

天然产物多糖结构与功能研究

基于大粒车前子多糖
与黑灵芝多糖的深入解析

谢明勇 聂少平 编著

Structure and Bioactivities
of Polysaccharides from Natural Products

Based on the Research Results in the Polysaccharides
from *Ganoderma atrum* and the Seeds of *Plantago asiatica* L.



科学出版社

天然产物多糖结构与功能研究

——基于大粒车前子多糖与黑灵芝多糖的深入解析

谢明勇 聂少平 编著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

大粒车前子(*Plantago asiatica* L.)是我国古代最早、最广泛使用的正品药材之一,车前子种皮中所含大量黏液质为多糖类成分,具有降血糖、促进肠道健康等作用。黑灵芝(*Ganoderma atrum*)是灵芝的一类重要种属,多糖是灵芝子实体水提物的主要功能成分,其生物活性也得到了大量研究证实,具有良好的免疫调节、抗肿瘤、抗氧化等功能。本书以具有江西特色的吉安大粒车前子和赣南黑灵芝为例,详细介绍了本课题组近几年在大粒车前子多糖和黑灵芝多糖的结构和功能领域所做的一些工作,包括车前子多糖精细结构解析、免疫调节和肠道健康改善评价等,同时也系统阐述了黑灵芝多糖精细结构,尤其是较为全面地介绍了其良好的抗氧化、抗肿瘤、免疫调节和心肌保护功能等。本书是涉及糖化学和糖生物学的专著,内容深入浅出,相关结论由大量实验数据作依靠。

本书可供从事天然产物多糖领域研究的科研人员、工程技术人员、管理人员参考,也可作为研究生和高年级本科生的教学参考书。

图书在版编目 CIP 数据

天然产物多糖结构与功能研究:基于大粒车前子多糖与黑灵芝多糖的深入解析/谢明勇,聂少平编著. —北京:科学出版社,2014. 11

ISBN 978-7-03-042043-0

I. ①天… ②谢… ③聂… Ⅱ. ①天然有机化合物-多糖-研究
Ⅳ. ①O629. 12

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 230243 号

责任编辑:李秀伟 郝晨扬 侯彩霞 / 责任校对:胡小洁
责任印制:肖 兴 / 封面设计:北京铭轩堂广告设计有限公司

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

2014 年 11 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2014 年 11 月第一次印刷 印张:19 1/2 插页:8

字数:460 000

定价:108.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

序 一

糖化学与糖生物学是一门非常重要的新兴学科。从化学结构上定义糖,多羟基的醛类称为醛糖,多羟基的酮类则称为酮糖。单糖是自然界中最简单的糖类,比较稳定。作为糖类的结构单元,单糖可以构成寡糖、多糖和各种类型的复合糖类。多糖主要指单独存在的大分子糖链,包括淀粉、果胶、 β -葡聚糖和其他植物多糖等,复合糖类是指和蛋白质或脂类相结合的糖复合物,如糖蛋白、蛋白多糖和糖脂等。糖类用途极为广泛,包括可用作疫苗、免疫调节剂、酶抑制剂、抗粘着剂、药物前体和益生元等。

糖类研究史首先集中在糖化学研究,至 20 世纪 60 年代末出现糖生物化学研究,1988 年发表在 *Annual Review of Biochemistry* 上的综述“Glycobiology”,则标志着糖生物学研究的开始。最近十几年来,糖组和糖组学的概念频繁出现在各类学术会议和期刊杂志上。科学技术整体水平的提高,促进了该学科快速发展,已由原先单一的糖化学研究,逐渐发展成糖免疫学、糖生物学、糖组学、糖代谢组学和糖工程学等齐头并进的可喜局面。以多糖为对象的糖类研究也取得了很大进步,但还有一些难题,包括糖结构的生物多样性和复杂性,在生物体内代谢过程、发挥生物活性的通路及作用靶点,在加工储藏及在生物体内利用过程中和其他生物分子的相互作用,纤维素和半纤维素等原料的生物能源利用,计算机模拟技术在多糖结构和构象研究中发展缓慢,等等。上述科学问题仍困扰着多糖研究,尤其是多糖结构理论一直未能获得突破,仍沿用蛋白质解析的思路,已成为多糖研究的一大瓶颈。

在国外,已有许多糖研究的专门论著,如 Richard D. Cummings 等的 *Handbook of Glycomics*、Ajit Varki 等的 *Essentials of Glycobiology*、Michael Sinnott 等的 *Carbohydrate Chemistry and Biochemistry: Structure and Mechanism* 和 Severian Dumitriu 的 *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility*。国内也出版了不少相关的优秀综合性书籍。很高兴看到南昌大学食品科学与技术国家重点实验室谢明勇教授团队的新著《天然产物多糖结构与功能研究——基于大粒车前子多糖与黑灵芝多糖的深入解析》。需要指出,谢明勇所领衔的团队从 20 世纪 90 年代末以来,一直致力于多糖化学与生物学研究,在药食两用资源活性多糖的分离纯化、规模化制备、高级结构表征、生物活性功能及其作用机制(尤其是多糖的免疫功能及对肠道健康的影响)等方面做了大量工作,为推动该学科在国际上的学术影响力做出了不懈努力并取得了丰硕成果。

该书以大粒车前子多糖和黑灵芝多糖为例,针对多糖研究的瓶颈问题,全面系统地介绍了天然产物多糖结构与功能研究体系,重点从多糖提取制备、结构表征和功能活性等方面系统展示了该团队近十余年的研究积累与沉淀,全书涉及的知识面很广,研究思路缜

密,可读性强,是从事糖领域研究的科技工作者又一本难得的参考论著。希望该书能为国内从事糖化学、糖生物学和糖生物工程等研究的学者提供借鉴,更好地促进糖学科间的交流与合作,推动糖研究领域的快速发展。

中国工程院院士

徐华诗

2014年10月

序 二

包括多糖在内的糖类化合物(也称碳水化合物)是对人体健康有着重要影响的四大生物大分子之一,其研究自 20 世纪初就开始受到关注,但直至 20 世纪 70 年代开始,糖化学和糖生物化学两个领域的结合,才使得多糖研究在世界范围逐渐活跃。

多糖种类繁多,常见的有淀粉、纤维素、果胶、阿拉伯木聚糖、 β -葡聚糖、果聚糖、壳多糖、葡甘露聚糖等,涉及的研究领域极为广泛,包括多糖合成、结构表征、溶液构象测定、生物活性评价、与其他组分相互作用等,因此有大量的科研工作者专门从事该领域的相关研究,国际上也有许多专业的英文期刊报道最新研究成果,包括 *Carbohydrate Research*、*Carbohydrate Polymers*、*Cellulose*、*Food Hydrocolloids*、*International Journal of Biological Macromolecules*、*Glycobiology*、*Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 等,相关期刊还有 *Macromolecules*、*Biomacromolecules* 等。

在中国海洋大学管华诗院士、中国科学院微生物研究所张树政院士、武汉大学张俐娜院士、中国科学院上海药物研究所方积年研究员、中国科学院上海生物化学研究所王克夷研究员、复旦大学陈惠黎教授(原上海医科大学)、上海交通大学张惟杰教授、东北师范大学张翼伸教授等科学家的带领下,国内糖相关领域研究如火如荼展开,南昌大学谢明勇教授领衔的天然产物活性多糖研究团队是其中的一支优秀队伍。该团队经过十多年的研究积累与沉淀,在药食两用来源的天然产物活性多糖结构与功能研究方面取得了较大的成绩。在该领域谢明勇教授培育了 1 篇全国优秀博士学位论文和 3 篇江西省优秀博士学位论文,多次应邀在国际学术会议作大会报告,在国际多糖研究领域具有较大的影响力,尤其是在第 12 届亲水胶体国际会议(The 12th International Hydrocolloids Conference)上获得 2014 年度食品亲水胶体基金会大奖(Food Hydrocolloids Trust Medal),成为获此奖项的第一位中国学者。

很高兴向读者推荐谢明勇教授及其团队根据他们多年的研究成果编撰而成的《天然产物多糖结构与功能研究——基于大粒车前子多糖和黑灵芝多糖的深入解析》一书。该书比较全面系统地介绍了该团队在大粒车前子多糖和黑灵芝多糖的结构解析与生物活性方面的研究心得,全书结构严谨,内容丰富,特色鲜明,采用现代糖化学与糖生物学主流技术和手段,获得了大量翔实、可靠的数据,比较系统地展示了他们构建的天然产物活性多糖结构与功能研究体系,可为相关领域的科技工作者深入认识和研究食源性多糖提供有益的参考和启发。

中国工程院院士

2014 年 10 月

前 言

糖化学与糖生物学已成为 21 世纪生命科学及相关学科最重要的研究领域之一,多糖化学与生物学是其中的一个重要分支。多糖是高等植物、动物细胞膜及微生物细胞壁组成部分的天然大分子物质,是由醛基和酮基通过苷键连接的高分子聚合物,也是构成生命体的四大基本物质之一。随着研究的深入,人们发现多糖在生物体中绝非仅作为支持组织和能量来源,更重要的是参与生物合成反应以及细胞间的识别、神经细胞发育、激素激活、细胞增殖、病毒和细菌感染、肿瘤细胞转移等细胞的各种生命现象和生理过程,许多天然来源多糖还具有良好的免疫调节、降血糖、促进肠道健康等功能活性,因此越来越多的科研工作者进入到多糖这一神奇的领域,并纷纷成立各自的研究中心,如美国普渡大学 Whistler Center for Carbohydrate Research、美国佐治亚大学 Complex Carbohydrate Research Center、法国 University Joseph Fourier 的 Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales 等,各中心组建团队集中研究某相关领域,试图抢占多糖研究的制高点。

依托南昌大学与江南大学组建的食品科学与技术国家重点实验室,2007 年获得科技部批准立项建设,2010 年 1 月通过科技部验收,成为目前我国高校食品学科领域和江西省唯一的国家重点实验室。实验室围绕食品科技领域国际研究前沿和我国食品工业的发展需要,提出了“食品科学与人类健康、食物资源高值化利用”等科学研究主题。本研究团队长期关注“食物资源营养活性物质的分离、结构鉴定及功能改造”,并以江西特色药食两用资源为主要研究对象,通过表观的活性多糖组分结构与功能研究,综合多种解析方法试图对活性多糖组分对人体健康的影响机制进行深入的分析与探讨,在分子、细胞和整体动物等不同水平上,探讨活性多糖与健康相关性及其作用机制。经过十余年的工作积累,本研究团队在天然产物多糖结构与功能研究方面有了一定的基础,在 *Food Chemistry*、*Journal of Agricultural and Food Chemistry*、*Journal of Chromatography A*、*Carbohydrate Polymers*、*Food Hydrocolloids* 等 SCI 期刊上发表了近百篇学术论文,其中一篇论文入选 *Food Chemistry* 杂志“Top ten most cited articles in period 2008-2010”。由于在天然产物多糖研究领域取得的突出成绩,本团队培养的博士生陈奕的论文入选 2012 年度全国优秀博士学位论文,实现了江西省“全国优博”零的突破;李文娟和殷军艺的论文则分别入选 2012 年度和 2013 年度江西省优秀博士学位论文。相关研究成果也得到了国内外同行的关注和认可,多次受邀在国际专题会议上作大会特邀报告,尤其是在第 12 届亲水胶体国际会议(The 12th International Hydrocolloids Conference)上,谢明勇教授获得 2014 年度食品亲水胶体基金会大奖(Food Hydrocolloids Trust Medal),成为获此奖项的第一位中国学者。

本书是编写者集多年来在天然产物多糖结构与功能方面的研究成果,吸收和参考了国内外相关领域的专著与其他文献,精心选题和布局,最终确定系统介绍本团队在大粒车

前子多糖和黑灵芝多糖方面的研究心得。本书编写力求科学性与系统性的统一,重点内容包括多糖研究进展、大粒车前子多糖结构特征、大粒车前子多糖高黏度特征的内在机制、大粒车前子多糖免疫调节功能及相关机制、黑灵芝多糖结构特征、黑灵芝多糖抗氧化与抗衰老功能及相关机制、黑灵芝多糖免疫调节与抗肿瘤功能及相关机制、黑灵芝多糖抗糖尿病与心肌保护功能及相关机制等方面,突出了现代仪器分析和生物学手段在多糖研究中不可或缺的重要位置。全书在介绍最新研究成果的同时,也注重对相关领域基础知识的讲解和普及,努力平衡好全书内容的深入性和整体可读性,以期使读者能从中获得更多信息和思路。本书可作为相关专业科研及工程技术人员的参考书目,也可作为高等学校食品、生物等相关学科教师和研究生的专业参考书籍。

本书由南昌大学食品科学与技术国家重点实验室谢明勇教授与聂少平教授主编,本团队相关教师共同编写。各章节编写工作如下:第1章,谢明勇;第2章,聂少平;第3章,殷军艺、聂少平;第4章,聂少平、殷军艺;第5章,殷军艺;第6章,黄丹菲、谢明勇;第7章,谢明勇;第8章,聂少平;第9章,李文娟;第10章,李文娟、聂少平;第11章,李文娟;第12章,陈奕。全书主要由谢明勇与聂少平统稿,殷军艺参与了部分统稿工作。本书得到了国内外许多同仁的大力支持与帮助(尤其是加拿大农业与农业食品部 Guelph 食品研究中心高级研究员 Steve W. Cui,南昌大学王远兴、万益群、李昌等老师以及研究生张汇、胡婕伦、朱科学等同学),在此一并致谢。本书相关内容的研究工作,得到了国家自然科学基金重点项目“食物中多糖组分的高级结构表征及其活性功能作用机制”(项目编号:31130041)、国家科技支撑计划项目“改善胃肠道功能因子的制备关键技术及其应用”(项目编号:2012BAD33B06)等国家级课题的资助,也在此一并致谢。

由于编著者水平有限,撰写过程中可能存在许多不足之处,敬请诸位同仁和广大读者批评指正,以便我们今后在相关研究领域能有更好的改进和突破,并方便修订、补充和完善。

作 者

2014年10月

目 录

序一

序二

前言

第 1 章 绪论	1
1.1 多糖研究概述	1
1.1.1 多糖研究历史的简单回顾	1
1.1.2 多糖的结构概述	2
1.2 天然产物多糖分离纯化	6
1.3 多糖结构表征方法	8
1.3.1 多糖结构表征的化学分析方法	8
1.3.2 多糖结构表征的仪器分析方法	17
1.4 多糖溶液构象特征表征方法	21
1.4.1 动态激光光散射法	22
1.4.2 静态激光光散射法	23
1.4.3 HPSEC	24
1.5 多糖的功能活性研究进展	25
1.5.1 多糖的免疫调节作用	25
1.5.2 多糖的抗肿瘤作用	28
1.5.3 多糖的降血糖作用	29
1.5.4 多糖的抗病毒作用	30
1.5.5 多糖的抗氧化作用	30
1.5.6 其他功能	31
1.6 多糖结构与功能关系	31
1.7 多糖活性研究的常用方法	31
1.8 多糖研究目前存在的主要问题	32
1.8.1 多糖结构表征存在的问题	32
1.8.2 多糖功能研究	33
1.9 未来发展方向	33
1.9.1 开展提取过程中多糖组分变化研究及完善结构表征方法	33
1.9.2 深入研究多糖的生物活性作用机制	34
1.9.3 深入研究多糖的化学结构及其构效关系	34
参考文献	34
第 2 章 车前子多糖结构和功能活性研究进展	44
2.1 引言	44

2.2 车前子中非多糖类化学成分研究概况	44
2.2.1 黄酮类	44
2.2.2 苯乙醇苷类	45
2.2.3 脂类	46
2.2.4 氨基酸	46
2.2.5 其他成分	46
2.3 车前子多糖结构研究概况	47
2.3.1 车前子多糖提取	47
2.3.2 车前子多糖纯化	47
2.3.3 车前子多糖基本理化性质	48
2.3.4 车前子多糖结构	50
2.4 车前子多糖流变性能研究	52
2.5 车前子多糖功能活性研究进展	52
2.5.1 肠道功能作用	53
2.5.2 降血糖和降血脂作用	53
2.5.3 免疫调节作用	54
2.5.4 抗氧化作用	54
2.5.5 其他功能作用	54
2.6 车前子多糖研究存在的问题及展望	55
参考文献	55
第3章 大粒车前子多糖结构特征	59
3.1 引言	59
3.2 大粒车前子多糖分离纯化	59
3.3 大粒车前子多糖理化性质	61
3.3.1 基本理化性质	61
3.3.2 紫外可见光谱和红外光谱分析	62
3.4 大粒车前子多糖 PLP-1 结构特征	64
3.4.1 PLP-1 单糖和糖醛酸组成	64
3.4.2 PLP-1 糖苷键类型	66
3.4.3 PLP-1 核磁共振图谱特征和糖链结构推断	69
3.5 大粒车前子多糖 PLP-2 结构特征	78
3.5.1 PLP-2 单糖和糖醛酸组成	78
3.5.2 PLP-2 糖苷键类型	78
3.5.3 PLP-2 核磁共振图谱特征和糖链结构推断	83
3.6 大粒车前子多糖 PLP-3 结构特征	90
3.6.1 PLP-3 单糖和糖醛酸组成	90
3.6.2 PLP-3 糖苷键类型	90
3.6.3 PLP-3 核磁共振图谱特征和糖链结构推断	94

3.7 本章小结	100
参考文献	101
第4章 大粒车前子多糖高黏度特征	103
4.1 引言	103
4.2 大粒车前子多糖流变性质	104
4.2.1 稳态流变学性质	105
4.2.2 动态流变学测试	107
4.3 Ca^{2+} 对大粒车前子多糖理化性质的影响	111
4.3.1 大粒车前子中各组分元素组成	111
4.3.2 EDTA 螯合脱除 Ca 元素的单因素优化实验	112
4.3.3 EDTA 螯合作用对车前子多糖理化性质的影响	112
4.3.4 Ca^{2+} 对 EDTA 螯合后多糖流变性能的影响	113
4.3.5 EDTA 螯合对多糖固体形态和热特性的影响	115
4.4 阿魏酸对大粒车前子多糖理化性质的影响	118
4.4.1 大粒车前子多糖中阿魏酸含量	118
4.4.2 阿魏酸对大粒车前子多糖流变学性能的影响	119
4.5 Ca^{2+} 和车前子多糖链之间可能的相互作用关系机制推测	121
4.6 本章小结	122
参考文献	123
第5章 大粒车前子多糖对肠道便秘的改善作用	126
5.1 引言	126
5.2 大粒车前子多糖对肠蠕动抑制模型小鼠排便和肠蠕动的影 响	127
5.3 大粒车前子多糖对失水燥结模型小鼠排便和肠蠕动的影 响	129
5.4 大粒车前子多糖对实热模型小鼠排便的影响	130
5.5 大粒车前子多糖对脾虚模型小鼠排便的影响	131
5.6 大粒车前子多糖对寒积模型小鼠排便的影响	131
5.7 本章小结	132
参考文献	132
第6章 大粒车前子多糖对小鼠骨髓来源树突状细胞表型和功能成熟的影响及相关 机制探讨	134
6.1 引言	134
6.2 DC 的体外扩增培养、纯化及鉴定	135
6.2.1 形态学观察	135
6.2.2 细胞表型检测	137
6.3 大粒车前子多糖样品内毒素含量	139
6.4 大粒车前子多糖对 DC 表面分子表达的影响	139
6.5 大粒车前子多糖对 DC 吞噬功能的影响	141
6.6 大粒车前子多糖对 DC 分泌功能的影响	141

6.7	大粒车前子多糖对 DC 刺激 T 淋巴细胞增殖的影响	142
6.8	大粒车前子多糖对 DC 不同 Toll 样受体表达的影响	143
6.9	大粒车前子多糖对 DC 作用的信号通路研究	147
6.9.1	大粒车前子多糖 PLP-2 对 DC 中 MAPK 及 NF- κ B 活性的影响	147
6.9.2	MAPK 及 NF- κ B 信号转导通路抑制对 PLP-2 激活 DC 的影响	148
6.10	本章小结	151
	参考文献	151
第 7 章	灵芝多糖结构和功能研究进展	153
7.1	引言	153
7.2	灵芝概况	153
7.2.1	灵芝分布与分类	153
7.2.2	灵芝的栽培及其对生态的影响	154
7.2.3	灵芝的主要化学功效成分	154
7.3	灵芝多糖结构研究概况	158
7.3.1	提取与纯化	158
7.3.2	相对分子质量	159
7.3.3	单糖组成	162
7.3.4	结构特征	162
7.4	灵芝多糖的生物活性	164
7.4.1	免疫调节作用	164
7.4.2	抗肿瘤作用	167
7.4.3	抗氧化及抗衰老作用	169
7.4.4	对糖尿病的作用	170
7.4.5	对心血管疾病的作用	170
7.4.6	其他功能	171
7.5	灵芝多糖研究存在的问题及展望	171
	参考文献	171
第 8 章	黑灵芝多糖结构特征	180
8.1	引言	180
8.2	黑灵芝多糖的制备与分离纯化	181
8.3	黑灵芝多糖 PSG-1 理化性质	183
8.3.1	基本理化性质	183
8.3.2	相对分子质量	183
8.3.3	单糖组成	184
8.3.4	氨基酸组成	184
8.3.5	红外光谱和紫外光谱特征	186
8.4	黑灵芝多糖 PSG-1 的精细结构	187
8.4.1	甲基化分析	187

8.4.2 核磁共振图谱特征和糖链结构推断	189
8.5 本章小结	196
参考文献	196
第9章 黑灵芝多糖 PSG-1 抗氧化与抗衰老功能及其相关作用机制	199
9.1 引言	199
9.2 黑灵芝多糖 PSG-1 抗氧化功能	200
9.2.1 黑灵芝多糖 PSG-1 清除 DPPH 自由基的能力	200
9.2.2 黑灵芝多糖 PSG-1 清除 O_2^- 的能力	201
9.3 黑灵芝多糖 PSG-1 抗衰老作用	202
9.3.1 PSG-1 对 D-Gal 诱导衰老小鼠肝脏氧化应激的影响	203
9.3.2 PSG-1 对 D-Gal 诱导衰老小鼠大脑氧化应激的影响	205
9.4 黑灵芝多糖 PSG-1 抗衰老作用机制	210
9.5 本章小结	211
参考文献	211
第10章 黑灵芝多糖 PSG-1 免疫调节与抗肿瘤功能	215
10.1 引言	215
10.2 黑灵芝多糖 PSG-1 的免疫调节功能	217
10.2.1 黑灵芝多糖 PSG-1 对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响	217
10.2.2 黑灵芝多糖 PSG-1 对小鼠腹腔巨噬细胞功能的影响	220
10.2.3 黑灵芝多糖 PSG-1 对免疫抑制小鼠的免疫调节作用	222
10.3 黑灵芝多糖 PSG-1 的抗肿瘤活性	228
10.3.1 黑灵芝多糖 PSG-1 的体外抗肿瘤作用	228
10.3.2 黑灵芝多糖 PSG-1 的体内抗肿瘤作用	228
10.3.3 黑灵芝多糖 PSG-1 对抗肿瘤药物的增效减毒作用	234
10.3.4 黑灵芝多糖 PSG-1 抗肿瘤活性及其对抗肿瘤药物的增效减毒作用可能机制	241
10.4 本章小结	243
参考文献	243
第11章 黑灵芝多糖 PSG-1 对糖尿病的调节作用、心肌保护功能及其相关机制	249
11.1 引言	249
11.2 黑灵芝多糖 PSG-1 对糖尿病的调节作用	250
11.2.1 II 型糖尿病模型	251
11.2.2 PSG-1 对 II 型糖尿病大鼠血糖的影响	251
11.2.3 PSG-1 对 II 型糖尿病大鼠体重、摄食量和饮水量的影响	252
11.2.4 PSG-1 对 II 型糖尿病大鼠口服葡萄糖耐量的影响	253
11.2.5 PSG-1 对 II 型糖尿病大鼠血清胰岛素的影响	254
11.2.6 PSG-1 对 II 型糖尿病大鼠血脂的影响	255
11.3 体外研究黑灵芝多糖 PSG-1 抗糖尿病血管并发症的作用及其机制	256
11.3.1 黑灵芝多糖 PSG-1 对高糖诱导内皮细胞损伤的影响	256

11.3.2 黑灵芝多糖 PSG-1 对心肌细胞的保护作用	261
11.4 本章小结	268
参考文献	269
第 12 章 黑灵芝多糖结构和活性关系初步探讨	273
12.1 引言	273
12.2 黑灵芝多糖的结构修饰	274
12.2.1 黑灵芝多糖化学修饰产物制备	274
12.2.2 黑灵芝多糖高碘酸氧化产物的理化性质	278
12.2.3 黑灵芝多糖乙酰化产物的理化性质	278
12.2.4 黑灵芝多糖硫酸酯化产物的理化性质	279
12.2.5 黑灵芝多糖羧甲基化的理化性质	280
12.3 黑灵芝多糖结构与免疫调节和抗氧化活性关系初步研究	281
12.3.1 黑灵芝多糖及其化学修饰产物的结构与免疫调节活性的关系	281
12.3.2 黑灵芝多糖及其化学修饰产物的结构与体外抗氧化活性的关系	286
12.4 本章小结	288
参考文献	288
英文缩略语	291
索引	294
彩图	

第1章 绪 论

1.1 多糖研究概述

1.1.1 多糖研究历史的简单回顾

多糖(polysaccharide)为组成高等植物、动物细胞膜及微生物细胞壁的天然大分子物质,是由醛基和酮基通过苷键连接的高分子聚合物,也是构成生命的四大基本物质之一(Lowe and Marth, 2003)。糖类的生命科学几乎与蛋白质的生命科学同时诞生,然而由于其结构的复杂性和研究手段的局限性,多糖的研究始终滞后于蛋白质和核酸。

早在 100 多年前,德国著名科学家 Fischer 就开始进行糖类物质的研究,但直到 20 世纪 50 年代,科学家对多糖的研究仅限于化学组成和一般结构测定。这一状况一直持续到 20 世纪 70 年代,得益于糖化学和生物化学两个传统专业的结合,使多糖的细胞和分子生物学研究成为可能,对多糖的研究才得以复兴。1988 年,牛津大学 Dwek 教授首先提出了“糖生物学(glycobiology)”这一概念,标志着一个新的研究领域的诞生。糖生物学是指以生物大分子组成部分糖链或(寡、多)糖本身为对象,以糖化学、免疫学及分子生物学等学科为基础,研究多糖或糖链作为“生物信息分子”在多细胞高层次生命中的功能的科学(Rademacher et al., 1988)。而将糖生物学推向生命科学前沿的重大事件发生于 1990 年,3 个实验室同时发现血管内皮细胞分子(白细胞黏附分子 I, 后来改称为 E-选凝素),这一位于内皮细胞表面的分子能识别白细胞表面的四聚糖 Sialyl-Lex, 这一发现首次阐明了炎症过程有糖类和相关的糖结合蛋白参与(Walz et al., 1990)。Science 杂志于 2001 年专门出版了“糖和糖生物学”专辑。正是基于大量的、振奋人心的科学成果,人们逐渐认识到多糖在生物体中决非仅仅作支持组织和能量来源,更重要的是参与生物合成反应及细胞间的识别、受精、胚胎形成、神经细胞发育、激素激活、细胞增殖、病毒和细菌感染、肿瘤细胞转移等生命现象和生理过程。可以说,重要生命活动都有糖链的参与(Kiyohara et al., 2008)。多糖研究已成为继蛋白质、核酸研究之后,探索生命奥秘的又一个重大前沿课题。针对糖的研究,经过大量科研工作者的辛勤积累,由单一的糖化学逐渐发展出糖生物学(glycobiology),在此过程中又同其他学科融合,出现糖组学(glycomics)、糖免疫学(glycoimmunology)、糖病理学(glycopathology)和糖神经生物学(glyconeurology)等交叉学科(王克夷, 2009)。

随着认识和研究的深入,越来越多的人开始意识到多糖研究的重要性和学科前沿性,纷纷成立各自的研究中心,如美国普渡大学 Whistler Center for Carbohydrate Research、佐治亚大学 Complex Carbohydrate Research Center、法国 University Joseph Fourier 的 Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales 等,组建团队集中研究相关领

域,试图抢占多糖研究领域的制高点。特别是佐治亚大学 Complex Carbohydrate Research Center,全面开展包括微生物多糖、生物质类多糖和能源利用、多糖合成、多糖计算机模拟、多糖溶液构象、酶参与的碳水化合物代谢、糖复合物在宿主-病原体相互作用间的作用、植物多糖的生物合成等领域研究,几乎涵盖了多糖研究的各个方面。成立于1966年的 Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales,在多糖研究领域也有着强大的实力,主要研究领域包括寡糖与健康、纳米多糖制备及自组装、多糖生物质能转化等,且在计算机模拟方面有着较高的水平。

国内许多科研机构也开始组建多糖研究中心,包括山东大学国家糖工程技术研究中心、江南大学糖化学和生物技术教育部重点实验室、复旦大学卫生部糖复合物重点实验室和中国海洋大学山东省糖科学与糖工程重点实验室等。

1.1.2 多糖的结构概述

糖类物质根据它们的聚合度,可以分为单糖、寡糖和多糖。单糖(monosaccharide)是不能被水解成更小分子的糖类,从化学结构上看,它是多羟基醛或者多羟基酮化合物。甘油醛(glyceraldehyde)是最简单的醛糖,为含有醛基的丙糖。1906年,人为规定右旋甘油醛具有甘油醛(I)的构型,并且称为D型,因此甘油醛(I)型标为D(+)-甘油醛,甘油醛(II)型标为L(+)-甘油醛,这种命名方法一直沿用至今。由D-甘油醛衍生而来的糖称为D-系醛糖,由L-甘油醛衍生而来的糖称为L-系醛糖。单糖中最简单的酮糖是二羟基丙酮,是唯一一个不含有手性中心的单糖。酮糖与相同碳原子数的醛糖互为异构体,比相应醛糖少一个手性中心。图1.1和图1.2列出了一些常见的D-系醛糖和D-系酮糖的立体结构。

寡糖(oligosaccharide)是由多个单糖通过糖苷键连接而成的糖类物质,但是关于组成单糖数量定义不一致,有规定为2~10个,也有研究认为2~20个单糖组成的糖可以称为寡糖。常见的寡糖有蔗糖、乳糖、麦芽糖、纤维二糖、棉子糖、水苏糖、环糊精等。寡糖结构主要考虑:参与组成的单糖单位、参与成键(糖苷键)的碳原子位置、参与成键的异头碳上羟基的构型和单糖连接顺序。寡糖的糖苷键结合方式,即醛糖异头碳(酮糖为C-2)上的半缩醛羟基与其他单糖分子上的羟基脱水缩合方式,存在 α 型和 β 型两种构型,结合方式有1 $\rightarrow$ 2、1 $\rightarrow$ 3、1 $\rightarrow$ 4、1 $\rightarrow$ 6等。

多糖又称聚糖、多聚糖,通常指20个以上单糖分子连接在一起形成的长链聚合物。多糖的相对分子质量很大,分布范围很宽,从几千到上千万。根据分支情况,多糖可以分为支链多糖和直链多糖。参照蛋白质,多糖的结构可分为一级、二级、三级和四级结构,但目前的研究主要集中在多糖一级结构上,即涉及糖链中糖苷键的类型和连接顺序问题。天然产物多糖来源广泛,结构和功能性质差异巨大,既可以淀粉、植物多糖形式单独存在,也可以和蛋白质、脂类结合形成复合物,因此多糖研究内容范围很广。多糖和蛋白质、脂类等其他化合物形成的复合物种类很多,如糖类和蛋白质/肽类的复合物,糖类和脂类形成的复合物,以及同时含有糖类、脂类和蛋白质的三元复合物(王克夷,2009)。

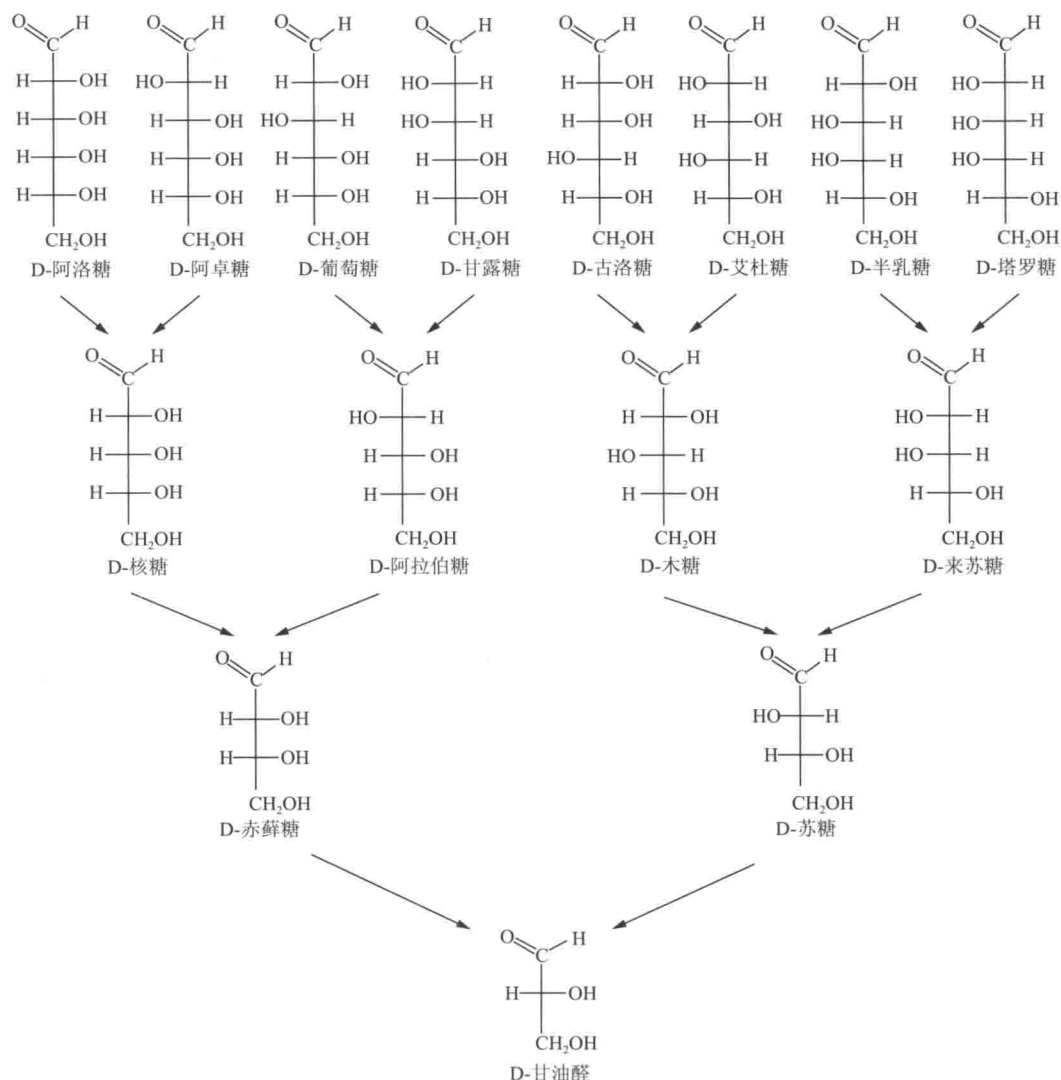


图 1.1 D-系醛糖的立体结构

糖类和蛋白质/肽类的复合物中包括糖蛋白、蛋白聚糖、肽聚糖等,糖蛋白是指蛋白质肽链上某些氨基酸残基的侧链连接着结构不同的糖链,包括连接在天冬酰胺残基侧链酰胺氮上的 *N*-糖链和与肽链中一些氨基酸残基侧链上羟基的氧原子连接的 *O*-糖链。蛋白聚糖主要由糖胺聚糖链共价连接于核心蛋白所组成,其中的糖胺聚糖由氨基己糖和己糖醛酸或半乳糖组成,它们之间交替排列成线性结构。其中糖胺聚糖种类有透明质酸、硫酸软骨素/硫酸皮肤素、硫酸角质素、硫酸乙酰肝素和肝素等(图 1.3)。肽聚糖是细菌细胞壁的主要成分,肽聚糖的糖链是 *N*-乙酰氨基葡萄糖和胞壁酸形成的二糖单元构成的杂多糖。糖类和脂质形成的复合物包括动物糖脂、植物糖脂和脂多糖,其中脂多糖又被称为细菌内毒素。这些糖复合物的研究,更多属于生物化学和糖生物学的范畴。