

衍生化多糖的生物活性研究进展

THE RESEARCH STATUS OF ACTIVITIES OF MODIFIED POLYSACCHARIDES

吴立根 毛文君

(青岛海洋大学海洋药物研究所 266003)

为提高多糖的生物活性,多糖的分子修饰和结构改造具有重要意义。近年来,有关多糖的分子修饰研究已大有进展。利用糖残基上的羟基、羧基、氨基等基团运用化学方法进行衍生化,有可能提高多糖的活性。衍生化的方法很多,本文就与活性相关近年来研究较多的作一综述。

1 硫酸化多糖的活性

近年来发现硫酸多糖具有独特的作用,低分子量的右旋硫酸酯具有抗凝血作用,并作为抗血栓药已临床应用^[1]。它的抗病毒作用在艾滋病治疗上得到证实^[2],从而多糖的硫酸化成为多糖研究的热点。多糖的硫酸化为多糖带来了新的活性和功能。香菇多糖具有抗肿瘤作用,但不具备有抗艾滋病作用,经过硫酸化后具有显著抗艾滋病作用。Uryu等制备了硫酸化的Curdlan,具有 β -(1 $\rightarrow$ 3)线性连接吡喃葡萄糖主链,强烈抑制AIDS(获得性免疫功能丧失综合症)病毒感染,药效浓度仅为3.3 μ g/ml。箬竹多糖在较高浓度下可抑制HIV导致的细胞病变性。而硫酸化的在10 μ g/ml浓度以上完全保护人T淋巴细胞株MF4免受HIV的侵袭^[3]。虎奶菌多糖硫酸化后对Hela细胞无毒性作用。有良好的对HSV2(单纯疱疹病毒2-型)病毒的抑制作用。在浓

度低至0.125 mg/ml时仍有效^[2]。茯苓多糖无抗肿瘤活性,赵吉福等将茯苓多糖中的 β -(1 $\rightarrow$ 6)结合的支链葡萄糖水解掉,磺化得到6位磺酰化新茯苓多糖,能显著地抑制S₈₀。

硫酸化的取代位置显著影响多糖的活性。Shin-ichiro Nishimura等人得到了2位、3位、6位选择性取代的硫酸化壳聚糖。经测定有抑制HIV-1(人体免疫缺陷型病毒1-型)病毒复制和抑制血凝的活性。但2位、3位硫酸化显示更高的抑制AIDS病毒感染作用,又无明显的毒性。抗凝血作用却是6位取代的活性最强。

2 羧甲基化多糖的活性

羧甲基化为多糖增加了溶解度和电负性,能给多糖增强活性或带来新的活性。羧甲基直链淀粉和羧甲基支链淀粉对小鼠腹水癌实体瘤有抑制作用,对小鼠S₈₀的抑瘤率均高于50%。使小鼠胸腺增重,使胸腺细胞数增多。对S₆₀和S₈₁₁白血病细胞系,以羧甲基直链淀粉进行诱生干扰素实验,可显著地提高细胞产生干扰素的能力^[3]。茯苓多糖没有抗肿瘤效应,其羧甲基化产物却有,体外实验对Ehrlich腹水癌细胞有直接杀灭作用^[8]。用渗入培养的Ehrlich腹水癌细胞,能抑制其DNA合成。能提高S₆₀和S₈₁₁白血病

细胞系诱生干扰素的效价。用羧甲基茯苓多糖处理人外周淋巴细胞,诱导培养促诱生组4种细胞因子TNF α (肿瘤坏死因子),IL-2(白细胞介素-2),IL-6,IFN γ 的效价分别比常规诱生组高得多^[4]。半纤维素是一种杂多糖,经羧甲基化能显著增加巨噬细胞的吞噬功能,能促进巨噬细胞酸性磷酸酯酶的合成,对巨噬细胞有直接激活作用。能显著促进EdRFC%的恢复,并显著减轻氯化可的松对EdRFC%恢复的抑制作用^[5]。能使淋巴细胞对低剂量PHA(血球凝集素)的应答显著增强,使淋巴细胞的增殖显著加快。羧甲基化的取代度对多糖的活性有影响。脱乙酰度74%的壳聚糖经降解成3个分子量的产物,并分别羧甲基化得到取代度不同的产物。对金黄色葡萄球菌抗菌结果表明取代度为0.6~0.8时抗菌性均大于未取代的壳聚糖,在0.3~0.6的范围内有较强的抗菌性,在取代度小于0.3或大于0.8时抗菌性下降。脱乙酰度85%的分子量不同的壳聚糖羧甲基化后,得不同取代度

第一作者:吴立根,出生于1970年,硕士,助理研究员,研究方向为海藻多糖化学。电话:0532-2032065

收稿日期:2001-01-08;

修稿日期:2001-04-08



的产物。抗菌实验结果显示, N, O 羧甲基壳聚糖对金黄色葡萄球菌有较好的抑制作用, 而对大肠杆菌的抑菌作用则较差^[6]。

3 双基团衍生化多糖的活性

在多糖的衍生化中往往单一基团的衍生化不能完全达到要求, 因此在此基础上再次衍生化, 引入第 2 个基团, 从而使多糖具备较理想的活性。利用磺化和羧甲基化壳聚糖得到了类肝素化合物: 磺化 O 羧甲基壳聚糖 (OCM) 和磺化 N 羧甲基壳聚糖 (NCM)。羧甲基化而未磺化的产物的抗血凝性能非常小, 而磺化的 NCM, OCM 壳聚糖都有一定的抗凝血性能。只有当磺酸基和羧甲基的数量有一定适宜的比例时才呈现出优异的血液相溶性。未经羧甲基化的磺化壳聚糖具有一定的抗凝血性能, 但经羧甲基化后再磺化的壳聚糖衍生物的抗血凝性能明显提高^[7]。磺化葡聚糖纤维素珠是吸附效果较好的 LDL (低密度脂蛋白) 吸附剂, 但使血浆 LDL 降低 60% 左右, 而 HDL (高密度脂蛋白) 只降低约 20%, 且具有良好的机械性能和化学稳定性, 已临床应用。用天然碱性多糖壳聚糖经交联后, 进行双衍生化得到磺化羟乙基化壳聚糖。可使血浆中的 LDL 降低 79.7%, 而对 HDL 及 TP (总蛋白) 仅有较小影响, 是一种优良的吸附剂。藻酸双酯钠、甘糖酯为新型海洋药物, 是褐藻胶经适度降解和丙酯化、磺化的产物^[13]。具有抗血凝、降低血脂及血液黏度和改善微循环作用, 还可抑制激素引起的血脂升高, 使血清胆固醇和甘油三酯的浓度维持正常, 可防止血液流变性异常, 抑制激素所致的全血粘度及红细胞聚集指数增高。甘糖酯还能对抗组胺及去甲肾上腺素对 EC (内皮细胞) 损伤作用, 对抗 Ecdi

内毒素对 EC 损伤作用, 降低内皮通透性, 升高血浆 6-酮-PGF_{1α}, 降低动脉壁脂质过氧化物代谢产物 MDA 含量。多糖双衍生化的活性与衍生化的基团、取代度、基团的比例等密切相关, 选择合适的条件才能充分发挥其活性功能。

4 多糖复合物的活性

这类物质是多糖通过络合、离子交换、键合等形式与其它活性成分相结合所形成的一种新的产物。它不同于两者的混合物, 而是体现一种协同作用, 近年已有多种产品用于医药领域。磺化壳聚糖硒酸根是连接在壳聚糖分子中 C₂ 位的氨基上和 C₆ 位的羟基上^[8], 具有良好的降血糖和抗氧化效果。黄芪多糖和 D 葡聚糖进行硒化反应得到高硒含量的磺化壳聚糖。小鼠实验具有各种免疫调节作用^[9]。磺化-卡拉胶没有细胞毒性, 且对石英引起的细胞毒性作用和乳酸脱氢酶的活性升高均有拮抗作用, 其浓度越高活性越强, 还具有抗脂质过氧化作用, 对石英引起的细胞游离钙离子的大量内流有明显的降低作用。Cu, Zn 的壳聚糖复合物对 *Aspergillus niger*, *Aureobasidium pullulans* 及 *Chaetormium globosum* 具有很高的杀伤作用, 对 *Candida albicans* 具有持久的抗菌活性。专利文献报道了 166 H_α (钬), 153 Sm (钐), 165 Dy (镝), 169 Er (铒) 壳聚糖配合物的制备, 这些具有放射性、生物相容性和生物可降解性的配合物可用于治疗风湿性关节炎、肝癌、脑癌和乳腺癌, 利用辐射杀死癌细胞^[14]。

5 与先导化合物结合多糖的活性

近年来, 高分子材料作为药物载体得到广泛研究。多糖作为药物载体, 经交联成为高分子前药是人

们关注的热点。这种载体系统具有较好的缓释或控释效果, 具有高亲和性、生物可降解性、靶向性、抗炎、抗病毒、增强免疫等多样性的生理活性。奈普生 (Naproxen) 是一种抗炎药物, 与多糖相连能控制在炎症部位的释放速度。葡萄糖、褐藻胶、琼脂糖、卡拉胶、糖原、支链淀粉及纤维素与奈普生结合的高分子前药具有良好的靶向性。Oachi 等合成了多种 5-氟尿嘧啶 (5Fu) 的多糖衍生物: 甲壳质-5Fu, 甲壳胺-5Fu, 聚半乳糖胺-5Fu, 部分 N-乙酰化-α-1, 4-聚半乳糖胺-5Fu, 葡聚糖-5Fu 以及透明质酸-5Fu, 它们都显示了很好的抑制小鼠 P₈₁₅ 淋巴细胞白血病的效果。甲壳胺-5Fu, 甲壳胺-寡糖-5Fu 及半乳糖-寡糖-5Fu 偶合物同 5-氟尿嘧啶和甲壳质相比显示出更强的 MM 34Y 肝细胞瘤和 Mth-A 纤维细胞瘤生长抑制活性, 且高剂量范围内也没有显示较强的急毒性。糖所修饰的先导化合物不仅延长了药物作用时间, 增强其药效, 而且还能靶向释药, 降低其毒副作用。

6 结语

多糖的活性与多糖的结构、分子量、溶解性等诸多因素紧密相关。结构对活性的影响是关键, 香菇多糖具有抗肿瘤作用, 但当水解去掉 β-(1→6) 结合的支链葡萄糖支链活性消失。溶解度和分子量对活性的影响也较大, 笔者在对琼胶糖抗氧化和降血糖活性的研究中发现溶解度高的活性较高, 分子量在适当范围内活性最强。多糖的衍生化为多糖带来新的结构, 引起了多糖理化性质和立体构象的变化, 导致了活性的变化。有的能显著地提高多糖的活性, 甚至为多糖带来新的活性, 这在前文中已有详细综述, 笔者在实验室制备了一些硫酸化的琼胶糖, 其抗氧化活性



显著增强。但是多糖的衍生化也有使原有活性减弱或丧失, Ludwig-Baxter 硫酸化某些真菌多糖后,其抗肿瘤活性丧失。因此多糖的衍生化关键在于确定多糖的结构与活性关系,确保多糖在衍生化后活性中心的立体构象处于最佳状态。这需要更深入的研究。

参考文献

- 1 陈春英、黄雪华等。硫酸化箬竹多糖的结构修饰及抗艾滋病活性,药学学报,1998,33(4):264~268
- 2 邓成华、杨祥良等。硫酸酯化及羧甲基化虎奶多糖的抗病毒作用,中国地方病学杂志,2000,19(4):251
- 3 沈美玲、丁一谔等。羧甲基淀粉与羧甲基直链淀粉对动物免疫功能的影响,中华微生物和免疫学杂志,1997,12(3):261~268
- 4 杨吉成、盛伟华等。CMP 促诱生 IL-2、TNF α 、IL-6、IFN γ / α 效应和产品

中试,免疫学杂志,1998,14(3):194~197

- 5 冯作化、范秀容。羧甲基变性半纤维素对小鼠腹腔巨噬细胞的影响,中华微生物和免疫学杂志,1986,8(2):78~81
- 6 李治、刘晓平等。G 羧甲基壳聚糖抗菌性研究,日用化工,2000,3:10~11
- 7 屠美、邹翰。甲壳类肝素化化合物的抗凝血性能,暨南大学学报(自然版),1999,20(5):78~83
- 8 缪锦来、李光友等。硒化壳聚糖理化性质和分子结构的研究,中国海洋药物,2000,1:7~10
- 9 龚小钟。硒化黄芪多糖与硒化葡萄糖的研究,深圳大学学报,1997,14(4):68~75
- 10 Yukiko Y. The effect of neonatal thymectomy on the antitumor activity of lentinan carboxymethylpachyman and zymosan and their effects on various immunoresponses, J. Cancer,

1997,10:151~158

- 11 Hatanaka K., Yoshida T. et al. . Synthesis of new heparinoids with high antiaggregant activity, J. Med. Chem., 1998, 40:810
- 12 Wager W. H. . Hoe/Bay 964a new compound with activity against the AIDS virus, Arzneimittel/Forsch/Drug Res., 1999,59:1
- 13 Yoshida O., Nakashima H., Yoshida T. et al. . Sulfonation of the immunomodulation polysaccharide lentinen: A novel strategy for antivirals to human immunodeficiency virus, Biochim. Pharm., 1998,37:2887
- 14 M F. L., Chen C. T., Tseng Y. C. et al. . Characteristics of polyion complexes of chitosan with sodium alginate and sodium alginate sodium polycrylate, J. Controlled Release, 1997,44(1):19

(本文编辑:张培新)