

甜菊糖生物转化及天然药物开发进展



陈育如 教授/工学博士
手机: 18961000581
Email: chen_yuru@njnu.edu.cn
江苏省微生物工程产业化工程中心

目录

- 1、甜菊糖的组份分离与生物转化
- 2、甜菊糖的改构与生物转化
- 3、甜菊糖的水解与产品
- 4、甜菊糖衍生物及药物开发
- 5、甜叶菊的全利用

二个南师在研项目 (8位研究生)
四个泰院在研项目: 二种植物药用成份的鉴定
二种植物天然产物的分离

2010年泰州市第七届自然科学
优秀论文二等奖 (甜菊研究)
2010年泰州市先进科技工作者
2011泰州市教育十大新闻人物



陈育如 生物技术与化学工程学院
院长 书记
教授 工学博士

南京师范大学泰州学院
NANJING NORMAL UNIVERSITY TAIZHOU COLLEGE

江苏省泰州市东风南路518号 邮编:225300
电话:0523-86152880 传真:0523-86152880
手机:18961000581(泰州) 13913975397(南京)
Email:chenyuru@njnu.edu.cn QQ:905725967
网址: http://bio.nnutc.edu.cn

授权发明专利

- 1. 一种由甜菊糖苷制备甜茶甙的方法, 200910036066.5 (发明专利, 授权).
- 2. 一种提高甜菊糖甜质的方法, 200910035921.0, (发明专利, 授权).
- 3. 一种同时制备异甜菊醇和槐糖的方法, 200910025817.3 (发明专利, 授权).

公开和申请的专利

- 一种生物转化甜菊糖中甜菊苷为甜菊双糖苷的方法 CN10170786.3.
- 一种异甜菊醇或其衍生物超分子组合物及其制备方法 CN10033424.7.
- 一种以甜叶菊同时制备总咖啡酰喹尼酸和甜菊糖的方法CN201210055626.3
- 黄杆菌胞内酶提取和快速转化甜菊糖为甜茶甙的方法 CN10569609.2.
- 巴氏微杆菌XJ及应用该菌制备甜菊醇的方法. CN 10159563.1.
- 异甜菊醇及其衍生物脂质体制剂及其制备方法. CN10184140.8.

相关专利

(甜叶菊的全利用)

- 1、微生物发酵剂. ZL10065178.0(发明专利, 授权). 提取剩余物生产绿色有机肥
- 2、微生物发酵剂生产饲料或乙醇. ZL 10065656.8 (发明专利, 授权) 提取剩余物的饲料化
- 3、一株棘孢曲霉及用该菌制备四羟基异黄酮的方法, CN10225855.0 (黄酮类)
- 4、一种以甜叶菊同时制备总咖啡酰喹尼酸和甜菊糖的方法 CN201210055626.3 (总咖啡酰喹尼酸类)

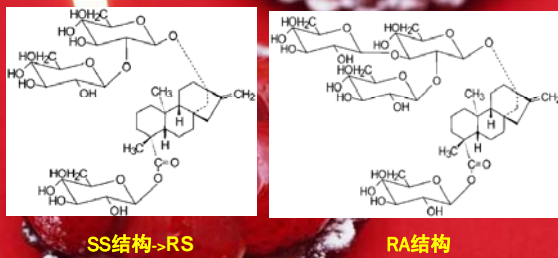
相关论文

- 1、一株将甜菊苷转化为甜茶苷的细菌鉴定及转化特性, 微生物学报, 2011, 一级权威期刊
- 2、一株快速转化甜菊苷的细菌鉴定、产酶及转化特性. 微生物学报, 2010, 一级权威期刊.
- 3、β-葡萄糖苷酶转化甜菊糖的研究, 食品工业科技, 2011, 二级权威期刊
- 4、大孔树脂D107和D108对甜菊糖中SS和RA的分离研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 核心期刊
- 5、高产环糊精葡萄糖基转移酶的枯草芽孢杆菌选育、产酶与酶学特性[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 核心期刊

1、甜菊糖的组份分离与生物转化

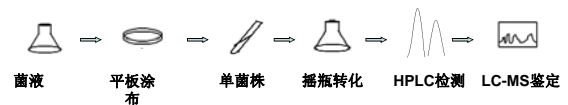
甜叶菊原产于巴拉圭的Amambay及Mbaxacayu山脉, 野生的甜叶菊早在400多年前就被当地的居民用做茶中的增甜剂, 直至1887年, 才引起人们的注意。1905年由植物学家Bertoni命名为 *Stevia Rebaudiana*, 日本于1970年引种之后, 发展非常迅速。我国自1976年开始由南京中山植物园、中国农业科学院等科研单位先后从日本引进甜叶菊试种成功。80年代初向全国各地推广种植, 我国现已成为世界上最大的甜菊糖生产国和出口国。

RA和SS的分子结构

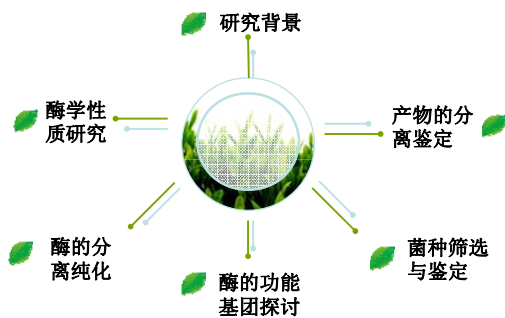


相关微生物的筛选与鉴定

菌株筛选过程

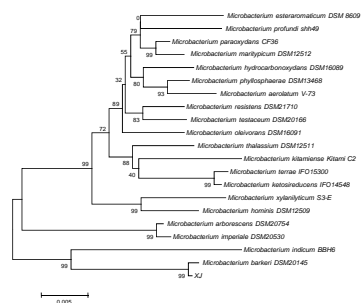


研究内容



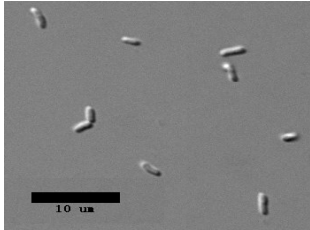
菌株鉴定

• 进化树图谱



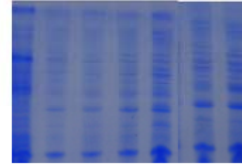
菌株鉴定

• 4. 菌落形态



菌的显微照片 (630×)

酶的分离



原 30% 40% 50% 60% 70% 80%

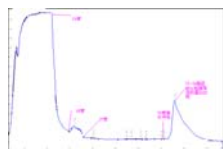
作用:

- 1. 去除杂蛋白
- 2. 浓缩蛋白

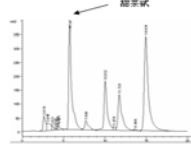
条件探索

(一) 上样缓冲液

- 1. 含盐的缓冲液等度洗脱。
- 2. HPLC检测目的蛋白转化产物。

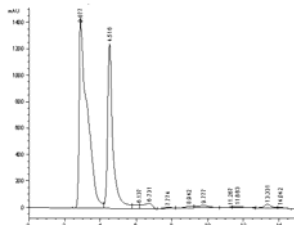
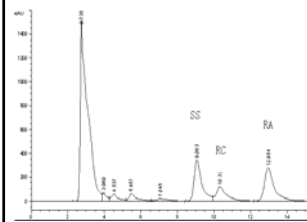


疏水层析图

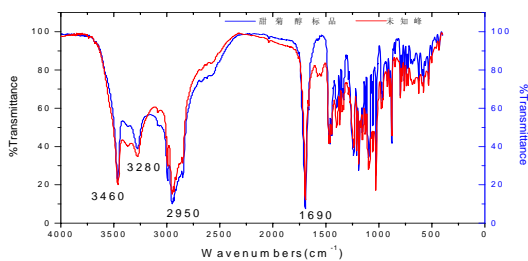


甜茶苷
目的蛋白峰转化产物的HPLC

转化产物



产物鉴定



2、甜菊糖的改构与生物转化

- a. 去糖基
- 一种由甜菊糖制备甜茶苷的方法. ZL10035921.0.授权
- 黄杆菌胞内酶提取和快速转化甜菊糖为甜茶苷的方法 CN10569609.2.
- 一种生物转化甜菊糖中甜菊苷为甜菊双糖苷的方法 CN10170786.3
- 一株将甜菊苷转化为甜茶苷的细菌鉴定及转化特性研究 [J].微生物学报, 51(1):43-48. 一级权威期刊.



2、甜菊糖的改构与生物转化

b. 转糖基

分离ST和RA

(1) 大孔树脂D107和D108对甜菊糖中SS和RA的分离研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(6):1-4. 核心期刊.

(2) 高产环糊精葡萄糖基转移酶的枯草芽孢杆菌选育、产酶与酶学特性[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(4):97-102. 核心期刊.

酶法改性 (夏泳梅教授、山东大学的研究, 华仙公司专利等等)



3、甜菊糖的水解与产物

化学方法

1. 一种同时制备异甜菊醇和槐糖的方法. ZL10025817. 3. 授权
2. 一种异甜菊醇或其衍生物超分子组合物及其制备方法. CN10033424. 7.
3. 异甜菊醇及其衍生物脂质体制剂及其制备方法. CN10184140. 8.

生物方法

4. 巴氏微杆菌XJ及应用该菌制备甜菊醇的方法. CN 10159563. 1.

4、甜菊糖衍生物及药物开发

异甜菊醇或其衍生物超分子组合物及其制备方法

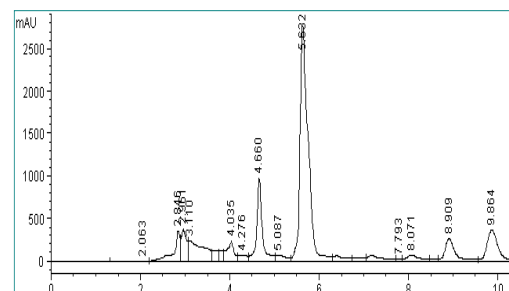
异甜菊醇及其衍生物脂质体制剂及其制备方法

甜菊醇 (巴氏微杆菌应用)

5、甜叶菊的全利用

- 1、微生物发酵剂. ZL10065178. 0 (发明专利, 授权). 提取剩余物生产绿色有机肥
- 2、微生物发酵剂生产饲料或乙醇. ZL10065656. 8 (发明专利, 授权) 提取剩余物的饲料化
- 3、一种以甜叶菊同时制备总咖啡酰喹尼酸和甜菊糖的方法 CN201210055626. 3 (总咖啡酰喹尼酸类)

HPLC Chromatogram



绿原酸合成类似物的构效关系

绿原酸为微粒体中Glc-6-P 酶活性新型抑制剂。为了阐明对Glc-6-P 位移酶抑制作用的构效关系,对绿原酸的咖啡酸、环己基、1 位及其类似物酯基部分进行了化学修饰或结构改造,合成了28 种绿原酸类似物。

结构与抑酶活性关系比较研究表明,绿原酸中苯环4 位单羟基足以确保抑酶活性,如化合物10 (IC50= 250 Lm)。咖啡酸和奎尼酸本身无抑制作用。3位酯基的改变对抑制活性几乎不产生影响。1 位羟基也不是抑制作用所必要的,如化合物11(IC50= 250 Lm)和12 (IC50= 230 Lm),与绿原酸(IC50= 230Lm)一样。但在1位羟基通过烷基化引入芳香取代基侧链可增加抑制作用,因芳香环和环己基环间保持有4 个原子合适的链长度,如绿原酸的烷基化衍生物13 (a~e)。改变芳香环上取代基可形成更强劲的抑制剂,如引入4-氯苯基丙基侧链,则得到化合物13d (IC50= 2.5Lm),是绿原酸的100 倍。绿原酸醚化物酯基部分经改造所得化合物14 (a~e) 活性都远强于绿原酸。目前,进一步优化先导化合物(lead structure) 13d 的研究工作正在进行,可望创新成治疗非胰岛依赖性糖尿病药物。

绿原酸和异绿原酸对多种致病菌和病毒有较强的抑制和杀灭作用。绿原酸有利胆、降压、抗菌、消炎及升高白细胞、显著增加胃肠蠕动和促进胃液分泌等药理作用,对急性咽喉炎症及皮肤病有明显疗效,临床上用于治疗急性细菌性感染疾病及放、化疗引起的白细胞减少症,对月经过多、子宫功能性出血有良好的止血效果,还具有肾上腺素类似作用。绿原酸的水解产物咖啡酸也具有升白、止血、利胆、抑制单纯疱疹病毒之功效。

德国Eich 教授在研究有些植物次生代谢物作为抗逆转录病毒剂时,认为绿原酸是有希望成为抗艾滋病病毒(HIV) 的先导化合物。这与英国专利报道的杜仲树皮或叶的碱性提取物治疗和预防艾滋病病毒感染很有效果的结论相一致。

高纯度绿原酸被公认为是第三代强抗氧化剂。可阻止或修复自由基引起的对体内分子的损害,能有效延缓人体衰老。

绿原酸的功效

- 1、抗氧化
- 2、降血糖
- 3、肝损伤治疗

试验研究证明,绿原酸可以有效抑制肝细胞中的6-磷酸葡萄糖酶活性而降低血糖浓度。这一发现为人们提供了一种不依靠降糖药治疗糖尿病的方法。

实验证明:绿原酸对四氯化碳、黄磷、酒精等物质引起的脂肪变性导致的脂肪肝以及酒精在体内代谢产生的中间产物引起脂肪过氧化反应,导致的中毒性肝损伤等均有疗效。

