

文章编号 :1009-038X(2002)02-0209-04

## 功能性多糖的构效关系

诸葛健, 赵振锋, 方慧英

(江南大学 教育部工业生物技术重点实验室 江苏 无锡 214036)

**摘要:**根据功能性的不同对多糖的构效关系进行了总结,概述了各类多糖构效关系的研究现状。对于免疫增强类多糖,多糖的主链组成、相对分子质量等对多糖的功效都产生影响,这些影响可能是通过改变多糖的高级结构发挥作用;抗凝血多糖的表面的电荷密度等因素决定了其抗凝血活性,另外分子大小、硫化位差别等因素也都影响抗凝血活性的发挥;抗病毒多糖主要研究的是对 HIV 的抗性,硫酸根对于抗 HIV 病毒可能为必需,同时分子大小及所带基团等也对其活性产生影响。

**关键词:**多糖;构效关系;抗凝血;抗肿瘤;抗病毒

中图分类号:Q 539

文献标识码:A

## The Relationship between Structure and Function of Polysaccharides

ZHUGE Jian, ZHAO Zhen-feng, FANG hui-ying

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

**Abstract:** In this article, the relationship between structure and function of polysaccharides is summarized according to different activities. For the polysaccharides with immunity-enhancement activity, the activity is affected by the constitutes of backbone-chain, molecular size, and other factors which cause conformational changes of the polysaccharides. But for the polysaccharides with anticoagulatory activity, the charge density on the polysaccharide surface is very important, and the activity is also affected by molecular size and other factors. For the polysaccharides with anti-HIV activity,  $\text{SO}_4^{2-}$  seems to be necessary, and molecular size and other factors also have effects on the activity.

**Key words:** polysaccharides; structure and function; anticoagulatory; anti-tumor; antiviral activity

功能性多糖是目前研究的热点之一。至今功能性多糖已发现的生物功能有很多:抗肿瘤作用、消炎及抗放射作用、抗凝血作用等,但这些功能都并非独立。一方面,有些多糖具有多种不同的生物活性;另一方面多糖的多种生物活性中,许多作用机制可能是相同的,如抗肿瘤、抗辐射、抗衰老等活性都同多糖非特异的免疫增强有关。

功能以结构为基础。构效关系的研究为活性多糖的目的性筛选、进行分子修饰提供理论指导。目前研究比较多的多糖有:免疫增强类多糖、抗凝血多糖、抗病毒多糖、疫苗用多糖等。同一种功能的多糖其作用机制可能存在一定的相似性,而多糖的作用机制同结构存在必然的联系,对其进行分类综述,有助于对其构效关系更好地认识。

收稿日期 2001-12-06; 修订日期 2002-01-05.

作者简介:诸葛健(1939-)男,浙江金华人,教授,博士生导师。

万方数据

## 1 免疫增强类多糖

此类多糖研究最多,多种多糖已经应用于临床.如香菇多糖、云芝多糖等.该类多糖以免疫增强为基础,表现多种活性.其中,多糖的抗肿瘤活性发现研究都比较早,目前国内研究最多的就是这一类多糖,但对其作用的机理还不甚明了,只是认为该类多糖通过激活非特异性免疫物质发挥作用.在此类多糖中,葡聚糖同抗肿瘤活性的构效关系研究较为彻底<sup>[1]</sup>.

### 1.1 主链组成

多糖的主链组成对抗肿瘤活性的影响较大,对于葡聚糖,大多活性多糖都是具有 $\beta(1,3)$ 苷键主链的葡聚糖.1992年 Demleitner 对 curdlan(无分支 $(1,3)\beta$ -葡聚糖,无生物活性),linchenan(线性结构,含有33%的 $(1,3)$ 糖苷键、66%的 $(1,4)$ 糖苷键,无生物活性)在其O-6位分别进行修饰,加上 $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基、 $\alpha$ -L-呋喃阿拉伯糖基、 $\alpha$ -L-鼠李糖基、 $\beta$ -龙胆二糖基,被修饰后的 curdlan 衍生物都强烈抑制移植性肿瘤,其中加上 $\beta$ -龙胆二糖酰基的 curdlan 表现活力相对较低.但对于 linchenan,只有被修饰加上 $\beta$ -D-吡喃葡萄糖酰基的多糖,才表现出强的抗肿瘤活性.其余抗肿瘤活性没有或很低.在另外一个试验中,被修饰加上D-呋喃阿拉伯糖酰基或D-吡喃甘露糖酰基的 $(1,3)\beta$ -葡聚糖,都表现出高抗肿瘤活性.而同样被修饰的 $(1,4)\beta$ -葡聚糖则没有活性.另外 $\beta(1,2)$ 连接的葡萄糖、甘露糖、半乳聚糖,也大都有一定程度的抗肿瘤活性,酵母菌中提取到的葡萄甘露聚糖的活性可能与D-葡萄糖的含量和键合方式有关<sup>[2]</sup>;云芝多糖(PSK)是由每个葡聚糖单位含有一个带 $\beta$ -1,6吡喃糖支链的 $\beta$ -1,4葡聚糖,其中还有一些残肽基,它也是近年来引人注目的肿瘤免疫药物.

### 1.2 分支度和支链组成

具有生物活性的 $(1,3)\beta$ -D-葡聚糖的分支度范围很广:在0.015~0.750之间都有分布.但其主要分布在0.20~0.33之间,该段的多糖活性也相对更强.高分支度、来源于 *Auricularia auricula-judae* 的 $\beta$ -葡聚糖(分支度0.75)和来源于 *Pestalotia sp* 815 的 pestalotar(分支度为0.67)活性都很低.另外1993年 Misaki 报道从 *Ganoderma lucidum* 中碱提得到分支度很低的多糖(分支度为0.06),其活性也很低.

Misaki 对一些 $(1,3)\beta$ -葡聚糖进行高碘酸氧化(仅有支链单元被氧化),然后使其还原生成葡聚糖

多元醇,该衍生物抗肿瘤活性得到增强,并且其抗肿瘤强度直接同其多元羟基的含量有关.将其多元羟基侧链完全去除则导致其抗肿瘤活性的丧失. Sone、Yamada 等在对不同多糖的衍生研究中也得到了相同结论<sup>[2,9]</sup>. Kishida 和 Misaki 也考察了D-吡喃型葡萄糖支链单元的构型对其活性的作用,将该支链单元转化为3,6-酞化衍生物.该衍生物丧失了抗肿瘤活性.用表氯醇处理 curdlan,得到环氧化葡聚糖(没有交联),该衍生物没有抗肿瘤活性,再以氢氧化钠处理,得到亲水的含甘露醇基的葡聚糖衍生物,产生强的抗肿瘤活性.综上所述得出结论:对D-葡糖单元支链的去除和修饰都可能会造成抗肿瘤活性的变化.其原因可能是一方面使其溶解度增加,从而更利于其作用发挥;另一方面也可能是多羟基引起的氢键力有利于多糖高级有序构象的维持.

### 1.3 相对分子质量

Blaschek(1992),Fabr(1984),Kojima(1986)研究发现,分子的大小是多糖具备生物活性的必要条件,这可能同多糖分子形成的高级构型有关.其中相对分子质量在100 000~200 000之间的多糖活性最强.同时研究中发现,来源相同、相对分子质量范围为5 000~10 000的多糖,都不具备生物活性.而相同来源的多糖其结构具有类似性,由此可知其分子大小对于其生物活性至关重要.本实验室所发现的具有生物活性的红曲霉胞外多糖,其相对分子质量范围也在该区间.

### 1.4 构象

多糖的构象是上述多糖基本结构作用的整体结果.由于多糖结构的复杂性,目前多糖的结构研究大多还局限于一级结构上,大多高级构象还不甚明了.但多糖作为一个大分子,根据目前研究,可以肯定的是多糖的高级结构对于多糖的活性的发挥着更为重要的作用.

对于水溶性 $(1,3)\beta$ -D-葡聚糖,只有相对分子质量在90 000以上才能形成3股螺旋结构.具有3股螺旋结构的葡聚糖大多都具有多糖的免疫活性<sup>[3]</sup>.1986年 Kojima 报道相对分子质量大于100 000的高分子裂褶菌多糖能形成类似的3股螺旋构型,并且只有具有该构型才具有活性.其抗肿瘤活性同水溶液中3螺旋结构所占的比例有关.如果3螺旋结构低于50%,就不具有强的抗肿瘤活性.香菇多糖具 $\beta$ -3股绳状螺旋型立体结构,如在香菇多糖中加入尿素或二甲亚枫,使分子的立体构型发生改变,则其活性也就丧失.另外也发现SSG的抗肿瘤活性同其构象之间也具有相关性<sup>[4]</sup>.

而与上述相反的例子也存在,1992 年 Blaschek 发现:分支度小于 0.25、相对分子质量平均小于 20 000 且不具有定型结构的(1,3)- $\beta$ -葡聚糖也表现出强的抗肿瘤活性。1992 年 Kraus 报道来源于 *Phytophthora* 的(1,3)- $\beta$ -葡聚糖相对分子质量只有 20 000,没有 3 螺旋构型,但表现出对 sarcoma 180 的抗性。而来源于 *Pythium aphanidermatum* 的葡聚糖,是相对分子质量在 10 000~20 000、分支度在 0.20~0.08 范围多糖的混合物,虽没有定型结构,但也表现出抗肿瘤活性。

### 1.5 其他因素

连接在  $\beta$ -D-葡聚糖骨架上的一些基团如聚羟基、聚醛基、羧甲基、乙酰基、甲酰基、硫酸基等对其抗肿瘤活性发挥重要作用。6-氧-硫酸羧甲基几丁质(SCM-chitin)对肿瘤细胞有明显的抑制作用,且硫酸化程度越高,抑制作用越强。而羧甲基化后的 SSG 多糖在取代度低于 0.14 时,能维持其强的抗肿瘤活性。但随着取代度的进一步增高,其活性有所下降。对 Curdlan 进行醚化作用加上磺酰乙烷基、磺酰丙烷基、磺酰丁烷基后,对 sarcoma 180 产生强的抑制作用。lichehan 的衍生物除了被修饰加上  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖酰基的多糖外,其衍生物都不具有生物活性。在多糖乙酰化修饰的研究中发现,当 O-3 位具乙酰基时,活性最强, O-5 位修饰时活性明显减弱,全部乙酰化时,活性消失。由此分析,外加基团的作用可能更在于对多糖高级结构或糖链空间排布的改变上。

一些含蛋白质或肽键的糖蛋白或多糖肽有比多糖本身更强的抗肿瘤活性。目前此类多糖有:云芝多糖、从香菇(*L. edodes*)中分离的甘露聚糖肽等。梁忠岩对树舌多糖进行生化研究后得出结论:当糖链相同时,与蛋白相连者活性高,分枝短的糖链活性高。如螺旋藻多糖为水溶性多糖,当与蛋白质形成糖蛋白,与脂质形成脂蛋白时,其生物功能更加突出。

溶解度对活性的影响有时也很显著。如具  $\beta$ -(1,3)-D 葡聚糖的 curdlan 不溶于水,部分羧甲基化后水溶性提高,活性也显著提高。Sasaki, Usui 等的研究也得到相同结论。

## 2 抗凝血多糖

目前报道具有抗凝血作用的多糖有:肝磷脂(heparin)、硫酸软骨素(dermatan sulphate)、海藻糖化的硫酸软骨素(Fucosylated CS)、茶叶多糖、猴头子实体多糖等。抗凝血作用的机理现在认为可能

有:①同抗凝血酶结合,诱导其改变构型,从而对其进行激活;②对一种血清蛋白酶抑制因子(肝素辅因子 II)的激活<sup>[5]</sup>。

肝素的抗凝血活性发现相对比较早,研究比较彻底。肝素的作用主要通过激活抗凝血酶产生作用。肝素为酸性分子,其表面基团的密度一定程度上可能决定其余蛋白质的结合。生物活性大小同电荷密度作用密切相关。其具有的负电荷密度愈高,同蛋白质的结合力就愈强。减少肝素的羧基基团数目,电荷密度降低,抗凝血活性出现降低。对肝素中未经硫化的糖醛酸残基进行高碘酸氧化,使其电荷密度降低,抗血脂功能不变,而抗凝血活力也出现降低。按照电荷密度和相对分子质量对肝素进行分级,去除相对分子质量和电荷密度对其的影响,肝素的抗凝血活性随羧酸基团/硫酸基团的比例的增大而升高。由此可得出结论,决定抗凝血酶活力的肝素同抗凝血酶作用的大小同聚合物主链上电离强度的调节息息相关。对肝素的羧酸基团进行酯化,掩蔽其电荷,也可影响其抗凝血活性。茶叶多糖(TP)含有大量的葡萄糖醛酸,在生理 pH 值下带负电,推测可能具有肝素样的作用。对海洋多糖甲壳胺在其甲壳胺分子上引入  $-\text{SO}_3\text{H}$  或使之与带有  $-\text{SO}_3\text{H}-\text{CH}_2\text{COOH}$  的聚阴离子多糖相互作用,所形成的聚电解质复合物具有类似肝素的结构,也可具抗凝血作用。

Nishno 等的研究发现,褐藻多糖硫酸酯的抗凝血活性依赖于其硫酸根含量<sup>[5]</sup>。硫酸纤维素钠也具有抗凝血活性,对一给定分子大小的硫酸纤维素钠,其抗凝血活性随硫酸取代基的增加而增加,在取代度一定时,活性随相对分子质量升高而降低。对几丁质和羧甲基几丁质进行硫酸化得到几丁质类肝素,其抑制活性随硫酸取代基的增加而增加,硫酸化的羧甲基几丁质衍生物中,在硫酸钠基团的取代度为 0.65,羧酸钠功能团的取代度达到 0.56 时,抑制活性最强。6-硫酸基-软骨素的活力值低于 1 IU/mg,而在其葡萄糖醛酸的 3-位上加上高度硫酸化的海藻糖苷或硫酸基团,得到海藻糖化的硫酸软骨素(Fucosylated CS),其抗血凝活力值达到 40 IU/mg。

除肝素外,其它一些类似的硫酸聚氨基葡糖类似物也具有抗凝血活性,如:N,O-硫酸化聚氨基葡糖、O-硫酸 N-乙酰化聚氨基葡糖、硫酸化 O-羧甲基聚氨基葡糖等,其中半氨基己糖中的 6-O-硫酸基可能是其主要活性位点。3-O-硫酸基并非必须,但其能增强 6-O-硫酸基活性作用。该类多糖的抗凝血

活性同相对分子质量也具有相关性,活性依次为: O-硫酸 N-乙酰化聚氨基葡萄糖(26 000) > 肝素(21 000) > N, O-硫酸化聚氨基葡萄糖(12 000) > 硫酸化 O-羧甲基聚氨基葡萄糖(540 000)<sup>[4]</sup>。硫酸软骨素 B 抗凝血作用的机理在于对肝素辅因子 II 的激活。对于来源于 *Ascidia nigra* 内脏的多糖,其结构同硫酸软骨素 B 类似,两者区别在于其氨基半乳糖 6-位的硫化而非 4 位,尽管其硫化程度很高,但仍不具有生物活性。对于海藻糖化的硫酸软骨素(Fucosylated CS),通过温和水解去除其硫化海藻糖支链或硫酸基团,其活力都大大降低甚至失去。同时试验亦表明,水解得到的硫化海藻糖即使高浓度下,也不能结合、激活肝素辅因子 II。这都表明硫化海藻糖需要在合适的空间构象支持下,才能表现其高抗凝血作用。由此推测:分子大小、硫化位差别可能造成多糖高级构象的不同,从而影响其抗凝血活性。

### 3 抗病毒多糖

对于多糖及其衍生物的抗病毒活性的研究,主要有硫酸多糖、中性多糖及糖复合物(脂多糖、糖蛋白及糖肽)。而硫酸多糖的研究已成为当今多糖研究中的一个热点,如硫酸葡聚糖、硫酸戊聚糖、硫酸香菇多糖等<sup>[6]</sup>。其中研究比较多的为多糖的抗 HIV 功能。其作用机理可能在于:①大多数多糖的大分子能够机械性或化学性地结合到 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<sup>[7]</sup>;③增强机体免疫功能。

硫酸根对抗 HIV 病毒目前认为是必须的,并且其抑制 HIV 的作用同分子中硫酸盐含量有关。含量愈高,其抗 HIV 的作用愈强。R Lu 等制得的硫酸化 curdlan 在体外和体内都出现了有效的抗艾滋病毒的活性。近年来,许多研究者半合成了一系列具有

体外抗 HIV 活性的硫酸多糖,如 pentosan polysulfate、mannan sulfate、Hoe/Bay946、curdlan sulfate、curdlan arabinose sulfate、curdlan galactose sulfate 等。这些多糖在硫酸化前或者没有抗 HIV 活性,或者活性较低,硫酸化后具有或增强了活性<sup>[6]</sup>。其中 Hoe/Bay946 已应用于临床。香菇多糖(lentinan)和裂褶多糖不具有抗 HIV 活性,经硫酸酯化后产生显著的抗 HIV 活性,而原有的免疫增强作用消失。目前发现的抗 HIV 活性最强的香菇多糖硫酸酯的结构系分子内含有每葡萄糖单位 1.7 个硫酸根。

分子大小对多糖抗病毒活性也有影响,硫酸葡聚糖抗 HIV 病毒活性随着相对分子质量的增加而增加,相对分子质量 10 000 时达到最大,10 000~500 000 之间保持最大活性。

多糖的烷基化对硫酸多糖的抗 HIV 活性有促进作用。Uryu 等人(1992)合成了对 HIV 有抑制活性的硫酸烷基寡糖,如硫酸十八烷麦芽醇己糖苷,硫酸十二烷昆布戊糖苷和硫酸十二烷昆布寡聚物,未烷基化的寡糖显示抗 HIV 活性,烷基化后活性显著提高。作用机理可能是烷基与病毒囊膜脂双层作用,破坏其囊膜。

不同类多糖也具有一定的共性,目前得到公认的是:多糖的高级构象对其活性可能更具有决定意义。在每一大类多糖中,各种多糖具体的作用机制、活性表现也存在差异,限于研究水平,目前还未完全了解。

活性多糖发挥作用,都需特定部位同受体结合,有人参照酶学研究,提出活性多糖的活性中心概念。即多糖本身存在一定的活性中心,多糖通过该活性中心同受体结合,该活性中心为多糖发挥活性所必需,与受体结合需要多糖合适的构象,多糖的其他部分为其提供构象支持,这些在一些多糖的研究中已经得到验证。

### 参考文献:

- [1] JOHN A, BOHN R. (1→3)-β-Glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationship[J]. *carbohydrates polymers*, 1995, 28(3): 3-14.
- [2] 田庚元. 多糖类免疫调节剂的研究和应用[J]. *化学进展*, 1994, 2(2): 114-124.
- [3] OHNO N, MIURA T, MIURA N. Structure and biological activities of hypochlorite oxidized zymosan[J]. *Carbohydrate polymers*, 2001, 44: 339-349.
- [4] YALPANI, MANSUR. Polysaccharides: syntheses, modifications, and structure/property relations[M]. Amsterdam: Elsevier Press, 1988.
- [5] MULLOYA B. Structure/function studies of anticoagulant sulphated polysaccharides using NMR[J]. *Journal of Biotechnology*, 2000, 77: 123-135.
- [6] 王长云, 管华诗. 多糖抗病毒作用研究进展 I——多糖抗病毒作用[J]. *生物工程进展*, 2000, 20(1): 17-20.
- [7] 蒋岩. 硫酸酯化箬叶多糖抗 HIV-1 机制的初步研究[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2000, 14(1): 56-58.