

羧甲基葡聚糖抗肿瘤作用及其机制的研究进展

马 璐¹, 陈远才³, 熊明洲³, 王旭德¹, 张雨蒙¹, 赵余庆^{1,2*}

1. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016

2. 沈阳药科大学 基于靶点的药物设计与研究教育部重点实验室, 辽宁 沈阳 110016

3. 珠海天香苑生物科技发展有限公司, 广东 珠海 519185

摘 要: *D*-葡聚糖是一类免疫多糖, 可调节机体免疫力, 是一种重要的生物效应调节剂。羧甲基葡聚糖 (carboxymethylated glucan, CMG) 是 *D*-葡聚糖的羧甲基衍生物, 具有良好的水溶性和免疫活性。因此, 在抗肿瘤治疗中具有广阔的应用前景。对 CMG 的抗肿瘤作用及其机制方面的研究进展进行综述, 为 CMG 作为防治抗肿瘤药物的开发利用提供科学依据。

关键词: 羧甲基葡聚糖; 抗肿瘤; 免疫活性; 作用机制; 生物效应调节剂

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)11-2692-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.11.031

Research progress on antitumor effect and mechanism of carboxymethyl-glucan

MA Lu¹, CHEN Yuan-cai³, XIONG Ming-zhou³, WANG Xu-de¹, ZHANG Yu-meng¹, ZHAO Yu-qing^{1,2}

1. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

2. Key Laboratory of Structure-based Drug Design and Discovery, Ministry of Education, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

3. Zhuhai Tianxiang Yuan Biological Technology Development Co., Ltd., Zhuhai 519185, China

Abstract: *D*-glucan, an immune polysaccharide, is one kind of vital biological response modifiers (BRMs) which has the function of immune regulation. Carboxymethyl-glucan (CMG) is a water-soluble derivative of *D*-glucan that possesses excellent immunocompetent and water-solubility. Therefore, it has broad application prospects in anticancer therapy. The research progress of antitumor effect and mechanism of CMG was reviewed in this paper, which provides a scientific basis for the development and utilization of CMG as a candidate for the prevention and treatment of cancer.

Key words: carboxymethyl-glucan (CMG); antitumor; immunocompetent; mechanism; biological response modifier

D-葡聚糖 (*D*-glucan) 广泛存在于许多细菌、真菌和高等植物中。目前有关葡聚糖的研究主要集中于真菌来源的 β -*D*-葡聚糖, 而具有抗肿瘤活性的葡聚糖主要是 β -(1 $\rightarrow$ 3)-葡聚糖^[1]。研究表明, β -葡聚糖具有抗肿瘤^[2]、抗菌、抗氧化^[3]、抗辐射^[4]、降血糖^[5]等多种生物活性, 且在生物体内可降解, 对人和动物无毒副作用^[6-7]。目前主要用做肉食鸡、猪、鱼虾饲料和健康产品的原料。但 β -葡聚糖水溶性较差, 影响了其进一步的开发应用。目前增强其水溶性的方法有磺酰化、磷酸化、羧甲基化等化学修饰法^[8], 其中羧甲基葡聚糖 (carboxymethylated glucan,

CMG) 通过水溶性的改变, 其免疫和抗肿瘤活性均较葡聚糖有较大的提升^[9], 显示出潜在的应用价值和开发前景。目前国内外有关 β -(1 $\rightarrow$ 3)-葡聚糖的研究较多, 但对 CMG 的研究报道相对较少。本文通过查阅国内外相关文献, 就 CMG 在抗肿瘤作用及其机制方面的研究进展进行综述, 为其深入开发和应用提供参考。

1 CMG 的结构及制备方法

CMG 即葡聚糖结构中的羟基 (-OH) 氢被亚甲基 (-CH₂COOH) 取代。CMG 的结构见图 1。酵母来源的碱不溶性葡聚糖的羧甲基化最易发生在

收稿日期: 2017-12-10

基金项目: 辽宁省教育厅一般项目 (L2015522); 沈阳药科大学科研专项基金 (QNJJ2014504)

作者简介: 马 璐 (1993—), 女, 在读硕士研究生。Tel: 18807083205 E-mail: Lumaspu@163.com

*通信作者 赵余庆 (1957—), 男, 辽宁东港人, 教授, 博士生导师, 主要从事天然产物、药食同源品的活性成分研究。

Tel: (024)23986522 E-mail: zyuq4885@126.com

C₆-OH 上^[10]。羧甲基化反应多以 NaOH 溶液和异丙醇为溶剂,以一氯乙酸为衍生化试剂,在一定温度下反应若干小时,即可完成。Wang 等^[11]将 (1→

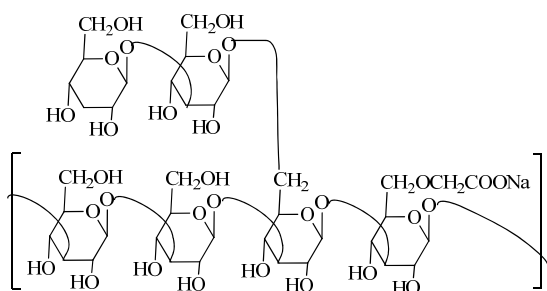


图 1 CMG 的结构

Fig. 1 Structure of CMG

3)-β-D-葡聚糖 10 g 悬浮于异丙醇中,再加入 20 mL 1% NaOH 溶液和 20 mL 含二氯乙酸的异丙醇 (1 : 1.2), 50 °C 下搅拌 3.5 h, 用 5% 盐酸中和, 加入乙醇, 收集白色沉淀, 纯化, 冻干即得 CMG。Ding 等^[12]采用正交试验, 通过对反应温度、反应时间、氯乙酸用量和碱用量 4 个因素进行考察, 获得最大的取代值 (degree of substitution, DS)、表观黏度和溶解性。最优制备条件为 50% NaOH 溶液 3 mL, 氯乙酸 15 mL, 反应温度 50 °C, 反应时间 5 h。

2 CMG 的抗肿瘤作用及其机制

目前国内外对 CMG 抗肿瘤作用的相关研究见表 1。

表 1 CMG 抗肿瘤作用的相关研究

Table 1 Research on antitumor effect of CMG

实验动物/ 细胞种类	造模方法/检测方法	检测指标	实验结果	参考 文献
BALB/c 小鼠	皮下接种 S ₁₈₀	肿瘤质量 (抗肿瘤活性用抑制率表示)	随着 CMG 相对分子质量 (2.08~53.2) 的增加, 抑制率先增加后降低, 相对分子质量为 25.6 时, 抑制率最大为 75%	13
C57Bl/6J 小鼠	肌肉接种 Lewis 肺癌细胞	①肿瘤质量; ②肺组织中的血源性转移	单独给药可显著抑制肿瘤转移, CMG 和环磷酰胺合用可使肿瘤抑制率达到 89.3%, 癌转移率降至 7.3%	14
BALB/c 小鼠	ip CMG-顺铂共轭物和非共轭顺铂	①血浆顺铂水平; ②蛋白结合率	给药 5 h 后, 非共轭物只有 12%~18% 保持活性, 而共轭物则为 70%~100%	15
人 宫 颈 癌 HeLa 细胞	MTT 法	570 nm 下的吸光度	CMG 高质量浓度 (250 mg/mL) 可使 HeLa 细胞存活率平均降低 18.6%	16
HL-7702 正 常肝细胞	MTT 法	570 nm 下的吸光度	不同浓度和 DS 的 CMG 对正常细胞均有抑制作用, 但抑制率均低于 10%	17
HepG-2 肝癌 细胞	MTT 法	570 nm 下的吸光度	DS 为 0.556 时的抑制率最高为 54.3%, 抑制率呈浓度依赖性	17
MGC-803 胃 癌细胞	MTT 法	570 nm 下的吸光度	不同 DS 的 CMG 均有抑制作用, 且呈浓度依赖关系; 质量浓度为 1 mg/mL 时, 抑制率最高为 51.3%	17

2.1 激活免疫系统发挥抗肿瘤作用

2.1.1 激活吞噬细胞 Kogan 等^[14]研究 CMG 协同环磷酰胺给药对 Lewis 肺癌小鼠的抗肿瘤作用。结果表明 CMG 单独给药对肿瘤的抑制作用并不明显, 环磷酰胺单独给药时肿瘤抑制率为 57%, 两者联合给药时肿瘤抑制率高达 75%~90%, 同时发现环磷酰胺给药可显著增加中性粒细胞 (polymorphonuclear neutrophils, PMN) 数量, 而 PMN 表面存在 β-葡聚糖的受体^[18], 因此推测 CMG 通过与 PMN 表面的受

体结合, 活化 PMN, 从而增强环磷酰胺的抗肿瘤活性。Harada 等^[19]发现 CMG-喜树碱衍生共轭物 (T-0128) 可被肿瘤组织中的吞噬细胞内化, 再释放出喜树碱衍生物从而发挥抗肿瘤作用。

2.1.2 促进细胞因子的释放 研究表明活化的巨噬细胞可产生 NO 以防御感染性入侵, 高浓度 NO 具有抗肿瘤作用^[20]。Kim 等^[21]报道中药桑黄可以诱导 NO 的合成, 这可能与桑黄中含有的 β-葡聚糖有关。而后 Shin 等^[22]通过桑黄多糖经羧甲基化后的支气

管肺泡灌洗实验结果表明,CMG 具有促进 NO 产生的作用。从面包酿酒酵母中和真菌裂褶菌中提取出的 (1→3)- β -D-葡聚糖经羧甲基化后,可以对移植肉瘤小鼠的肿瘤产生抑制作用,衍生物的抗癌活性主要是因为激活了宿主的免疫系统^[23-24]。这种免疫作用主要通过刺激巨噬细胞分泌细胞生长抑制因子和促进肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的合成^[25-26]。Zhang 等^[13]通过 ELISA 检测,发现 CMG 在脂多糖 (LPS) 的诱导下,可显著增加 S₁₈₀ 移植小鼠血清中 TNF- α 的水平。另有研究表明 CMG 可以激活小鼠腹腔巨噬细胞,促进其释放 TNF- α ^[27]。Kubala 等^[7]将白细胞和 CMG 共同孵化,发现 CMG 可以显著增加白细胞介素-6 (IL-6)、IL-8 和 TNF- α 的分泌。

2.1.3 增加白细胞计数 Dergunova 等^[27]选用 CBA 小鼠,CMG ip 给药后,白细胞数量显著增加,其中淋巴细胞数量增加最为明显,同时骨髓中单核细胞数量增加 2 倍,肝中巨噬细胞数量也有所增加,抗肿瘤效果明显优于对照组。Magnani 等^[28]研究 CMG 对 30 名晚期前列腺癌患者 (年龄 52~84) 外周血细胞的影响,口服 CMG 28 d 后,发现患者外周血中的白细胞、红细胞以及血小板数量均明显增加,CMG 显著改善了前列腺癌患者的健康指标,且对肝肾功能无任何影响。

2.1.4 直接杀伤肿瘤细胞 Zhang 等^[29]研究表明 CMG 通过下调细胞周期蛋白 D1 和细胞周期蛋白 E 导致人乳腺癌 MCF-7 细胞周期 G₁ 阻滞,此外还可以抑制 Bcl-2 的表达,增加 Bax/Bcl-2 值,从而诱导细胞凋亡,CMG 的抗肿瘤细胞增殖活性呈剂量依赖性,IC₅₀ 值为 204 μ g/mL。

2.2 与化疗药物形成共轭物

基于化疗药物对肿瘤细胞缺少选择性,体内半衰期短且可能产生全身毒性的情况,将化疗药物小分子同大分子载体通过连接臂进行连接形成共轭物可有效解决以上的问题^[30]。因肿瘤组织处存在滞留效应 (EPR)^[31],CMG 同药物分子如喜树碱^[32]、喜树碱衍生物^[33]及紫杉醇^[34]等结合形成共轭物后,由于 EPR 效应共轭物被动靶向聚集在肿瘤组织中,药物分子从共轭物中缓慢释放,延长半衰期,起到减毒增效的作用,目前这也是抗肿瘤药物研究的热点方向之一^[35]。CMG 同拓扑异构酶 I 抑制剂依沙替康形成的共轭物 DE-310 已在国外进入 I 期临床^[36]。Harada 等^[37]合成了 CMG 和喜树碱衍生物的共轭物

(T-0128),研究表明 T-0128 在组织蛋白酶 B 的作用下可平稳缓释药物分子,从而增强了抗肿瘤效果。抗癌药物紫杉醇在体内的清除速率较快,当紫杉醇同 CMG 形成共轭物后,载体 CMG 合适的荷电量以及相对分子量可有效地使共轭物在实体瘤组织中滞留,实现被动肿瘤靶向性^[38]。Schechter 等^[15]研究表明,BALB/c 小鼠 iv CMG 顺铂共轭物或顺铂后,顺铂的血药浓度下降迅速,而 CMG 顺铂共轭物血药浓度则减少缓慢,且可在 6 h 内保持较高水平。Gaowa 等^[39]将 CMG 同裂解肽以二硫键连接形成谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 响应型的共轭物,研究其对胰腺癌 BxPC-3 移植小鼠的抗肿瘤作用。发现共轭物经 iv 后,在瘤部位大量蓄积且血清中裂解肽浓度缓慢增加,半衰期显著延长;此外,因 GSH 在肿瘤细胞中的表达比在正常细胞中增多^[40],因此该共轭物还具有主动靶向肿瘤细胞的作用。

2.3 抗肿瘤转移

大多数化疗药物只能杀死癌细胞,抑制肿瘤生长,但却对肿瘤的转移和侵袭束手无策,致使大量的晚期肿瘤患者死于癌转移,而不是原发肿瘤^[41-42]。研究表明 CMG 可以抑制癌转移,抑制率为 92%~94%^[14]。Harada 等^[43]通过对荷瘤小鼠的淋巴结组织进行 HE 染色,表明 CMG-喜树碱共轭物给药组可以显著降低癌细胞在淋巴结中的转移率 (8.3%),而对照组转移率为 95%。

2.4 其他作用机制

研究发现接受雄激素阻断治疗的晚期前列腺癌患者口服 CMG 后,CMG 对患者外周淋巴细胞的 DNA 损伤具有保护作用,DNA 损伤的平均减少率为 59%,从而提高了晚期前列腺癌患者的短期存活率,这种保护作用可能是通过 CMG 抗诱变作用或抑制诱变物质活性来实现的^[44]。Kogan 等^[14]提出 CMG-环磷酸胺共轭物抗 Lewis 肺癌的作用机制除了其激活巨噬细胞的杀伤活性、增强宿主细胞介导的免疫激活外,还包括显著增加肿瘤组织中组织蛋白酶 B 和半胱氨酸蛋白酶抑制剂 (stefin A and cystatin C) 的浓度。研究表明肿瘤的生长和转移同溶酶体中半胱氨酸蛋白酶 (组织蛋白酶 B、L 等) 与内源性抑制剂的比例有紧密的联系,可以决定癌症发展的进程和结果,同时可作为预判肿瘤恶性程度的标志物^[45-46]。

3 CMG 抗肿瘤的构效关系

3.1 CMG 免疫调节作用的构效关系

研究表明 (1→3)- β -糖苷键是葡聚糖具有免疫

刺激和抗肿瘤活性的关键,如香菇多糖、酵母葡聚糖等,其活性成分均是具有分支的(1→3)-β-D-葡聚糖^[47-48]。Kulicke 等^[49]提出葡聚糖的螺旋结构对于免疫活性来说并不是必需的,甚至可能会抑制免疫活性。但 Bao 等^[50]的研究结果表明,(1→3)-β-D-葡聚糖的三螺旋结构有利于 T 淋巴细胞的增殖,Falch 等^[51]研究也表明,β-葡聚糖的三螺旋结构对于促进细胞因子的产生非常重要。Zhang 等^[52]报道 CMG 的水溶性对于免疫活性影响较大,CMG 在 DS 0.38~0.51 内具有良好的水溶性,低于 0.2 或高于 0.63 时,则不具备水溶性,抗肿瘤效果也大大降低。Bao 等^[53]研究 CMG (DS 0.45~1.12)在刀豆球蛋白 A (Con A)或 LPS 诱导下对淋巴细胞的作用,CMG 在 DS 小于 0.28 时对 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的增殖具有明显的促进作用,这种作用随 DS 的增大而减弱。当 DS 大于 0.6 时,反而产生抑制作用。孙翠玲等^[54]研究发现,随着 DS 的增加,CMG 对肝癌细胞 HepG-2 和胃癌细胞 MGC-803 的抑制作用呈先升后降的趋势,DS 为 0.556 时抗肿瘤活性最强,过大的 DS 会抑制 CMG 与细胞膜受体的结合。

3.2 CMG 与化疗药物形成共轭物的抗肿瘤构效关系

Harada 等^[43]采用人乳腺癌 MX-1 移植 BALB/c 小鼠模型(雄性,8 周龄),随机分 5 组,每组 5 只,分别 iv 生理盐水及甘氨酸-甘氨酸(Gly-Gly)连接、甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸(Gly-Gly-Phe-Gly)连接、甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(Gly-Gly-Gly-Gly)连接的共轭物和甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(Gly-Gly-Gly)连接的 T-0128(相当于喜树碱 2.5 mg/kg)。通过小鼠体质量和肿瘤体积变化评估抗癌效果。结果表明,共轭物的抗肿瘤效果同连接体的组成密切相关。其中以 Gly-Gly-Gly 连接的 T-0128 抗肿瘤效果最好。Shuichi 等^[55]研究 CMG-紫杉醇共轭物的载体 CMG 的结构对结肠癌 BALB/c 雌性小鼠模型的影响,结果表明 CMG 中羧甲基基团的 DS 为 0.50~0.55,相对分子质量为 1.10×10^5 时更利于共轭物抗肿瘤作用的发挥。Shuichi 等^[56]后续的研究发现 CMG-阿霉素的共轭物相对分子质量大于 1.5×10^5 ,DS 0.6~0.8 时的生物利用度最高,且在肿瘤组织中分布的最多。

4 结语与展望

目前的研究表明,CMG 主要通过激活吞噬细胞、促进细胞因子的释放、增加白细胞计数等途径调节免疫系统,从而产生抗肿瘤作用,此外,还可

以通过直接杀伤肿瘤细胞、抑制癌转移、与化疗药物形成共轭物等发挥抗肿瘤作用。针对不同的肿瘤,CMG 抗肿瘤的机制有所不同,但均会产生一定的抑制作用。CMG 的抗肿瘤活性与其结构相关,大量的研究表明,CMG 的 DS 对于其免疫活性影响较大,DS 的最佳取值范围因肿瘤细胞株或者肿瘤的类型而不同。当 CMG 作为载体和化疗药物如紫杉醇、喜树碱等结合形成共轭物后,拥有合适相对分子质量和 DS 的 CMG 可使共轭物具有被动靶向性,增加共轭物在肿瘤组织中的蓄积,并且可以缓慢释放化疗药物,增强抗肿瘤作用。

同葡聚糖相比,CMG 具有良好的水溶性及较强的免疫和抗肿瘤活性。此外,CMG 通过 β-葡聚糖羧甲基化制得,安全无毒,并可与其他抗肿瘤药物结合形成共轭物而实现增效减毒,因其显著的抗肿瘤活性而最有望开发成抗肿瘤新药。如能从分子水平深入阐明其作用靶点或通路,并开展深入的体内研究和临床验证,CMG 将在抗肿瘤方面显示极高的开发价值和应用前景。

参考文献

- [1] Kim G Y, Choi G S, Lee S H, *et al.* Acidic polysaccharide isolated from *Phellinus linteus* enhances through the up-regulation of nitric oxide and tumor necrosis factor-R from peritoneal macrophages [J]. *J Ethnopharmacol*, 2004, 95(1): 69-76.
- [2] Choromanska A, Kulbacka J, Rembialkowska N, *et al.* Anticancer properties of low molecular weight oat beta-glucan-an *in vitro* study [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 80: 23-28.
- [3] Lei H, Wang W Y, Wang Q, *et al.* Antioxidant and immunomodulatory effects of a β-glucan from fruit body of maitake (*Grifola frondosa*) [J]. *Food Agric Immunol*, 2013, 24(4): 409-418.
- [4] Khana A A, Gania A, Masoodi F A, *et al.* Structural, thermal, functional, antioxidant and antimicrobial properties of β-d-glucan extracted from baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)-effect of γ-irradiation [J]. *Carbohydr Polymers*, 2016, 140: 442-450.
- [5] Lei H, Zhang M M, Wang Q, *et al.* MT-α-glucan from the fruit body of the maitake medicinal mushroom *Grifola frondosa* (higher basidiomycetes) shows protective effects for hypoglycemic pancreatic β-cells [J]. *Int J Med Mushrooms*, 2013, 15(4): 378-381.
- [6] Miroslav V, Andrej M, Dusan B, *et al.* Arabinogalactan: Beta-glucan as novel biodegradable carriers for recombinant human thrombin [J]. *J Biomater Sci-Polymer Ed*, 2016, 27(3): 202-217.

- [7] Kubala L, Ruzickova J, Nickova K, *et al.* The effect of (1→3)- β -D-glucans, carboxymethylglucan and schizophyllan on human leukocytes *in vitro* [J]. *Carbohydrate Res*, 2003, 338(24): 2835-2840.
- [8] Kagimura F Y, da Cunha M A A, Barbosa A M, *et al.* Biological activities of derivatized d-glucans: A review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72: 588-598.
- [9] Chen J Z, Seviour R. Medicinal importance of fungal β -(1→3), (1→6)-glucans [J]. *Mycol Res*, 2007, 111(6): 635-652.
- [10] 王 森, 陶冠军, 丁绍东. 改性酵母葡聚糖-CMG 的结构特征 [J]. 天然产物研究与开发, 1998, 10(3): 43-47.
- [11] Wang Q, Chen S, Han L, *et al.* Antioxidant activity of carboxymethyl (1→3)- β -D-glucan (from the sclerotium of *Poria cocos*) sulfate (*in vitro*) [J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 69(69): 229-235.
- [12] Ding J Z, Wang Y F, Xiong S B, *et al.* Optimised methodology for carboxymethylation of (1→3)- β -D-glucan from yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and promotion of mechanical activation [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2013, 48(2): 253-259.
- [13] Zhang M, Cheung P C K, Zhang L, *et al.* Carboxymethylated b-glucans from mushroom sclerotium of *Pleurotus tuber-regium* as novel water-soluble anti-tumor agent [J]. *Carbohydr Polymers*, 2004, 57(3): 319-325.
- [14] Kogan G, Sandula J, Tatyana A K, *et al.* Increased efficiency of Lewis lung carcinoma chemotherapy with a macrophage stimulator-yeast carboxymethyl glucan [J]. *Int Immunopharmacol*, 2002, 2(6): 775-781.
- [15] Schechter B, Rosing M A, Wilchek M, *et al.* Blood levels and serum protein binding of *cis*-platinum (II) complexed to carboxymethyl-dextran [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1989, 24(3): 161-166.
- [16] Wiater A, Paduch R, Choma A, *et al.* Biological study on carboxymethylated (1→3)- β -D-glucans from fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2012, 51(5): 1014-1023.
- [17] 李花霞. 酵母 β -1,3-D-葡聚糖及其羧甲基衍生物的制备与免疫活性研究 [D]. 宁波: 宁波大学, 2004.
- [18] Czop J K, Kay J. Isolation and characterization of h-glucan receptors on human mononuclear phagocytes [J]. *J Exp Med*, 1991, 173(6): 1511-20.
- [19] Harada M, Imai J, Okuno S, *et al.* Macrophage-mediated activation of camptothecin analogue T-2513-carboxymethyl dextran conjugate (T-0128): Possible cellular mechanism for antitumor activity [J]. *J Control Release*, 2000, 69(3): 389-397.
- [20] Vicetimguel R D, Cherpes T L, Watson L J, *et al.* CTL induction of tumoricidal nitric oxide production by intratumoral macrophages is critical for tumor elimination [J]. *J Immunol*, 2010, 185(11): 6706-6718.
- [21] Kim G Y, Choi G S, Lee S H, *et al.* Acidic polysaccharide isolated from *Phellinus linteus* enhances through the up-regulation of nitric oxide and tumor necrosis factor-R from peritoneal macrophages [J]. *J Ethnopharmacol*, 2004, 95(1): 69-76.
- [22] Shin J Y, Lee S, Bae I Y, *et al.* Structural and biological study of carboxymethylated *Phellinus linteus* polysaccharides [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(9): 3368-3372.
- [23] Slamenova D, Labaj J, Krizkova L, *et al.* Protective effects of fungal (1→3)- β -D-glucan derivatives against oxidative DNA lesions in V79 hamster lung cells [J]. *Cancer Lett*, 2003, 198(2): 153-160.
- [24] Shigeyuki U, Yasuhiro T, Miho S, *et al.* Preparation and antitumor activities of β -(1→6) branched (1→3)- β -D-glucan derivatives [J]. *Biol Pharm Bull*, 1995, 18(12): 1630-1636.
- [25] Kogan G. (1→3, 1→6)- β -D-Glucans of Yeasts and Fungi and Their Biological Activity [M]. Amsterdam: Elsevier Science Serials, 2000.
- [26] Kasai S, Fujimoto S, Nitta K, *et al.* Antitumor activity of polymorphonuclear leukocytes activated by a beta-1,3-d-glucan [J]. *J Pharmacobiodyn*, 1991, 14(9): 519-525.
- [27] Dergunova M A, Alexeenko T V, Zhanaeva S Y, *et al.* Characterization of the novel chemically modified fungal polysaccharides as the macrophage stimulators [J]. *Int Immunopharmacol*, 2009, 9(6): 729-733.
- [28] Magnani C, Aoki N, Gregório P, *et al.* Effects of carboxymethyl-glucan from *Saccharomyces cerevisiae* on the peripheral blood cells of patients with advanced prostate cancer [J]. *Exp Erim Ental Therap Med*, 2010, 1: 859-862.
- [29] Zhang M, Cheung P C K, Chiu L, *et al.* Cell-cycle arrest and apoptosis induction in human breast carcinoma MCF-7 cells by carboxymethylated b-glucan from the mushroom sclerotia of *Pleurotus tuber-regium* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2006, 66: 455-462.
- [30] Shuichi S, Satoshi O, Toshiro Y, *et al.* Characteristics of tissue distribution of various polysaccharides as drug carriers: Influences of molecular weight and anionic charge on tumor targeting [J]. *Biol Pharm Bull*, 2001, 24(5): 535-543.
- [31] 梅 梅. EPR 效应在实体瘤被靶向性治疗中的应用探讨 [D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2008.
- [32] Kumazawa E, Ochi Y. DE-310, a novel macromolecular carrier system for the camptothecin analog DX-8951f: Potent antitumor activities in various murine tumor models [J]. *Cancer Sci*, 2004, 95(2): 168-175.
- [33] Fumiko F, Masako K, Masahide F, *et al.* MEN4901/T-0128, a new camptothecin derivative carboxymethyldextran conjugate, has potent antitumor

- activities in a panel of human tumor xenografts in nude mice [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(4): 1650-1657.
- [34] Sugahara S, Kajiki M, Kuriyama H, *et al.* Paclitaxel delivery systems: The use of amino acid linkers in the conjugation of paclitaxel with carboxymethyl dextran to create prodrugs [J]. *Biol Pharm Bull*, 2002, 25(5): 632-641.
- [35] Goodarzi N, Varshochian R, Kamalinia G, *et al.* A review of polysaccharide cytotoxic drug conjugates for cancer therapy [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 92(2): 1280-1293.
- [36] Soepenbergh O, de Jonge M J A, Sparreboom A, *et al.* Phase I and pharmacokinetic study of DE-310 in patients with advanced solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(2 Pt 1): 703-711.
- [37] Harada M, Sakakibara H, Yano T, *et al.* Determinants for the drug release from T-0128, camptothecin analogue-carboxymethyl dextran conjugate [J]. *J Controll Release*, 2000, 69(3): 399-412.
- [38] 郝爱军, 张 宁, 郭兴家, 等. EPR 作用及其在抗肿瘤大分子药物研究中的应用 [J]. *中国新药杂志*, 2012, 21(21): 2516-2520.
- [39] Gaowa A, Horibe T, Kohno M, *et al.* Enhancement of anti-tumor activity of hybrid peptide in conjugation with carboxymethyl dextran via disulfide linkers [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2015, 92(96): 228-236.
- [40] Navath R S, Kurtoglu Y E, Wang B, *et al.* Dendrimer-drug conjugates for tailored intracellular drug release based on glutathione levels [J]. *Bioconjug Chem*, 2008, 19(12): 2446-2455.
- [41] Yoon T J, Koppula S, Leehrute K H, *et al.* The effects of beta-glucans on cancer metastasis [J]. *Anti-cancer Agents Med Chem*, 2013, 13(5): 699-708.
- [42] Wang T, Yin H P, Wang W Y, *et al.* Preparation, characterization and *in vitro* anti-metastasis activity of glucan derivatives [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 87(3): 1913-1918.
- [43] Harada M, Murata J, Sakamura Y, *et al.* Carrier and dose effects on the pharmacokinetics of T-0128, a camptothecin analogue-carboxymethyl dextran conjugate, in non-tumor and tumor-bearing rats [J]. *J Controll Release*, 2001, 71(1): 71-86.
- [44] Magnani M, Raul J H, Mateus P M, *et al.* Protective effect of carboxymethyl-glucan (CM-G) against DNA damage in patients with advanced prostate cancer [J]. *Gene Mol Biol*, 2011, 34(1): 131-135.
- [45] Kos J, Krasovec M, Cimerman N, *et al.* Cysteine proteinases inhibitors stefin A, stefin B, and cystatin C in sera from patients with colorectal cancer: Relation to prognosis [J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6: 505-511.
- [46] Svechnikova I G, Korolenko T A, Stashko J U F, *et al.* The influence of ukrain on the growth of HA-1 tumors in mice: The role of cysteine proteinases as markers of tumor malignancy [J]. *Drugs Exp Clin Res*, 1998, 24(4/5): 261-269.
- [47] 段会轲. 水溶性酵母 β -1,3-葡聚糖的酶法制备及其抗肿瘤活性研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
- [48] Demleitner S, Kraus J, Franz G C. Synthesis and antitumor activity of derivatives of curdlan and lichenan branched at C-6 [J]. *Carbohydrate Res*, 1992, 226(2): 239-246.
- [49] Kulicke W M, Lettau A I, Thielking H. Correlation between immunological activity, molar mass, and molecular structure of different (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucans [J]. *Carbohydrate Res*, 1997, 297(2): 135-143.
- [50] Bao X F, Zhen Y, Ruan L, *et al.* Purification, characterization, and modification of T lymphocyte-stimulating polysaccharide from spores of *Ganoderma lucidum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2002, 50(5): 623-629.
- [51] Falch B H, Espevik T, Ryan L, *et al.* The cytokine stimulating activity of (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucans is dependent on the triple helix conformation [J]. *Carbohydrate Res*, 2000, 329: 587-596.
- [52] Zhang L N, Zhang M, Chen J H, *et al.* Solution properties of antitumor carboxymethylated derivatives of α -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glucan from *Ganoderma lucidum* [J]. *Chin J Polymer Sci*, 2001, 64(3): 283-289.
- [53] Bao X F, Duan J Y, Fang X Y, *et al.* Chemical modifications of the (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucan from spores of *Ganoderma lucidum* and investigation of their physicochemical properties and immunological activity [J]. *Carbohydrate Res*, 2001, 336(2): 127-140.
- [54] 孙翠玲, 杨文鸽, 李花霞, 等. 羧甲基葡聚糖体外抗肿瘤作用的研究 [J]. *中国生化药物杂志*, 2006, 27(3): 153-155.
- [55] Sugahara S, Kajiki M, Kuriyama H, *et al.* Carrier effects on antitumor activity and neurotoxicity of AZ10992, a paclitaxel-carboxymethyl dextran conjugate, in a mouse model [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(2): 223-230.
- [56] Sugahara S, Okuno S, Yano T, *et al.* Characteristics of tissue distribution of various polysaccharides as drug carriers: Influences of molecular weight and anionic charge on tumor targeting [J]. *Biol Pharm Bull*, 2001, 24(5): 535-543.