

海藻硫酸多糖及其抗 HIV-1 活性*

ALGAL SULFATED POLYSACCHARIDES AND THEIR ANTI-HIV-1 ACTIVITY

张赛金¹ 李文权² 蔡明刚¹(厦门大学¹ 海洋系,² 亚热带海洋研究所 厦门 361005)

中图分类号 Q538 文献标识码 A 文章编号 1000-3096(2003)08-0016-04

自 1981 年美国发现第一例艾滋病(AIDS)患者,向 WHO 报告的临床病例现已超过几十万,据 Piot 1998 年统计病患者平均每天以 16 000 人数增加^[1]。AIDS 严重危害了人类健康。而传统治疗艾滋病的药物以叠氮胸苷(AZT)为代表都存在明显的副作用,硫酸酯化多糖在临床实验中发现其用量少且副作用小,如肝素、硫酸右旋糖酐、多硫酸聚戊糖和 λ -角叉菜胶在 0.1~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时就能抑制 HIV-1(人类免疫缺陷病毒)对细胞的损伤效应,浓度升到 2.5 mg/mL 时对宿主细胞仍无毒性^[2]。而且硫酸多糖和 AZT 联合使用可大大降低 AZT 的毒性,因此极有望成为此类药物的代表,有着很好的市场潜力。然而,由于多糖结构复杂,使得对其构效关系的研究困难重重。近年来,国外在人工合成多糖及对其进行改性的基础上作了大量的构效研究,使得我们对硫酸多糖的抗病毒活性与结构之间的关系有了进一步的了解。海藻多糖是天然硫酸多糖的重要来源,而且作为海洋食物链中的初级环节,具有生物多样性的特点,因此研究海藻多糖是获得抗 HIV-1 新药的有效途径。

1 硫酸多糖独特的药用机理

近 20 多年来,由于分子生物学和细胞生物学的发展,发现多糖参与细胞的各种生命现象的调节,如免疫细胞间信息的传递和感受,这与细胞表面的多糖体的介导有密切关系。而且多糖又是细胞表面各种抗原和药物的受体,因此多糖作为支持组织和能量来源的观念已被突破。科学家从大量药理和临床研究发现,从天然产物中分离出的多糖往往是一种

免疫调节剂,具有多种生物活性,如增强机体免疫和抗病毒作用、抗恶性肿瘤、抗心脑血管疾病、抗病毒、抗炎症、抗类风湿性关节炎以及可用于开发避孕药物等。早在 1964 年, Nahmia 等报道了肝素对单纯疱疹等病毒有抑制作用,但是没有引起人们的重视,因为当时认为这种抑制作用是非特异性的;1987 年 Ueno 等研究发现硫酸化右旋糖酐和肝素在体外对 HIV-1 的复制有很强的抑制作用,从而引起了人们对多糖治疗艾滋病的兴趣。

研究表明多糖化合物对机体的免疫调节作用主要是通过激活巨噬细胞、网状内皮系统、T 和 B 淋巴细胞、激活补体以及促进各种细胞因子的生成等方式和途径来实现的。对正常细胞没有毒副作用。硫酸多糖抗 HIV-1 的作用机理有:干扰 HIV-1 对宿主靶细胞的黏附、抑制 HIV-1 抗原的表达、抑制合胞体的形成、抑制逆转录酶活性和增强免疫系统的功能。因此硫酸化多糖作为抗 HIV-1 病毒药物能从多个环节和步骤上干扰 HIV-1 对宿主细胞的侵袭。可能正由于此,使得 HIV-1 不易对硫酸化多糖产生抗药性。HIV-1 对细胞的感染始于对 CD_4^+ 细胞(即辅助性 T 淋巴细胞)的吸附^[3]。硫酸多糖能干扰 HIV-1 对 CD_4^+ 细胞株的吸附作用,是因为硫酸化多糖中带负电的硫酸基可以与带正电的 HIV-1 蛋白外壳 gp120

* 国家自然科学基金项目 39870565 号。

第一作者:张赛金,出生于 1979 年,硕士, E-mail: saijinzh@yanan.xmu.edu.cn

收稿日期:2002-07-11;修回日期:2003-03-02

上的氨基酸相互作用,从而阻止了 HIV-1 对 T 淋巴细胞的吸附^[4]。Balter^[5]利用 X-射线晶体学揭示了 gp120-CD₄⁺络合物的结构特征,并证实了其结构特征可以阻止抗原的接近,使得免疫系统无法辨认出未感染细胞和已感染细胞。

不同的硫酸多糖抑制 HIV-1 感染的机理不同。如从红藻 *Schizymenai pacifica* 提取的硫酸多糖为病毒逆转录酶的特异性抑制剂,可抑制 HIV 的逆转录酶;而从褐藻 *Fucus vesiculosus* 分离的多糖具有抑制逆转录酶活性的同时还可以抑制合胞体的形成;尽管多硫酸戊聚糖的抗病毒活性与硫酸右旋糖酐相当,但它与 CD₄⁺无明显作用,因此多硫酸戊聚糖必然通过非 CD₄⁺机理来抑制 HIV-1 的感染^[6]。

由于硫酸多糖阻止了 HIV-1 与靶细胞的吸附,因此,多糖疫苗被建议尽可能早地用于 HIV-1 传染预防^[7]。多糖与肺炎球菌 7 价结合疫苗联合使用可以在细胞内产生更多的抗原并无副反应^[8]。此外, Tan 研究结果也支持了 HIV-1 性转移可以通过 HIV-1 抗原或包含某种硫酸多糖的局部合成得以抑制^[9]。

2 构效关系

近年来,以日本的 Yoshida 为代表,许多科学家对多糖的人工合成及其硫酸化进行了研究,使我们对多糖构效关系有了更深的了解,为进一步开展硫酸多糖的人工合成或半人工合成指明了方向。多糖硫酸化不仅在阐明多糖的构效关系而且在开发具有高选择性的多糖药物方面都有很重要的意义。硫酸多糖的生物活性主要取决于硫酸化程度及其取代位置、分子量、主链结构以及空间立体结构等因素。

2.1 硫酸根对硫酸多糖抗 HIV-1 活性的影响

硫酸多糖的抗 HIV-1 活性与硫酸根的存在密切相关。De Clercq^[9]1989 年认为要获得最佳抗 HIV-1 活性,每个糖单位含 2~3 个 SO₃⁻ 是必须的,且随硫酸化程度的增加而加强;Yoshida^[10]在 2001 年的报告中很好地总结了线形多糖以及支链多糖的合成方法。并用氯磺酸和吡啶进行硫酸化,发现呋喃树脂醛酸和木聚糖经过硫酸化后都有不同程度的抗 HIV-1 活性^[11]。硫酸化的线性 1,3-β-D 葡聚糖也具有抗 HIV-1 能力,且随硫酸化程度的提高而增强。

Shin-Ichiro 等^[12]指出硫酸多糖抗 HIV-1 活性还与 SO₃⁻ 取代的位置有关,SO₃⁻ 的选择性取代在 O-2 或 O-3 位取代比 O-6 有更高活性,这些研究说明硫酸多糖与受体结合时,只有分子中的几个寡聚糖片段与受体结合。

2.2 分子量的影响

分子量大小对多糖活性有显著影响。如硫酸右旋糖酐分子量在 5 000~500 000 之间时,活性随分子量增加而增加;有报道,硫酸葡聚糖的分子量为 1 000 时,能最有效地抑制 HIV-2 诱导的合胞体的形成,分子量 10 000 时其抗 HIV 病毒活性达到最大。1997 年,Carlucci^[13]等在对海藻多糖卡拉胶构效关系研究中指出,卡拉胶抗病毒活性在一定范围内随着分子量增加而增加。

2.3 与分子链的关系

Itoh 等 1990 年研究指出硫酸多糖抗 HIV-1 活性与其分子中的主链结构有关,而与分子中侧链结构关系不大。一般(1,3)-β-D 葡聚糖和主链(1,3)键占优势的 β-D 葡聚糖都具有活性,而以 β(1,6)连接的 D-葡聚糖活性低。从菌体中提得的活性多糖一般由葡聚糖组成,而且葡聚糖主链上的 β-1,3 苷键和支链上的 β-1,6 苷键为基本结构。但需要指出的是:在人工合成时,侧链越多,多糖的硫酸化程度越高;硫酸化的同多糖比硫酸化杂多糖有更强的抗 HIV-1 活性。Yoshida^[11]等认为,硫酸多糖具有高活性还与构成主链的单糖环的类型有关,由呋喃单糖组成的硫酸多糖比由吡喃单糖组成的硫酸多糖具有更高的活性,这可能是由于呋喃环具有更大的弹性。同时 Yoshida^[10]研究还指出主链或支链上氨基糖的比例越高,硫酸多糖的抗 HIV-1 活性越高,并随脱氧糖含量的降低而加强。Kazuyuki^[14]对氨基多糖的硫酸化发现 3-氨基 3-脱氧阿洛糖是氨基多糖具有抗 HIV-1 病毒的关键。

2.4 与抗凝血活性的关系

严重影响硫酸多糖抗 HIV-1 活性应用的是大多数的硫酸多糖都具有抗凝血活性^[15,16]。抗凝血作用是硫酸多糖抗 HIV-1 活性的副效应,这是由于具有高抗凝血性的硫酸多糖可与血凝固蛋白强烈作用而削弱了硫酸多糖与 HIV 的相互作用^[10]。目前对两者之间关系的研究正在进行之中。Shin-Ichiro^[12]在 2000 年的报道中指出 O-2 或 O-3 位取代的

硫酸基抗凝血作用很弱,相反地,硫酸根在 O-6 取代的多糖抗凝血效应强。Mulloy^[17]用 NMR 技术也得出:硫酸多糖的抗凝血活性取决于硫酸根的取代位置。硫酸软骨素 B 中硫酸取代位置的微小变化(4-O-取代变为 6-O-取代)可以引起抗凝血活性的完全失去。Gao 等^[18]研究指出用化学方法把 AZT 接入硫酸葡聚糖使 AZT 缓慢地从葡聚糖上释放出来,在降低了 AZT 的毒性的同时也降低了其抗凝血活性。

此外,抗肿瘤活性多糖结构研究表明多糖的生物活性还与溶解度有关。2.3 节中提到的 β -1,6 和 β -1,3 为葡聚糖具有活性的必须苷键,因为 β -1,6 连接的支链可以使 β -1,3 连接的主链具有水溶性。

多糖的生物活性不仅取决于糖链的初级结构,也与其高级结构密切相关。对卡拉胶的构效关系研究中 Carlucci^[14]等发现无规则卷曲卡拉胶糖链的屈伸度在其抗病毒活性中有重要的作用,糖链的伸展度下降,卡拉胶的抗病毒活性增强。Misaki 等 1981 年研究发现 β -(1,3)-D-葡萄糖具有抗肿瘤活性,而 α -(1,3)-D-葡聚糖无活性,X-衍射分析发现两者立体结构存在很大差别,前者为 β -三股螺旋结构,后者为带状立体结构。

3 具有抗 HIV 活性的海藻硫酸多糖

海藻包括绿藻(Chlorophyta)、红藻(Rhodophyta)、褐藻(Phaeophyta)。它们中许多都具有经济价值,广泛用于食品、饲料等工业。我国发现的抗病毒药用海藻主要有:角叉菜、扇形叉枝藻、刺松藻、束生刚毛藻、单条胶粘藻、石花菜、小石花菜、江蓠、扁江蓠、鞘丝藻、小杉菜、珊瑚藻、三叉仙藻、海带、紫菜等。藻类是硫酸杂多糖的主要自然来源。西泽一俊 1993 年发现绿藻、褐藻、红藻的胞间物质中存在含量较高的水溶性硫酸多糖。绿藻中硫酸多糖富含 L-鼠李糖(Rha);褐藻热水萃取的是硫酸杂多糖,主要含有岩藻糖、甘露糖、木糖、葡萄糖醛酸;红藻主要是 D,L-系硫酸半乳聚糖^[19]。许多从海藻中提取到的硫酸多糖如 *Nothogenia fastigiata*、*Aghardhiella tenera* 可以抑制 HIV-1 的吸附过程^[20]。

表 1 列出了具有抗 HIV-1 活性的海藻多糖提取物。由表可知,对藻类多糖的研究较多的是红藻。绿藻由于其特殊的链结构,具有强的抗凝血活性,对其抗病毒作用报道较少。Shan^[26]等人研究了 8 种海藻多糖提取物对人类淋巴细胞的影响。发现从绿藻 *Hizikia fusiformis* 和 *Meristotheca papulosa* 中提取的多糖可显著刺激淋巴细胞生长、繁殖,具有免疫调节功能,有可能应用于肿瘤等疾病的治疗。

表 1 海藻多糖的抗 HIV 活性

	海藻种名	作者	多糖
红藻	<i>Schizymenia pacifica</i>	Nakashima 等(1987)	海藻硫酸多糖
	<i>Marine algae</i>	Wiltvrouw、De Clercq ^[21]	木甘露聚糖、硫酸半乳聚糖
	<i>Nothogenia fastigiata</i>	Damonte 等(1994)	硫酸木甘露聚糖
	<i>Nothogenia fastigiata</i>	Wiltvrouw、De Clercq ^[21]	λ -、 κ -角叉菜胶
	<i>Aghardhiella tenera</i>	Wiltvrouw、De Clercq ^[21]	λ -、 κ -角叉菜胶
	<i>Eucheuma cottonii</i>	Wiltvrouw、De Clercq ^[21]	λ -、 κ -角叉菜胶
	<i>Gigartina aciculata</i>	Wiltvrouw、De Clercq ^[21]	λ -、 κ -角叉菜胶
	<i>Gigartina pistillata</i>	Wiltvrouw、De Clercq ^[21]	λ -、 κ -角叉菜胶
	<i>Asparagopsis armata</i>	Haslin C 等 ^[22]	硫酸半乳聚糖
褐藻	<i>Fucus vesiculosus</i>	Beress 等(1993)	岩藻聚糖
	<i>Fucus vesiculosus</i>	Moen、Clark(1993)	岩藻聚糖
	<i>Sargassum horneri</i>	Hoshino 等 ^[23]	主链为岩藻糖的硫酸多糖
	<i>Spirulina platensis</i>	Blinkova L P 等 ^[24] Ayehunie S 等 ^[25]	硫酸化脂质多糖

参考文献

- 1 Piot P. The science of AIDS: A tale of two worlds. *Science*, 1998, 280(5371): 1 844-1 845
- 2 Witvrouw M, Clercq E De. Sulfated polysaccharides extracted from sea algae as potential antiviral drugs. *Gen Pharmacol*, 1997, 29(4): 497-511
- 3 Douek D C, Brenchley J M, Betts M R, et al. HIV preferentially infects HIV-specific CD₄⁺ T cells. *Nature*, 2002, 417(1): 95-98
- 4 Clercq E De. Strategies in the design of antiviral drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2002, (1): 13-25
- 5 Balter M. Revealing HIV's T cell passkey. *Science*, 1998, 280(5371): 1 833-1 834
- 6 Schaeffer D J, Krylov V S. Anti-HIV activity of extracts and compounds from algae and cyanobacteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2000, 45(3): 208-227
- 7 Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of pneumococcal disease: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *Morb Mortal Wkly Rep*, 1997, 46 (RR-08): 1-24
- 8 Feikin D R, Eliea C M, Goetz M B, et al. Randomized trial of the quantitative and functional antibody responses to a 7-valent pneumococcal conjugate vaccine and/or 23-valent polysaccharide vaccine among IV-infected adults. *Vaccine*, 2002, 20(3-4): 545-553
- 9 Tan X, Phillip D M. CAT-transfected epithelial cells provide evidence for a CD₄ independent pathway of HIV infection. *J of Reproductive Immunology*, 1998, 41(1-2): 307-319
- 10 Yoshida T. Synthesis of polysaccharides having specific biological activities. *Prog in Polym Sci*, 2001, 26(3): 379-441
- 11 Yoshida T, Kang B W, Hattori T, et al. Anti-HIV activity of sulfonated arabinofuranan and xylofuranan. *Carbohydrate Polymers*, 2001, 44(2): 141-150
- 12 Shin-Ichiro N, Hideaki K, Katsuhiko S, et al. Regioselective syntheses of sulfated polysaccharide: specific anti-HIV1 activity of novel chitin sulfates. *Carbohydrate Research*, 1998, 306(3): 427-433
- 13 Carlucci M J, Pujol C A, Ciancial M, et al. Antiherpetic and anticoagulant properties of carrageenans from the red seaweed *Gigartina skottsbergii* and their cyclized derivatives: Correlation between structure and biological activity. *Int J Biol Macromol*, 1997, 20(2): 97-105
- 14 Kazuyuki H, Takashi Y, Hideki N, et al. Synthesis of sulfonated amino-polysaccharides having anti-HIV and blood anticoagulant activities. *Carbohydrate Research*, 1998, 312(1-2): 1-8
- 15 Hayakawa Y, Hayashi T, Lee J B, et al. Inhibition of thrombin by sulfated polysaccharides isolated from green algae. *BBA/Protein Structure and Molecular Enzymology*, 2000, 1543(1): 86-94
- 16 Shanmugam M, Mody K H, Siddhanta A K. Blood anti-coagulant sulphated polysaccharides of the marine green algae *Codium dwarkense* (Boerger) and *C. tomentosum* (Huds) Stackh. *Indian J Exp Biol*, 2001, 39(4): 365-370
- 17 Mulloy B, Mour P A, Gray E. Structure/function studies of anticoagulant sulphated polysaccharides using NMR. *J Biotechnol*, 2000, 77(1): 123-135
- 18 Gao Y, Katsuraya K, Kaneko Y, et al. Synthesis of azidothymidine-bound curdlan sulfate with anti-human immunodeficiency virus activity in vitro. *Polymer Journal*, 1998, 30(1): 31-36
- 19 Jimenez-Escrig A, Sanchez-Muniz F J. Dietary fibre from edible seaweeds: P chemical structure physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. *Nutrition Research*, 2000, 20(4): 585-598
- 20 Clercq E De. Current lead natural products for the chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Med Res Rev*, 2000, 20(5): 323-349
- 21 Witvrouw M, Clercq E De. Sulfated polysaccharides extracted from sea algae as potential antiviral drugs. *Gen Pharmacol*, 1997, 29(4): 497-511
- 22 Haslin C, Lahaye M, Pellegrini M, et al. In vitro anti-HIV activity of sulfated cell-wall polysaccharides from gametic, carposporic and tetrasporic stages of the Mediterranean red alga *Asparagopsis armata*. *Planta Med*, 2001, 67(4): 301-305
- 23 Hoshino T, Hayashi T, Hayashi K, et al. An antivirally active sulfated polysaccharide from *Sargassum horneri* (Turner) C. AGARDH. *Biol Pharm Bull*, 1998, 21(7): 730-734
- 24 Blinkova L P, Gorobets O B, Baturo A P. Biological activity of *Spirulina*. *Microbial Epidemiol Immunobiol*, 2001, 2(1): 114-118
- 25 Ayehunie S, Belay A, Baba T, et al. Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*). *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*, 1998, 18(1): 7-12
- 26 Shan B E, Yoshida Y, Kuroda E, et al. Brief communication immunomodulating activity of seaweed extract on human lymphocytes in vitro. *International Journal of Immunopharmacology*, 1999, 21(1): 59-70

(本文编辑:张培新)