

文章编号 :1009-038X(2002)05-0487-05

$(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ 葡聚糖构象的理论分析

杨海龙, 吴天祥, 章克昌

(江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214036)

摘 要 :利用分子力学(MM2)方法计算了 $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ 葡聚糖二糖结构单元全局最低能量构象,在此基础上搭建相对分子质量分别为 2.05×10^4 和 1.026×10^5 的 $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ 葡聚糖片段并进行分子几何全优化.结果表明, $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ 葡聚糖的能量最低构象为单螺旋结构并且亲水性基团(多羟基)位于螺旋体的表面,从而认为这种构象可能是其具有刺激免疫和抗肿瘤活性的分子基础.

关键词 : $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ 葡聚糖 ; 构象 ; 分子力学

中图分类号 : O 636.1

文献标识码 : A

Conformational Analysis of $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ glucans by Molecular Mechanics

YANG Hai-long, WU Tian-xiang, ZHANG Ke-chang

(School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract : According to the global minimum of disaccharide unit of $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ glucans, the structures with the molecular mass of 2.05×10^4 and 1.026×10^5 were built, and then optimized by molecular mechanics(MM2). The result showed that $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ glucans should contain single helical structure with hydrophilic(polyhydroxylated) groups on the outside surface of the helix. This conformation is assumed to show immunological activity and antitumor activity.

Key words : $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ glucans ; conformation ; molecular mechanics

多糖作为一类具有生物活性的物质,正日益受到人们的重视.据报道,许多不同来源(主要是来自植物和微生物)的多糖具有刺激免疫、抗肿瘤的活性.它们的抗肿瘤作用并不像化疗那样直接杀死癌细胞,而是通过刺激免疫来增强机体的抗肿瘤能力.医药学上将其归类为生物反应调节剂(biological response modifiers, BRM).显现生物活性的多糖,其结构主要是具分支的 $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ 葡聚糖,如分别从 *Schizophyllum commune*, *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum* 等担子菌纯化出的裂褶菌素、香菇多糖、灵芝多糖都以这种结构为主,它们表现出很

强的刺激免疫和抗肿瘤活性并已在临床应用^[1~5].但是,在对 $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ 葡聚糖的抗肿瘤活性机理(如具抗肿瘤活性多糖的相对分子质量大小、构象等)的认识上,目前尚无定论. Ohno 等人^[6~8]研究发现,含有 $(1\rightarrow6)$ 分支的 $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ 葡聚糖刺激免疫与抗肿瘤作用的活性构象为 3 股螺旋结构,而 Saito 等^[5,9]则发现, $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ 葡聚糖的单螺旋构象是其生物活性的基础,而 Demleitner 等^[10]研究后认为, $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ 葡聚糖的构象对其活性的影响并非主要的, $\beta\text{-(1}\rightarrow3\text{)-}$ 糖苷键才是其具有抗肿瘤活性的关键.化合物的生物活性是由其分子结构(含构

收稿日期 2002-03-28 ; 修订日期 2002-06-21.

作者简介:杨海龙(1969-),男,浙江永嘉人,博士研究生.

万方数据

象)决定的,因此研究清楚(1→3)-β-D-葡聚糖的构象将有助于从分子结构上推测其刺激免疫和抗肿瘤活性的机理.为此,作者利用分子力学(MM2)计算软件对(1→3)-β-D-葡聚糖进行了分子模拟及构象优化,探讨其在稳定状态下的优势构象,以期进一步研究其刺激免疫和抗肿瘤活性的分子机理.

1 计算方法

图 1 给出了(1→3)-β-D-葡聚糖的二糖结构单

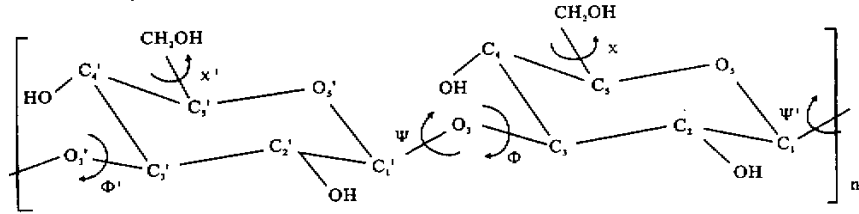


图 1 (1→3)-β-D-葡聚糖的二糖结构单元

Fig.1 Schematic illustration of the disaccharide repeating units of (1→3)-β-D-glucans

本研究中所有计算都是以分子力学(MM2)计算程序(组合于 CambrigeSoft 公司发行的 Chem3D)在个人计算机(CPU850MHz)上进行,计算过程中 MM2 的收敛准则(RMS)全部设定为 0.05.由 MM2 计算出的总立体能(steric energy)直接用于各个构象的比较.具体计算过程如下:

第一步 以 Chem3D 搭建(1→3)-β-D-葡聚糖的二糖结构单元并用 Gaussian98 (HF/sto-3G)进行全优化(计算时 C₁ 联接—OCH₃,O₃'联接—CH₃),得二糖结构单元的起始结构为:Ψ = -57.595°,Φ = -120.241°,χ = -57.950°,χ' = -50.522°,Ψ' = -50.522°,Φ' = -81.298°.

第二步:以 30°为单位分别改变 Φ 和 Ψ(从 -180°到 180°)进行各构象的能量计算,在计算中先固定 Φ 和 Ψ,键长、键角及其它二面角都可自由活动.所得能量最低构象再进行包括 Φ 和 Ψ 在内的分子几何全优化.

第三步 采用类似的方法,以 30°为单位分别改变 Ψ'和 Φ'(从 -180°到 180°)进行各构象的能量计算.所得能量最低构象再进行包括 Ψ'和 Φ'在内的分子几何全优化.

第四步 羟甲基取向分析.χ 和 χ'分别依次设定为 -60°,60°,180°(3 个交错式角度, staggered forms)进行计算^[11],从而得到二糖结构单元的全局能量最低构象(global minimum).

第五步 以(1→3)-β-D-葡聚糖二糖结构单元的全局能量最低构象为其亚结构(substructure),在

元,并标出了各原子序数.描述主链构象的二面角标注如下:

$$\Psi = O_5'-C_1'-O_3-C_3$$

$$\Phi = C_1'-O_3-C_3-C_4$$

葡萄糖基上羟甲基的取向由下列二面角决定:

$$\chi = O_7-C_6-C_5-O_5$$

$$\chi' = O_7'-C_6'-C_5'-O_5'$$

Chem3D 上搭建不同分子量的(1→3)-β-D-葡聚糖结构片段,并以 MM2 进行分子几何全优化.

2 结果与讨论

多糖的构象主要是由其主链上的二面角 Φ 和 Ψ 决定的,并可由其二糖结构单元的(Φ-Ψ)势能图近似地描述^[12].根据这一构想,首先计算出了(1→3)-β-D-葡聚糖二糖结构单元的(Φ-Ψ)能量等值图(见图 2a),其能量值范围每个分子为 166.062~279.79 kJ,可见其能量最低构象在 Φ = -60°,Ψ = 90°.为了外推(1→3)-β-D-葡聚糖的结构,计算二糖结构单元的(Ψ'-Φ')能量等值图(见图 2b)同样重要,其能量值范围每分子为 150.99~202.3 kJ,从图中可见其能量最低构象在 Ψ' = 60°,Φ' = -180°(或 180°).在羟甲基取向分析时,羟甲基的取向以旁-反式系统(gauche/trans system, g/t)描述^[13],gg = -60°,gt = 60°,tg = 180°,所以 χ 和 χ'各自被设定为 -60°,60°,180°,并进行分子几何全优化,结果见表 1.由表 1 可知,χ'为 -60°,而 χ 分别为 -60°和 60°时,两者的能量相近(每分子立体能仅相差约 0.0475 kJ).经反复计算,得(1→3)-β-D-葡聚糖二糖结构单元的最低能量构象为 Ψ = 85.498°,Φ = -65.033°,χ = 56.079°,χ' = -58.866°,Ψ' = 74.986°,Φ' = -169.511°,这一构象即为(1→3)-β-D-葡聚糖二糖结构单元的全局能量最低构象(见图 3).

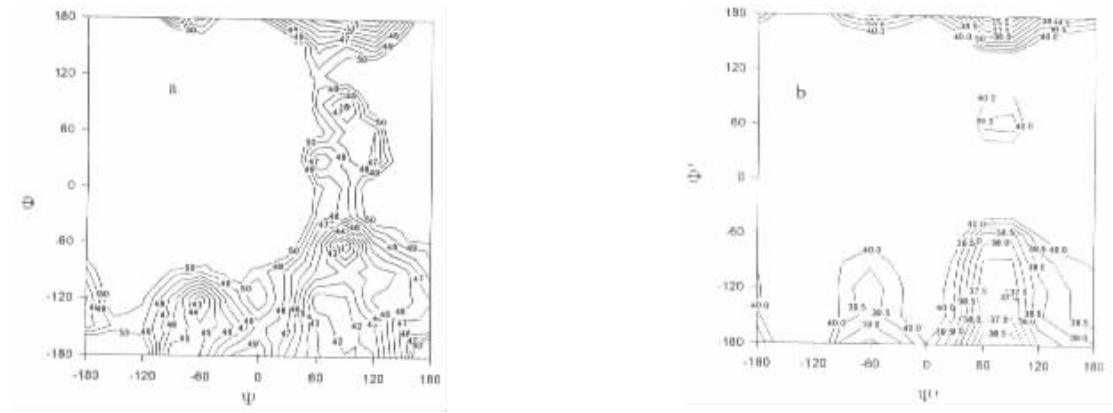


图 2 二面角能量等值图(a. $\Phi\text{-}\Psi$; b. $\Psi'\text{-}\Phi'$)

Fig.2 Iso-energy contour maps(a. $\Psi\text{-}\Phi$; b. $\Psi'\text{-}\Phi'$)

表 1 羟甲基取向与全局最低构象分析

Tab.1 Search of different hydroxymethyl orientations and global minimum

二 面 角						每分子能量 (kJ)
Ψ	Φ	Ψ'	Φ'	χ	χ'	
85.888	-64.832	75.314	-169.425	-54.329	-58.752	148.5549
85.498	-65.033	74.986	-169.511	56.079	-58.866	148.1626 *
84.709	-63.106	75.246	-169.396	174.627	-58.985	153.3115
89.909	-67.240	74.854	-168.693	-53.479	60.102	162.4198
87.617	-65.594	74.508	-169.863	56.385	59.411	162.6739
87.587	-65.094	74.115	-168.242	174.379	60.969	169.6558
89.923	-67.516	75.000	-168.495	-52.744	-166.353	170.6201
88.582	-67.014	74.702	-168.827	55.881	-166.301	170.1661
87.668	-64.890	74.421	-168.354	172.875	-166.864	177.1589

注：* 全局最低构象.

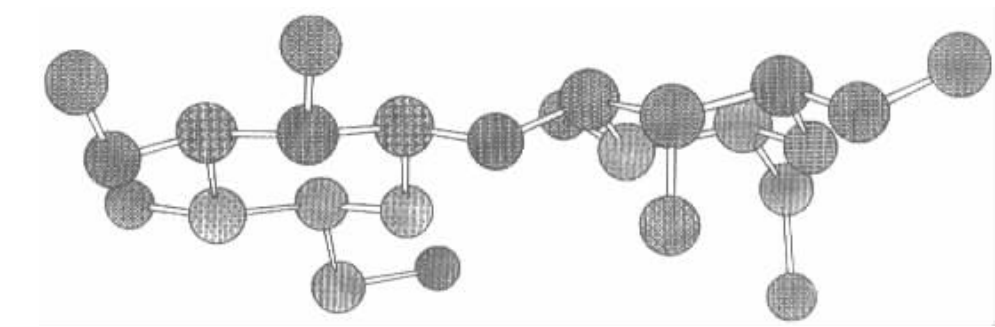


图 3 二糖结构单元的全局能量最低构象

Fig.3 The global minimum of disaccharide unit

根据 $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ 葡聚糖二糖结构单元的全局能量最低构象,以 Chem3D 搭建了相对分子质量各为 2.05×10^4 和 1.026×10^5 的 $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ 葡聚糖片段,并以 MM2 进行了分子几何全优化,结果见图 4.由图 4 可见数据 $(1\rightarrow3)\text{-}\beta\text{-D-}$ 葡聚糖片段的构象为单

螺旋结构(single helical structure),并且亲水性基团(多羟基,polyhydroxy)位于螺旋体的表面.
活性物质是通过与其生物受体(多数为细胞膜表面蛋白)的直接相互作用(立体相互作用、轨道相互作用、电性相互作用等)或间接作用,并引起生物

体内一系列生理生化反应而显现其生物活性的,多糖类物质也不例外.研究清楚(1→3)-β-D-葡聚糖的构象将有助于从分子结构上推测其刺激免疫和抗肿瘤活性的机理,并有助于研究其生物受体.从现有文献看,研究活性多糖(主要是不同分支的(1→3)-β-D-葡聚糖)的构象主要是采用比旋光法、特性粘度法、多维核磁共振法、隧道扫描电子显微镜法,或根据与刚果红结合后最大吸收波长的改变进行推测,以及化学计算法等^[2~10,14]. 计算化学(包括基于分子力学计算和量子力学的计算)借助于计算机可对活性物质(合成的或天然的)的分子结构(构象)及其性质进行研究,特别适用于实验方法费时、费力或难于用实验手段解决的问题,但选择合适的计算方法很重要. Liu 等人的研究表明,MM2 是一种适用于研究糖类物质的分子力学计算程序^[11,13]. 由于(1→3)-β-D-葡聚糖的结构不同(线性,或具有不同的分支,或分支所联基团的差异)及所采用测定构象方法的差异,文献所报道的(1→3)-β-D-葡聚糖的构象各不相同. Kulicake 等研究了(1→3)-β-D-葡聚糖的结构与免疫活性的关系后,认为包含单螺旋结构的(1→3)-β-D-葡聚糖才具有生物活性^[14], 鲍幸峰等也报道从 *Ganoderma lucidum* 孢子中分离纯化得到的多糖含有单螺旋结构并显现出很强的抗肿瘤活性^[5]. Bohn 等认为(1→3)-β-D-葡聚糖的抗肿瘤活性是由其主链上的单螺旋结构赋予的,或许是 3 股螺旋结构,但最重要的是亲水性基团(多羟基)位于螺旋体的表面^[1]. 在本研究中采用分子力学(MM2)对(1→3)-β-D-葡聚糖的构象进行研究,表明(1→3)-β-D-葡聚糖的构象为单螺旋结构并且亲水性基团(多羟基)位于螺旋体的表面. 或许(1→3)-β-D-葡聚糖在相对分子质量更大时是折叠成 3 股螺旋结构,或缠绕结构中含单螺旋体,但当它在机体内降解后肯定有相对分子质量较小的片段(可能这些片段才表现出生物活性). 本研究中最大相

对分子质量达 1.026×10^5 ,其构象仍为单螺旋结构,支持 Bohn 等人的结论. 基于本研究的结果——(1→3)-β-D-葡聚糖的活性构象为单螺旋结构,并且亲水性基团(多羟基)位于螺旋体的表面,因此认为(1→3)-β-D-葡聚糖与其受体(可能是细胞膜表面蛋白)的作用包括立体相互作用和电荷相互作用,单螺旋结构有助于其与受体匹配,而表面的多羟基与受体通过弱作用力或氢键使它们相互结合并引起受体构象的变化,从而激发生物体内的生理生化反应. 单螺旋结构并且多羟基位于螺旋体的表面是(1→3)-β-D-葡聚糖显现生物活性的分子基础.

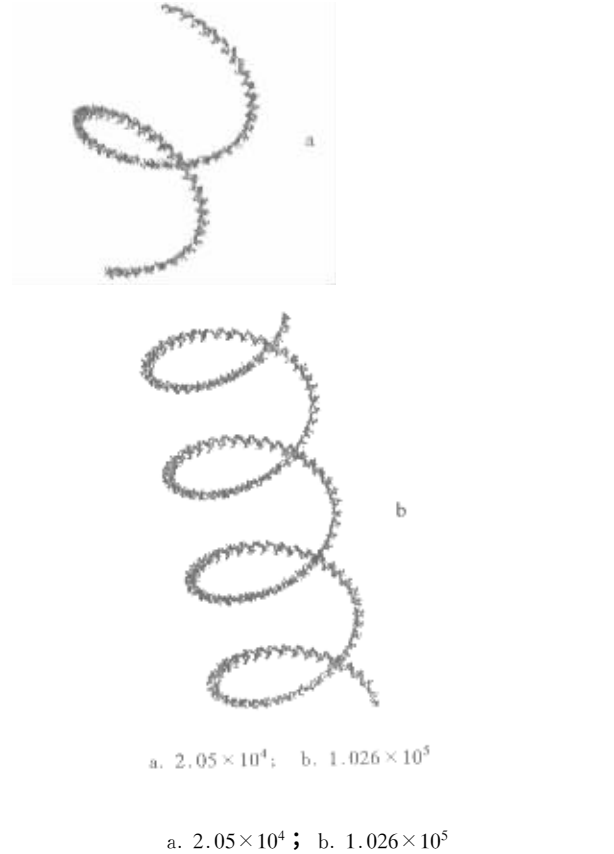


图 4 不同相对分子质量(1→3)-β-D-葡聚糖的全优化构象

Fig.4 The optimized conformation of (1→3)-β-D-glucans with different molecular mass

参考文献：

[1] BOHN J A, BEMILLER J N. (1→3)-β-D-glucans as biological response modifiers[J]. *Carbohydr Polymers*,1995,28 3-14.

[2] KIHIO T, KATSURAGAWA M, NAGAI K, *et al.* Structure and antitumor activity of a branched (1→3)-β-D-glucan from alkaline extract of *Amanita muscaria* [J]. *Carbohydr Res*, 1992,224 237-243.

[3] CHEN J H, ZHOU J P, ZHANG L N,*et al.* Chemical structure of the water-insoluble polysaccharide isolated from the fruiting body of *Ganoderma lucidum* [J]. *Polymer Journal*, 1998,30(10) 838-842.

- [4] WANG S Y, HSU M L, HSU H C, *et al.* The antitumor effect of Ganoderma Lucidum is mediated by cytokines released from activated macrophages and T lymphocytes[J]. *International journal of cancer*, 1997,70(6) 599 – 705.
- [5] 鲍幸峰,董群,方积年. 赤芝孢子粉葡聚糖 LB – NB 的结构与构象[J]. *生物化学与生物生理学报*,2000,32(6) 557 – 561.
- [6] OHNO N, MIURA N, CHIBA N, *et al.* Comparison of the immunopharmacological activities of triple and single-helical schizophyllan in mice[J]. *Biol Pharm Bull*, 1995,18 1242 – 1247.
- [7] KISHIDA E, SONE Y, MISAKI A. Effects of branch distribution and chemical modifications of antitumor $(1\rightarrow3)$ - β -D-glucans[J]. *Carbohydr Polym*, 1992,17 89 – 95.
- [8] FALCH B H, ESPEVI T, RYAN L, *et al.* The cytokine stimulating activity of $(1\rightarrow3)$ - β -D-glucans is dependent on the triple helix conformation[J]. *Carbohydr Res*,2000,329 587 – 596.
- [9] SAITO H, YOSHIOKA Y, UEHARA N, *et al.* Relationship between conformation and biological response for $(1\rightarrow3)$ - β -D-glucans in the activation of coagulation[J]. *Carbohydr Res*, 1991,217 181 – 190.
- [10] DEMLEITNER S, KRAUS J, FRANZ G. Synthesis and antitumor activity of derivatives of curdlan and lichenan branched at C-6[J]. *Carbohydr Res*, 1992,226 239 – 246.
- [11] LIU J H, ANDREW L, WATERHOUSE A L. Conformational analysis of levanbiose by molecular mechanics[J]. *Carbohydr Res*, 1992,232 1 – 15.
- [12] BRACCINI I, GRASSO R P, PEREZ S. Conformational and configurational features of acidic polysaccharides and their interactions with calcium ions[J]. *Carbohydr Res*, 1999,317 119 – 130.
- [13] WATERHOUSE A L, HORVATH K, LIU J H. Conformational analysis of β -D-fructofuranosyl-(2-6)- β -D-glucopyranoside by molecular mechanics calculations[J]. *Carbohydr Res*, 1992,235 1 – 13.
- [14] KULICKE W M, LETTAU A I, THIELKING H. Correlation between immunological activity, molar mass, and molecular structure of different $(1\rightarrow3)$ - β -D-glucans[J]. *Carbohydr Res*, 1997,297 135 – 143.

(责任编辑 杨 萌)

欢迎订阅 2003 年《粮食科技与经济》(双月刊)

探索理论 宣传政策 传播知识
交流经验 推广成果 培养人才

《粮食科技与经济》杂志是国内外公开发行、全国唯一一家融自然科学与社会科学为一体的综合性粮食刊物。辟有 : 专家论坛、改革探索、市场分析、营销谋略、现代管理、仓储科技、食品工程、饲料世界、信息技术、行业态势、产业化经营、饮食科苑、问题思考、银企连线、国外粮农、纵横录、资料窗等栏目。

邮发代号 42 – 167, 国内统一刊号 CN43 – 1252/TS。

本刊利用封面或插页刊登彩色(黑白)广告, 价格从优。

在校学生或下岗职工(附有关证件复印件)可享受半价优惠。

订阅办法 : (1) 全国各地邮局征订 ; (2) 直接向杂志社订阅。本刊每期定价 8.00 元, 全年合计 48.00 元。

银行汇款 户名 : 《粮食科技与经济》杂志社, 开户银行 : 长沙市工行伍家岭支行, 帐号 : 1901010009014406305 邮局汇款 长沙市芙蓉北路 6 号《粮食科技与经济》杂志社 邮政编码 : 410008 联系电话 (0731)4497427、4497361 传真 : (0731)4497427 E-mail Lskjjj@163.net