

鲟鱼和鲨鱼硫酸软骨素红外光谱特性的比较研究

郑江, 关瑞章*, 黄世玉

集美大学水产学院, 福建省高校水产科学技术与食品安全重点实验室, 福建 厦门 361021

摘要 文章比较研究了鲟鱼和鲨鱼硫酸软骨素的红外光谱特性。结果表明, 鲟鱼硫酸软骨素在 1 376, 1 344, 1 310, 1 157, 883 和 856 cm^{-1} 等波数上呈现出特有的振动峰, 进一步的分析表明, 鲨鱼硫酸软骨素中只有 6-硫酸基团, 而鲟鱼硫酸软骨素中则同时存在有 6-硫酸基团和 4-硫酸基团, 这一特点表明鲟鱼硫酸软骨素在降低药物的毒性, 有效杀伤癌细胞的方面可能具有较高的生物活性; 两种硫酸软骨素的红外光谱总体基本相似, 都含有乙酰氨基、羧基、硫酸基、糖环等官能团的振动峰, 但鲟鱼硫酸软骨素的乙酰氨基的 N—H 变角振动峰的波数较高, 1 415 cm^{-1} 处的羧基振动峰也明显强于鲨鱼硫酸软骨素, 进一步化学分析显示, 鲟鱼硫酸软骨素中的葡萄糖醛酸含量较高, 推测鲟鱼硫酸软骨素很可能是一种较好的医用骨骼修复材料。

关键词 鲟鱼; 鲨鱼; 硫酸软骨素; 红外光谱

中图分类号: Q538 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-0593(2008)01-0106-04

引言

硫酸软骨素(简称 CHS)是动物软骨组织中的一种酸性粘多糖。它不仅能降低血脂, 在冠心病、心肌梗塞等心血管疾病的防治中有较好效果^[1], 还能调节关节机能, 促进骨的形成和愈合^[2, 3], 并对肿瘤细胞和病毒有一定的抑制作用^[4, 5]。同时, 由于硫酸软骨素有较好保水性、胶性和高粘性, 在食品和化妆品行业也有较广泛的应用^[6]。

软骨鱼纲的种类, 由于含有丰富的软骨组织而成为硫酸软骨素提取的重要原料来源。目前研究较多的是鲨鱼硫酸软骨素, 市场上的产品也多为鲨鱼硫酸软骨素, 但由于鲨鱼资源有限, 限制了它的开发应用。鲟鱼, 属软骨鱼纲、鲟形目, 不仅软骨组织含量丰富, 而且可以人工养殖, 具有较好的资源优势。近年来, 随着鲟鱼养殖规模的不断扩大, 成本逐渐降低, 为鲟鱼硫酸软骨素的研究开发提供了较好的条件。然而有关鲟鱼中的硫酸软骨素, 目前尚缺乏专门的研究, 而其光谱特性方面的相关研究目前尚未见报道。

本文对鲟鱼和鲨鱼硫酸软骨素的红外光谱进行了比较分析, 探讨了鲟鱼硫酸软骨素的光谱特性及可能的结构组成特点, 并与化学分析结果进行了比较验证, 旨在为鲟鱼硫酸软骨素药用功能的研究提供理论和技术参考。

1 实验部分

1.1 仪器与药品

仪器: 美国 Nicolet 公司 Avatar FTIR360 红外光谱仪。药品: 鲨鱼硫酸软骨素标准品, 购自 Sigma 公司; 鲟鱼硫酸软骨素, 为本实验室从史氏鲟 (*Acipenser schrencki*) 头骨中提取纯化获得, 经 Agilent1100 高效液相色谱仪检测, 为单一谱峰, 达色谱纯。

1.2 实验方法

红外光谱的测定采用 KBr 压片法进行测定。分别取鲨鱼和鲟鱼硫酸软骨素各 10 mg, 在玛瑙研钵中研细后加入 100 mg 干燥的 KBr 粉末, 在红外灯下继续研细, 然后经压片机压成透明薄片后, 用红外光谱仪检测。

葡萄糖醛酸含量的测定用吡啶法^[7]进行测定。

2 结果和讨论

2.1 鲟鱼硫酸软骨素的结构特性

图 1 为鲨鱼和鲟鱼硫酸软骨素的红外光谱图。图 2 对两种硫酸软骨素在 1 800 ~ 400 cm^{-1} 波数范围内的红外光谱进行了放大比较。表 1 则根据相关文献^[8-10]对两种硫酸软骨素红外光谱的谱峰归属进行了总结。根据图 1, 图 2 和表 1, 可

收稿日期: 2006-08-28, 修订日期: 2006-11-28

基金项目: 厦门市科技计划项目 (3502Z20031048) 资助

作者简介: 郑江, 1971 年生, 集美大学水产学院副教授

*通讯联系人 e-mail: rzguan@jmu.edu.cn

以发现鲟鱼硫酸软骨素的红外光谱中存在一些特殊的吸收峰：1 376、1 344 和 1 310 cm^{-1} 处为羧基谱峰、1 157 cm^{-1} 处为 C—O 振动谱峰、883 cm^{-1} 处为糖环的 C—H 谱峰和 856 cm^{-1} 处硫酸基的谱峰等。这些吸收峰在鲨鱼硫酸软骨素的红外光谱中均未发现。

1 376 和 1 344 cm^{-1} 处的吸收峰为 $-\text{COO}^-$ 离子的谱峰，由于硫酸软骨素中的羧基主要以葡萄糖醛酸的形式存在，因此推断鲟鱼硫酸软骨素中存在离子化的葡萄糖醛酸。883 cm^{-1} 处的弱吸收峰，根据文献[10]可知，是 β -D-葡萄糖吡喃糖的特征谱峰，这表明组成鲟鱼硫酸软骨素的葡萄糖醛酸是 β -D-吡喃葡萄糖醛酸构型。

鲟鱼硫酸软骨素在 856 cm^{-1} 处的硫酸基谱峰是一中等

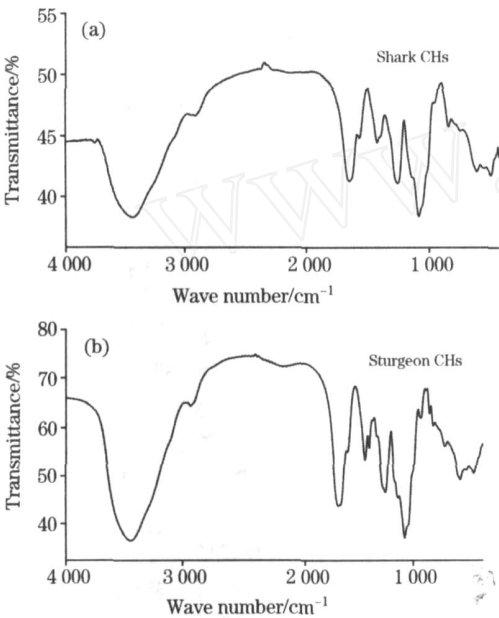


Fig 1 Infrared spectra of shark chondroitin sulfate (a) and sturgeon chondroitin sulfate (b)

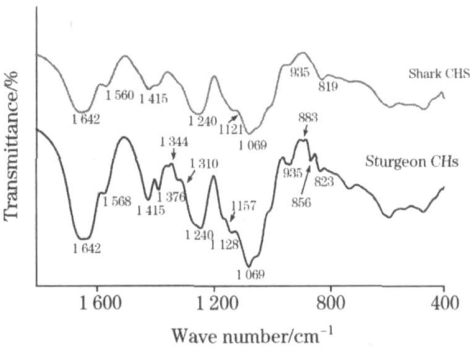


Fig 2 Comparison of infrared spectra in the range of 1 800-400 cm^{-1} between shark chondroitin sulfate and sturgeon chondroitin sulfate

强度的特异吸收峰。Turvey^[11]、王长云^[12]等认为，糖类在 850 和 820 cm^{-1} 附近硫酸基的振动峰表明硫酸基是分别结合在糖环上的 C₄ 和 C₆ 位置。鲨鱼硫酸软骨素由于只有 819 cm^{-1} 的振动峰，因此是一种 6-硫酸软骨素，这与以往的研究是一致的^[10]。而鲟鱼硫酸软骨素由于同时存在 856 和 823 cm^{-1} 的振动峰，表明其结构中同时存在有 C₄ 和 C₆ 的硫酸基，因此鲟鱼硫酸软骨素应是一种同时含有 4-硫酸和 6-硫酸的复杂酸性粘多糖。

糖胺聚糖的结构较为复杂，一般认为鲟鱼头盖软骨、鲨鱼软骨和人脐带中所含的硫酸软骨素为 6-硫酸软骨素^[10]。然而，Roden^[13]等发现，人脐带中的硫酸软骨素只有 80 % 为 6-硫酸软骨素，4-硫酸软骨素占 10 % 左右，其余 10 % 为未硫酸化的双糖单位。我们的研究也表明鲟鱼中的硫酸软骨素除了含 6-硫酸软骨素外，还存在一定量的 4-硫酸软骨素。有研究表明，作为药物载体，4-硫酸软骨素在降低药物的毒性，有效杀伤癌细胞的功能方面要优于 6-硫酸软骨素^[14]。因此，推测鲟鱼硫酸软骨素可能具有较好的生物活性。

Table 1 Comparative analysis of infrared spectra between shark chondroitin sulfate and sturgeon chondroitin sulfate

鲟鱼 CHS		鲨鱼 CHS		官能团归属
波数/ cm^{-1}	强度	波数/ cm^{-1}	强度	
3 450	强	3 450	强	O—H, N—H 伸缩振动
2 930	中等	2 930	中等	亚甲基 C—H 伸缩振动
1 642	强	1 642	强	$\text{CH}_3\text{CO}-\text{NH}-$ 的 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动
1 568	中等	1 560	中等	$\text{CH}_3\text{CO}-\text{NH}-$ 的 N—H 变角振动
1 415	强	1 415	中等	$-\text{COOH}$ 的 C—O 伸缩振动
1 376	中等			$-\text{COO}^-$ 的 $\text{C}=\text{O}$ 对称伸缩振动
1 344	弱			同上
1 310	弱			$-\text{COOH}$ 的 C—O 变角振动
1 240	强	1 240	强	$-\text{O}-\text{SO}_3-$ 的 $\text{S}=\text{O}$ 伸缩振动
1 157	弱			糖环的 C—O—C 和 C—O—H 的 C—O 伸缩振动
1 128	弱	1 121	弱	同上
1 069	强	1 069	强	同上
935	中等	935	弱	吡喃糖环的非对称伸缩振动
883	弱			吡喃糖环端基差向异构 C—H 以外的赤道键的 C—H 变角振动
856	中等			$-\text{OSO}_3$, C—O—S 伸缩振动
823	中等	819	中等	$-\text{OSO}_3$, C—O—S 伸缩振动

2.2 鲟鱼和鲨鱼硫酸软骨素共有官能团的比较

比较两种硫酸软骨素的红外光谱可以发现,二者较为相似:在 3450 cm^{-1} 附近都有一宽峰,这是由于多糖分子中羟基的伸缩振动引起的,说明两种硫酸软骨素中都存在分子间和分子内的氢键;在 2930 cm^{-1} 都存在糖类 C—H 的伸缩振动特征峰,在 1642 和 1560 cm^{-1} 附近都有乙酰氨基的 N—H 伸缩和变角振动,在 1415 cm^{-1} 附近都存在羧基的振动,在 1240 和 820 cm^{-1} 附近有硫酸基的振动,在 1125 和 1069 cm^{-1} 附近有 C—O 键的伸缩振动, 935 cm^{-1} 附近有糖环的振动,说明两种硫酸软骨素中都含有乙酰氨基、羧基、硫酸基、糖环等官能团。

硫酸软骨素主要是由 D-葡萄糖醛酸和 N-乙酰-D-氨基半乳糖构成的双糖单位的聚合体,硫酸基则与双糖单位的半乳糖在 4 位或 6 位相连接形成 4-硫酸软骨素或 6-硫酸软骨素,因此,硫酸软骨素中含有羧基、乙酰氨基、硫酸基、糖环等基团^[10]。通过上述对鲟鱼和鲨鱼硫酸软骨素红外光谱的分析,也进一步证实了这些基团在硫酸软骨素中的存在。

但两种硫酸软骨素这些共有官能团在吸收峰的波数和振动强度上存在着一定的差异。其中,鲟鱼硫酸软骨素中乙酰氨基的 N—H 变角振动吸收峰波数 1568 cm^{-1} 要比鲨鱼的 1560 cm^{-1} 高,表明该 N—H 键在鲟鱼硫酸软骨素中可能弯曲较难,伸缩较易,推测可能与其缔合的氢键较多有关。另外,鲟鱼硫酸软骨素在 1415 cm^{-1} 处的羧基振动峰明显强于鲨鱼硫酸软骨素,说明鲟鱼硫酸软骨素中的羧基含量可能较高,相应的葡萄糖醛酸含量也很可能高于鲨鱼硫酸软骨素。化学分析也表明,鲟鱼硫酸软骨素中的葡萄糖醛酸含量为 $(27.6 \pm 0.2)\%$,要明显高于鲨鱼硫酸软骨素中的 $(24.2 \pm 0.2)\%$ 。

硫酸软骨素等粘多糖是医用骨骼修复中的重要材料^[15, 16]。研究表明,这种修复作用主要依赖粘多糖中阴离子

基团与羟基磷灰石中钙离子之间的静电作用^[17],4-硫酸软骨素对羟基磷灰石中钙离子的作用力要大于 6-硫酸软骨素^[18],而且葡萄糖醛酸等阴离子基团含量的提高也能增强这种静电作用,从而有利于骨骼修复。由此可以推断,具有较高葡萄糖醛酸含量、并同时含有 4-硫酸和 6-硫酸的鲟鱼软骨素,有可能是一种较好的医用骨骼修复材料。

红外光谱中,吸收峰的强弱不仅与其对应基团的含量正相关,还与基团的极性有关。基团极性越大,吸收峰越强^[9]。鲟鱼硫酸软骨素在 935 cm^{-1} 处的糖环振动峰明显强于鲨鱼硫酸软骨素,可能与其糖环的极性有关。由于鲟鱼硫酸软骨素结构中,糖环上的羧基较多,且在糖环的 4 位和 6 位可能同时连接有硫酸基团,从而很可能使其具有较大极性,在 935 cm^{-1} 处形成较强的糖环振动峰。有关糖环极性对其生物活性和药用功能的影响还有待进一步的研究。

3 结 论

对鲟鱼和鲨鱼两种硫酸软骨素的红外光谱进行比较分析显示,鲨鱼硫酸软骨素为典型的 6-硫酸软骨素,而鲟鱼硫酸软骨素则是一种同时含有 4-硫酸基团和 6-硫酸基团的复杂性粘多糖,并存在离子化的葡萄糖醛酸成分,其葡萄糖醛酸为 β -D-吡喃构型。鲟鱼和鲨鱼的硫酸软骨素总体光谱较为相似,都具有乙酰氨基、羧基、硫酸基、糖环等官能团的吸收峰,但鲟鱼硫酸软骨素中的葡萄糖醛酸含量较高,推测鲟鱼硫酸软骨素在降低药物的毒性,有效杀伤癌细胞方面可能具有较高的生物活性,并很可能是一种较好医用骨骼修复材料。

致谢:厦门大学化学化工学院的欧光南博士在光谱实验中提供了不少帮助,集美大学的何碧烟老师咱光谱分析中给予了许多有益的指导,特在此表示感谢!

参 考 文 献

- [1] FU De-hua, HE Zhi-jian, LI Ling-hua, et al (付德华,何志坚,李领华,等). Chinese Journal of Marine Drugs (中国海洋药物), 1992, 11 (3): 18.
- [2] Huter G K, Weinert C A. Connect Tissue Res., 1996, 35: 379.
- [3] Jear-Pierre Bali, Henri Cousse, Eugene Neuzil. Seminars in Arthritis and Rheumatism, 2001, 31(1): 58.
- [4] Timar J, Diczhazi C, Bartha I, et al. Int. J. Cancer, 1995, 62(6): 755.
- [5] Barbara Curatella, Barbara Bartolini, Antonino Di Caro, et al. Carbohydrate Research, 2005, 340(4): 759.
- [6] LI Nan (李 南). Journal of Shanghai Fisheries University (上海水产大学学报), 1998, 7(1): 38.
- [7] Biter T, Muir H M. Anal Biochem., 1962, 4: 330.
- [8] HE Feng-ga, Hasenqimeng (贺锋嘎, 哈森其木格). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2006, 26(2): 321.
- [9] XIE Jing-xi, CHANG Jun-biao, WANG Xu-ming (谢晶曦, 常俊标, 王绪明). Application of Infrared Spectrum in Organic Chemistry and Pharmaceutical Chemistry (红外光谱在有机化学和药物化学中的应用). Beijing: Science Press (北京: 科学出版社), 2001. 13.
- [10] ZHANG Wei-jie (张惟杰). Technology for Complex Polysaccharide Study (复合多糖生化研究技术). Shanghai: Scientific and Technical Press (上海: 科学技术出版社), 1987. 121, 261, 271.
- [11] Turvey J B. Advan. Carbohydrate Chem., 1965, 20: 183.
- [12] WANG Chang-yun, GUAN Hua-shi, LI Ba-fang (王长云, 管华诗, 李八方). Transactions of Oceanology and Limnology (海洋湖沼通报), 1994, 16(3): 39.
- [13] Roden L, Baker John R, Anthony Cifonelli J, et al. Methods in Enzymology, 1972, 28: 73.
- [14] Zhang Jing-Shi, Teruko Imai, Ayaka Suenaga, et al. International Journal of Pharmaceutics, 2002, 240(2): 23.

- [15] Waddington R J , Embery G. Arch. Oral Biol. , 1991 , 36 : 859.
- [16] Moseley R , Waddington R J , Embery G , et al. Connect Tissue Res , 1998 , 37 (1-2) : 13.
- [17] Sarah G R , Diana T. Hughes Wassell , Graham Embery. Biomaterials , 2002 , 23 : 481.
- [18] Okazaki J , Embery G , Hall R C , et al. Biomaterials , 1999 , 20 : 309.

Comparative Studies on the Characteristics of the Fourier-Transform Infrared Spectra between Sturgeon and Shark Chondroitin Sulfates

ZHENG Jiang , GUAN Rui-zhang * , HUANG Shi-yu

Fisheries College of Jimei University , Key Laboratory of Science and Technology for Aquaculture and Food Safety in Fujian Province , Xiamen 361021 , China

Abstract The characteristics of the Fourier-transform infrared spectra of sturgeon and shark chondroitin sulfates (CHSs) were comparatively studied. The results show that sturgeon CHS exhibits special vibrations at the wavenumbers of 1 376 , 1 344 , 1 310 , 1 157 , 883 and 856 cm^{-1} . Further analysis shows that shark CHS contains 6-sulfated-CHS , while sturgeon CHS contains 4 , 6-disulfated CHS , indicating that sturgeon CHS could have higher biological activities in decreasing the toxicity of medicine and in killing cancer cells. In general , the two kinds of CHSs have similar infrared spectra and groups of acylamino , carboxyl , sulfate , and saccharide ring. But the N—H variable-angle vibration of acylamino group of sturgeon CHS occurs at the higher wavenumber , and the vibration intensity of carboxyl group at 1 415 cm^{-1} is also stronger than that of shark CHS. Chemical analysis shows that sturgeon CHS has a higher content of glucuronic acid , suggesting that it probably could be a better kind of medical materials for the bone mineralization.

Keywords Sturgeon ; Shark ; Chondroitin sulfate ; Infrared spectrum

(Received Aug. 28 , 2006 ; accepted Nov. 28 , 2006)

* Corresponding author