如粉碎机或者甚至是手工来进行粉碎。尽管不排除较高和较低的温度，应该在 10 - 40℃ 之间对花进行粉碎。

接下来对粉碎的花进行激光辐射处理（步骤 c）。作为激光辐射源，优选使用谐波发生波长在 150 - 810nm 范围内的红色线性激光二极管，激光辐射的波长更优选为 200 - 400nm，最优选 250nm。激光辐射的能量优选为 1 - 60 瓦特，更优选 10 - 30 瓦特，最优选 20 瓦特。光点的直径优选为 1 至 6 毫米，更优选 2 至 5 毫米，最优选 4 毫米。将粉碎的植物暴露于激光辐射以使全部或者大部分的混合物受到照射，这可以通过手工操作将激光发生器移动通过粉碎的植物或者通过将粉碎的物质置于传送带上通过一组数个激光发生器。优选每公斤的粉碎物质经激光辐射处理 3 至 10 分钟，更优选 5 分钟。尽管不排除较高和较低的温度，应该在 10 - 40℃ 之间对粉碎的植物进行激光辐射处理。

接着将经激光处理的物质悬浮在水中（步骤 d）。此步骤可以使用任何商购的矿泉水。使每升水中存在 50 至 300 克，优选 100 至 250 克经激光处理的物质来完成悬浮。尽管不排除较高和较低的温度，应该在 10 - 40℃ 之间将粉碎的植物悬浮在水中。

然后将悬浮液在 2 - 10℃ 优选 4 - 8℃ 下放置 5 至 20 天时间，优选 7 至 15 天，从而浸渍混合物（步骤 e）。

最后，在浸渍步骤之后，将液相与固相分离（步骤 f）。可对固体进行挤压以有助于分离。分离可以单单通过倾析来完成，或者优选通过倾析然后过滤来完成。优选在压力下进行过滤。最优选利用 5 μ m、1 μ m 和 0.22 μ m 的滤器进行三次连续的加压过滤。尽管不排除较高和较低的温度，应该在 10 - 40℃ 之间进行分离。

最终，获得了一种赭色含水提取物。

接下来将这样获得的提取物进行分离过程，包括由生物测定指导的用甲醇进行沉淀、离心和层析分离。运用的生物测定是根据参考文献 Max W.等人 *Journal of Natural Products*, vol. 54, no. 6, pp. 1531-1542 (1991) 将样品加入从小鼠分离的淋巴细胞而在体外进行的，监测胸苷的掺入，其意味着 DNA 的复制。这种掺入指示淋巴细胞数量的增加和淋巴细胞活性的增加。运用的这些分离技术包括用乙醇进行反复沉淀、离心、透析和/或柱层析。

于是，将 112 升之前获得的含水提取物冻干产生 800 克棕褐色粉末（“PF2”）。将该粉末分成可溶于 MeOH 的物质和不溶于 MeOH 的残余物（PF2R, 350 克），其显示出淋巴细胞转化活性。将此物质的一部分（80 克）进行 MeOH 沉淀、离心、透析和/或 Sephadex DEAE 柱层析，导致多种结晶物质的分离，这些物质经测定为无活性的无机盐（图 1）。

用终浓度为 25%、50%和 67%的 MeOH 沉淀 PF2R 的一部分（270 克），得到活性沉淀物。最有活性的物质是从 50% MeOH 溶液得到的沉淀物（PF2RS8, 51.2 克, LT=+1059%）。将 5 克 PF2RS8 溶解于水，然后进行离心，并将上清在 Sephadex G-25 上进行层析分离，得到命名为 PF2RS8A（0.13 克, LT=+1074%）的富含活性多糖的级分。随后，从第二部分（6 克）50% MeOH 沉淀物中获得命名为 PF2RS8A'（0.3 克）的相同级分。如图 2 所示，许多其它级分和晶体物质被分离，但是，没有一种显示出 PF2RS8A 的 LT 活性水平。

用光谱学（ ^1H , ^{13}C -NMR 和 DEPT 谱）和化学分析（用 TFA 水解并在硅胶 TLC 上分析）对 PF2RS8A 进行表征。见图 3, 4 和 5。

将更多的活性多糖混合物 PF2RS8A（1.4 克）从剩余的 50% MeOH 沉淀物（PF2RS8）中分离出来。同时，对部分（2.0 克）67% MeOH 不溶性级分（PF2RS9, LT=+735%）进行处理，分离出一种多糖混合物（PF2RS9A, 0.3 克）， ^1H -NMR 分析显示其与 PF8RS8A 是相同的。因此，将 PF2RS9A（0.2 克）与 PF2RS8A（1.4 克）相混合，并将命名为

“PF2S8B”的该混合物用 Sephadex G-50 (20-80mm) 进行进一步分离, 如图 6 所示。用水洗脱产生 6 个级分 (PF2RS8B1, 2, 3, 4, 5 和 6), 使用蒸发光散射和 UV 探测 (图 7 和图 8) 的 HPLC 分析显示, 只有主要分离物 PF2RS8B2 是均一的。 ^1H 和 ^{13}C -NMR 光谱分析 (图 9 和图 10) 显示这种分离物的光谱与对于 PF2RS8A 所获得的 (图 3 和图 4) 极其相似, 这意味着此物质是混合物中主要的多糖。因此级分 PF2RS8B2 由式 I 的多糖和水组成。后者可以通过本领域中所知的方法除去。

对均一分离物 PF2RS8B2 及同一测定中的其母体混合物 PF2RS8A 所进行的生物测定分别显示 6203% 和 3532% 的淋巴细胞转化 (LT) 活性 (表 1)。分离物所显示的更高水平的活性提示此多糖是本发明提取物生物学效应的主要活性组成成分。

将活性多糖 PF2RS8B2 (式 I 多糖) 通过光谱学 (^1H , ^{13}C -NMR, HMQC 和 2D ^1H - ^1H COSY 谱) 和化学分析 (用 TFA 水解并在硅胶 TLC 上分析) 来阐明。在 δ 5.3 和 3.2ppm 的 ^1H -RMN 信号 (图 9) 指示多糖。在 δ 111.9 (d) 和 110.1 (d) ppm 的 ^{13}C -NMR 信号 (图 10 至 12) 归于 1 \rightarrow 3 连接的 α -L-阿拉伯呋喃糖和末端 α -L-阿拉伯呋喃糖 (分别表示为 Araf 和 Araf') 的异头碳。在 δ 106.1 (d) 和 105.9 (d) ppm 的信号归于 1 \rightarrow 6 连接 β -D-吡喃半乳糖和 1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 6 连接的 β -D-吡喃半乳糖 (分别表示为 Galp' 和 Galp) 的异头碳, 而在 δ 100.2 (d) ppm 的信号则归于 α -L-吡喃鼠李糖 (表示为 Rhap) 的异头碳。由于其在 ^1H -RMN 谱中的相对低场位移, 异头质子信号 (H-1) 也很容易识别。在 HMQC 谱 (图 13) 中观察到的质子与碳-13 信号之间的直接关联将 δ 5.08 (brs), 5.23 (brs), 4.47 (d, $J=7.9\text{Hz}$), 4.53 (d, $J=7.3\text{Hz}$) 和 5.1 (brs) ppm 的 ^1H -RMN 信号确定为 α -L-阿拉伯呋喃糖 (Araf'), α -L-阿拉伯呋喃糖 (Araf)、 β -D-吡喃半乳糖 (Galp'), β -D-吡喃半乳糖 (Galp) 和 α -L-吡喃鼠李糖 (Rhap) 的异头质子。采用这些信号作为参照, 可以通过分析 2D ^1H - ^1H COSY 谱 (图 14、15) 来追踪其它质子信号。类似

地, 相应的碳信号由 HMQC 谱 (图 13、16 和表 2) 来定义。如下所述确定糖单元的序列: 在 Araf (δ 79.4) 和 Galp (δ 82.8) 的 C-3 的信号和在 Galp 和 Galp' (δ 69.2) 的 C-6 的信号的下场位移提示这些碳连接到其它糖单元。观察到在 HMBC 谱 (图 17) 中 Araf 的 C-1 与 Galp 和 Galp' 的 C-6 之间的长程相关, 这提示 1 \rightarrow 6 连接的 β -D-吡喃半乳糖主链。观察到 Araf 的 C-1 与 Galp 的 C-3 之间的长程相关 (图 18), 则 Araf1 \rightarrow 3 连接至 Galp。从 ^1H -RMN 谱 (图 9), 根据异头质子峰的积分值计算糖的比值为 Araf:Araf':Galp:Galp':Rhap/3:1:2:2:1。因此阐明 PF2RS8B2 为一种大的支链多糖, 其主要结构如式 I 所示 (图解 I)。图解 II 代表相同的结构, 显示各糖的立体化学构型。

为了证实组分糖的身份, 将 PF2RS8B2 用 TFA (0.5M, 100 - 120 $^{\circ}\text{C}$) 水解然后进行 TLC 分析 (图 19)。很容易辨别主要糖 α -L-阿拉伯呋喃糖和 β -D-吡喃半乳糖的存在, 而检测次要糖 α -L-吡喃鼠李糖的存在则更困难些, 大概是由于加到 TLC 板的水解产物的量的问题。

PF2RS8B2 的分子量通过凝胶渗透 (大小排阻) 层析来估计。这样估算的 PF2RS8B2 的平均分子量是 10000 (见图 20)。

如以下实施例所反映, 式 I 多糖化合物意外地显示出作为免疫刺激物非常高的活性。因此, 本发明的第三方面涉及式 I 多糖化合物作为治疗剂在治疗免疫抑制疾病如癌症、结核病、流感、普通感冒、过敏、红斑狼疮、牛皮癣和艾滋病中的用途。癌症的非限定性实例有肝癌、肺癌、肾癌、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌或前列腺腺癌、脑癌如星形细胞瘤和成胶质细胞瘤、宫颈癌和膀胱癌。

本发明第四方面涉及包含式 I 多糖体化合物的药物组合物。

根据本发明的多糖可以单独作为纯物质或以药物制剂的形式给药, 尽管本发明的化合物优选组合给药。所述药物组合优选以下列制剂的形式: 其 1) 含单独的本发明的多糖, 2) 含一种或多种合适的粘合剂、载体和/或其它辅助材料, 和 3) 还可以包含另外的治疗活性物质。

载体物质、粘合剂和/或辅助材料必须是制药学和药理学可耐受的，这样它们才能与配方或制剂的其它成分相组合而对所治疗的机体不产生不良影响。

所述制剂包括那些适于口服或胃肠外（包括皮下、皮内、肌内和静脉内）给药的制剂，尽管最佳的给药途径取决于患者的状况。

所述制剂可以采用单剂的形式。根据药理学领域已知的方法配制所述制剂。适于给药的活性物质的适宜量可根据具体治疗领域而不同。通常，单剂配方中活性物质浓度占总制剂的5%至95%。

本申请所提供的发明通过下列实施例进行举例说明：

实施例 1：根据本发明的方法制备金盏花（*Calendula officinalis*）的花的含水提取物。

将 500 克金盏花（*Calendula officinalis*）的花置于洗涤槽中用约 28℃ 的水进行充分清洗。之后将花用粉碎机进行粉碎。将所得的 500 克经过粉碎的物质用能产生波长为 250nm 的谐波、功率为 20 瓦特、光点直径为 4 毫米的红色线性激光二极管进行处理。通过手工将激光发生器穿过粉碎后的物质 2.5 分钟来完成处理，这样全部或大部分的混合物得到辐射。之后将激光处理过的物质悬浮于约 20℃ 的 2 升水中，并将此悬浮液置于 4℃ 12 天。最后，将液相与固相分离：先将液体倾析（挤压固体物质以促进分离），然后，在约 20℃ 下用 5μm、1μm 和 0.22μm 的滤器进行三次连续加压过滤。整个过程获得约 1.7 升赭色的溶液（含水提取物）。

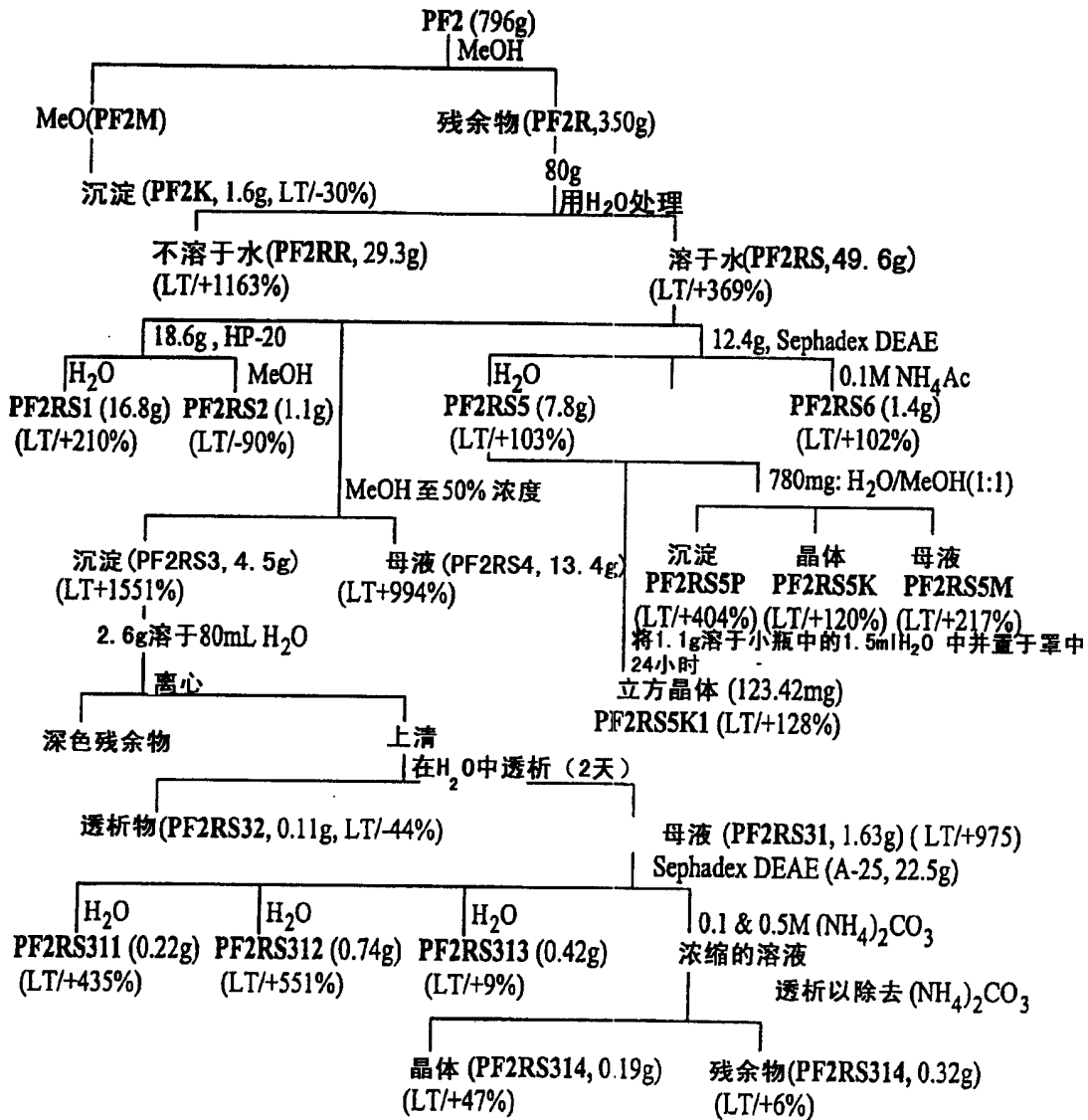
实施例 2：如说明书 6 至 7 页所公开的内容分离式 I 多糖

实施例 3：通过量化淋巴细胞转化活性（LTA），对式 I 多糖进行测试，以确定其作为免疫刺激物的活性。淋巴细胞转化活性意指淋巴细胞从休眠状态转化为激活状态，这对于通过免疫学机制来抵抗疾病或者恢复可能由于不同因素而被削弱的免疫系统是必需的。测试是根据参考文献 Max, W. 等人 *Journal of Natural Products*, vol. 54, no. 6, pp. 1531-1542 (1991)，通过在体外将本发明的多糖溶液加入从小鼠分离的淋巴细胞来进行的。监测胸苷的掺入，其意味着

DNA 的复制。这种掺入指示淋巴细胞数量的增多和淋巴细胞活性的增加。

式 I 多糖相对于未受刺激的淋巴细胞呈现出 LTA 为 + 6203%。

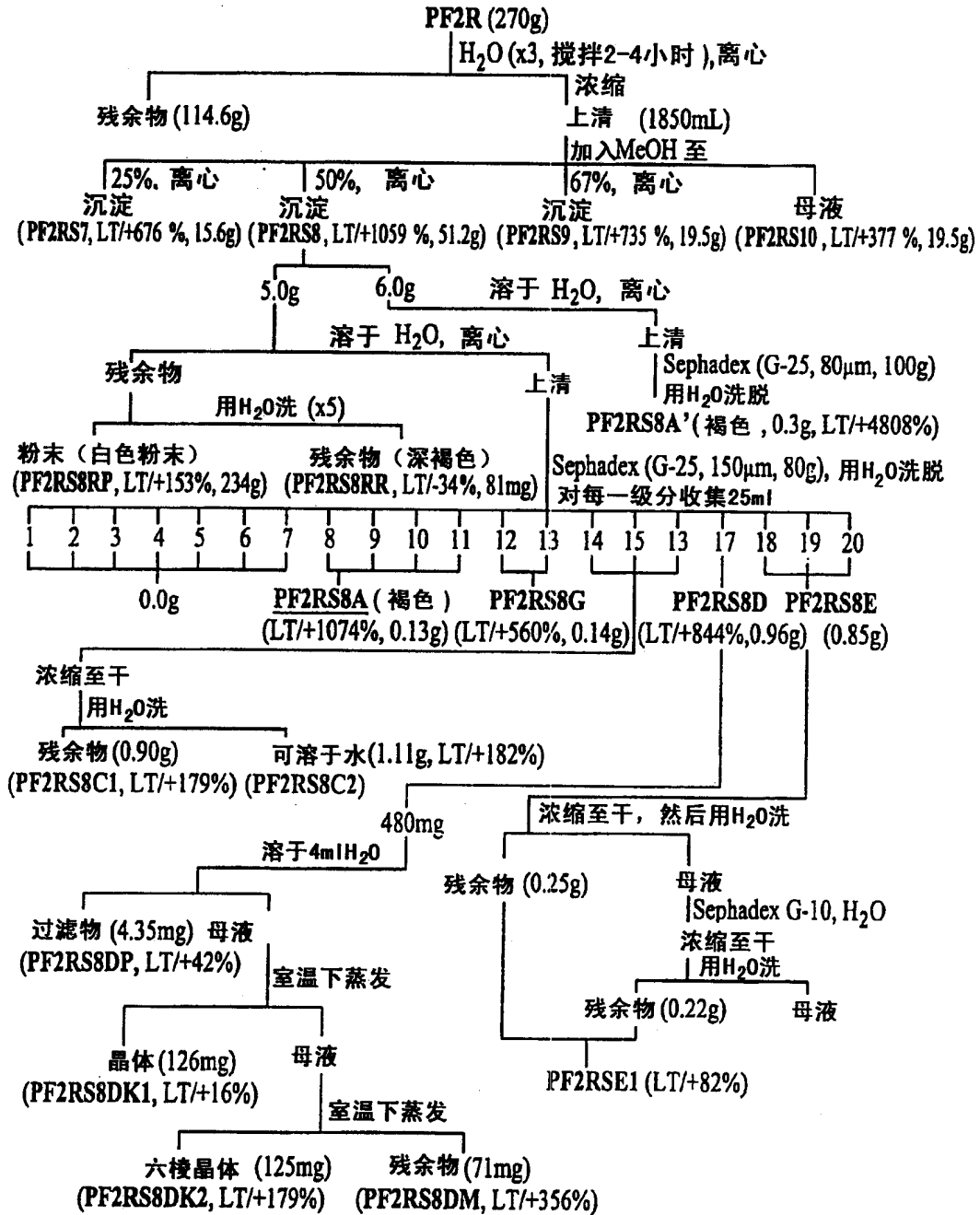
图1



LT: 淋巴细胞转化活性:

对PF2由生物活性指导的植物化学分离

图2



LT: 淋巴细胞转化活性

对PF2R由生物活性指导的植物化学分离

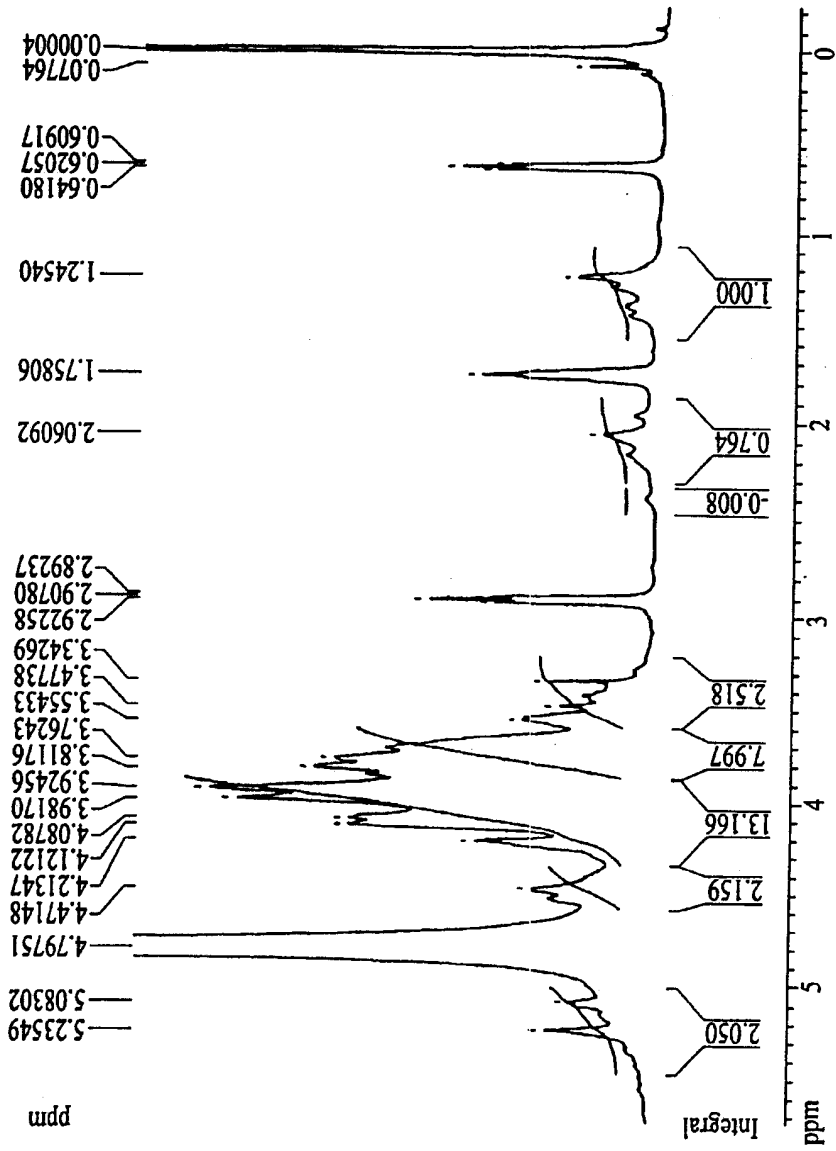


图3 PF2RS8A的¹H NMR谱(500MHz, D₂O, 参照DSS)

图3

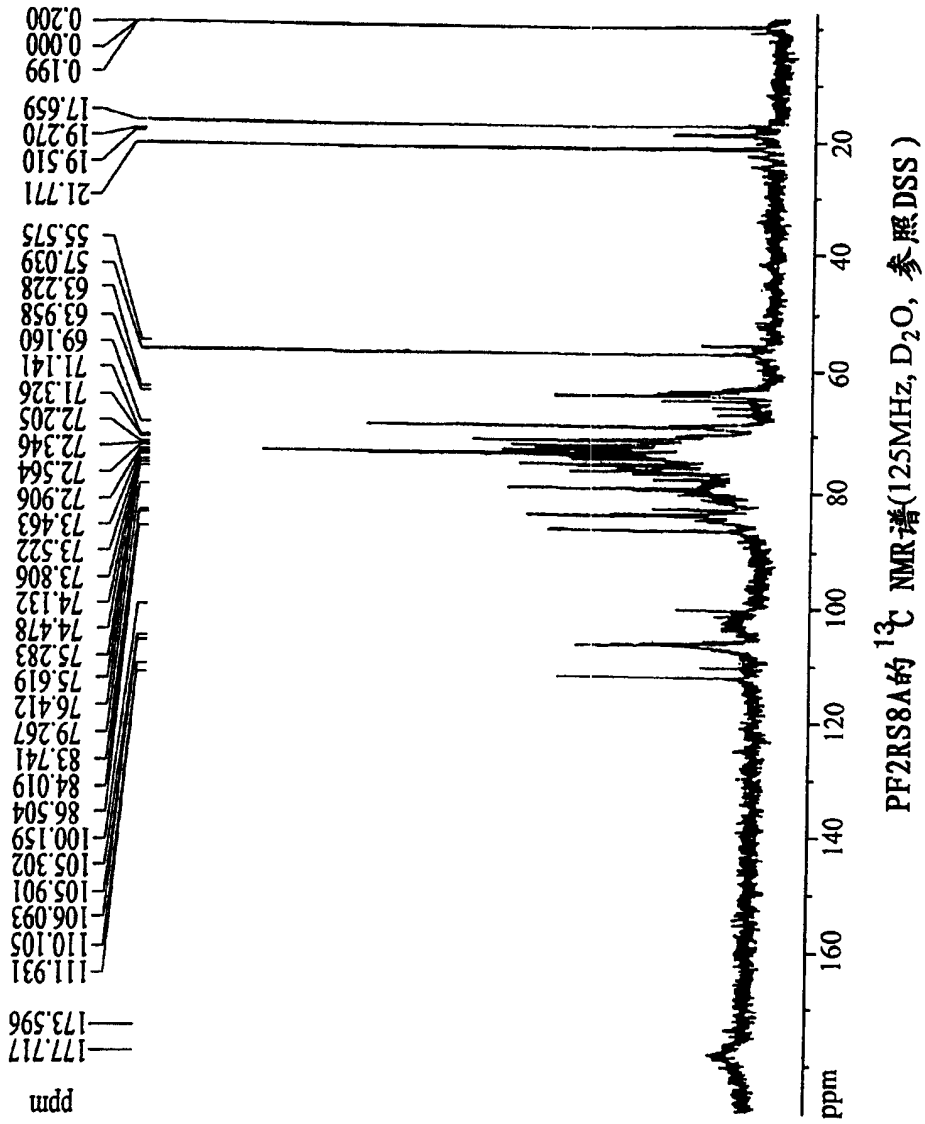
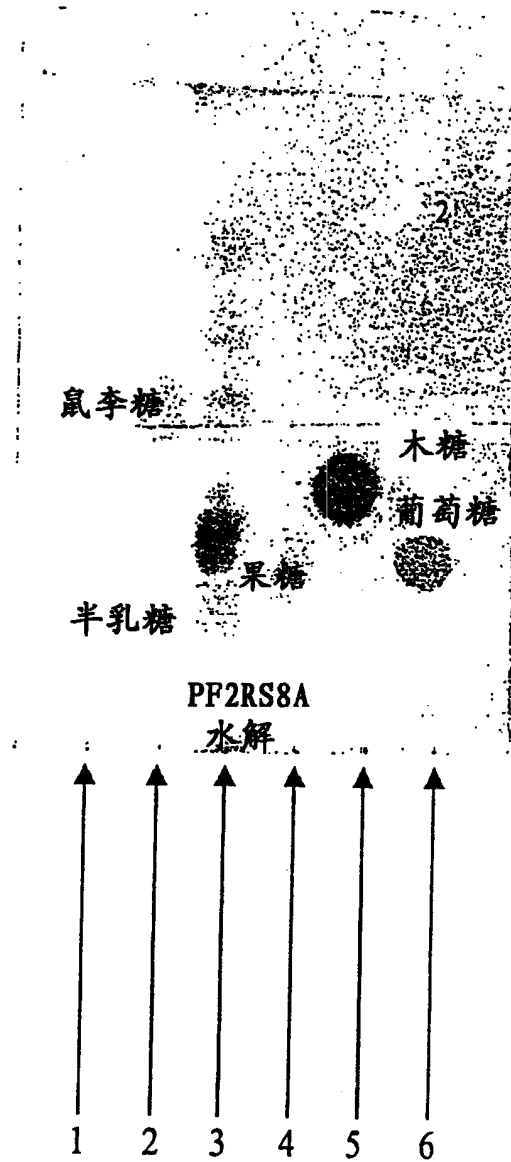


图4



1. 半乳糖； 2. 鼠李糖； 3. PF2RS8A的水解产物； 4. 果糖；
5. 木糖； 6. 葡萄糖

PF2RS8A用TFA水解的水解产物与其它单糖的TLC

图 5

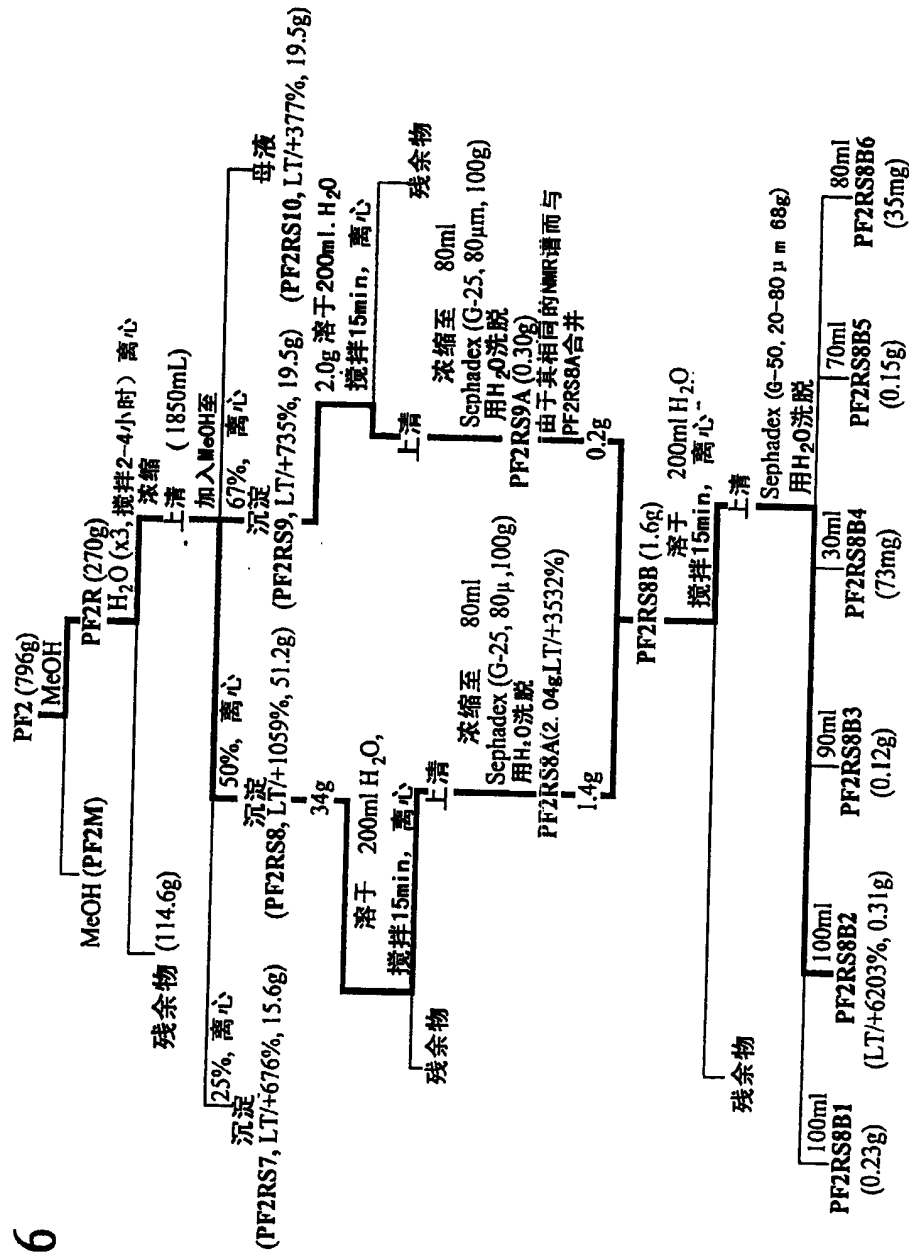


图6

对活性多糖由生物活性指示的植物化学分离

自动定标测量层析

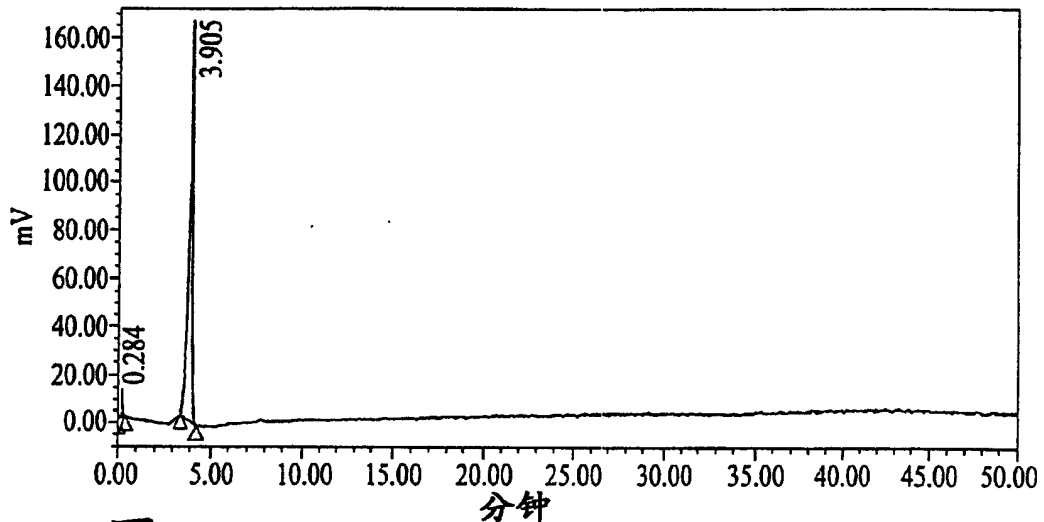
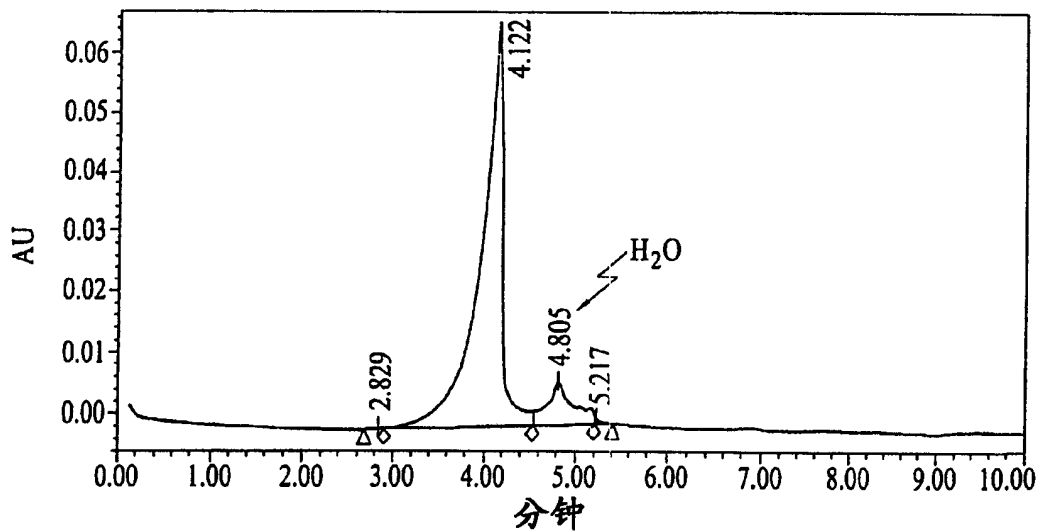


图7 在蒸发光散射探测器下PF2RS8B2的HPLC曲线
(Watrex GMB200, 250x8mm, 5 μ m, 1.0ml/min H₂O)

自动定标测量层析



在光电二极管UV探测器下PF2RS8B2的HPLC曲线
(Watrex GMB200, 250x8mm, 5 μ m, 1.0ml/min, H₂O)

图8

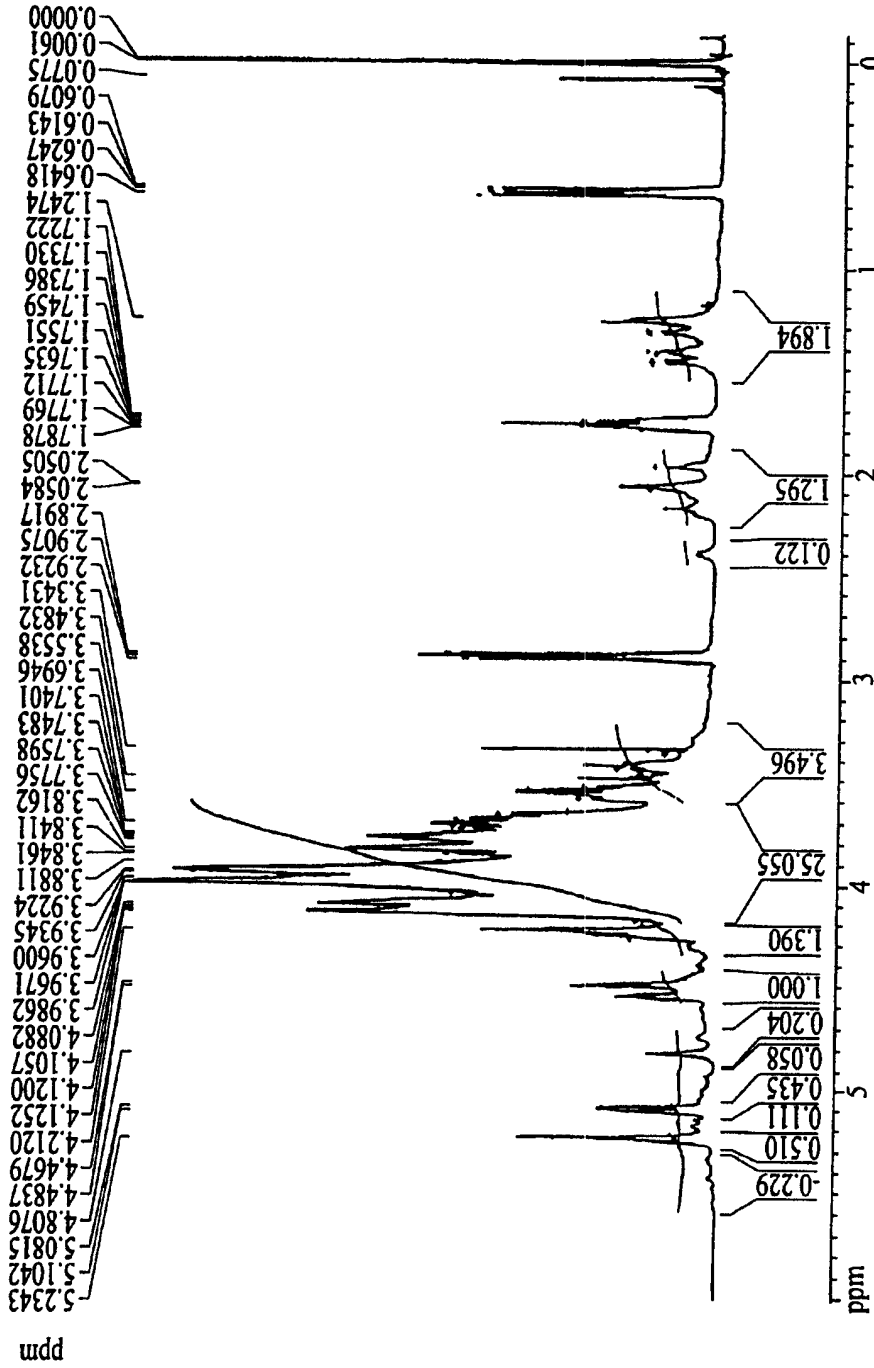


图9 PF2RS8B2的¹H NMR谱(500MHz, D₂O, 参照DSS)

化合物 浓度	样品							
	无 ConA				无 ConA			
	PF2RS8A		PF2RS8B2		PF2RS8A		PF2RS8B2	
	均值±S.D.	%	均值±S.D.	%	均值±S.D.	%	均值±S.D.	%
0	165±31	0	197±51	0				
0.01	311±41	+91	205±49	+24				
0.1	371±51	+127	361±76	+83				
1	556±26	+237	649±48	+229				
10	3829±380	+2220	2348±305	+1092				
100	5993±1760	+3532	12417±3153	+6203				
Con A 8ug/ml	1762±349		1507±250					

表1. 样品PF2RS8A和PF2RS8B2对淋巴细胞转化的作用 (小鼠SMC, 雌性)

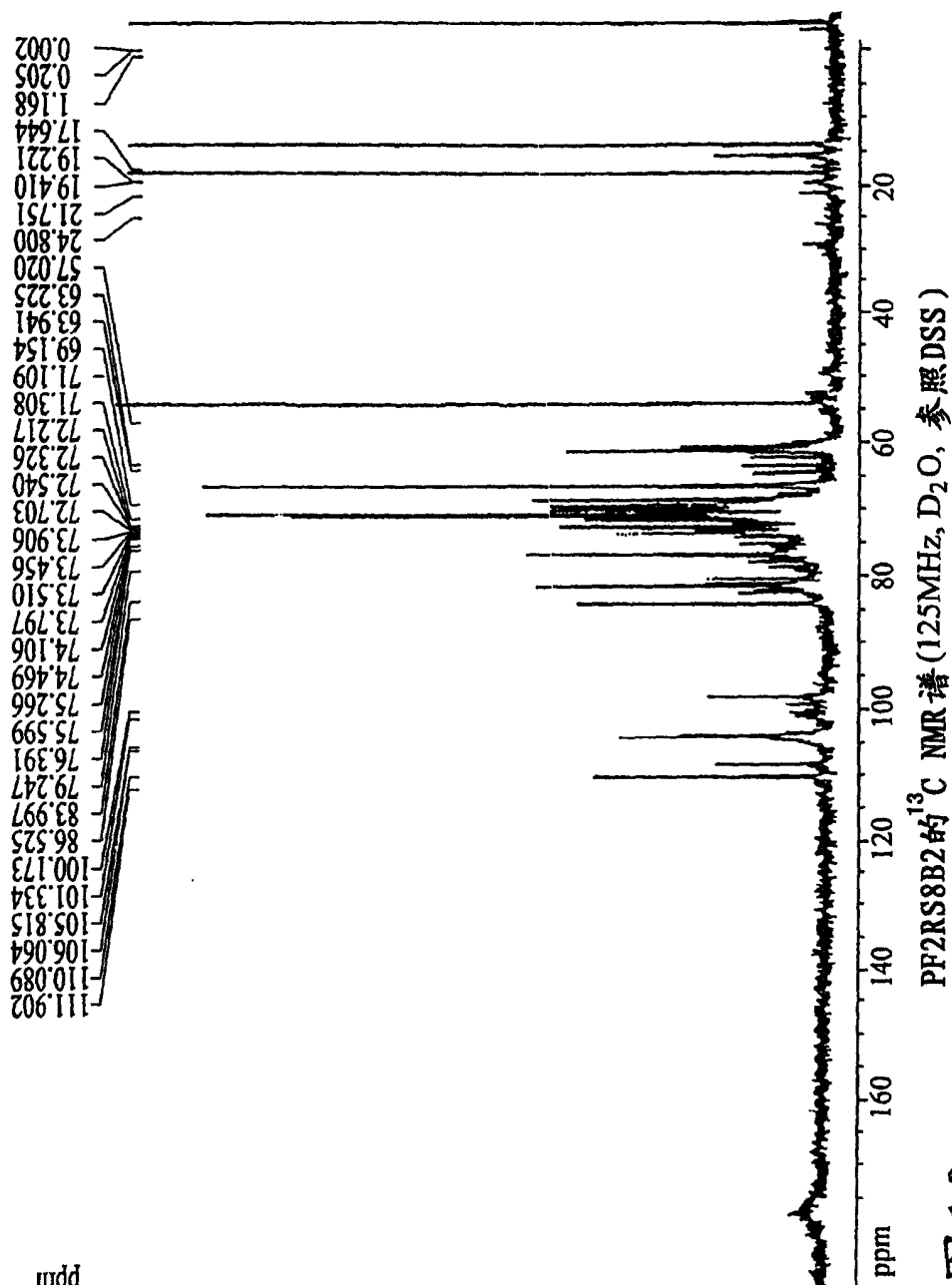


图 10

wdd

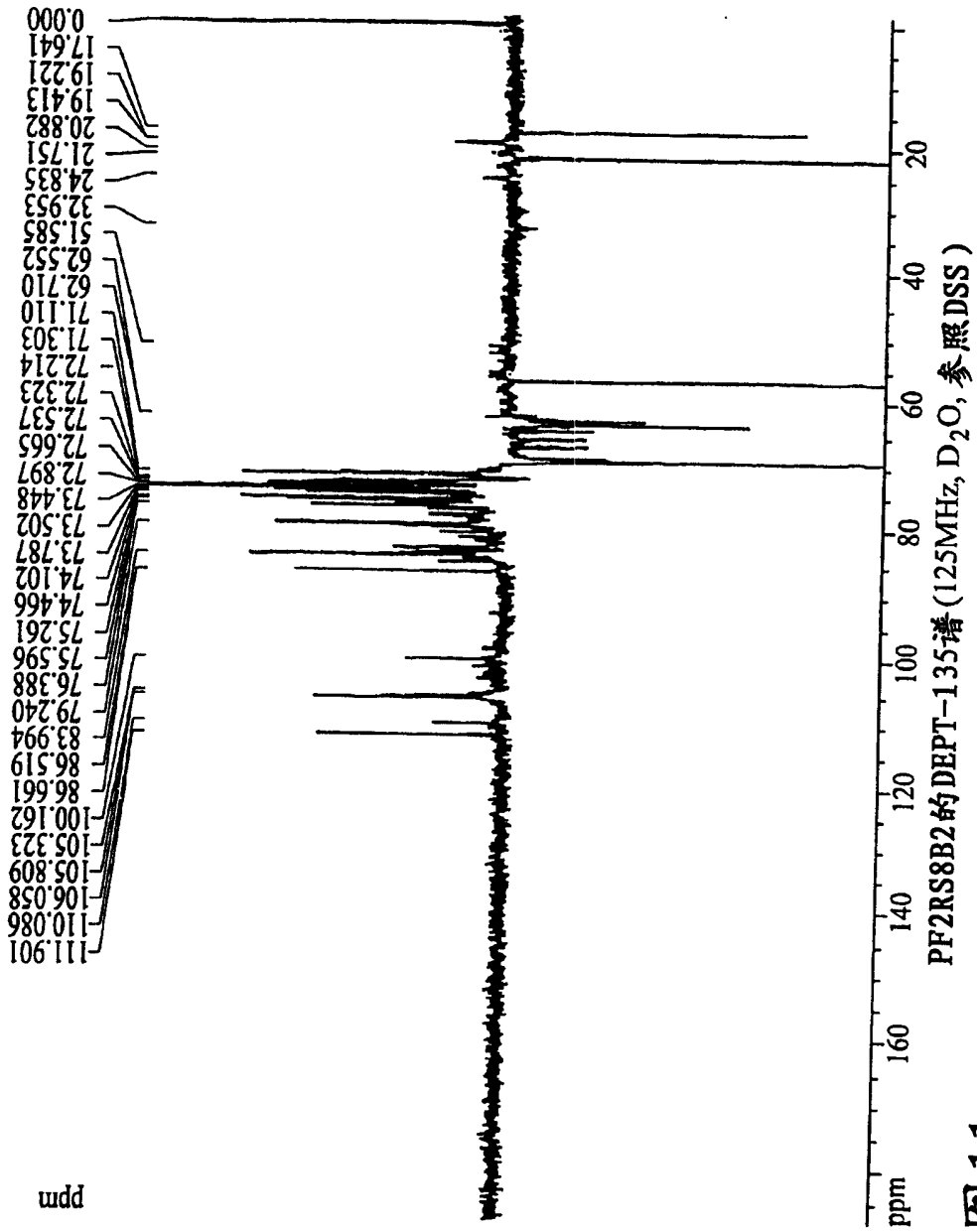


图 11

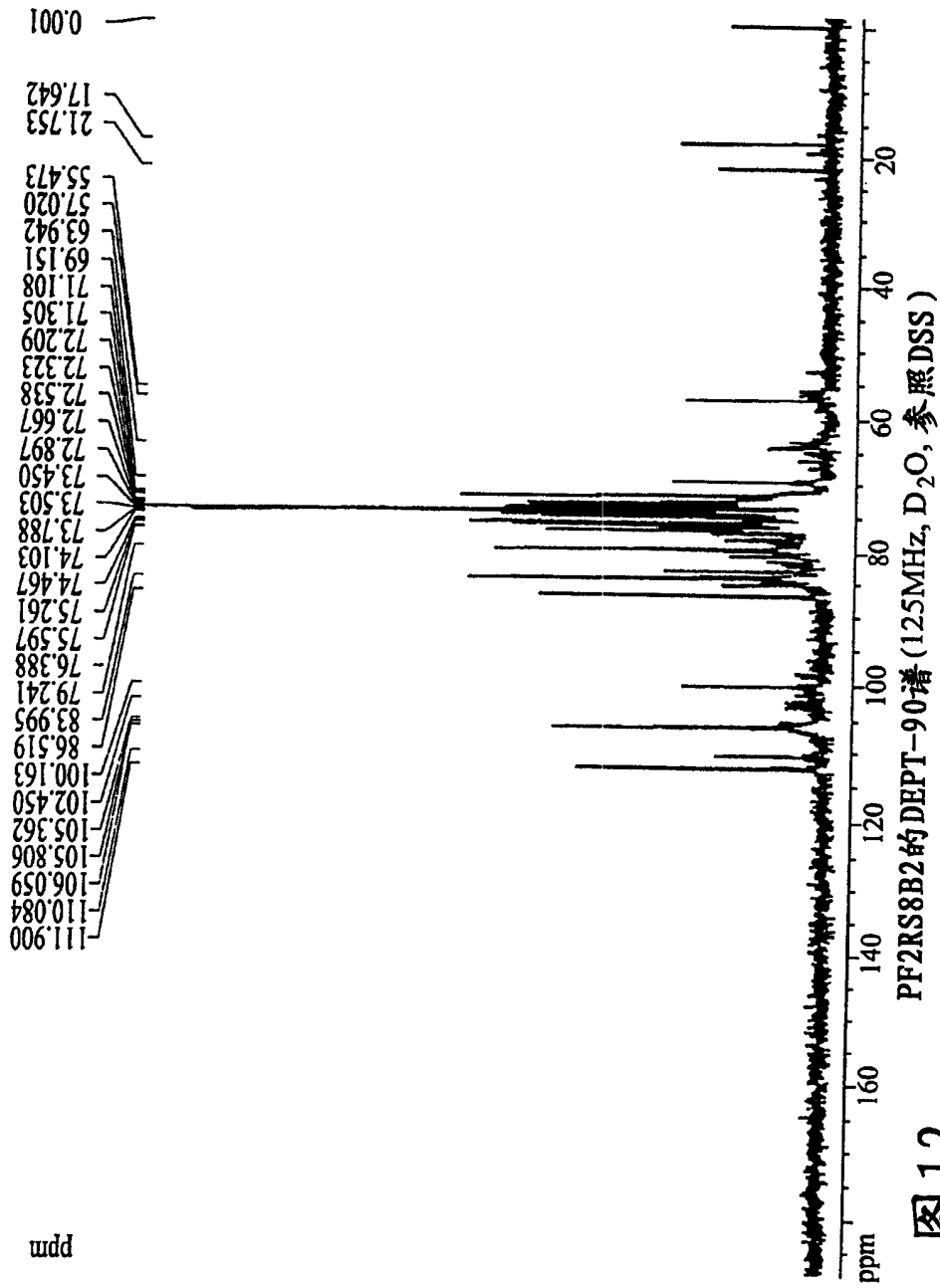
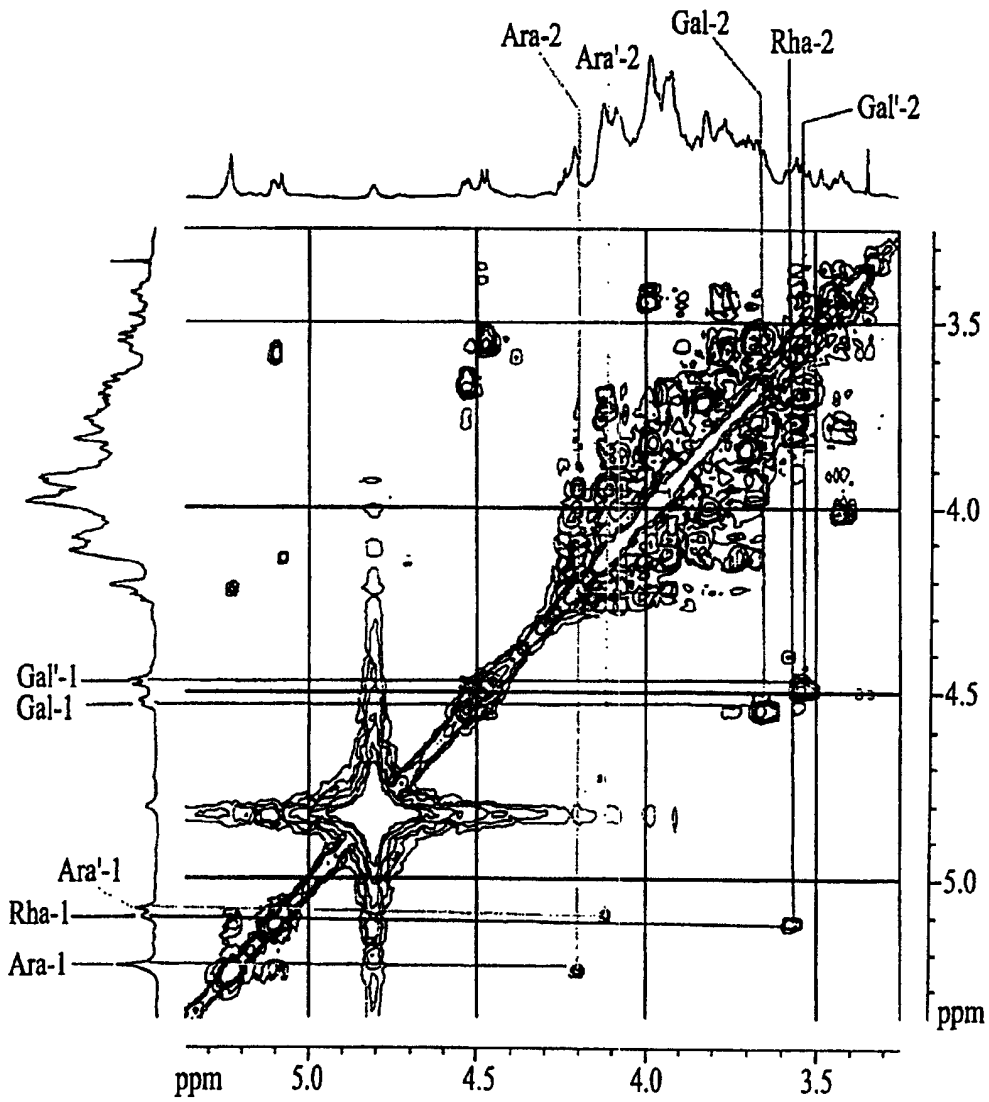


图 12



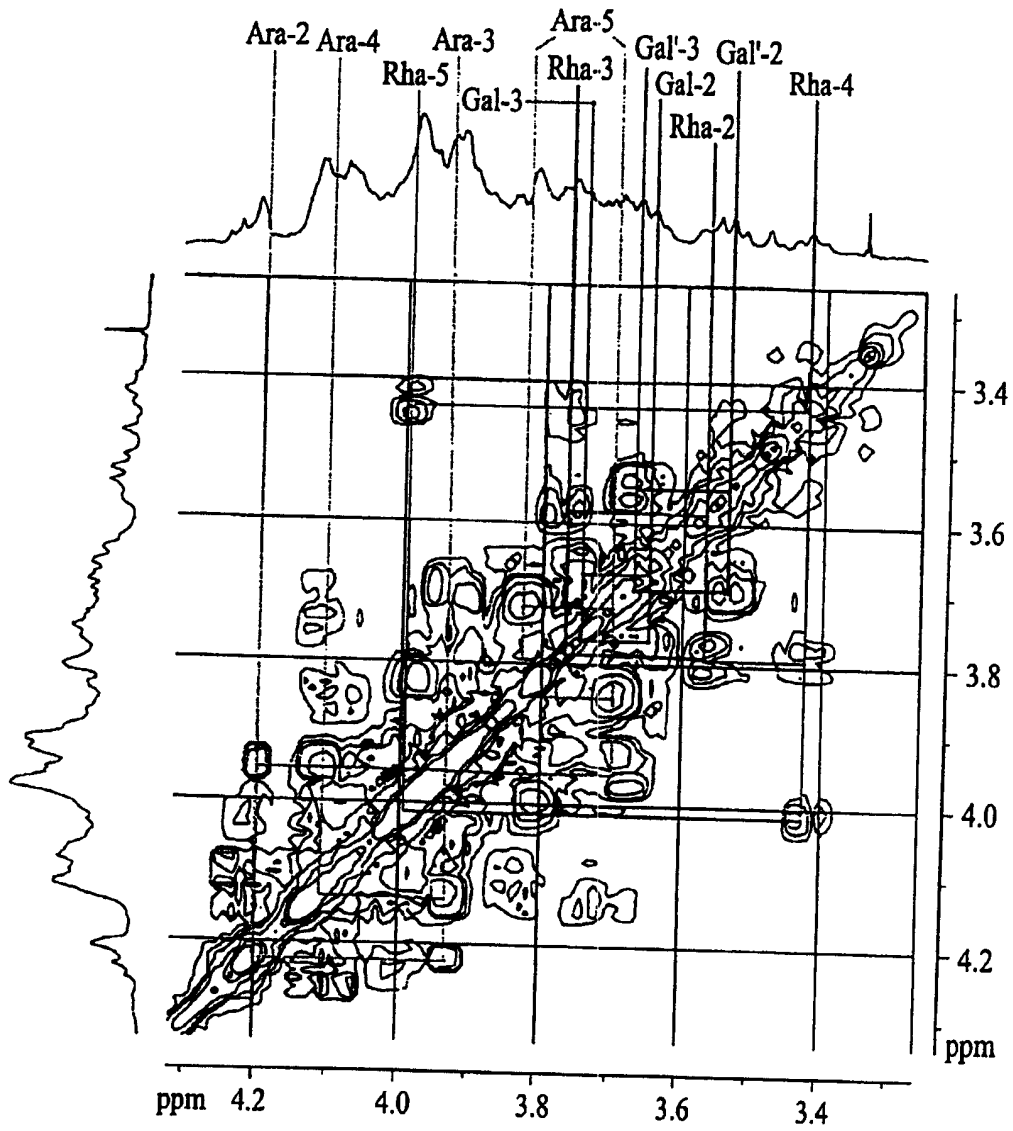
PF2RS8B2的HMQC谱 (500MHz, D₂O)

图13



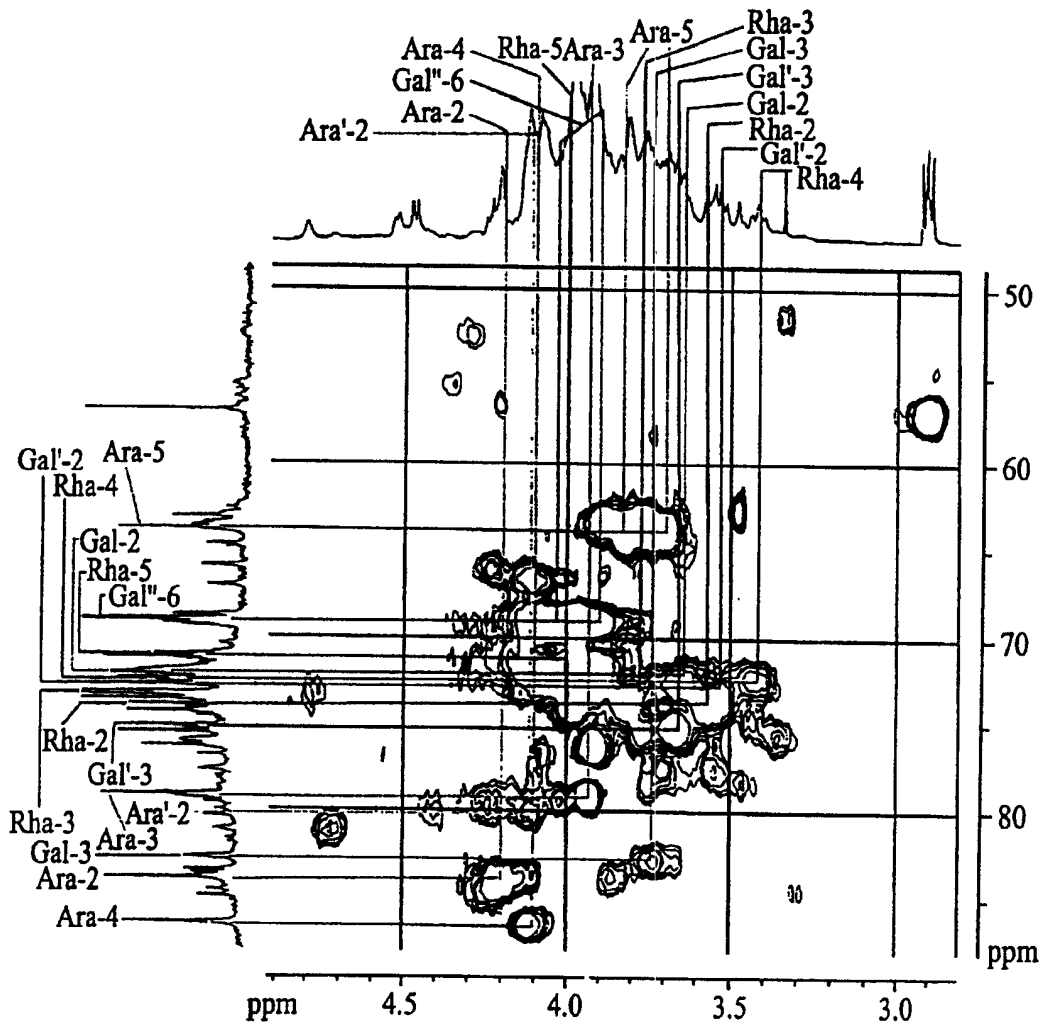
PF2RS8B2的¹H-¹H COSY谱(500MHz, D₂O)

图14



PF2RS8B2的 ^1H - ^1H COSY谱(500MHz, D_2O)

图15

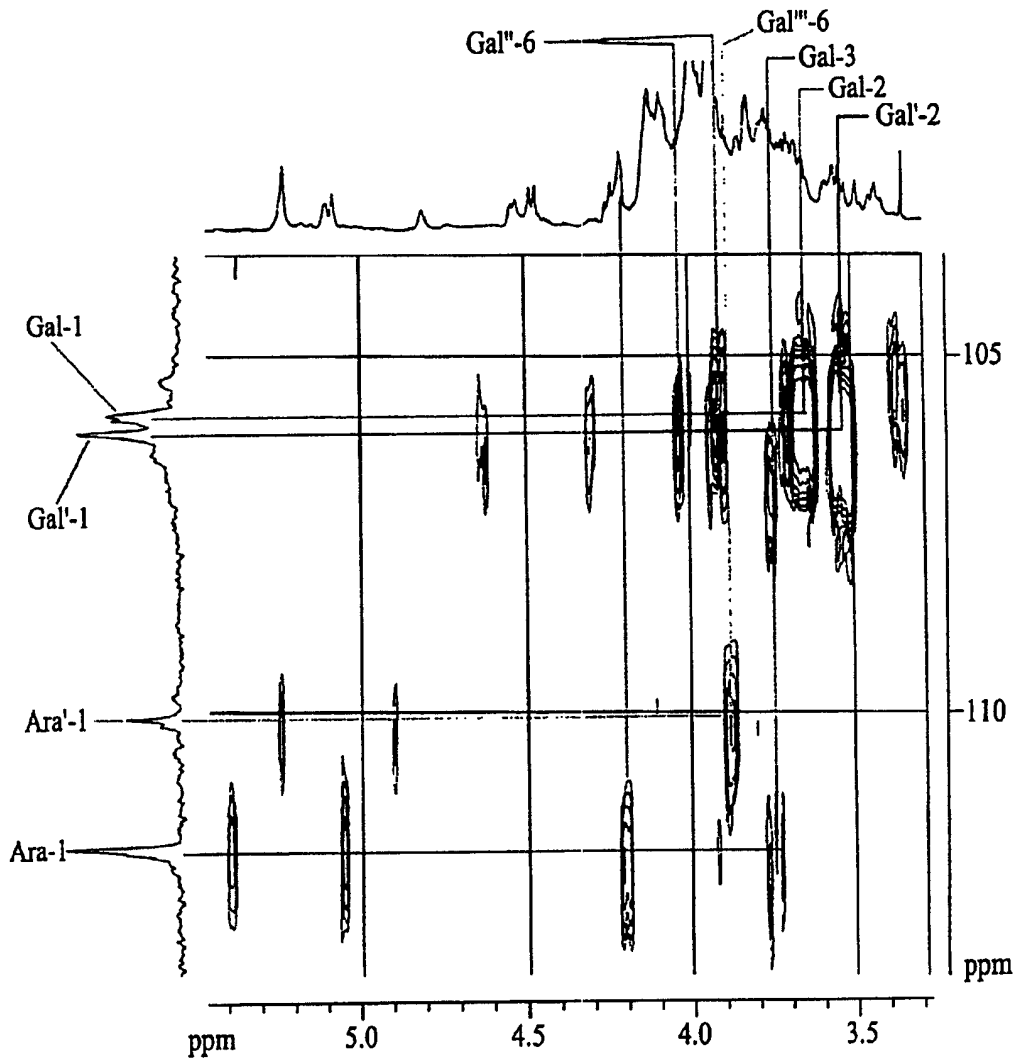


PF2RS8B2的HMQC谱 (500MHz, D₂O)

图 16

糖键	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
Araf-(1→	110.1d	85.0d 84.7d	74.5d	86.7d	63.2t	—
→3)-Araf-(1→	111.9d	84.0d 83.9d 83.7d	79.4d	86.5d	63.9t 63.7t 64.8t	—
→6)-Galp-(1→	106.1d	72.9d	75.3d	72.2d	76.4d	69.2t
→3)	105.9d	73.5	82.8d	73.5d	76.1d	69.2t
→6)	105.8d					
Rhap-(1→	100.2d	72.2d	73.5d	72.5d	71.1d	19.2q

表2. PF2RS8B2的¹³C NMR数据 (D₂O, 参照 DSS, 125MHz)



PF2RS8B2的HMBC谱 (500MHz, D₂O)

图 17

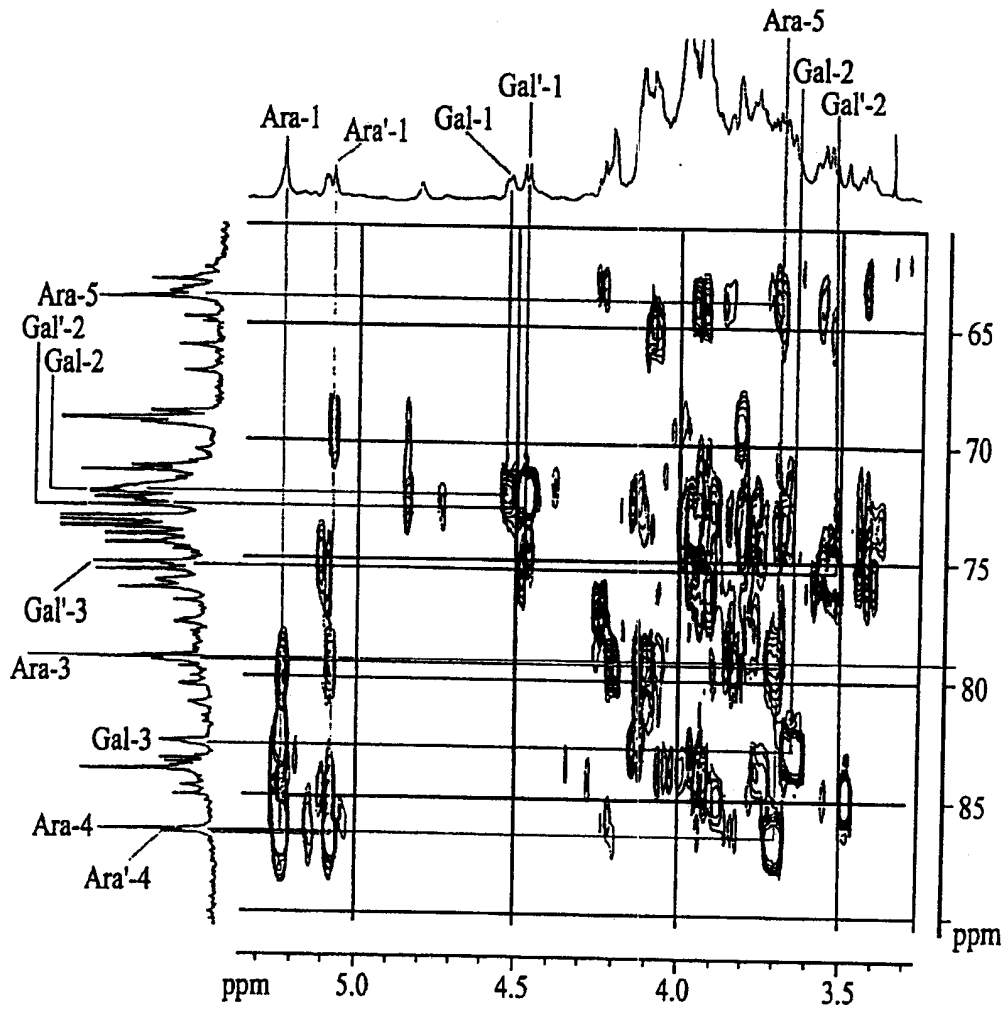
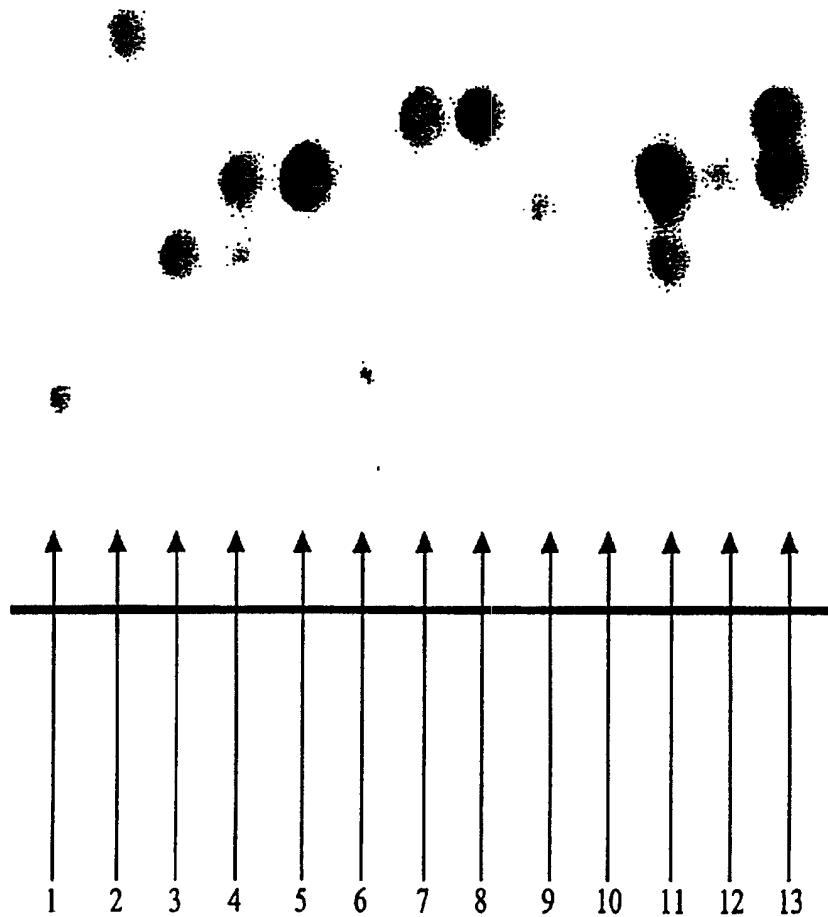
PF2RS8B2的HMBC谱 (500MHz, D₂O)

图 18



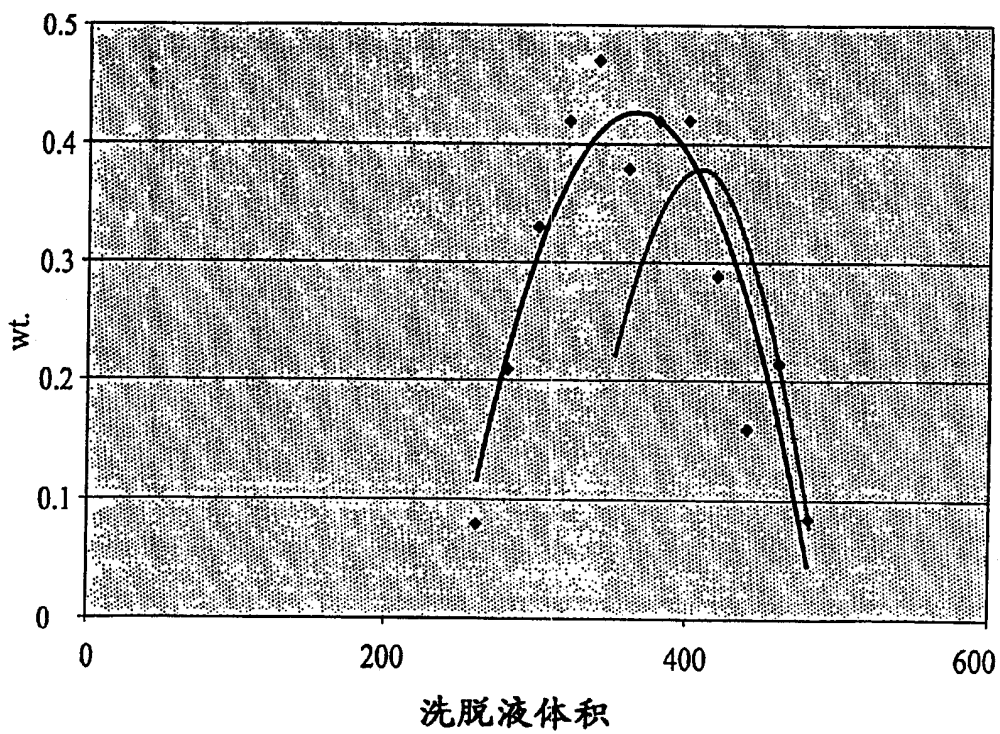
1. D-半乳糖醛酸; 2. L-(+) 鼠李糖; 3. D-(+) 半乳糖;
4. PF2RS8B2的水解产物; 5. L-(+) 阿拉伯糖; 6. D-葡萄糖醛酸;
7. L-(-) 岩藻糖; 8. D-(+) 木糖; 9. D-(+) 葡萄糖;
10. D-(-) 果糖; 11. PF2RS8B2的水解产物、L-(+) 阿拉伯糖与D-(+) 半乳糖的混合物; 12. D-(+) 甘露糖;
13. D-(+) 木糖与L-(+) 阿拉伯糖的混合物。

PF2RS8B2用TFA水解的水解产物与其它单糖的TLC

图19

使用Sephadex G-50对PF23RS8B2的分子量测量

—— 葡聚糖10500标准
—— PF2RS8B2



PF2RS8B2分子量小于10500

图 20