

海藻中的甜菜碱及其类似物*

BETAINES AND THEIR ANALOGUES IN MARINE ALGAE

范晓 周永航

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

1 海藻中的甜菜碱及其类似物的种类和特点

甜菜碱是一种氨基酸或氨基酸衍生物,含有完全甲基化的五价氮,以开环或成环的结构形式存在,其主干结构图如下:

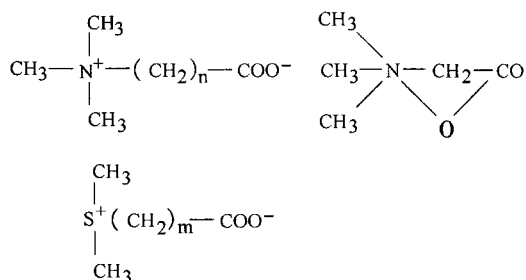


图1 甜菜碱及其类似物的主干结构

由于三甲基的存在,甜菜碱这种季胺盐有着明显的含碱的特性。此外,甜菜碱还是一种典型的表面活性剂。在海藻中发现的甜菜碱有甘氨酸甜菜碱(结构最简单的甜菜碱)^[4,5,6,8]、丙氨酸甜菜碱^[1]、 γ -氨基丁酸甜菜碱^[4,6,8,19]、高丝氨酸甜菜碱[从石纯氨酸衍生物而来,石纯氨酸是由高丝氨酸和甘油形成的一种醚;另一种是从海藻中分离出的高丝氨酸甜菜碱的衍生物,即1(3),2-二酰基甘油基-3(1)-0-4-(N,N,N-三甲基)高丝氨酸]^[2,12]、 δ -氨基戊酸甜菜碱^[8]、N6-三甲基赖氨酸(即昆布氨酸,它不仅是一种季胺衍生物,还

是一种可形成肽键的 α -氨基酸)^[6,8,18]、赖氨酸甜菜碱(其中赖氨酸的两个氮原子都被完全甲基化)^[6]、脯氨酸甜菜碱(亦称水苏碱,即脯氨酸二甲基内盐)^[5,22]、顺-4-羟基脯氨酸甜菜碱、 β -脯氨酸甜菜碱、反-4-羟基- β -脯氨酸甜菜碱^[5,9]、1,3-二甲基组氨酸、吡啶酸甜菜碱、葫芦巴碱(N-甲基烟酸内盐)、龙虾肌碱、N,N-二甲基-1,2,3,6-四氢吡啶-2-羧酸盐(蓓豆甜菜碱)^[10,22,23]。

甜菜碱的类似物包括其他的季胺化合物和叔硫化合物两大类。海藻中的其他季胺化合物有胆碱、乙酰胆碱、丙烯酸胆碱、胆碱硫酸脂、牛黄酸、N-甲基牛黄酸、N,N-二甲基牛黄酸、三甲基牛黄酸^[3]、酪胺甲基化衍生物(大麦芽碱,即对二甲基乙基苯酚)、三种类型的甜菜碱脂[1,2-二酰基甘油-3-0-羧基甲基胆碱(DGCC);1,2-二酰基甘油-0-2,-(羧甲基)-(N,N,N-三甲基)- β -丙氨酸(DGTA);1,2-二酰基甘油-0-4(N,N,N-三甲基)高丝氨酸(DGTS)^[16]。]N-(5-胺基戊基)三甲基氨(即泡叶氨酸,与昆布氨酸密切相关,只是缺少羧基)^[8]、6-氨基-6-羟基-2-三甲基己酸、三甲基胺、三甲基胺氧化物^[21]。

海藻中发现的叔硫化合物有两种:3-二甲基硫代丙酸(经由酶水解产生二甲基硫化物和丙烯酸)和(-)-(s)-4-二甲基硫代-2-甲氧基丁酸^[20]。

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第3280号。

收稿日期:1998-05-19;修回日期:1998-11-02

2 海藻中甜菜碱及其类似物的作用和应用前景

海藻中大多数的甜菜碱及其类似物的作用还不太清楚,它们可能参与海藻的各种化学运输、充当大分子的组分、在抗水、盐逆境中起到一定的作用。由于这些化合物的多样性及分布的特异性,而且人们对它们的生物合成及代谢机制缺乏深刻的认识,迄今它们的功能还不明确。

首先,它们可能参与一些代谢途径中的化学基团的转动。例如,3-二甲基硫代丙酸可以代替甲硫氨酸作为甲基源;胆碱及它的酸衍生物甘氨酸甜菜碱可能参与植物中的转甲基反应,甘氨酸甜菜碱的甲基可以整合到胆碱、N-甲基酪胺和大麦芽碱中去。在海藻和高等植物中都发现了类似胆碱磷酸酯(存在于一些高等植物中,可能参与磷酸基团的转运)的化合物胆碱硫酸酯,它可能在硫酸基团的转运中起重要的作用,在石花菜(*Gelidium cartilagineum*)中同时含有胆碱硫酸酯、牛黄酸、N-甲基牛黄酸和N,N-二甲基牛黄酸^[17],可能是牛黄氨酸经由它的N-甲基衍生物和胆碱硫酸酯而与多糖硫酸脂联系起来。类似的是,红藻中大麦芽碱经甲基化而转化成三甲基酪胺,然后经由酶系统将三甲基酪胺硫酸酯的硫酸基团转移至多糖而形成多糖硫酸酯^[15]。因此,它们可能参与了植物中的转甲基、转磷酸基和转硫酸基的活动。在海藻中分布较广的甜菜碱脂把甜菜碱与饱和或不饱和脂肪酸联系起来,说明甜菜碱与脂肪酸的转运有一定的关系。

海藻中的这些化合物有的是一些大分子的组成部分,有的以游离状态存在于海藻中。作为细胞卵磷脂一部分的胆碱在海藻细胞中无处不在,相比之下,发现游离的昆布氨酸则很少,它只是在海藻的细胞色素C中存在,蛋白质的N末端甲基化的氨基酸充当位阻基团,但与较普遍的N末端乙酰化比起来,N末端甲基化在功能上的重要性不为人知。海藻中发现的游离的这类化合物可能是在伺机整合到大分子中去。

在很多生物中特别是海洋无脊椎动物和鱼、海藻及旱生和盐生的高等植物中发现了高浓度的季胺化合物和叔硫化合物,因此这些化合物可能与克服水或盐逆境有关。在高盐环境下或盐浓度波动很大的情况下及干旱或寒冷这样的逆境下,参与生化过程的大分子必须不断地调节,细胞内流体的组成也要不断变化,才能保证细胞功能的连续稳定性,这样,抗水逆境生物就必须有无毒性的胞质渗透剂,渗透剂得与大分

子结构相容并且能在高盐浓度或不断变化的盐度(或两者时)下正常行使功能,胞质渗透剂是高度水溶性的、不带净电荷且最好是位于胞质中。符合这些标准的化合物有低分子量碳水化合物(例如甘油、葡萄糖、甘油、蔗糖、甘露醇和褐藻糖)、氨基酸(特别是脯氨酸)、尿素和甲基胺(比如三甲基氨基氧化物和肌氨酸一起)、季胺化合物和叔硫化合物。甘氨酸甜菜碱极易溶于水,在生理pH值范围内无净电荷,多分布在胞质中,在高盐浓度时也与酶和细胞器的功能相容。在一些高等植物中,甘氨酸甜菜碱的浓度和植物汁的渗透压之间有着密切的相关性,因逆境而产生的有毒的次生产物或是因克服逆境而产生的胞质渗透剂造成了植物在水盐逆境下产生某些化合物的积累^[28],所以甘氨酸甜菜碱可能是通过调节细胞膜行为并作为一种胞质渗透剂而起作用^[24]。甘氨酸甜菜碱和游离的脯氨酸还可以保护酶免于热失活,也许是它们可以保持酶的构象特征或与酶整合。除了甘氨酸甜菜碱,其他类似的化合物^[27],比如乙酰胆碱,也可以调节细胞膜的行为,某些甲基胺、 β -脯氨酸甜菜碱(很多高等植物和一些海藻中亦有此物)、脯氨酸(很多高等植物在逆境情况下能自行积累脯氨酸)、高等植物和海藻中都有的 β -丙氨酸甜菜碱等也有明显的调节渗透压的功能。一些还能积累叔硫化合物,较普遍的是3-二甲基硫代丙酸,这也是一种典型的渗透剂。总之,海藻中的甜菜碱及其类似物可能与克服逆境密切相关,在海藻中发现的高浓度的低分子量碳水化合物对抗逆境也起重要作用,这两类化合物很可能协同作用。海藻中的一些季胺化合物和叔硫化合物的另一种可能的作用是它们可以充当植物生长调节剂,甜菜碱及其类似物也是海藻液体肥(海藻液体浓缩物)中起关键作用的活性物质的组成部分。但要阐明海藻中甜菜碱的多种功能尚有大量的工作要做。

海藻中的甜菜碱及其类似物种类繁多,结构各异,而且很多特定的这类化合物的分布和含量具有惊人的一致性,在目前的基础上经过对海藻中甜菜碱及其类似物的化学组成及分布的广泛研究并解决相关的分类问题,这些化合物将可以作为可信的判据来对海藻进行化学分类^[4,5]。甜菜碱还有很多的药用价值^[7],例如,甘氨酸甜菜碱具有抗抽搐作用^[26],还可作为甲基供体使哺乳动物体内过多的高半胱氨酸转化为甲硫氨酸^[14]。昆布氨酸有降压作用并是一种良好的抗蠕剂。鸟氨酸甜菜碱、龙虾肌碱、葫芦巴碱和某些赖氨酸甜菜碱具有降低血浆中的胆固醇的作用。甜菜碱的化学结构兼有氨基酸和乙酰胆碱二者的特

点,对心肌有保护作用。由于其中很多生物毒性很低,它们作为药物或药物辅料开发的前景远大。

另外,作为叶面喷洒用的海藻提取物有高水平的类细胞激素活性。提取物中除了有细胞激素外,还有很多类细胞激素化合物,甜菜碱便占了这些化合物的大部分。对植物使用季胺化合物显示它们能够促进植物生长^[27],并且能够提高植物叶绿体的含量^[11]。以前认为海藻提取物中对植物生长剂调节的特效成分是细胞激素,但因它的浓度极低,而浓度相对较高的类细胞激素物质的作用可能更大^[11,28]。另外,作为一种典型的表面活性剂且其毒副作用很小。甜菜碱还可以作为化妆品添加剂,促进皮肤对营养物质的吸收,增加化妆品的功效,海藻可以作为甜菜碱这类表面活性剂可取的来源。

3 海藻中甜菜碱及其类似物的分离与鉴定

3.1 特异化学反应分离

将采集的海藻用干净海水涮洗并除去其他杂质。一定量的新鲜海藻,经打浆机粉碎后用乙醇浸泡 24 h。浸泡液经旋转蒸发器浓缩得到粗提物。其后按顺序过阳离子交换树脂柱(强酸型)和阴离子交换树脂柱(强碱型),氨水洗脱。将最后收集到的中性成分分别减压浓缩,得到待用的样品溶液。

样品溶液用盐酸酸化至 pH 值为 1,加入 10 ml 酸化的雷氏盐饱和溶液产生雷纳克酸甜菜碱沉淀。本方法借鉴氨基酸的分离方法并用特异性很高的物

质将甜菜碱及其类似物沉淀下来,不仅减少了干扰,而且能很快地得到甜菜碱及其类似物。总之,这是一种高效、简洁,特别适合于测定海藻中甜菜碱和其类似物总量的方法。

3.2 TLC 分离和鉴定

新鲜海藻粉碎并经乙醇萃取后,萃取液再经减压浓缩和过滤,得到的水相走阳离子交换树脂柱,再经氨水洗脱,洗脱液减压蒸干然后用氨水洗脱,洗脱液减压蒸干后再重新溶于水。用次硝酸铋、碘化钾和水配制成 Dragendorff's 试剂对甜菜碱及其类似物进行定性检测。用制备型的 TLC(硅胶或纤维薄层板,500 μm 厚)进行分离,单向分离效果若不好,则应进一步额头双向分离。经 TLC 展开后用 Dragendorff's 试剂喷雾在层板上显色来进行定性检测。

3.3 HPLC,MS,¹HNMR 检测分析

因为分离得到的甜菜碱及其类似物的含量较小,因此运用 HPLC,MS,¹HNMR 对其进行检测和定量及结构分析是很有必要的,但因与这些物质对应的标准物质在国内难于购得,目前这方面的工作在国内还未开展起来,一旦条件成熟,这方面的工作将对海藻中甜菜碱及其类似物的深层的认识大有裨益。

主要参考文献

- 1 Kato M. . *Phytochemistry*, 1996, 42:1 341~1 345
- 2 Misako Kato, et al. . *Phytochemistry*, 1996, 42(5),1 341~1 345
- 3 Tyihak Erno, et al. . *J. Appl. Phycol.*, 1995, 6: 469~473