

甘肃省大学生创新创业训练计划
项目申报表
(创新训练项目)

推荐学校：西北师范大学（盖章）
项目名称：离子液体催化合成高硒含量多糖衍生物的研究
所属一级学科名称：生物学
项目负责人：王湔
联系电话：17361634972
指导教师：王俊龙
联系电话：13919168252
申报日期：2018年4月

甘肃省教育厅 制
二〇一八年四月

项目名称		离子液体催化合成高硒含量多糖衍生物的研究						
项目所属一级学科		生物学						
项目实施时间		起始时间：2018 年 4 月 完成时间：2019 年 4 月						
项目简介 (100 字以内)	本团队以磺酸功能化酸性离子液体为催化剂和溶剂，增强体系的酸性，直接活化亚硒酸合成高硒含量多糖衍生物，可以通过对离子液体结构的调控，实现对产物硒含量和分子量的控制，为多糖衍生物的合理设计提供参考。							
申请人或申请团队		姓名	年级	学号	所在院系/专业	联系电话	E-mail	
	主持人	王湔	2016 级	201674040124	生命科学学院/制药工程	17361634972	244480246@qq.com	
		张宗沂	2015 级	201574040138	生命科学学院/制药工程	15020333074	877239400@qq.com	
	成员	王佳宁	2016 级	201674040125	生命科学学院/制药工程	13904367387	905018167@qq.com	
		耿美琳	2016 级	201674040104	生命科学学院/制药工程	18894574773	2424218988@qq.com	
		陈甜甜	2016 级	201674040102	生命科学学院/制药工程	17393154794	602430950@qq.com	
指导教师	第一指导教师	姓名	王俊龙		单位	西北师范大学		
		年龄	35 岁		专业技术职务	教授		
	主要成果		主持国家自然科学基金项目 2 项，甘肃省杰出青年基金和自然科学基金项目各 1 项。在 Food Chemistry、Carbohydrate Polymer 等 SCI 收录期刊发论文 20 篇，授权发明专利 7 项。获甘肃省专利三等奖 1 项，甘肃省高校科技进步二等奖 1 项。					
	第二指导教师	姓名	无		单位	无		
		年龄	无		专业技术职务	无		
	主要成果		无					

一、申请理由（包括自身具备的知识条件、自己的特长、兴趣、已有的实践创新成果等）

1. 项目申请人为制药工程专业本科在读学生，学习成绩优秀、对学术科研有浓厚兴趣。参与与本专业相关的科学研究课题，符合我省大学生“双创”的指导思想，在将理论知识和实验技能有机结合的同时，也为今后就业中从事相关的科研、生产工作打下坚实的基础。

2. 申请人在校期间积极参与各类竞赛活动，获得过“西北师范大学 2017 年物理实验竞赛非专业组三等奖”和“西北师范大学第五届化学实验竞赛非专业组优秀奖”等荣誉。

二、项目方案

1、项目研究背景及立项依据

多糖及其衍生物具有多种的生物活性，如抗肿瘤、抗病毒、免疫调节、降血糖等，这些生物活性的发挥与其结构有关，利用多糖残基上的羟基、氨基、羧基等官能团，对多糖的结构进行分子表面修饰，可进一步改善多糖的诸多性能，甚至获得具有特定结构的功能新材料。

硒（Selenium, Se）作为生命活动必不可少的微量元素，在延缓人体衰老、提高免疫力、预防心血管和治疗克山病等方面起到不可替代的重要作用。自然界中存在无机硒和有机硒两种形式。无机硒具有蓄积性毒副作用和致突变作用，对机体的毒性比较大，活性也不高；而有机硒具有无毒和生物活性高等特性。将硒和多糖结合后把无机硒转变为有机硒，不仅使硒的生物活性和机体吸收利用度要高于未结合时的状态，而且硒和多糖的生物活性都有所增强。已经有报道得知硒多糖具有良好的体外抗氧化、抗肿瘤和免疫增强等效应。无机硒和多糖的有机结合的多糖衍生物是一种极具潜力且有望成为一种更好的抗肿瘤制剂。

目前，硒多糖主要来源于天然富硒产物和微生物富集硒多糖的提取及人工合成硒多糖三方面，其中天然产物中提取的硒多糖中硒含量较低，人工富硒生物转化法获得硒多糖效率不高，近年来人们逐渐转向化学合成的方法合成硒化多糖。化学合成中多用亚硒酸和多糖的酯化反应合成硒多糖，最常见的是 $\text{Na}_2\text{SeO}_3/\text{HNO}_3$ 体系，但是在此体系下硒化试剂酸性较弱、多糖的羟基亲核性和硒化试剂的亲电性较低，使得该方法所得硒多糖的硒含量较低（ $\sim 5000 \mu\text{g/g}$ ）。为获得高硒含量的硒化多糖，可以通过活化多糖或亚硒酸来提高酯化反应的产率。

有机碱常用来活化多糖，而有机碱的使用对多糖和亚硒酸反应体系是不利的。因此可以通过活化亚硒酸来提高反应效率，而常用作酸催化剂的主要有无机酸（如浓硫酸）、酸性离子液体、固体酸等，常规的催化剂如浓硫酸虽价格低廉但反应副产物多，易腐蚀设备，污染环境。因此有必要采用一种易与产物分离，反应后处理简单、可重复利用且不腐蚀设备的绿色催化剂。酸性离子液体的出现很好的解决了衍生化过程中的问题。酸性离子液体对多糖有着良好的溶解和催化双重作用，并在多糖衍生化领域中取得了良好的效果如：产物得率高和经济环保等。

离子液体的酸度强弱决定着硒化试剂的活性（离子液体酸度越高催化活性越强），进而影响到硒含量的高低，而酸度又由阴阳离子的结构所决定。所以提高离子液体中阳

离子的酸性显得很有必要。因此寻找一种新型合成体系来解决现有的衍生化问题，并研究阳离子结构对硒化合成的影响具有很重要的积极意义。

2、项目研究目标及主要内容

(1) 研究目标：

合成高硒含量(预测达 20000 $\mu\text{g/g}$)多糖衍生物，研究离子液体组成对硒多糖结构的调控规律。

(2) 研究内容：以磺酸功能化酸性离子液体为催化剂和溶剂，增强体系的酸性，直接活化亚硒酸合成硒化圆头蒿多糖 (Selenated *Artemisia sphaerocephala* polysaccharide, SeASP)，通过对离子液体结构的调控，实现对产物硒含量和分子量的控制。通过 FT-IR、XPS、NMR、SEC 等方法对产物结构表征，探究阳离子磺酸化对多糖硒化反应的调控规律，获得高硒含量多糖衍生物。

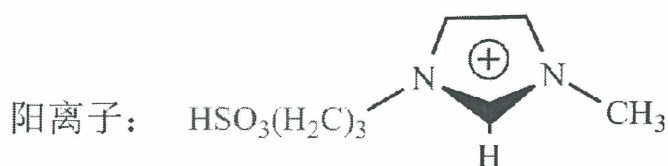
3、项目创新特色概述

将磺酸功能化的离子液体用于硒酸化多糖衍生物的合成，以及探究阳离子磺酸化对多糖硒化反应的调控规律，以上研究内容尚未见国内外文献和专利报道。

4、项目研究技术路线

(1) 研究方法：

① 酸性离子液体的制备：在一定条件下，先将甲基咪唑进行磺酸功能化 ($[\text{HSO}_3\text{CH}_2\text{MIm}]$)，再与 HCl 、 $\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}_2$ 、 HNO_3 、 H_2SO_4 、 AcOH 和 HBF_4 反应制得系列酸性离子液体。

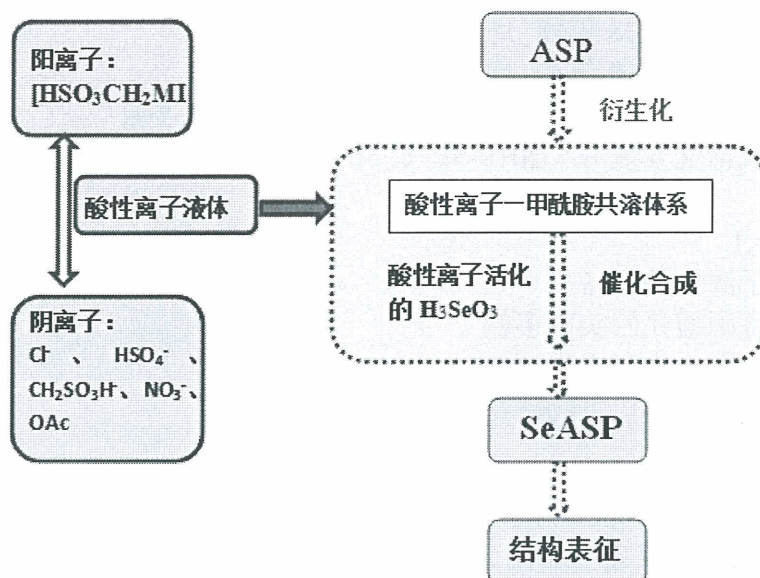


阴离子： $\text{X}=\text{Cl}^-$ 、 HSO_4^- 、 NO_3^- 、 CH_3SO_3^- 、 OAc 、 BF_4^-

② 硒化多糖的合成：以纯化的 ASP 为材料， H_2SeO_3 为硒化试剂，在上述酸性离子液体和甲酰胺形成的共溶剂体系中，催化合成 SeASP。通过所得产物硒含量和分子量的变化，考察阳离子经过磺酸功能化后对硒化反应的影响并总结规律。

③ 结构表征：利用荧光法测定产物的硒含量，并用红外光谱 (FT-IR)、X 射线光电子能谱 (XPS) 和核磁共振碳谱 (^{13}C NMR) 对多糖中硒元素的价态和取代位置进行分析；利用体积排阻色谱 (SEC) 对产物的分子量和分子量分布进行测定，探讨修饰后产物的结构特点。

(2) 技术路线:

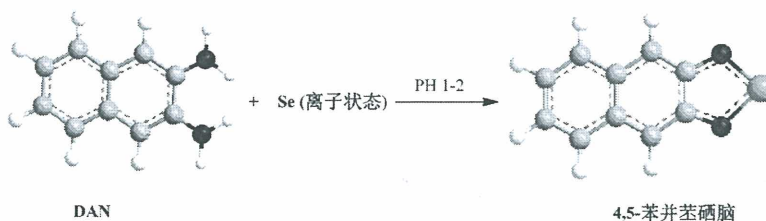


(3) 实验方案:

① 基于离子液体下多糖的硒化: 使用电子天平准确称取 300 mg ASP 置于干燥的三口瓶中, 加入 40 mL 甲酰胺或以含氯基的离子液体为溶剂, 在 80℃ 条件下搅拌 3 h, 获得甲酰胺/离子液体多糖溶液。将冷却至室温的甲酰胺 ASP 溶液, 缓慢滴加到经酸性离子液体活化后的亚硒酸, 全程氮气保护, 在一定条件下可获得 SeASP。所得粗产物经洗涤沉淀、透析、浓缩、冷冻干燥后得到纯化产物。

② 硒多糖中硒含量的测定和结构表征:

硒含量的测定: 移取含硒溶液, 加入蒸馏水至 20.0 mL, 加入 5.0 mL 浓度 1.0 % 的乙二胺四乙酸 (EDTA) 溶液, 10.0 mL 浓度 10% 的盐酸羟胺液, 用盐酸调 PH 至 1.5~2.0 之间, 加入 0.1% 的 2,3-二氨基萘 (DAN) 溶液 3 mL, 室温放置 2 h 后, 用 4 mL 的环己烷萃取, 萃取后静置 10 min, 有机相置于 1 cm 的石英比色皿中, 以 380 nm 为激发波长, 发射波长为 158 nm 下, 测定荧光强度。(加入 DAN 均在暗室下进行)



结构表征: 利用红外光谱 (FT-IR)、X 射线光电子能谱 (XPS) 和碳谱 (^{13}C NMR) 分析硒的价态和取代位置; 利用体积排阻色谱 (SEC) 测定产物的分子量和分子量分布。

5、研究进度安排

(文献查阅): 2018 年 3 月至 2018 年 4 月

(社会调查): 2018 年 4 月 至 2018 年 6 月
 (方案设计): 2018 年 7 月 至 2018 年 8 月
 (实验研究): 2018 年 8 月 至 2018 年 9 月
 (数据处理): 2018 年 9 月 至 2018 年 12 月
 (撰写论文或研究报告): 2018 年 12 月 至 2019 年 3 月
 (成果推广或论文发表): 2019 年 4 月 至 2019 年 5 月

6、项目组成员分工

王佳宁—离子液体的制备
 耿美琳—制备硒酸化圆头蒿多糖
 陈甜甜—多糖衍生物硒含量测定
 王淏、张宗沂—多糖衍生物硒结构表征

三、学校提供条件（包括项目开展所需的实验实训情况、配套经费、相关扶持政策等）

- 1、西北师范大学创新创业学院为所开展的立项项目提供人民币总计 1000 元（大写壹仟元整）。本课题受国家自然科学基金项目支持（51463022）。
- 2、所在的西北师范大学生命科学学院具备实验所需的红外光谱、荧光分光光度计等，化学测试中心有实验所需的体积排阻色谱、核磁共振仪。
- 3、西北师范大学图书馆的中外文电子资源数据库便于获得国际上最新的研究动态和技术资料。本实验所需的研究条件基本具备，为实验的顺利进行创造了有利条件。

四、预期成果

- 1、明确阳离子的磺酸功能化对酸性离子液体催化对于多糖硒化的影响规律，确定一种最佳的离子液体体系，以此解决现有的多糖衍生化问题。
- 2、发表 SCI 论文 1 篇，申请国家发明专利 1 项。

五、经费预算

总经费（元）		财政拨款（元）		学校拨款（元）	
--------	--	---------	--	---------	--

注：总经费、财政拨款、学校拨款由学校按照有关规定核定数目进行填写

具体包括：

- 1、资料购置、打印、复印、印刷等费用 500;
- 2、试验费 4700;
- 3、学生撰写与项目有关的论文版面费、申请专利费等 500;
- 4、其他 300.

六、导师推荐意见

王湔等同学在校期间学习刻苦，成绩优秀，已在本人实验室进行了一学期的实验技能训练，对科学研究有浓厚的兴趣，特推荐其申请“甘肃省大学生创新创业训练计划项目”，并承诺为该项目提供相关的实验场地、经费和科研指导。

签名: 王俊龙

2018年4月26日

七、院系推荐意见

同意推荐

院系负责人签名:



学院盖章:



2017年4月27日

八、学校推荐意见:

同意推荐

学校负责人签名:



学校公章



2017年4月28日

注：表格栏高不够可增加。