

· 综述 ·

中药多糖体内代谢和作用靶点及基于靶点的
构效关系研究进展[△]

肖芊含, 王宇帆, 曹蔚*

西北农林科技大学 化学与药学院, 陕西 杨凌 712100

[摘要] 多糖是由糖苷键结合, 在自然界中广泛存在的聚合碳水化合物, 作为一类重要的活性天然产物受到越来越多的关注。大量研究证明, 中药多糖能够被人体吸收利用, 发挥抗肿瘤、免疫调节、抗氧化、降血糖等多种药理活性。近年来, 随着复杂中药多糖结构的解析和作用靶点的发现, 基于部分作用靶点的中药多糖构效关系被深入阐明。梳理中药多糖在体内吸收、分布、代谢与排泄进展, 总结了已发现的中药多糖体内主要作用靶点及基于这些靶点的构效关系的研究新发现, 并对基于分子靶点的中药多糖构效关系研究前景进行展望, 以期为推动中药药效物质基础研究、促进多糖药物研发提供参考。

[关键词] 多糖; 药动学; 作用靶点; 构效关系

[中图分类号] R283 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2023)09-2027-10

doi: 10.13313/j.issn.1673-4890.20221212002

**Advances in the Metabolism, Pharmacological Targets, and Structure-Activity Relationship of the Polysaccharides
from Chinese Herbal Medicines**

XIAO Qian-han, WANG Yu-fan, CAO Wei*

College of Chemistry & Pharmacy, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

[Abstract] Polysaccharides are polymeric carbohydrates with glycosidic bonds and ubiquitous in the nature. As important bioactive natural compounds, they have attracted increasing attention. Studies have proved that the polysaccharides of Chinese herbal medicines can be absorbed and utilized by the human body and exert anti-tumor, immunomodulatory, antioxidant, and blood glucose-lowering activities. In recent years, the structure-activity relationship of the polysaccharides from some Chinese herbal medicines has been clarified as the structures and the pharmacological targets of the polysaccharides have been revealed. This paper introduces the research progress in the absorption, distribution, metabolism, and excretion *in vivo* and the pharmacological targets of the polysaccharides from Chinese herbal medicines, and makes an outlook on the structure-activity relationship of the polysaccharides based on molecular targets, aiming to provide references for the research on the material basis of Chinese herbal medicines and the development of polysaccharide-based drugs.

[Keywords] polysaccharide; pharmacokinetics; target; structure-activity relationship

多糖是由超过10个单糖基通过糖苷链连接而成的大分子天然活性物质。作为中药主要的水溶性成分, 多糖有免疫调节、抗肿瘤、抗氧化、降血糖、抗衰老、抗病毒和抗疲劳等多种药理活性^[1], 且具有有效、低毒的优点, 作用机制多靶点、多通路。近年来逐渐发现生物体内糖类结合分子在肿瘤、免疫、

衰老等信号转导中的重要调控作用, 极大地推动了中药多糖结构和功能研究的快速发展, 也为阐明多糖这一中药发挥独特疗效的重要水溶性成分的作用机制拓宽了视野。基于此本文对中药多糖在体内的药动学、主要作用靶点及其构效关系进行综述, 以期进一步阐释中药多糖的体内作用机制, 并为其进

[△] **[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81473329, 81173513); 陕西省杰出青年科学基金项目(2023-JC-JQ-61)

* **[通信作者]** 曹蔚, 教授, 研究方向: 中药药理学; E-mail: caowei@nwfufu.edu.cn

行综合利用开发提供参考。

1 中药多糖的药动力学研究进展

口服给药是临床使用中药的主要给药途径。中药多糖给药后能否进入血液循环进而分布于不同组织、以何种形式进入血液循环和组织是其发挥体内多种药理作用的先决条件,因此中药多糖的药动力学研究一直备受关注。但是,由于绝大多数中药多糖没有紫外吸收基团和荧光发射基团,同时,内源性的糖类物质常对生物样品中的多糖测定造成干扰,很难直接用紫外检测器、荧光检测器和质谱等常见方法对其进行定量检测。与其他天然活性成分相比,中药多糖的药动力学研究进展缓慢。近年来,随着核素标记示踪法、荧光标记示踪法、衍生化-质谱法等研究方法的发展,中药多糖的药动力学研究取得了一些进展,这为阐明中药多糖体内作用特点、深入挖掘其体内作用机制奠定了基础。

1.1 吸收

目前研究发现中药多糖的吸收方式主要包括直接吸收和肠道菌群代谢后吸收2种方式。直接吸收是指多糖主要以巨胞饮、网格蛋白介导和小窝蛋白介导的内吞作用途径进入毛细血管和细胞中,从而发挥作用,直接吸收是多糖口服吸收最常见的方式。郑子明^[2]采用核素标记法和Ussing chamber技术检测香菇多糖在不同肠段(十二指肠、空肠、回肠和结肠)中的肠吸收行为,发现香菇多糖在不同肠段的累积转运量均呈现出时间依赖性,且在回肠的累积转运量、表观渗透系数与吸收容易程度均远高于其他肠段,表明回肠是香菇多糖吸收的优势肠段,这可能与回肠高表达胆汁酸转运体有关;香菇多糖在肠道吸收的机制主要是通过网格蛋白介导的内吞和巨胞饮途径进入细胞。Yu等^[3]采用荧光标记法测定南瓜多糖在小鼠体内的吸收特性,发现小鼠灌胃给予南瓜多糖后,空肠和回肠被吸收入血,并且在肠道中的相对分子质量几乎恒定,为195~210 kDa,表明南瓜多糖并未在小肠中分解,是以直接吸收的形式进入机体发挥作用。此外,一些中药多糖可耐受唾液、胃和小肠中的消化酶,而不被消化分解,以原形形式到达大肠,被肠道菌群转化为代谢物,进入血液而发挥药理作用^[4-5]。茯砖茶多糖可被大肠的肠道菌群分解为短链脂肪酸进而被机体利用^[6]。芦荟多糖不被消化酶降解,但在肠道菌群的作用下可产生短链脂肪酸,

进一步调节肠道免疫力^[7]。

有研究者提出多糖可能通过派尔集合淋巴结吸收的假设^[8],然而,目前尚无中药多糖从派尔集合淋巴结被吸收进入体循环的报道。

1.2 分布

目前发现吸收后的中药多糖主要分布在肝脏,此外,尚有肾脏、胰腺和脾脏分布的报道^[3]。Yu等^[3]采用荧光标记法测定南瓜多糖在小鼠体内的组织分布,结果发现小鼠灌胃给药60~360 min后南瓜多糖主要在空肠和回肠以原形被吸收,然后进入肝脏和肾脏,最后进入胰腺和脾脏。Zhang等^[9]采用荧光标记与单光子发射计算机断层成像技术相结合的方法测定当归多糖(ASP)静脉注射后在大鼠体内的组织分布,发现ASP主要聚集于肝脏,这种大量蓄积主要是ASP通过去唾液酸糖蛋白受体被肝实质细胞内吞产生的。

1.3 代谢与排泄

中药多糖进入机体后,可在内源性酶或微生物的作用下产生一定程度的降解,但消除速率大多较慢,在体内保持活性的时间较长。郑子明^[2]采用核素标记法研究香菇多糖的代谢与排泄,发现香菇多糖静脉注射后在血液中会有部分降解,但大部分以原形形式被肝脏摄取,在肝脏中主要被细胞色素P450(CYP)亚族(CYP2D、CYP2C)和环氧化物水解酶缓慢代谢降解;滞留于血液中的香菇多糖可随循环系统分布于肾脏并被部分降解,进一步进入膀胱后,在尿液中也可被降解,最终排出体外。由于血液、肝脏、肾脏和尿液对香菇多糖的降解均不完全,所以香菇多糖最后随尿液排出时,仍有部分原形形式存在。但是,大鼠灌胃给药后部分香菇多糖可随尿液排泄,其余香菇多糖随粪便排出。除了肝药酶对中药多糖的代谢,肠道菌群可将进入体内的中药多糖降解为低聚糖或单糖,或进一步代谢生成短链脂肪酸。体内外实验证明,褐藻多糖可被肠道菌群分解,产生短链脂肪酸,如乙酸盐、丙酸盐和丁酸盐等^[10]。

通过对中药多糖药动力学研究发现,大部分中药活性多糖进入人体后以原形的形态进入血液,通过循环系统分布到组织,甚至进入细胞,通过多糖作用靶点发挥药理活性。此外,还有一部分中药多糖无法被机体直接吸收,需要通过被肠道菌群代谢进

而产生药理作用。

2 中药多糖的体内药物作用靶点

中药多糖被证实具有抗氧化、免疫调节、抗肿瘤、降血糖、调血脂、抗炎、抗疲劳、抗衰老等多种药理活性,已成为中药重要的一类活性成分。近年来,随着肝素核心糖链的解析、巨噬细胞表面糖特异性识别受体的发现,多糖结构和功能研究发展迅速。越来越多的证据表明,生物体内存在多样的碳水化合物结合组件,其中部分已证实是中药多糖的直接作用靶点,在免疫、肿瘤、发育等多方面产生重要的调控作用。

2.1 血管内皮生长因子(VEGF)

VEGF家族属血小板源生长因子超家族,包括A、B、C、D、E(病毒编码)、F(蛇毒中分离)、胎盘生长因子(PLGF)和内分泌腺源性-VEGF^[11-12];由于VEGF-A具有促进血管通透性增加,细胞外基质变性,血管内皮细胞迁移、增殖和血管形成等作用,在调节血管生成中起主导作用,故又称VEGF。VEGF能与其VEGF受体1(VEGFR1)和VEGFR2结合,对VEGFR1亲和力较低,因此VEGFR2是VEGF的主要受体,VEGF激活可促进血管内皮细胞有丝分裂和通透性增加^[13]。

癌细胞需要氧气和营养物质才能存活和增殖,因此癌细胞的生长转移依赖于肿瘤血管生成。越来越多的证据表明,含硫酸基的中药多糖可直接与VEGF结合,通过阻断其作用显著抑制肿瘤新生血管的形成,从而抑制肿瘤的生长。采用表面等离子体共振法(SPR)测定蛋白与配体的亲和力时发现,铁皮石斛中提取的1种甘露葡聚糖硫酸酯化后,与VEGF有着较强的亲和力,其平衡解离常数(K_D)值为 $4.82 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。该中药多糖与VEGF结合后,抑制细胞外调节蛋白激酶(ERK)磷酸化,进而抑制VEGF及其转录因子激活蛋白-1(AP-1)的表达和转录,从而抑制血管生成^[14]。

2.2 半乳糖凝集素家族(Gals)

Gals被发现是重建微环境的细胞-细胞相互作用的主要调节因子,其与多种人类代谢相关疾病相关,包括肿瘤的发生、发展和转移,尤其与肿瘤血管新生关系密切^[15-17]。Gals蛋白主要存在于细胞质和细胞核中,迄今为止已知的哺乳动物Gals有15种,其中

11种来源于人类。其大多数生物学功能尚未被详细破译,仅有Gal-1和Gal-3对肿瘤的调控机制被较为系统地阐明^[18]。免疫激活被认为是机体对抗癌症的重要防御策略之一。Gal-1可以通过诱导活化的T细胞凋亡,激活宿主免疫反应,发挥肿瘤免疫抑制作用^[19],还可以通过诱导VEGF信号通路刺激肿瘤血管生成^[20]。细胞质中的Gal-3具有不同的促进肿瘤进展机制,如激活胰腺癌中的大鼠肉瘤蛋白Ras信号通路,上调黑色素瘤和胃癌中的基质金属蛋白酶-1(MMP-1)及调节肺癌和胶质母细胞瘤中的ERK/丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路等促进肿瘤生长^[21]。

目前,已有研究表明,中药多糖可通过直接结合Gal-1和Gal-3产生药理活性。采用微量热泳动(MST)技术测定从中药蛭蟥中分离得到的均一性多糖HDPS-2 II和Gal-1的亲和力,发现HDPS-2 II和Gal-1的 K_D 值为 $(17.2 \pm 7.3) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结果表明,HDPS-2 II可直接结合Gal-1,影响VEGFR2信号通路的激活,进而抑制肿瘤微血管的生成^[22-23]。ASP组分APS-2 I与Gal-3有着较强的亲和力,采用MST法测定其 K_D 值为 $(9.35 \pm 0.30) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; APS-2 I直接与Gal-3结合,激活Caspase-9和Caspase-3从而诱导白血病细胞凋亡,延长白血病模型小鼠的存活时间^[24]。Yao等^[25]使用SPR探索发现,红花多糖能与Gal-3特异性结合($K_D = 4.158 \times 10^{-6} \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),进而阻断Gal-3与表皮生长因子受体(EGFR)之间的相互作用,抑制胰腺癌细胞增长。

2.3 Toll样受体(TLRs)

TLRs是参与非特异性免疫的一类模式识别受体,也是目前发现的与中药多糖关系最为密切的一类多糖受体。TLRs能通过激活信号转导途径调控在宿主防御中起作用的多种基因,包括主要组织相容性复合体、炎性细胞因子、趋化因子及共刺激分子等^[26]。目前在人体内已经发现的TLRs家族成员有11个,多种中药多糖可通过TLR4或TLR2激活核转录因子(NF)- κ B或MAPK信号通路等诱导巨噬细胞、肿瘤细胞等释放细胞因子,发挥抗肿瘤、免疫调节等作用^[27-29]。例如,枸杞多糖可激活细胞表面的TLR2,促进NF- κ B和p38的活化,进而促进骨髓来源树突状细胞的成熟,加入TLR2阻断剂后,NF- κ B和p38的表达显著降低^[30]。黄芪多糖通过调控TLR4-MyD88依赖途径,活化肿瘤坏死因子(TNF)受体

相关蛋白6 (TRAF-6)、NF- κ B和AP-1, 进而增强白细胞介素-6 (IL-6)和TNF- α 等细胞因子的产生, 从而发挥免疫调节作用; 在TLR4基因缺陷小鼠中, 黄芪多糖不会影响TRAF-6和NF- κ B。因此, 黄芪多糖可以通过激活TLR4, 进而介导TLR4/MyD88信号通路来调节宿主生物体的免疫力^[31]。虎杖多糖也被证实可以通过激活TLR4, 调控TLR4-MAPK和NF- κ B信号通路发挥抗肿瘤活性, 而当使用了TLR4抑制剂后, 信号通路的相关细胞因子分泌受到抑制^[32]。

2.4 Dectin-1

Dectin-1是一种跨膜模式识别的C型凝集素受体, 可通过介导免疫识别和响应来保护机体免受病原体侵袭^[33-34]。Dectin-1表达于多种哺乳动物髓细胞的表面, 如树突状细胞、巨噬细胞和单核细胞。研究发现, 多糖能够通过和Dectin-1结合, 激活雷帕霉素靶蛋白/蛋白激酶B/缺氧诱导因子-1 α (mTOR/Akt/HIF-1 α)、NF- κ B等信号通路, 提高免疫功能, 发挥多种活性^[35]。SPR分析结果表明, 灵芝多糖可直接和Dectin-1结合, 其分离得到的4个组分, 即F1、F2、F3、F4, 与Dectin-1的 K_D 值分别为 1.948×10^{-4} 、 4.370×10^{-6} 、 3.993×10^{-6} 、 $6.188 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 其中F4和Dectin-1的亲和力最强。F4通过与Dectin-1结合, 诱导NF- κ B活化, 激发免疫活性^[36]。Gao等^[37]发现, 白肉灵芝中的多糖DLP-1在体内和体外均具有显著的免疫刺激作用; Dectin-1被阻断后, GLP-1对巨噬细胞的激活作用被显著抑制, 表明GLP-1通过Dectin-1激活免疫。香菇多糖可特异性作用于Dectin-1, 显著降低TNF- α 和IL-1 β 的表达, 同时升高IL-10和神经生长因子(BDNF)的表达, 进而抑制脂多糖(LPS)诱导的神经炎症, 在加入Dectin-1阻断剂后, 香菇多糖对TNF- α 和IL-1 β 的抑制作用和对IL-10和BDNF的促进作用被抑制; 在中枢脱髓鞘疾病模型小鼠中, 香菇多糖还可通过调控Dectin-1受体, 使小胶质细胞从M1型转变为M2型, 促进髓鞘再生, 改善小鼠运动功能^[38]。上述中药多糖的主要作用靶点总结见表1。

2.5 其他

甘露糖受体作为巨噬细胞和树突状细胞表面的糖类识别受体, 也可被中药多糖如灵芝多糖识别, 产生重要的免疫调节作用^[64]。此外, 有研究发现, 中药蛭蟥中的三螺旋结构 α -葡聚糖HDPS-4 II可特异

性结合醛缩酶A (ALDOA), 阻断ALDOA的酶催化等功能, 对肝癌细胞的增殖产生显著的体内、外抑制作用^[65]。

3 基于体内作用靶点的中药多糖构效关系

多糖能与体内的作用靶点结合, 发挥生物活性作用。但由于其结构复杂, 目前对多糖构效关系的研究并不完善, 研究也主要集中于一级结构与靶点的作用关系, 高级结构鲜有涉及。

3.1 中药多糖一级结构与活性的关系

多糖的一级结构包括相对分子质量、单糖组成、糖苷键类型、分支度等。其中相对分子质量、分支度对多糖体内吸收、跨膜转运有重要的影响, 而单糖组成、糖苷键类型决定了与靶点的亲和力大小^[66-70]。

3.1.1 基于Dectin-1的多糖构效关系 Dectin-1为跨膜蛋白, 相对分子质量为28 kDa, 结构中含有短杆区域, 该区域在配体识别、结合中起重要作用, 同时该区域还包含一个特殊区域, 即碳水化合物识别域(CRD)。Dectin-1的CRD由6个半胱氨酸残基组成, 其中色氨酸(Trp)221和组氨酸(His)223在Dectin-1识别 β -葡聚糖的过程中起关键作用。另外, 酪氨酸(Tyr)228和谷氨酰胺(Gln)230侧链之间的疏水结构和氢键形成也有助于Dectin-1与 β -葡聚糖的结合^[35]。Dectin-1对 β -葡聚糖的识别促进了巨噬细胞吞噬作用和保护性免疫反应的发生。越来越多的证据表明, 多糖聚合程度和 β -(1 $\rightarrow$ 3)-葡萄糖(Glc)结构是Dectin-1激活先天免疫反应的关键结构特征^[71]。Palma等^[72]发现, 在Dectin-1的配体中, 相对分子质量对活性有一定的影响, 配体结构中应含有至少10个葡萄糖单位。Qin等^[36]在对灵芝多糖与Dectin-1结合作用的系统研究中发现, β -(1 $\rightarrow$ 3)-Glc与 β -(1 $\rightarrow$ 6)-Glc残基的配比对亲和力影响很大, β -(1 $\rightarrow$ 3)-Glc的比例越高, 亲和力越高。

3.1.2 基于Gal-1的多糖构效关系 Gal-1是一种亚基相对分子质量为14.5 kDa的同源二聚体, 由定位于染色体22q12上的单基因LGALS1所编码^[73]。Gal-1是由2个F1-F5和S1-S6的反向平行的 β -链折叠形成“三明治”结构, 结构中二聚体的末端含有CRD, 对 β -半乳糖苷有特殊的亲和力^[74-75]。因此已报道的Gal-1抑制剂大多数是 β -半乳糖苷类似物, 如N-乙酰乳糖胺(NAc)^[76]。已有研究证明, N-聚糖中的聚-2,3-唾

表 1 中药多糖的主要作用靶点

作用靶点	主要作用靶点亚型	中药多糖	参考文献
VEGF	VEGF	蒲公英多糖 (polysaccharide from <i>Taraxacum mongolicum</i> Hand.-Mazz.)	[39]
		槐耳多糖[polysaccharide from <i>Auricularia auricular</i> (L. Ex Hook.) Underw.]	[40]
		黄芪多糖[polysaccharide from <i>Astragalus membranaceus</i> (Fisch.) Bge]	[41]
		远志多糖 (polysaccharide from <i>Polygala tenuifolia</i> Willd)	[42]
		五味子多糖[polysaccharide from <i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Baill.]	[43]
		石榴多糖 (polysaccharide from <i>Punica granatum</i> Linn.)	[44]
		蒲黄多糖 (polysaccharide from <i>Typha angustifolia</i> Linn.)	[45]
		党参多糖[polysaccharide from <i>Codonopsis pilosula</i> (Franch.) Nannf.]	[46]
		蛭螬多糖 (polysaccharide from <i>Holotrichia diomphalia</i> Bates)	[22]
		当归多糖[polysaccharide from <i>Angelica sinensis</i> (Oliv.) Diels]	[24]
Gals	Gal-1	参花多糖 (polysaccharide from flower buds of <i>Panax ginseng</i> C. A. Mey)	[47]
	Gal-3	三七多糖[polysaccharide from <i>Panax notoginseng</i> (Burk.) F. H. Chen]	[48]
		红花多糖 (polysaccharide from <i>Carthamus tinctorius</i> Linn.)	[25]
		山茶花多糖 (polysaccharide from pollen of <i>Camellia japonica</i> Linn.)	[49]
		南瓜果胶多糖 (polysaccharide from pectin of <i>Cucurbita moschata</i> Duchesne)	[50]
		铁皮石斛多糖 (polysaccharide from <i>Dendrobium officinale</i> Kimura et Migo)	[51]
		白灵芝多糖 (polysaccharide from <i>Ganoderma leucocontextum</i> T. H. Li)	[52]
		红参酸性多糖 (acidic polysaccharide from <i>Radix Ginseng</i> Rubra)	[53]
		绞股蓝多糖[polysaccharide from <i>Gynostemma pentaphyllum</i> (Thunb.) Makino]	[54]
		猪苓多糖[polysaccharide from <i>Polyporus umbellaru</i> (Pers.) Fr.]	[55]
TLRs	TLR2	黄芪多糖[polysaccharide from <i>Astragalus membranaceus</i> (Fisch.) Bge]	[56]
	TLR4	灰树花多糖[polysaccharide from <i>Polyporus frondosus</i> (Dicks.) Fr.]	[57]
		石斛多糖 (polysaccharide from <i>Dendrobium nobile</i> Lindl.)	[58]
		桑黄多糖 (polysaccharide from <i>Sanghuangporus</i> spp.)	[59]
		马齿苋多糖 (polysaccharide from <i>Portulaca oleracea</i> Linn.)	[60]
		灵芝多糖[polysaccharide from <i>Ganoderma lucidum</i> (Leyss. Ex Fr.) Karst.]	[61]
		灰树花多糖[polysaccharide from <i>Polyporus frondosus</i> (Dicks.) Fr.]	[62]
		仙茅多糖 (polysaccharide from <i>Curculigo orchoides</i> Gaertn.)	[63]
Dectins	Dectin-1		

液酸化NAc (LacNAc) 延伸对 Gal-1、Gal-3 和 Gal-8 特异性结合至关重要, 而末端半乳糖残基的聚糖唾液酸化会阻碍其与 Gal-1 结合^[77]。Tejler 等^[78]发现取代基为二价乳酰甲酯氨基甲酸酯的 2-叠氮乙基- β -D-半乳糖氨基-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-Glc 可作为 Gal-1 的选择性抑制剂。此外, 硫酸取代后的硫键可以结合 Gal-1 中的 His52 残基, 增加半乳糖链对 Gal-1 的亲合力^[79]。

3.1.3 基于 TLR4 的多糖构效关系 TLR4 以 TLR4/MD-2 复合物的形式存在, 是一种与 CD14 相关的细胞表面受体, 其通过激活核易位和促炎反应介导对多种微生物的吞噬和炎症反应^[80]。目前已发现多种中药多糖是有效的 TLR4 激动剂, 相关构效关系的研究初步证实, 单糖组成是决定多糖和 TLR4 结合并发挥活性的关键因素, 其中 Glc、半乳糖 (Gal) 和甘露糖残基是激活 TLR4 的主要残

基^[81]; 糖苷键的连接方式也影响着多糖和 TLR4 的结合。据报道, β -(1 $\rightarrow$ 3)-、 β -(1 $\rightarrow$ 4)-和 α -(1 $\rightarrow$ 4)连接的葡聚糖骨架的活性与 TLR4 信号传导有关, 而 β -(1 $\rightarrow$ 6)-连接的葡聚糖尚未报道与 TLR4 的活性关系^[82-83]; 多糖的相对分子质量也影响了活性, 目前报道的 TLR4 活性多糖的相对分子质量为 10~1000 kDa。

3.1.4 基于 ALDOA 的多糖构效关系 果糖-1,6-二磷酸醛缩酶 (ALDO) 是糖酵解和糖异生代谢过程中的关键酶, 能够催化果糖-1,6-二磷酸 (FBP) 和果糖-1-磷酸为底物的裂解。其有 3 种同工酶亚型, 即 ALDOA、ALDOB 和 ALDOC^[84]。其中 ALDOA 相较于其他 2 种亚型的同工酶而言, 结合 FBP 的动力学参数 (K_m) 值最小。ALDOA 蛋白是同源四聚体结构, 总相对分子质量为 160 kDa, 可以通过维持细胞骨架、囊泡运输和信号转导等促进肿瘤发展^[85]。

HDPS-4 II是由(1→6)- α -D-Glcp和(1→4)- α -D-Glcp的糖残基以10:1连接而成的直链 α -葡聚糖,研究发现,HDPS-4 II、Dextran及其硫酸酯化衍生物与ALDOA蛋白具有不同程度的亲和作用。Dextran与ALDOA的亲性和与相对分子质量有关,相对分子质量为1000~4000 Da,随相对分子质量递增,亲和性逐渐增加,抗肝癌活性也逐渐增强^[86];与HDPS-4 II和系列Dextran比,硫酸化修饰可进一步增强多糖与ALDOA的亲和作用。

3.2 多糖高级结构与活性的关系

目前普遍认为,多糖的高级结构与活性关系密切。例如,在破坏原多糖的三螺旋结构之后,肿瘤抑制率下降,因此推测多糖的三螺旋结构与抗肿瘤活性相关^[87]。但因多糖的结构十分复杂,高级结构的解析困难,目前多糖高级结构与活性关系尚无系统的报道。

4 结语与展望

中药多糖活性多样、不良反应小、应用开发价值较大,相关研究及关注度日益提升。近年来,随着糖化学及糖生物学的快速发展,多糖的结构解析、分子修饰、体内靶点和体内药动学的研究越来越深入,这极大地推动了中药药效物质基础研究和中药药现代化进程,也为中药质量控制和评价体系的健全提供了支撑。特别是大量细胞表面和胞内糖类结合分子在多种生命现象及生理过程中重要调控作用的发现,为科学阐释中药多糖的体内分子作用机制奠定了理论基础。同时,DNA体外重组、SPR、核磁共振(NMR)和液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)等技术的发展,实现了对多糖与分子靶点直接结合的测定,使从分子水平揭示中药多糖的作用机制和构效关系成为可能。目前研究主要针对细胞表面Dectin-1、Gals、TLRs等糖结合蛋白展开分子水平多糖构效关系的探讨;通过这些分子靶点,具有特异型结构的中药多糖分别呈现了对天然免疫反应、肿瘤发展和转移、巨噬细胞炎症级联等的调控作用。这些分子水平中药多糖构效关系的解读也为精准识别和分析具有治疗作用的中药多糖活性物质、衔接现代科学提供了突破口。

尽管如此,糖结合蛋白体内功能的产生具有重要的糖链结构依赖性。多糖的药理作用与其结构包括单糖组成、单糖连接位点、糖苷键的类型、分支

度、相对分子质量、构型、构象等均紧密相关。由于中药多糖结构的复杂性和多样性,其结构的解析和化学合成仍是具有挑战性的非常复杂且耗时的研究工作,是构效关系研究中的限速环节。因此,目前多糖研究的水平仍然落后于蛋白质和核酸等其他天然活性物质,分子水平的构效关系研究仅为起步阶段。另一方面,多糖结构具有微观不均一性,导致质量控制难度大、药效重复性较差,研究结果常遭受质疑。中药多糖稳定的、可重复性的制备工艺,高效、灵敏的质量控制方法等技术问题的解决,仍需要长时间的探索与完善。

期待随着NMR、LC-MS/MS、基质辅助激光解吸飞行时间质谱法(MALDI-TOF)、气相色谱-质谱法(GC-MS)等分析技术的改进,多种多糖衍生与荧光标记方法的开发,能够为多糖的检测与结构分析提供有力的技术支持,全面推动中药多糖分子水平构效关系的阐释和中药多糖相关新药的高效研发。

参考文献

- [1] YU Y, SHEN M, SONG Q, et al. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review [J]. Carbohydr Polym, 2018, 183:91-101.
- [2] 郑子明. 香菇多糖药代动力学及其体内吸收代谢机制研究[D]. 武汉:华中科技大学, 2019.
- [3] YU M G, XIAO B, HAO X, et al. Pumpkin polysaccharide preparation, simulated gastrointestinal digestion, and *in vivo* biodistribution [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 141:1293-1303.
- [4] CARNACHAN S M, BOOTTEN T J, MISHRA S, et al. Effects of simulated digestion *in vitro* on cell wall polysaccharides from kiwifruit (*Actinidia* spp.) [J]. Food Chem, 2012, 133(1):132-139.
- [5] WANG H S, TANG X, CHESEREK M J, et al. Obesity prevention of synthetic polysaccharides in high-fat diet fed C57BL/6 mice [J]. J Funct Foods, 2015, 17:563-574.
- [6] CHEN G J, XIE M H, WAN P, et al. Digestion under saliva, simulated gastric and small intestinal conditions and fermentation *in vitro* by human intestinal microbiota of polysaccharides from Fuzhuan brick tea [J]. Food Chem, 2018, 244:331-339.
- [7] LIU C, DU P, CHENG Y, et al. Study on fecal fermentation characteristics of aloe polysaccharides *in vitro* and their predictive modeling [J]. Carbohydr Polym, 2021, 256:117571.

- [8] 王宇,张健,姜进举,等.天然活性多糖口服吸收研究进展[J].生命的化学,2019,39(3):605-610.
- [9] ZHANG Y, ZHOU T, LUO L, et al. Pharmacokinetics, biodistribution and receptor mediated endocytosis of a natural *Angelica sinensis* polysaccharide [J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2018, 46(suppl1): 254-263.
- [10] OKOLIE C L, RAJENDRAN S R C K, UDENIGWE C C, et al. Prospects of brown seaweed polysaccharides (BSP) as prebiotics and potential immunomodulators[J]. J Food Biochem, 2017, 41(5): e12392.
- [11] FERRARA N, ADAMIS A P. Ten years of anti-vascular endothelial growth factor therapy [J]. Nat Rev Drug Discov, 2016, 15(6): 385-403.
- [12] TJWA M, LUTTUN A, AUTIERO M, et al. VEGF and PlGF: Two pleiotropic growth factors with distinct roles in development and homeostasis [J]. Cell Tissue Res, 2003, 314(1): 5-14.
- [13] TERMAN B I, DOUGHER-VERMAZEN M, CARRION M E, et al. Identification of the KDR tyrosine kinase as a receptor for vascular endothelial cell growth factor [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1992, 187(3): 1579-1586.
- [14] WANG Z, JIN C, LI X, et al. Sulfated polysaccharide JCS1S2 inhibits angiogenesis via targeting VEGFR2/VEGF and blocking VEGFR2/ERK/VEGF signaling[J]. Carbohydr Polym, 2019, 207: 502-509.
- [15] DEMOTTE N, BIGIRIMANA R, WIEËRS G, et al. A short treatment with galactomannan GM-CT-01 corrects the functions of freshly isolated human tumor-infiltrating lymphocytes [J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(7): 1823-1833.
- [16] TRABER P G, ZOMER E. Therapy of experimental NASH and fibrosis with galectin inhibitors [J]. PLoS ONE, 2013, 8(12): e83481.
- [17] AHMAD N, GABIUS H J, ANDRE S, et al. Galectin-3 precipitates as a pentamer with synthetic multivalent carbohydrates and forms heterogeneous cross-linked complexes [J]. J Biol Chem, 2004, 279(12): 10841-10847.
- [18] LAAF D, BOJAROVA P, ELLING L, et al. Galectin-carbohydrate interactions in biomedicine and biotechnology [J]. Trends Biotechnol, 2019, 37(4): 402-415.
- [19] RUBINSTEIN N, ALVAREZ M, ZWIRNER N W, et al. Targeted inhibition of galectin-1 gene expression in tumor cells results in heightened T cell-mediated rejection; A potential mechanism of tumor-immune privilege [J]. Cancer Cell, 2004, 5(3): 241-251.
- [20] STANLEY P. Galectin-1 pulls the strings on VEGFR2 [J]. Cell, 2014, 156(4): 625-626.
- [21] SONG L, TANG J W, OWUSU L, et al. Galectin-3 in cancer [J]. Clin Chim Acta, 2014, 431: 185-191.
- [22] 张甜. 中药蛭蟪多糖 HDPS-2 II 抑制肿瘤血管生成的药理作用研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020.
- [23] 李萍. 蛭蟪多糖的提取分离、结构特征与抗肿瘤作用的研究 [D]. 西安: 第四军医大学, 2016.
- [24] LIU W, XIAO K, REN L, et al. Leukemia cells apoptosis by a newly discovered heterogeneous polysaccharide from *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels [J]. Carbohydr Polym, 2020, 241: 116279.
- [25] YAO Y, ZHOU L, LIAO W, et al. HH1-1, a novel Galectin-3 inhibitor, exerts anti-pancreatic cancer activity by blocking Galectin-3/EGFR/Akt/FOXO3 signaling pathway [J]. Carbohydr Polym, 2019, 204: 111-123.
- [26] MEDZHITOV R. Toll-like receptors and innate immunity [J]. Nat Rev Immunol, 2001, 1(2): 135-145.
- [27] JEON Y J, HAN S B, AHN K S, et al. Activation of NF- κ B/Rel in angolan-stimulated macrophages [J]. Immunopharmacology, 1999, 43(1): 1-9.
- [28] KUPRASH D V, UDALOVA I A, TURETSKAYA R L, et al. Conserved kappa B element located downstream of the tumor necrosis factor alpha gene: Distinct NF-kappa B binding pattern and enhancer activity in LPS activated murine macrophages [J]. Oncogene, 1995, 11(1): 97-106.
- [29] PRICE L A, WENNER C A, SLOPER D T, et al. Role for toll-like receptor 4 in TNF-alpha secretion by murine macrophages in response to polysaccharide Krestin, a *Trametes versicolor* mushroom extract [J]. Fitoterapia, 2010, 81(7): 914-919.
- [30] 张晓羽, 兰亚如, 张晓娣, 等. 枸杞多糖通过 TLR2-NF- κ B/p38 调控树突状细胞的成熟 [J]. 中国药理学通报, 2020, 36(9): 1293-1298.
- [31] ZHOU L J, LIU Z J, WANG Z X, et al. Astragalus polysaccharides exerts immunomodulatory effects via TLR4-mediated MyD88-dependent signaling pathway *in vitro* and *in vivo* [J]. Sci Rep, 2017, 7: 44822.
- [32] LONG T T, LIU Z J, SHANG J C, et al. *Polygonatum sibiricum* polysaccharides play anti-cancer effect through TLR4-MAPK/NF- κ B signaling pathways [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 111: 813-821.
- [33] DEERHAKE M E, SHINOHARA M L. Emerging roles of Dectin-1 in noninfectious settings and in the CNS [J].

- Trends Immunol, 2021, 42(10): 891-903.
- [34] MANABE Y, MARCHETTI R, TAKAKURA Y, et al. The core fucose on an IgG antibody is an endogenous ligand of dectin-1[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2019, 58(51): 18697-18702.
- [35] FISCHER S, STEGMANN F, GNANAPRAGASSAM V S, et al. From structure to function-ligand recognition by myeloid C-type lectin receptors [J]. Comput Struct Biotechnol J, 2022, 20: 5790-5812.
- [36] QIN X, MA G, LIU L, et al. Microwave-assisted degradation of β -D-glucan from *Ganoderma lucidum* and the structural and immunoregulatory properties of oligosaccharide fractions[J]. Int J Biol Macromol, 2022, 220: 1197-1211.
- [37] GAO X, ZENG R, QI J, et al. Immunoregulatory activity of a low-molecular-weight heteropolysaccharide from *Ganoderma leucocontextum* fruiting bodies *in vitro* and *in vivo*[J]. Food Chem X, 2022, 14: 100321.
- [38] 张丹丹. 香菇多糖通过 Dectin-1 受体调节小胶质细胞抑制神经炎症介导髓鞘再生的机制研究[D]. 昆明: 云南大学, 2021.
- [39] REN F, WU K X, YANG Y, et al. Dandelion polysaccharide exerts anti-angiogenesis effect on hepatocellular carcinoma by regulating VEGF/HIF-1 α expression[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 460.
- [40] LI C, WU X, ZHANG H, et al. A Huaier polysaccharide restrains hepatocellular carcinoma growth and metastasis by suppression angiogenesis [J]. Int J Biol Macromol, 2015, 75: 115-120.
- [41] ZHAO L C, ZHONG Y T, LIANG J, et al. Effect of astragalus polysaccharide on the expression of VEGF and EGFR in mice with lewis transplantable lung cancer [J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2019, 29(4): 392-394.
- [42] YAO H, CUI P, XU D, et al. A water-soluble polysaccharide from the roots of *Polygala tenuifolia* suppresses ovarian tumor growth and angiogenesis *in vivo*[J]. Int J Biol Macromol, 2018, 107: 713-718.
- [43] QU H M, LIU S J, ZHANG C Y. Antitumor and antiangiogenic activity of *Schisandra chinensis* polysaccharide in a renal cell carcinoma model[J]. Int J Biol Macromol, 2014, 66: 52-56.
- [44] VARGHESE S, JOSEPH M M, ARAVIND S R, et al. The inhibitory effect of anti- tumor polysaccharide from *Punica granatum* on metastasis[J]. Int J Biol Macromol, 2017, 103: 1000-1010.
- [45] GAO M, LAN J, ZHA Y, et al. Structural determination and pro-angiogenic effect of polysaccharide from the pollen of *Typha angustifolia* L. [J]. Int J Biol Macromol, 2022, 222: 2028-2040.
- [46] YANG M J, JIN Y M, YANG J M, et al. Preparation of *Codonopsis pilosula* polysaccharide microcapsules and its effect and mechanism on skin wound healing in rats [J]. J Biomater Appl, 2022, 36(10): 1723-1736.
- [47] CUI L, WANG J, HUANG R, et al. Analysis of pectin from *Panax ginseng* flower buds and their binding activities to galectin-3 [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 128: 459-467.
- [48] ZHANG L, WANG P, QIN Y, et al. RN1, a novel galectin-3 inhibitor, inhibits pancreatic cancer cell growth *in vitro* and *in vivo* via blocking galectin-3 associated signaling pathways [J]. Oncogene, 2017, 36(9): 1297-1308.
- [49] ZHOU L, MA P, SHUAI M, et al. Analysis of the water-soluble polysaccharides from *Camellia japonica* pollen and their inhibitory effects on galectin-3 function[J]. Int J Biol Macromol, 2020, 159: 455-460.
- [50] ZHAO J, ZHANG F, LIU X, et al. Isolation of a lectin binding rhamnogalacturonan- I containing pectic polysaccharide from pumpkin [J]. Carbohydr Polym, 2017, 163: 330-336.
- [51] WANG H Y, GE J C, ZHANG F Y, et al. *Dendrobium officinale* polysaccharide promotes M1 polarization of TAMs to inhibit tumor growth by targeting TLR2 [J]. Carbohydr Polym, 2022, 292: 119683.
- [52] GAO X, QI J, HO C T, et al. Structural characterization and immunomodulatory activity of a water-soluble polysaccharide from *Ganoderma leucocontextum* fruiting bodies[J]. Carbohydr Polym, 2020, 249: 116874.
- [53] BYEON S E, LEE J, KIM J H, et al. Molecular mechanism of macrophage activation by red ginseng acidic polysaccharide from Korean red ginseng [J]. Mediators Inflamm, 2012, 2012: 732860.
- [54] YUE S R, TAN Y Y, ZHANG L, et al. *Gynostemma pentaphyllum* polysaccharides ameliorate non-alcoholic steatohepatitis in mice associated with gut microbiota and the TLR2/NLRP3 pathway [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13: 885039.
- [55] LI X, XU W, CHEN J. Polysaccharide purified from *Polyporus umbellatus* (Per) Fr induces the activation and maturation of murine bone-derived dendritic cells via toll-like receptor 4[J]. Cell Immunol, 2010, 265(1): 50-56.
- [56] QIU H Q, ZHANG L Y, HE X Q, et al. Promotion of

- angiogenesis *in vitro* by *Astragalus* polysaccharide via activation of TLR4 signaling pathway [J]. J Food Biochem, 2022, 46(10): e14329.
- [57] JIANG T, SHEN S L, WANG L, et al. *Grifola frondosa* polysaccharide ameliorates early diabetic nephropathy by suppressing the TLR4/NF- κ B pathway [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2022, 194(9): 4093-4104.
- [58] WU Y G, WANG K W, ZHAO Z R, et al. A novel polysaccharide from *Dendrobium devonianum* serves as a TLR4 agonist for activating macrophages [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 133: 564-574.
- [59] WANG Y Q, MAO J B, ZHOU M Q, et al. Polysaccharide from *Phellinus igniarius* activates TLR4-mediated signaling pathways in macrophages and shows immune adjuvant activity in mice [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 123: 157-166.
- [60] ZHAO R, ZHANG T, MA B L, et al. Antitumor activity of *Portulaca oleracea* L. polysaccharide on HeLa cells through inducing TLR4/NF- κ B signaling [J]. Nutr Cancer, 2017, 69(1): 131-139.
- [61] LI H, XIAO Y, HAN L, et al. Ganoderma lucidum polysaccharides ameliorated depression-like behaviors in the chronic social defeat stress depression model via modulation of Dectin-1 and the innate immune system [J]. Brain Res Bull, 2021, 171: 16-24.
- [62] WANG Y, FANG J P, NI X Y, et al. Inducement of cytokine release by GFPBW2, a novel polysaccharide from fruit bodies of *Grifola frondosa*, through dectin-1 in macrophages [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(47): 11400-11409.
- [63] 蔡琨, 杨娟, 杨翠萍, 等. 仙茅多糖对RAW264.7细胞的促活化作用及对细胞表面Dectin-1受体表达的影响 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(5): 1031-1034.
- [64] LI W J, TANG X F, SHUAI X X, et al. Mannose receptor mediates the immune response to ganoderma atrum polysaccharides in macrophages [J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(2): 348-357.
- [65] WANG J M, LI Z Z, YANG X, et al. The antitumor role of a newly discovered α -D-glucan from *Holotrichia diomphalia* Bates as a selective blocker of aldolase A [J]. Carbohydr Polym, 2021, 255: 117532.
- [66] 谢淳, 肖春, 王涓, 等. 灰树花活性多糖构效关系研究进展 [J]. 微生物学通报, 2022, 49(8): 3401-3419.
- [67] UPPIN V, DHARMESH S M, SARADA R. Polysaccharide from *Spirulina platensis* evokes antitumor activity in gastric cancer cells via modulation of galectin-3 and exhibited cyto/DNA protection: Structure-function study [J]. J Agric Food Chem, 2022, 70(23): 7058-7069.
- [68] CHEN Y J, JIANG X, XIE H Q, et al. Structural characterization and antitumor activity of a polysaccharide from ramulus Mori [J]. Carbohydr Polym, 2018, 190: 232-239.
- [69] WASSER S P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2002, 60(3): 258-274.
- [70] 吴亚林. 几种天然生物活性多糖的化学研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2007.
- [71] HANASHIMA S, IKEDA A, TANAKA H, et al. NMR study of short β (1-3)-glucans provides insights into the structure and interaction with Dectin-1 [J]. Glycoconj J, 2014, 31(3): 199-207.
- [72] PALMA A S, FEIZI T, ZHANG Y B, et al. Ligands for the beta-glucan receptor, Dectin-1, assigned using designer microarrays of oligosaccharide probes (neoglycolipids) generated from glucan polysaccharides [J]. J Biol Chem, 2006, 281(9): 5771-5779.
- [73] DINGS R P M, ARROYO M M, LOCKWOOD N A, et al. Beta-sheet is the bioactive conformation of the anti-angiogenic anginex peptide [J]. Biochem J, 2003, 373(Pt 1): 281-288.
- [74] KADOYA T, HORIE H. Structural and functional studies of galectin-1: A novel axonal regeneration-promoting activity for oxidized galectin-1 [J]. Curr Drug Targets, 2005, 6(4): 375-383.
- [75] BLANCHARD H, BUM-ERDENE K, BOHARIM H, et al. Galectin-1 inhibitors and their potential therapeutic applications: A patent review [J]. Expert Opin Ther Pat, 2016, 26(5): 537-554.
- [76] MIURA T, TAKAHASHI M, HORIE H, et al. Galectin-1 β , a natural monomeric form of galectin-1 lacking its six amino-terminal residues promotes axonal regeneration but not cell death [J]. Cell Death Differ, 2004, 11(10): 1076-1083.
- [77] MARTIN-SALDAÑA S, CHEVALIER M T, PANDIT A. Therapeutic potential of targeting galectins-A biomaterials-focused perspective [J]. Biomaterials, 2022, 286: 121585.
- [78] TEJLER J, TULLBERG E, FREJD T, et al. Synthesis of multivalent lactose derivatives by 1, 3-dipolar cycloadditions: Selective galectin-1 inhibition [J]. Carbohydr Res, 2006, 341(10): 1353-1362.
- [79] SETHI A, SANAM S, ALVALA M. Non-carbohydrate strategies to inhibit lectin proteins with special emphasis

- on galectins[J]. Eur J Med Chem, 2021, 222: 113561.
- [80] ZUGHAIER S M. Neisseria meningitidis capsular polysaccharides induce inflammatory responses via TLR2 and TLR4-MD-2[J]. J Leukoc Biol, 2011, 89(3): 469-480.
- [81] ZHANG X, QI C, GUO Y, et al. Toll-like receptor 4-related immunostimulatory polysaccharides: Primary structure, activity relationships, and possible interaction models[J]. Carbohydr Polym, 2016, 149: 186-206.
- [82] SMIDERLE F R, RUTHES A C, VAN ARKEL J, et al. Polysaccharides from *Agaricus bisporus* and *Agaricus brasiliensis* show similarities in their structures and their immunomodulatory effects on human monocytic THP-1 cells[J]. BMC Complement Altern Med, 2011, 11: 58.
- [83] GUO Z, XING R, LIU S, et al. The influence of molecular weight of quaternized chitosan on antifungal activity[J]. Carbohydr Polym, 2008, 71(4): 694-697.
- [84] CHANG Y C, YANG Y C, TIEN C P, et al. Roles of aldolase family genes in human cancers and diseases[J]. Trends Endocrinol Metab, 2018, 29(8): 549-559.
- [85] HE D, YAN L P, MA X J, et al. Gamma-irradiation degraded sulfated polysaccharide from a new red algal strain *Pyropia yezoensis* Sookwawon 104 with *in vitro* antiproliferative activity [J]. Oncol Lett, 2020, 20(4): 91.
- [86] 王晶梅. 中药蛭螬多糖及硫酸酯化衍生物以 ALDOA 为靶点抗肝癌药效研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020.
- [87] MORALES D, RUTCKEVISKI R, VILLALVA M, et al. Isolation and comparison of alpha- and beta-D-glucans from shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) with different biological activities [J]. Carbohydr Polym, 2020, 229: 115521.

(收稿日期: 2022-12-22 编辑: 王笑辉)