

参 考 文 献

- [1] 古市泰宏等: 蛋白质核酸酵素, **22**, 931, 1977.
[2] 水本清久等: *ibid.*, **27**; 773, 1982.
[3] Checkley, J. W. et al.: *J. Biol. Chem.*, **256**, 1582, 1981.
[4] Sonenberg, N.: *Nucleic Acids Res.*, **9** 1643, 1981.
[5] Sonenberg, N. et al.: *J. Biol. Chem.*, **256**, 4138, 1981.
[6] Langberg, S. R. et al.: *ibid.*, **256**, 10054, 1981.
[7] Furuichi, Y.: *ibid.*, **256**, 483, 1981.
[8] Matsui, T. et al.: *ibid.*, **255**, 11992, 1980.
[9] Shuman, S. et al.: *ibid.*, **255**, 11588, 1980.
[10] Venkatesan, S. et al.: *ibid.*, **255**, 2835, 1980.
[11] Venkatesan, S. et al.: *ibid.*, **255**, 2829, 1980.
[12] Venkatesan, S. et al., *ibid.*, **255**, 903, 1980.
[13] Ziff, E. B.: *Nature*, **287**, 491, 1980.
[14] Merrick, W. C.: *J. Biol. Chem.*, **254**, 3708, 1979.
[15] Peterson, D. T. et al.: *ibid.*, **254**, 7730, 1979.
[16] Peterson, D. T. et al.: *ibid.*, **254**, 2509, 1979.
[17] Kozak, M., *Nature*, **280**, 82, 1979.
[18] Mizumoto, K., et al.: *Fed. Proc.*, **38**, 225, 1979.
[19] Hashimoto, S. et al.: *Virology*, **94**, 254, 1979.
[20] Benne, R. et al.: *J. Biol. Chem.*, **253**, 3078, 1978.
[21] Shafritz, D. A. et al.: *ibid.*, **253**, 5939, 1978.
[22] Kozak, M. et al., *ibid.*, **253**, 6568, 1978.
[23] Smith, R. E. et al.: *Fed. Proc.*, **37**, 1503, 1978.
[24] Muthukrishnan, S. et al.: *J. Biol. Chem.*, **253**, 1710, 1978.
[25] Keith, J. M. et al.: *J. Biol. Chem.*, **253**, 5033, 1978.
[26] Mizumoto, K. et al.: *Fed. Proc.*, **37**, 1734, 1978.
[27] Monroy, G. et al., *J. Biol. Chem.*, **253** 4490 1978.
[28] Monroy, G. et al.: *ibid.*, **253**, 4481, 1978.
[29] Barbosa, E. et al.: *ibid.*, **253**, 7698, 1978.
[30] Levis, R. et al.: *J. Mol. Biol.*, **120**, 487, 1978.
[31] Ambros, V. et al.: *J. Biol. Chem.*, **253**, 5263, 1978.

[本文于1982年10月20日收到]

多 糖 的 结 构 测 定

张 翼 伸

(东北师范大学生物系)

多糖也是重要的生物高分子化合物,虽然多糖类的研究开始不比蛋白质核酸晚,但在较长时间内却没有受到重视。近十多年来情况有了变化,由于膜的化学功能、免疫物质的化学研究与发展以及新药物资源的寻找与研究等,发现糖类具有多种多样的功能,在生命现象中参与了细胞的各种活动,因此多糖的研究开始活跃起来。同时由于分离分析方法的改善,使国内外对糖类的研究有了空前迅速发展的趋势。

多糖的结构也有一、二、三、四级的概念,在一级结构的测定方面也不是轻而易举的,要解决一种多糖的一级结构,必须依次解决糖基的组成、糖基排列顺序,相邻糖基的连接方式、异头物构型,以及糖链有无分支、分支的位置与长短等。要解决多糖的空间结构当然就更复杂了。

结合我们近年实验室的工作,仅就有关多糖的分离提纯与一级结构的测定,扼要作点介

绍。

一、分 离 提 纯

尽管当前已有许多先进技术与仪器可以使用在多糖的结构测定上,但化学方法的处理仍是非常重要的。首先是多糖的提纯与精制。般先将原料物质脱脂,然后按多糖的特性用水(冷、或热水)或稀盐、稀酸、稀碱进行提取,提取液经浓缩后,即以等量或数倍的甲醇、乙醇或丙酮等沉淀析出。同一原料,分别用水,酸,碱提取所得多糖的成分常是不相同的^[1]。在提取中要防止降解,用稀酸提取时间宜短,温度最好不高于5℃,用稀碱提取时,为防止降解,常通以氮气或加入硼氢化钾或钠^[2]。稀酸稀碱提取液应迅速中和、浓缩、透析与醇析而获得多糖沉淀。用稀碱提取,经透析取其水溶部分醇析,比直接先用水提取产率较高。含有糖醛酸,硫酸基团

等的多糖,也可在盐类、稀酸溶液中直接醇析,而使多糖以盐的形式或游离的形式析出。初获粗多糖需经反复溶解与醇析,方可达到进一步精制的目的。

1. 脱蛋白

采取醇析或其他有机溶剂沉淀所获得的多糖,常杂有较多的蛋白质需要脱除。一般选择能使蛋白质沉淀而不使多糖沉淀的试剂来处理,如酚、三氯乙酸、鞣酸等,但必须处理时间短、温度低,避免多糖降解。Seoag^[3]方法(用氯仿:戊醇(或丁醇)4:1,混合振摇),在避免降解上有较好效果,要达到除尽游离蛋白质的目的需反复多次处理。如能配合加入蛋白质水解酶类(胰蛋白酶、胃蛋白酶、链菌蛋白酶等),使蛋白质大分子进行一定程度降解,再用Sevag方法一般效果都较好。有时蛋白质的极性基团与多糖的极性基团间有相互作用,虽不是结合蛋白质也较难脱除。用3%三氯醋酸提取的多糖,含蛋白质较少,用稀碱提取的,则蛋白质含量较多。对碱稳定的糖蛋白,在硼氢化钾存在下,用稀碱温和处理,可以把这种结合蛋白质分开。

2. 脱色

植物来源的多糖,因可能常含有酚型化合物,如暴露在空气中提取,则颜色较深,用碱提取则颜色更深。这类色素大多呈负性离子,活性碳等吸附剂不能脱色,弱碱性树脂如Duolite A-7或DEAE纤维素^[4]可吸附色素,但如糖与色素是结合的,则易被DEAE纤维素吸附,用水洗脱不下来。这类色素可用H₂O₂脱色(pH=8时),但温度不能高于室温,否则氧化色素的同时多糖发生部分降解。其他氧化剂也能脱色,但避免不了降解。发酵来源的多糖颜色常较浅。

某些多糖(牛乳甘露聚糖等)的提取纯化可通过铜络合物而免去脱蛋白脱色的麻烦。加入斐林试剂使生成不溶性铜络合物,然后用阴离子交换树脂分解铜络合物的方法^[5]。

3. 多糖的分级

一般提取的多糖样品,常是多糖的混合物。

多糖进一步提纯按分子量大小及形状分级,常采用分级沉淀,反复冻溶等方法。分级沉淀常用甲醇、乙醇、丙酮等有机溶剂,分子量较小的多糖水溶性较大,分支多的较直链的水溶性好,采用不同浓度的有机溶剂,可得不同级份的多糖,它们除聚合度不同之外,在化学组成上也可能不同。十六烷基三甲基氢氧化铵也常用以分级,它可以选择性沉淀某一级分或分子量较小的部分。用DEAE纤维素类柱层析,用不同浓度的盐,碱梯度洗脱,也可得到不同的级分,进一步的分级,可用凝胶柱层析或凝胶电泳以取得较单一的级分。

4. 多糖样品的干燥

醇析沉淀样品可依次用95%乙醇、无水乙醇、乙醚洗涤,离心或抽滤后,置有P₂O₅, NaOH真空干燥器中干燥。多糖水溶液经真空浓缩后可直接冻干。多糖易吸潮。在不同条件下干燥的样品,其物理性状常不相同。

5. 多糖纯度的鉴定

多糖样品经反复溶解与沉淀、分级沉淀、脱蛋白、脱色等后,其纯度判断,可根据糖基的摩尔比恒定,电泳呈现一条带,柱层析(凝胶或DEAE纤维素等)上呈现一个峰。

中性多糖电泳因其导电性弱,分子量大,在电场中移动速度慢,故常采用高压电泳,用硼酸盐缓冲液pH9—12,糖类化合物易与硼酸离子结合成络合物,大大增加了导电性^[6]。

电泳后检定的显色剂问题,一般单糖、寡糖的因醛基而发生的颜色反应,在多糖上则表现不大明显,常采用的染色剂有p-茴香胺硫酸试剂、高碘酸西夫试剂,爱尔兰兰、甲苯胺兰等。

电泳的支持物除用纸、醋酸薄膜外,也常采用玻璃纤维纸,还有利于抗染色剂的腐蚀性。聚丙烯酰胺凝胶电泳也同样可用在多糖的分离鉴定上。

二、分子量的测定

多糖类大分子化合物,虽经提纯,但常是不同大小分子混合物。例如肝素(牛、猪)的分子量3000—37500,甚至有高达100万以上的。基

本组成结构相同的多糖,常因分子量大小不同,生物活性不一样。

测定高分子化合物分子量的许多物理方法,一般也适用于多糖。此外根据多糖的化学特性而另有一些化学方法。多糖分子量测定因其不均一性常较困难,通常所测得的分子量一般只能是一种统计平均值。采取上述各种分级的方法,可得较窄狭范围的分子量产品。

沉降法、光散射法(重均分子量 M_w) 渗透压法(数均分子量 M_n) 均可测定多糖的分子量,但沉降法(沉降速度与沉降平衡法)测分子量要求粒子均匀,大小、形状相同,才能得到溶质与溶剂之间的清晰界面,如多糖的不均一性界面不易清晰。分子量较大的多糖不易制得真溶液,而光散射法所测结果因凝集作用很易夸大。渗透压法应用范围在1万—10万之间,适宜的半透膜的选择也非常重要。粘度法是实验室较简便的方法,高聚物溶液的粘度与其分子量大小及分子形状有关。粘度法不是一个绝对的方法,常用已知的结构相似的(或同系物)多糖决定 K 值($[\eta] = KM^2$), α 值经我们实验一般葡聚糖定为1尚较接近。对于不溶于水的多糖,我们曾用二甲亚砜作溶剂,取得满意的效果。多糖的聚合度(d. p.)愈高,则光散射法、超离心法与粘度法所测出的聚合度值差愈大,这是因分子愈大,聚合度愈高,大分子柔曲性愈大所致。

在不同型号的 Sephadex 或 Sepharose 柱层析上测定多糖分子量是需样品少,较简便的方法,并可用于脱盐、提纯、分级等。工作中需一系列结构相似的已知分子量的多糖作标准曲线。在相同条件下,多糖的 K_d 值较相应分子量的蛋白质低。例如在 Sephadex G-200 上,蛋白质可测分子量范围5万—80万,而多糖仅可测20万以内。在 Sepharose 4B 上,蛋白质可测分子量范围 $0.3 \times 3 \times 10^6$, 多糖只能测在200万以内的。洗脱液显色用酚硫酸^[7]法较好。

凝胶电泳法测分子量与蛋白质相同,只是染色液改用高碘酸西夫试剂,缓冲液改用硼酸盐,在电泳带上因多糖不易得到较窄范围而一

般区带较宽。

用高压液相色谱法也可测多糖的分子量^[8],以二甲亚砜作载体,用已知分子量样品作标准。

化学方法常用末端基测定法,不分支的糖链,通常具有一还原性末端与一非还原性末端基,如具有分枝链则非还原与还原末端比例增加,测量末端基数目可提供碳链长度与分枝程度的信息。末端分析方法较多,其中较好的如甲基化法、高碘酸氧化法等都是常用的方法。(后面要介绍)

三、结构分析

多糖的结构测定,如系同多糖,则需确定单糖间连接位置,糖甙键构型,以及有无分支和支点的位置和分支链的长短及糖甙键的构型等。如系杂多糖则复杂得多,组成多糖的单糖成分常有两种、三种或高达5—6种。不同单糖间都可能有不同的连接。杂多糖如成分复杂,也可折断成几种片段,各自分析,然后拼凑成一整个化合物。

1. 组成成分分析

多糖的结构分析首先要了解其成分为何种单糖所组成,以及组成糖基间的比例。确定其组分常采取完全水解其甙键的办法,多糖甙键的水解可用酸、酶进行,也可用甲醇解进行。部分水解或选择性降解,则可以把大分子裂解成各种片段,然后以片段为单位,进行片段分析。

(1) 酸水解

用酸水解可根据需要控制条件进行,如酸的浓度、温度、时间等。用硫酸1—3N, 80—100℃,3小时到8小时封管可以完全水解。部分水解的多糖,可用于分级与鉴定所生成寡糖,可以提供异头物构型与顺序的讯息。例如水解产物中有龙胆式糖,则表明其中有 β 1—6糖苷键。多糖中如有对酸较不稳定的甙键,控制酸的部分水解更有意义。例如呋喃型糖残基较吡喃型糖残基易水解,故在杂多糖中,戊糖在轻微水解中先脱落下来。在寡糖、多糖中的1—6糖甙键对酸水解也相对稳定一些。对酸较稳定的

甙键,通常是糖醛酸残基间^[9]或2-氨基2-脱氧己糖残基间甙键。一些难溶性的多糖,可碾成细粉,分散于溶液中,加甲酸共热以促进溶解,再用稀硫酸水解。

酸水解产物可用纸层析(P. C.)薄层层析(T. L. C.)气相层析等鉴定。P. C. 展剂常用正丁醇:乙酸:水(4:1:5)、正丁醇:吡啶:水(6:4:3),显色剂常用苯二甲酸氢苯胺^[10]或硝酸银-氨水^[11]。T. L. C. (硅G胶涂板)展剂除可与P. C. 相同外,也常用醋酸乙酯:醋酸:甲酸:水(18:3:1:4),醋酸乙酯:吡啶:水(10:4:3),显色剂除与P. C. 相同者外,也常用p-茴香胺试剂^[12]、茚三酮试剂与联苯胺试剂等。某些单糖在P. C. 与T. L. C. 上分离不易判断时(R_F值相距较近时)也常采用某些单糖的特殊检测方法,例如鼠李糖用巯基乙酸方法,半乳糖用半胱氨酸方法等。

(2) 乙酰解

多糖经过乙酰解反应(乙酐、冰醋酸溶液中加硫酸少许)可以生成乙酰化单糖和乙酰化寡糖,反应产物可以用P. C. TLC. GLC鉴别。寡糖与多糖中的1-6糖苷键对酸水解相对稳定一些,但在乙酰解中则优先断裂。此特点有利于结构的研究^[9]。双糖的乙酰解在不同甙键位置的相同的糖残基间相对速度不一样,一般是(1→6) > (1→4) > (1→3) > (1→2)^[10]。

(3) 碱降解

中性糖在碱性溶液中较稳定,但果胶类或含糖醛酸较多的多糖,在碱性或中性溶液中易降解,同时生成不饱和酸(β-消去反应),后者可用硫代巴比酸的颜色反应检查^[11]。

末端还原糖残基上的β-消去反应,可用于寡糖的结构分析上,在还原糖上的3-位有取代基,由于对碱的不稳定性易于确定。但用在多糖上将受到一定限制,因在多糖的还原端头三个或四个糖残基上消去反应以后,如有支链则有遮蔽结果。在碱处理中如需防止β-消去反应,可用较高浓度的KBH₄,当还原基团在进一步反应之前已被还原则不能产生β-消去反应。

单糖有差向异构物,在碱性条件下有互变

的可能,在处理组成成分须注意到。在脱盐精制等过程也应避免用强碱性阴离子树脂,否则例如葡萄糖与甘露糖互变产生,给组成成分定性定量带来不正确的结果。

(4) 酶解

不同性质的酶能作用于不同性质的甙键,包括构型和组成甙键的糖等,从生成物可以指示寡糖或多糖分子中甙键的性质,是研究寡糖和多糖结构式的一种重要手段。例如苦杏仁β-半乳糖苷酶可分解多糖末端的半乳糖甙键,果胶酶可水解半乳糖醛酸之间键^[12],支链淀粉酶可以水解支链淀粉等。水解产物的鉴定与酸水解产物相同。

2. 特殊基团的鉴定

组分测定中常有一些特殊取代基团需进一步确定,例如糖醛酸测定方法很多,通常用的有呋唑的颜色反应或联苯胺颜色反应。O-乙酰基可用羟氨基盐试验或高氯酸颜色反应,N-乙酰基用Erbing等人的方法,氨基己糖除可用亚硝酸与氨基反应外常用Blix法测定,硫酸基团可用氯钼酸钡方法测定。

3. 气相色谱分析(G. L. C.)

单糖是弱电性化合物,各种异构物很多,在分离分析上较困难,P. C. 与T. L. C. 对R_F值相近的单糖分离不够灵敏,60年代以后普遍采用G. L. C. 多糖酸水解或甲醇解(用盐酸-甲醇)成单糖或单糖甙,需衍生化以增加其挥发性。通常采用的是用三甲基硅烷基化(TMS)或三氟乙酰化(TFA),前者用六甲基二硅胺烷和三甲基氯硅烷(V/V, 2/1),后者在N,N-二甲基甲酰胺中用三氟乙酐乙酰化(1:1),但乙酰化之前,糖先用KBH₄或NaBH₄作还原剂还原成开链的糖醇化合物较好。

气相色谱为糖的分析常用担体如chrom. Q Chromosorb W, Aw-DMCS-chromosorb w等等,固定液如ECNSS-M, SE-30, SE-52, OV-225, OV-210, OV-17...等均可以用。

多糖用甲醇解方式把半缩醛甲基化,形成甲基糖甙而后TMS化,异构物减少,有利于分辨。常以甘露醇或肌醇为内标,用已知的各种单

糖作标准。气相色谱对单糖的分析所需样品很少(微克),较灵敏可靠,可定性与定量。糖醛酸与硫酸基及 0-乙酰基等均可用 G.L.C. 测定。

高效液相色谱近年来也已应用于单糖与低聚糖的分析,可以直接进糖样而不需衍生化,操作简便,并且有较高分辨等优点。

4. 高碘酸氧化与 Smith 降解

高碘酸氧化反应是一种选择性的氧化降解反应,能够作用于糖分子连二羟基或连三羟基处而生成相应的醛或甲醛、甲酸。这些高碘酸的氧化反应都是定量反应,从高碘酸的消耗(除可用硫代硫酸钠滴定外,也可用分光光度法)与甲醛、甲酸的生成,可以判断糖甙键的位置、直链多糖的缔合度、支链多糖的分枝数目等。

Smith 降解是将高碘酸氧化产物进行还原,进行酸水解或部分水解。多糖中的连二连三羟基被高碘酸修饰后,含有非环状半缩醛,它较糖甙键易水解,从水解产物的检识来判断糖甙键的位置。多糖中除 1→3 连接的糖甙键不被高碘酸氧化外,其他类型的连接被高碘酸氧化与水解后而生成不同的醛,为便于检识,将氧化的产物经硼氢化钠或硼氢化钾还原,使羰基转为羟基,然后水解用 P. C. 或 G. L. C 对水解产物鉴定。如用 G. L. C. 鉴定,则以甲醇解或乙酰解代替水解(得到多元醇醋酸酯混合物),然后把此降解产物 TMS 化,采用程序升温进行 G. L. C 分析较好。

高碘酸氧化反应必须在控制条件下进行(暗处,4—20℃ 用最小量的高碘酸试剂,保持反应在 pH3.6) 否则可能有副反应产生,而得不正确的结果。超氧化是主要的副反应,如反应温度升高,则时间宜短。

Smith 降解产物之一甘油,除可用 G. L. C. 检测外,也可用甘油激酶与甘油 3-磷酸脱氢酶测定。

不溶于水的多糖可在二甲亚砜中进行高碘酸氧化。

含有硫酸基、羧基等的多糖都用高碘酸氧化没有影响。当然,硫酸基等的定位的确证,除此之外,还应配合甲基化。

高碘酸氧化后在稀醋酸中用苯肼处理氧化残基裂断形成双苯腙^[13],称 Barry 降解,也是糖苷键定位的方法。

5. 甲基化

甲基化反应是用甲基化剂将糖中羟基甲基化成甲醚,然后水解产生部分甲基化的单糖,检识这些甲基单糖产物,就可能推测组成寡糖或多糖分子中单糖间连接的位置。甲基化的方法很多,需要找到合适的甲基化剂,常用的甲基化剂有 $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ 与 NaOH , CH_3I 与 Ag_2O , CH_3I 与 NaH , CH_3I 与 NaBH_4 , CH_3I 与 Na (在液态氨中), $\text{HCON} \begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$ 与 BaO 以及重

氮甲烷等。多糖的甲基化,近年多用 Hakomori 法^[14],利用二甲亚砜中甲基亚磺酰负碳离子催化多糖的快速过甲基化,(用 CH_3I) 作甲基化剂反应需在氮气流下进行。反复进行 2—3 次,直至红外光谱检查彻底没有羟基为止。

甲基化有用 Hakomori 方法进行二次,然后再用 Purdie 方法(Ag_2O 与 CH_3I) 一次。或先用 CH_3I 与 Na 进行部分甲基化再用 Hakomori 方法。在二甲亚砜中不溶解的多糖,则可分散在液态氨中 -60°C 。

甲基化多糖经水解(常先用 90% 甲酸助溶,后用三氟乙酸或稀硫酸水解)后所得部分甲基化的单糖挥发性变大,对糖的物化分析很有实际意义,可用于 G. L. C 及质谱分析(M. S) 中。通常甲基化多糖水解后,用 NaBH_4 或 KBH_4 还原,并进行乙酰化生成多元醇、醋酸酯^[15],然后进行 G. L. C. 从甲基化产物判断糖苷键的位置与分支点,从非还原末端多少判断多糖分子的长度。甲基化多糖也常用乙酰解降解。

甲基化的样品用 G. L. C. 分析需样品少,但需标准化样品作对照。因 GLC 与 M. S 都是在气相中工作,联用较容易,只要先把 G. L. C 条件弄好,就可用到 G. L. C-M. S. 上,使 G. L. C. 所得到的信息进一步确证,并可与文献标准图谱比较^[16]。从不同甲基化糖出现 m/e 值的峰(从碎片离子,从主峰的 m/e 和丰

度)与标准碎片离子峰图谱对照,至少可定性,如有标准样品则可定量。

此外,甲基化的多糖水解得含有自由羟基的甲基化单糖,后者的羟基易氧化成醛或酮,经碱处理而产生 β -消去反应,结果生成 α, β 不饱和醛糖或酮糖,轻度水解易被降解,由此也可知羟基位置,即多糖中单糖残基相连的位置。

多糖中如含有高比例的糖醛酸残基进行甲基化时,一般采取先酯化与还原的办法,使羧基还原成羟基然后再进行甲基化。糖醛酸的酯化,可用重氮甲烷^[17]或碳化二亚胺^[18],还原甲基酯可用 KBH_4 或 LiAlH_4 。

6. 甙键的检测

多糖中单糖残基间的甙键,可能是 α 或 β 型,除前已述及利用专一性的酶可以识别外,也可利用仪器分析。

(1) 比旋

比旋的测定也常用作判断 α 或 β 甙键的参考,较大的比旋正数常是 α -糖苷键,较大的负值常是 β -糖苷键。多糖的水溶液大多呈胶体状态,透明度差,常用稀盐,稀碱助溶,以增加透明度。完全不溶于水者,也可用二甲亚砜作溶剂。

此外用旋光光谱与圆二色性可以检测多糖空间结构的不对称情况如螺旋片段等,也可以用来确定多糖中单糖是D或L构型^[19]。

(2) 红外光谱

红外光谱对多糖结构分析也是有力的工具。例如甙键的证明, 890cm^{-1} 吸收峰是 β -吡喃糖苷键特征, 840cm^{-1} 吸收峰则是 α -吡喃糖甙键的特征。此外从红外光谱 $1100\text{—}700\text{cm}^{-1}$ 区域间的吸收峰,可以检视甙键的构型和糖环部分的大小,例如吡喃糖甙在 $1100\text{—}1010\text{cm}^{-1}$ 间应有三个强吸收峰,而呋喃糖甙在相应区域只出现两个峰。另外 $810, 870\text{cm}^{-1}$ 是甘露糖的特征吸收峰, 1260 与 1730cm^{-1} 是酯基或O-乙酰基的特征等都有利于对糖的结构分析。

(3) 核磁共振(N. M. R)

N. M. R 在提供单糖、多糖的信息方面,诸如取代效应、顺序、构象等都有重要意义。例

如异头物可用 H'N. M. R 图谱分析确定,化学位移在 $\tau 4.5\text{—}5.5$ 之间^[20], β 苷键 τ 在 $5.25\text{—}5.31$, α 苷键则为 $4.91, 5.03$ 。用 $\text{C}^{13}\text{N. M. R}$ 更可提供较多讯息,例如 $\text{C}^1\text{—}1\beta$ 甲基 α -葡吡喃残基在 ~ 105 P. P. M, 而 $\text{C}^1\text{—}1\alpha$ 甲基 d-葡吡喃残基则在 101 P. P. M。

如多糖的分子量过大,进行 N. M. R 分析较困难,可进行部分水解,减小其分子量,以水解产物片段(重复单位)代表整个分子。

有关多糖结构分析,常因多糖的不同从不同的角度,灵活运用各种方法。上面所列举的一些方法,大多结合我们的实践体会。目前文献中方法甚多,特别是涉及膜上的糖,动物来源的多糖等叙述较少,甚以为憾。

参 考 文 献

- [1] Shida, M. et al.: *Carbohydrate. Res.*, **41**, 211, 1975.
- [2] Larsen, B.: *Acta. Chem. Scand.*, **20**, 219, 1966.
- [3] Stanb, A. M. et al.: "*Method in Carbohydrate Chem.*, V." p. 5, 1956.
- [4] 张翼伸等:《吉林师大学报》2, 108, 1979.
- [5] Claude DE Bieure: *Carbohydrate, Res.*, **95**, 313, 1981.
- [6] Hough, L. et al.: *J. Chem. Soc.*, **1702**, 1950.
- [7] Dubois, M. et al.: *Anal. Chem.*, **28**, 350, 1956.
- [8] Manners, D. J. et al.: *Carbohydrate. Res.*, **17**, 109, 1971.
- [9] Rosenfedd, L.: *Bioch. Biophys. Res. Comm.*, Vol. **63**, No. 3, p. 571, 1975.
- [10] Lindberg, B.: *Advance in Carbohydrate Chem. and Biochem.*, Vol. **31**, p. 197, 1975.
- [11] Haug, A.: *Acta Chem. Scand.*, **17**, 1466, 1963.
- [12] 张翼伸等:《东北师大学报》自然科学版 2, 97, 1982.
- [13] O'Colln, P. S., *Methods Carbohydrate, Chem.*, **5**, 382, 1965.
- [14] Harkomori, S. I.: *J. Biochem (Tokyo)* **55**, 205, 1964.
- [15] Smestad, B. et al.: *Acta. Chem. Scand. Ser. B.*, **28**, 662, 1974.
- [16] Bjorndal, H. et al.: *Carbohydrate, Res.*, **5**, 433, 1967.
- [17] Soloveva, T. F.: *ibid.*, **10**, 13, 1969.
- [18] Tayler, R. L.: *Methods, Carbohydrate, Chemistry*, **7**, 149, 1976.
- [19] Bebanlt, G. M. et al.: *Can. J. Chem.*, **51**, 324, 1973.
- [20] Bebanlt, G. M. et al.: *Carbohydrate, Res.*, **63**, 183, 1978.

[本文于 1982 年 10 月 22 日收到]