

多糖构效关系研究进展

高小荣, 刘培勋*

(中国医学科学院 中国协和医科大学放射医学研究所, 天津 300192)

多糖是由 10 个以上单糖通过苷键连接而成的聚糖, 在自然界分布极广, 在高等植物、藻类、菌类及动物体内均有存在, 是自然界含量最丰富的生物聚合物。多糖具有多方面的功能, 如能量储存、结构支持、防御功能等。多糖作为药物应用是在 20 世纪 40 年代, 自 20 世纪 60 年代以来, 人们陆续发现多糖具有更多的生物活性, 不仅可以作为广谱免疫促进剂, 具有免疫调节功能, 还可以抗感染、抗放射、抗凝血、降血糖、预防和治疗肿瘤、艾滋病等。近年来, 由于天然药物化学、药理学研究的不断深入, 分析手段得到突飞猛进的发展, 多糖的构效关系研究引起了国内外学者的极大兴趣, 多糖的结构是其生物活性的基础, 二者密切相关, 因此, 研究多糖的构效关系具有十分重要的意义。本文仅就近年来的研究进展进行综述。

1 多糖的结构与抗肿瘤活性

1.1 多糖抗肿瘤活性与主链的组成有关: 对于有抑瘤活性的葡聚糖, 其中大多数的结构都是以(1-3)- β -D-葡聚糖为主链, 并沿主链随机分布着由 β (1-6)连接的葡萄糖基, 呈梳状结构。这些多糖的抗肿瘤活性是因为其活化了宿主的免疫系统的结果, 而不是直接的细胞毒作用。邓成华等^[1]从虎乃菌中分离得到具有抗肿瘤、保肝等作用的活性成分, 其结构为(1-3)- β -D-葡聚糖, 并含有 1,6-连续支链。

目前研究较多的(1-3)- β -D-葡聚糖是香菇多糖和裂褶菌多糖。两者都属于担子菌类, 他们都是具有(1-6)- β -D-葡萄糖分支的(1-3)- β -D-葡聚糖, 平均相对分子质量分别为 5×10^4 和 4.5×10^5 。在裂褶菌多糖中, 每 3 个主链葡萄糖单位就有一个(1-6)- β -D-葡萄糖分支; 从地衣中得到的多糖, 具有明显的抗肿瘤活性, 其中活性最强的是(1-3)- β -D-葡聚糖^[2]。

除葡聚糖外, 一些甘露聚糖, 半乳糖也都有不同程度的抗肿瘤活性。Acemannan 是翠叶芦荟中主要多糖成分的乙酰化甘露聚糖商品, 78% 的含量约为 β (1-4)乙酰化的长链甘露聚糖, 其中甘露糖与乙酰化甘露聚糖的比例约为 1:1。

另外也报道有一个具有抗肿瘤活性的杂多糖, 如 thamnolan 是从 *Thamnia subuliformis* 中得到的一个结构复杂的组份。它以聚半乳糖为主链, 具有免疫调节和抗肿瘤活性^[3]。

1.2 多糖的抑瘤活性与支链的分支度和长度有关: 支链的分支度(degree of branch, DB)是指平均每个糖单位所具有

的分支数目, 也称取代度(degree of substitute, DS), 要使分支多糖产生生物活性, 必须达到一定的 DB 要求。真菌多糖 pectabtan 是一种高度分化的葡聚糖, DB 为 2.8 时活性低, 经过氧化还原处理将部分葡聚糖分支还原成羟基后, DB 降至 1.0, 在大鼠体内的抑瘤率从 57% 提高到 92.3%^[4]。可见, 多糖的活性与 DB 大小密切相关, 并且存在着最佳 DB 值。如具有生物活性的(1-3)- β -D-葡聚糖分支度范围很广, 在 0.015~0.75 都有分布, 但其主要分布在 0.20~0.33, 该段的多糖活性也相对更强。

多糖的活性也受支链长度的影响。从真菌 *Phytophthora parasitica* 中分离的具有(1-3)- β -D-葡聚糖结构的多糖, 通常具有葡聚二糖支链, 但是从中提取出的另一种具有葡聚三糖支链的组份, 其抑瘤活性大大高于前者^[5]。

1.3 化学修饰也会影响多糖的抑瘤活性: 结构是活性的基础, 当多糖的结构发生改变后, 多糖的生物活性也会因此而受影响, 甚至于活性消失。

地衣类多糖石皂素是 β (1-6)-D-葡萄糖, 因部分乙酰化而具有水溶性, 表现出抗肿瘤活性。当脱乙酰化或全乙酰化后其水溶性降低, 就失去了抑瘤活性^[6]。

梁忠岩等^[7]对 2 种已知结构的斜顶菌多糖进行 β 消除、 D_4 氧化、部分酸水解、乙酰化及羟甲基化等 5 种不同化学修饰, 测定各样品的抑瘤活性后, 得出结论: 有结合蛋白质的较无结合蛋白质的活性高得多; 主链相同的斜顶菌多糖间, 1-6 侧链分支率较低的活性明显高; 在所测样品中修饰后提高水溶性的均明显提高抑瘤活性。

但是, 我们也可用化学修饰的方法来改造一些没有活性或活性很低的多糖组份, 使其产生更好的抑瘤作用。目前常用的改性方法有 Smith 裂解、高碘酸氧化、碘酸化、羧甲基化等。一般认为, 连接在 β -D-葡聚糖骨架上的基团如聚羟基、聚醛基、羧甲基、己酰基、甲酰基等对其抗肿瘤活性发挥着重要作用。黄才欢等^[8]报道茯苓多糖无抗肿瘤作用, 但将其进行 Smith 裂解除去 β (1-6)分支结构后, 将获得具有抗肿瘤活性的新茯苓多糖。而与此相反的是, 具有抗肿瘤活性的香菇多糖, 如果水解去掉 β (1-6)分支后, 抑瘤活性将消失。淀粉和半纤维素均没有抑瘤活性。但将其羧甲基化后, 便能得到具有抗肿瘤活性的羧甲基淀粉(CMS), 羧甲基直链淀粉(CMA)和羧甲基变性半纤维素(CMMH)。

1.4 多糖的抑瘤活性与立体结构有关: 一般认为, 多糖的高

* 收稿日期: 2000-07-31

作者简介: 高小荣(1978—), 女, 江西省万载县人, 中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所 2001 级硕士研究生, 研究方向为天然产物化学。Tel: (022) 23050243 E-mail: digaoxin8936@sina.com

级结构对于多糖活性的影响比初级结构对其影响更大。Kulicake 等^[9]研究认为,包含单螺旋结构的(1-3)- β D 葡聚糖具有生物活性,而(1-3)- α D 葡聚糖具有一种带状的单链构象,沿着纤维轴伸展而不是呈螺旋状,所以不具抗肿瘤活性。Bohn 也认为(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,或许是三股螺旋结构,但最重要的是亲水性基团(多羟基)位于螺旋体的表面。

1997 年, Matsuoka^[10]报道经 X 射线分析得知香菇多糖具有 β 三股绳状螺旋型立体结构,对胃癌、直肠癌等有抑制作用,与白细胞介素 2(L-2)联合可抗 3-甲基胆蒽诱发的纤维肉瘤的转移;如果加入尿素、二甲亚砜使分子的立体构型发生改变,则活性也就消失^[11];但如果向水不溶性的裂褶多糖中添加尿素或氢氧化钠,则可诱导其产生规则的空间构象,从而表现出抗肿瘤活性^[12]。

1.5 多糖的抑瘤活性与理化性质有关:多糖溶于水是其发挥生物活性的前提。如从茯苓中提取的多糖组份中,不溶于水的组份没有生物学活性,水溶性组份则有较强的抗肿瘤活性;灵芝多糖具有 α 葡聚糖构型,不溶于水,羧甲基化后溶解性提高,在体外也表现出一定的抗肿瘤活性。经 IR 分析, α 葡聚糖在 3400 cm^{-1} 处的羟基伸缩振动峰变窄,且向高波方向振动,说明分子间的氢链在引入羧甲基分支后被破坏^[13]。有些含有疏水分支的多糖不溶于水,经过氧化还原成羟基多糖后才溶于水,从而产生生物学活性。因此,对于溶解性较差的多糖组份进行适当的化学修饰,提高溶解度,就可以增强其生物活性。

多糖的黏度也能影响其抑瘤活性。如果黏度过高,则不利于多糖药物的吸收与扩散。裂褶多糖是很有应用前景的抗肿瘤药物,起初因为黏度太大,无法供临床使用,后来通过部分降解,使其相对分子质量降低,黏度也减小,并由于其基本重复结构不变,仍保持抗肿瘤活性,已供临床使用。

多糖的抑瘤活性还与其相对分子质量有一定的关系。相对分子质量越大,则分子体积越大,不利于多糖跨越多重细胞膜障碍进入生物体内发挥生物活性。M isaki 等^[14]研究的一种真菌多糖不溶于水,在大鼠体内仅有微弱的抑瘤活性。在降低其相对分子质量后,完全溶于水,抑瘤活性也因此大大提高。从细菌中分离的某种果聚多糖 levans,相对分子质量达到 2.1×10^5 时抑制肿瘤生长的活性最强^[14]。相对分子质量为 9 000 左右的右旋糖酐具有一定的活性,其活性大小随着大于或小于此相对分子质量而迅速降低。由此可见,不同的多糖产生生物学活性有其最佳相对分子质量范围。

2 多糖的结构与抗病毒活性

多糖的抗病毒作用包括抗 HIV 和抗其他病毒的作用,其中以抗 HIV 研究较多。

2.1 在抗 HIV 方面,硫酸酯化多糖因其具有较好的效果,已成为近年来的研究热点。硫酸酯化多糖是多糖的硫酸化衍生物,包括自然界存在的天然多糖硫酸酯和经人工合成的多糖硫酸酯衍生物。在研究中发现,硫酸酯化多糖在抗 HIV 病毒方面有着特殊的功能,作用机制可能在于:1)大多数多糖

的大分子能够机械性或化学性结合到 HIV-1 的 gp120 分子上,遮盖了病毒与细胞的结合位点,从而竞争性地封锁了病毒感染细胞;2)抑制感染细胞 HIV 的复制;3)增强机体免疫功能。实验证明,硫酸根阴离子是抗病毒活性的必需基因。香菇多糖和裂褶多糖不具有抗 HIV 活性,但经硫酸酯化后产生显著的抗 HIV 活性,而原有的免疫增强活性消失。

陈春英等^[15]从箬叶中分离得到 2 种箬叶多糖,并对其进行了硫酸酯化。结果发现,除在构象、比旋光度、圆二色谱等方面发生变化外,硫酸酯化箬叶多糖比箬叶多糖具有更高的抑制 HIV 引起的细胞病变作用。

多糖组份抑制 HIV 的作用与分子中硫酸盐含量有关,含量越高,其抗 HIV 的作用越强。但是也并不是硫酸根越多越好,硫酸根过多会产生抗凝血等不良反应。一般认为,在平均每单位糖残基含 1.5~2.0 个硫酸根为最佳^[16]。抗 HIV 活性最强的香菇多糖硫酸根结构系分子内,每葡萄糖单位含有 1.7 个硫酸根。

多糖分子大小对多糖抗病毒作用也有影响。硫酸葡聚糖抗 HIV 的活性随着相对分子质量的增加而增加,相对分子质量为 1×10^4 时达到最大,并且在 $1 \times 10^4 \sim 5 \times 10^5$ 能保持最大活性。

2.2 除了抗 HIV 外,多糖对其他病毒也有抑制作用,如单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV-1, HSV-2)、巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)、流感病毒(influenza A virus)、囊状胃炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)等。

卡拉胶是某些红藻(Rhodophyceae)的细胞壁多糖,它是一种硫酸半乳糖,对 HSV-1 具有强抑制作用,该活性直接与其 α D-半乳糖 2,6-二硫酸残基的数量有关,如果将该多糖的硫酸根除去,则卡拉胶抑制 HSV 复制的作用随之消失,这进一步证明了硫酸基对抗病毒活性具有关键作用。

3 多糖的结构与免疫促进活性

多糖对机体的免疫调节作用,可以通过激活巨噬细胞,激活网状内皮系统,激活补体等方式和途径加以实现。

3.1 由于巨噬细胞在抵御各种感染的抗肿瘤方面具有主要作用,因而激活巨噬细胞可以提高机体免疫能力,如银耳多糖、黄芪多糖、灵芝多糖等可以激活巨噬细胞,从而达到抵抗各种感染和抗肿瘤作用。

3.2 生物体中的网状内皮系统具有吞噬、排除老化细胞和异物及病原体的作用。目前报道的具有激活网状内皮系统的多糖有防风多糖、桂皮多糖、刺五加多糖等。根据对它们进行的结构分析,一般认为 1,3 位结合的阿拉伯吡喃糖、 α -1,4 结合的聚半乳糖醛酸、 α -阿拉伯-3,6-半乳糖,鼠李半乳糖结构可能为活性的结构基础。

3.3 补体途径是通过交替途径或经典途径或者同时通过两种途径而被活化,而活化途径依赖于多糖的结构,补体蛋白上存在的识别点可识别多糖的结构。抗补体活性多糖大多为酸性杂多糖,其酸性部分主要是半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸。根据对柴胡多糖、薏苡仁多糖、人参茎叶多糖等的结构分析,认为各生药多糖激活补体的活性依赖于结合在聚鼠李半乳糖

糖醛酸中心的中性糖侧链的结构,即结合于聚鼠李半乳糖醛酸中心的 4 位的(1-6)结合半乳糖链或者结合于 $\beta(1-3)$ 结合半乳糖的 6 位的结合半乳糖链,将其结构改变,则活性也会受影响,如柴胡及当归中果胶的聚半乳糖醛酸部分甲酯化,半乳糖醛酸的羧基与钙等两价阳离子的相互作用就会受到阻碍,从而影响补体的激活。

实验还表明:多糖分子中的游离羟基对其激活补体的活性很重要。Yamada 对车前子多糖进行氧化后,发现其活性下降甚至消失,但当氧化物还原成多羟基时又显示出活性,而将该多糖去除乙酰基后,激活补体的能力大大提高。

4 多糖的结构与抗凝血活性

多糖抗凝血作用的机制可能为:1)同抗凝血酶结合,诱导其改变构型,从而将其激活;2)对一种血清蛋白酶抑制因子(肝素辅因子 II)的激活^[17]。

银耳多糖具有体内、外的抗凝血作用,还可以明显延长部分凝血酶活时间,而且银耳多糖的延凝作用强度与其相对分子质量有关。相对分子质量越低,效应强度越大,平均相对分子质量每减少一半左右,其效应增强 4 倍。

研究人员从掌状昆布中提取到的昆布多糖,经硫酸化后衍生物有肝素样作用;另外,由 1,4-聚- βD -甘露糖醛酸和 L-古罗糖醛酸组成的藻酸,硫酸化后也有抗凝血作用。含硫量为 5.15% 时,具有强的类似肝素的阻凝作用;含硫量达 17% 时,呈现显著的抗凝血作用。

法国科学家从褐藻中提取到高分子岩藻聚糖,并通过自由降解和离子交换色谱法,制得了具有抗凝作用的低相对分子质量岩藻聚糖。实验发现,相对分子质量为 516 000 的组份比 156 000 和 6 000 的两个组份具有更高的抗凝活性^[18]。

5 多糖的结构与降血糖活性

具有降血糖活性的多糖比较多,如乌头多糖、薏苡仁多糖、苍术多糖、黄芪多糖等。从人参中得到的 5 个多糖 panaxans A~E 都具有降血糖作用。其中 panaxan A 是人参多糖的主要成分,是一个 $\alpha(1-6)$ 葡聚糖,并在 C-3 处有分支侧链。有学者认为黏性多糖中乙酰基的存在是降血糖活性的重要抑制因子。如秋葵黏质 F 和车前子黏质 A 降糖活性较弱,脱乙酰化后,二者的降糖活性都有提高;Crond 等将冬葵子中提取的肽聚糖 MV S-V 经蛋白酶处理,活性显著提高,可能是分子中主体结构发生了变化。而野葵子中的主要中性多糖 MV S-I 以及 $\beta(1,3)$ 结合葡聚糖和阿戊-3,6-半乳糖为主要结构单位,呈现显著降血糖活性。

6 结语

多糖独特复杂的化学结构,决定了其化学结构研究和构效关系研究的复杂性和难度。虽然近年来在这些方面的研究取得一定的进展,但是多糖高级结构研究和构效关系研究中仍有很多问题有待阐明。因此,仍需要广大科技工作者继续努力加以深入研究。

References

[1] Deng C H, Yang X L, Gu X M, et al Isolation and compo-

nent analysis of polysaccharide from the *Scierotia* of Hunai [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2000, 35(5): 296-298

[2] Olafsdottir E S, Ingolfsdottir K. Polysaccharides from lichens: structural characteristics and biological activity [J]. *Planta Med*, 2001, 67: 199-208

[3] Olafsdottir E S, Omarsdottir S, Paulsen B S, et al Rhamnopyranosyl-galactofuranan, a new immunologically active polysaccharide from *Thamnotia subuliformis* [J]. *Phytanedicine*, 1999, 6(4): 273-279

[4] Misaki A, Kawaguchi K. Structure of pestalotan, a highly branched (1,3)- βD -glucan elaborated by *Pestalotia* sp. 815, and the enhancement of its antitumor activity by polyolmodification of the side chains [J]. *Carbohydr Res*, 1984, 129(1): 209-227

[5] Perret J, Bruneteau M, Micheal G, et al Effect of growth conditions on the structure of βD -glucans from *Phytophthora parasitica* Dastur, a phytophthogenic fungus [J]. *Carbohydrate Polymer*, 1991, 17(2): 231-236

[6] Huang F, Meng Y W. Studies on polysaccharies with biological activity [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1999, 11(5): 90-98

[7] Liang Z Y, Miao C Y, Zhang Y S. Influence of chemical-modified structures on antitumor activity of polysaccharides from *Clitopilus caespitosus* [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1996, 31(10): 613-615

[8] Huang C H, Li Y, Wang X F. Studies on extraction and analysis of pachyman and its structure [J]. *Guangzhou Food Sci Tech* (广州食品工业科技), 2001, 17(3): 13-15

[9] Kulicak W M. Correlation between immunological activity, molar mass, and molecular structure of different (1-3)- βD -glucans [J]. *Carbohydr Res*, 1997, 297: 135-143

[10] Matsuoka H. Lentinan potentiates immunity and prolongs the survival time of some patients [J]. *Anticancer Res*, 1997, 17(4A): 2751-2755

[11] Zhang P, Zhang L, Cheng S. Effect of urea and sodium hydroxide on the molecular weight and conformation of $\beta(1,3)-D$ -glucan from *letinus edodes* in aqueous solution [J]. *Carbohydr Res*, 2000, 327(2): 431-438

[12] Young S H, Jacobs R R. Sodium hydroxide-induced conformational change in schizophyllan detected by the fluorescence dye, aniline blue [J]. *Carbohydr Res*, 1998, 310(1): 91-99

[13] Zhang L, Zhang M, Chen J, et al. Solution properties of antitumor carboxymethylated derivatives of $\beta(1,3)-D$ -glucan from *Ganoderma lucidum* [J]. *Biosci Biotech Biochem*, 2000, 64(10): 2172-2178

[14] Galanzans G M T, Lima R C, Franca F P, et al. Molecular weight and antitumor activity of *Zymonas mobilis* Evans [J]. *Int J Biol Macromol*, 2000, 27(1): 245-247

[15] Chen C Y, Huang X H, Zhou J Y, et al. Sulfation of polysaccharides isolated from *Indocalanus tessellatus* and their anticytopathic effect on human immunodeficiency virus type 1 [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1998, 33(4): 264-268

[16] Yoshida O, Nakashima H, Yoshida T, et al. Sulfation of the immunomodulating polysaccharide lentinan: a novel strategy for antivirals to human immunodeficiency virus (HIV) [J]. *Biochem Pharm*, 1998, 37(7): 2887-2889

[17] Mulloy B. Structure/function studies of anticoagulant sulphated polysaccharides using NMR [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 123-135

[18] Zhu G J, Zhao Z F, Fang H Y. The relationship between structure and function of polysaccharides [J]. *J Wuxi Light Ind Univ* (无锡轻工大学学报), 2002, 21(2): 209-212