

# 化学修饰的茯苓 $\beta$ -D-葡聚糖结构与抗胃腺癌活性的关系

李云桥, 侯晓华, 王艺峰, 张俐娜

李云桥, 侯晓华, 华中科技大学同济医学院附属协和医院 湖北省武汉市 430022

王艺峰, 张俐娜, 武汉大学化学系 湖北省武汉市 430072

李云桥, 博士, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的防治研究.

作者贡献分布: 此课题实验设计、实验操作及论文撰写由李云桥与王艺峰完成; 侯晓华与张俐娜参与实验指导和论文修改.

通讯作者: 侯晓华, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院消化科. houxh@whuh.com

电话: 027-85726057

收稿日期: 2012-02-15 修回日期: 2012-03-28

接受日期: 2012-04-25 在线出版日期: 2012-05-28

## Correlation between structure and anti-gastric adenocarcinoma activity of $\beta$ -D-glucan isolated from *Poria cocos* sclerotium

Yun-Qiao Li, Xiao-Hua Hou, Yi-Feng Wang, Li-Na Zhang

Yun-Qiao Li, Xiao-Hua Hou, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Yi-Feng Wang, Li-Na Zhang, Department of Chemistry, Wuhan University, Wuhan 430072, Hubei Province, China

Correspondence to: Xiao-Hua Hou, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. houxh@whuh.com

Received: 2012-02-15 Revised: 2012-03-28

Accepted: 2012-04-25 Published online: 2012-05-28

## Abstract

**AIM:** To study the correlation between structure and anti-gastric adenocarcinoma activities of polysaccharides isolated from the sclerotium of *Poria cocos* and their derivatives.

**METHODS:** A water insoluble (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucan PCS3-II isolated from fresh sclerotium of *Poria cocos* was sulfated, carboxymethylated, methylated, hydroxyethylated or hydroxypropylated to prepare five water-soluble derivatives, coded as S-PCS3-II, C-PCS3-II, M-PCS3-II, HE-PCS3-II and HP-PCS3-II. Their weight-average molecular mass ( $M_w$ ), intrinsic viscosity ( $[\eta]$ ) and  $\langle s^2 \rangle_z^{1/2}$  were characterized by size exclusion chromatography (SEC) combined with laser

light scattering (LLS), LLS, and viscometry. The antitumor activities of PCS3-II and its derivatives were tested *in vitro* by MTT assay using gastric adenocarcinoma cell lines MKN-45, SGC-7901 and MKN-28.

**RESULTS:** The  $M_w$  values of the derivatives S-PCS3-II, C-PCS3-II, M-PCS3-II, HE-PCS3-II and HP-PCS3-II in PBS were determined to be  $3.8 \times 10^4$ ,  $18.9 \times 10^4$ ,  $16.0 \times 10^4$ ,  $76.8 \times 10^4$ , and  $224.3 \times 10^4$ , respectively. The native  $\beta$ -glucan did not show any anti-gastric adenocarcinoma activity, while the sulfated and carboxymethylated derivatives exhibited significant anti-gastric adenocarcinoma activity in MKN-45, SGC-7901 and MKN-28 cell lines.

**CONCLUSION:** The polysaccharides from fresh sclerotium of *Poria cocos* showed no anti-gastric adenocarcinoma activity *in vitro*. The introduction of carboxymethylated and sulfated groups to water insoluble polysaccharide PCS3-II increased their water-solubility, chain stiffness and anti-gastric adenocarcinoma activity. The sulfated derivatives showed obvious inhibitory effects on gastric adenocarcinoma cells.

**Key Words:** *Poria cocos* polysaccharide; Chemical structure; Molecular mass; Anti-gastric adenocarcinoma activity; MTT assay

Li YQ, Hou XH, Wang YF, Zhang LN. Correlation between structure and anti-gastric adenocarcinoma activity of  $\beta$ -D-glucan isolated from *Poria cocos* sclerotium. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(15): 1277-1283

## 摘要

**目的:** 探讨茯苓多糖及其衍生物的结构与抗胃腺癌活性之间的构效关系.

**方法:** 对从茯苓菌核中提取的(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-葡聚糖PCS3-II及其硫酸酯、羧甲基、羟乙基、羟丙基和甲基化衍生物, 用粘度法、激光光散射(LLS)及尺寸排除色谱和光散射仪联用(SEC-LLS)表征了他们在磷酸缓冲液(PBS)中37℃下的 $[\eta]$ 、 $M_w$ 及 $\langle s^2 \rangle_z^{1/2}$ 等分子参数. 然后用MTT法研究了PCS3-II和几种衍生物

## ■背景资料

茯苓(*Poria cocos*)是具有抗肿瘤作用的传统中药, 但是从茯苓菌核中提取的主要成分是一种(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-葡聚糖PCS3-II, 他不溶于水且基本上无抗胃腺癌活性, 因此通过化学改性方法对其进行结构修饰而提高水溶性和活性的工作具有重要意义.

## ■同行评议者

李康, 副教授, 广东药学院药科学院药物分析教研室

## ■研究前沿

临床已经应用多糖辅助治疗肿瘤患者,但通过化学修饰提高茯苓多糖抗肿瘤活性研究报道不多。

对不同分化程度的胃腺癌细胞株MKN-45、SGC-7901和MKN-28生长的抑制作用。

**结果:** S-PCS3-II、C-PCS3-II、M-PCS3-II、HE-PCS3-II和HP-PCS3-II衍生物在PBS溶液中 $M_w$ 值分别为 $3.8 \times 10^4$ 、 $18.9 \times 10^4$ 、 $16.0 \times 10^4$ 、 $76.8 \times 10^4$ 和 $224.3 \times 10^4$ ,未改性 $\beta$ -葡聚糖PCS3-II几乎无抗胃腺癌活性,而他的硫酸酯和羧甲基衍生物对细胞株MKN-45、SGC-7901和MKN-28却显示较高的抑制率。

**结论:** 天然茯苓菌核多糖体外没有抗胃腺癌活性;水不溶性多糖PCS3-II链上引入羧甲基和硫酸酯基后,其衍生物溶于水,且链刚性增大,同时其抗胃腺癌活性增强;良好的水溶性、较高的链刚性和适当大的分子量有利于茯苓多糖抗胃腺癌活性的提高。

**关键词:** 茯苓多糖; 化学结构; 分子量; 抗胃腺癌活性; MTT法

李云桥, 侯晓华, 王艺峰, 张俐娜. 化学修饰的茯苓 $\beta$ -D-葡聚糖结构与抗胃腺癌活性的关系. 世界华人消化杂志 2012; 20(15): 1277-1283

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1277.asp>

## 0 引言

多糖类物质所具有的生物活性,使其在功能性保健食品和天然新药等领域表现出极为重要的商业价值,近年来日益引起了人们的广泛关注<sup>[1-3]</sup>.大量药理研究表明,一些天然多糖具有显著抗肿瘤<sup>[4-6]</sup>及增强机体免疫活性<sup>[7-9]</sup>,而有些天然多糖几乎不具有生物活性<sup>[10]</sup>,特别是水不溶性的多糖,他们的基本活性或活性很低.此外,一些经硫酸酯化、羧甲基化改性的 $\alpha$ -D-葡聚糖和 $\beta$ -D-葡聚糖除具有了良好水溶性,且抗Sarcoma 180实体瘤活性也显著提高<sup>[11-14]</sup>.因此,化学改性已成为提高天然多糖生物活性的有效手段<sup>[15]</sup>.研究表明,引入合适的离子基团能够显著改善水溶性,同时通过改变多糖在水溶液中的链构象提高其活性<sup>[16,17]</sup>.而不同的取代基团、取代位置和取代度对多糖衍生物的活性有重要影响<sup>[18,19]</sup>.茯苓(*Poria cocos*)一直是最重要的传统中药之一,他所具有的保健功能和生理活性已引起医学界和化学界的广泛兴趣<sup>[20,21]</sup>.但是,从茯苓菌核中提取主要成分是一种(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-葡聚糖PCS3-II,他不溶于水且基本上无抗胃腺癌活性,因此通过化学改性方法对其进行结构修饰而提高水溶性和活性的工作具有重要意义<sup>[22-24]</sup>.

为了改善PCS3-II水溶性和生物活性,我们分别试用硫酸酯化(Sulfation)、羧甲基化(Carboxymethylation)、羟乙基化(Hydroxyethylation)、羟丙基化(Hydroxypropylation)及甲基化(Methylation)5种衍生化方法对其进行化学改性来探讨其衍生物和抗胃腺癌活性之间的关系.探讨不同的取代基团、取代度、水溶性、分子量和链构象与抗胃腺癌活性的关系.此外,尽管有关于多糖抗消化系肿瘤(胃癌、肝癌、食管癌)患者的报道<sup>[25-28]</sup>,但对于茯苓多糖尚未进行过此类研究,因此本研究还对茯苓多糖抗胃腺癌细胞株活性进行了探讨。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 样品由武汉大学化学系张俐娜院士课题组提供,样品的制备方法见文献[29,30].本研究样品包括从新鲜茯苓菌核的0.5 mol/L NaOH提取物(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-葡聚糖PCS3-II以及以PCS3-II为原料制备的硫酸酯化S-PCS3-II、羧甲基化C-PCS3-II、羟乙基化HE-PCS3-II、羟丙基化HP-PCS3-II及甲基化M-PCS3-II 5种多糖衍生物.成分组用红外光谱谱图测定;分子量由激光光散射法、粘度法、尺寸排除色谱和光散射仪联用法测定.MTT购自Sigma公司,RPMI 1640培养基购自武汉亚法生物公司;小牛血清购自北京中山生物技术有限公司;低分化胃腺癌细胞株MKN-45、中分化胃腺癌细胞株SGC7901、高分化胃腺癌细胞株MKN-28由协和医院中心实验室提供。

### 1.2 方法

**1.2.1 粘度测量:** 多糖衍生物的特性粘数 $[\eta]$ 用乌氏粘度计于37 $\pm$ 0.1 $^{\circ}$ C测量.样品溶剂为磷酸缓冲液PBS或无水 $\text{Me}_2\text{SO}$ .用Huggins和Kraemer方程来计算特性粘数 $[\eta]$ .

$$\eta_{sp}/c = [\eta] + k'[\eta]^2c$$
$$(\ln \eta_r)/c = [\eta] - k''[\eta]^2c$$

**1.2.2 激光光散射(size exclusion chromatography, SEC):** 5种多糖衍生物在PBS溶液或无水 $\text{Me}_2\text{SO}$ 的光散射强度测试,采用配备有He-Ne激光源(激光波长 $\lambda = 633 \text{ nm}$ )的多角度激光光散射仪(DAWN<sup>®</sup>DSP, Wyatt Technology Co., USA),在37 $^{\circ}$ C下检测不同角度的散射光信号.所有的溶液和溶剂在测量前经光学纯化后直接注入散射池中进行测量.Astra软件用于数据采集和分析,重均分子量 $M_w$ 通过Zimm拟合法得到。

**1.2.3 尺寸排除色谱和光散射仪联用(size exclusion**

表 1 茯苓 $\beta$ -葡聚糖PCS3-II和5种衍生物的取代度以及在水和二甲基亚砜里的溶解度

样品	衍生化法	溶解度 <sup>1</sup>		取代度			
		水	二甲亚砜	C-6	C-4	C-2	取代度总和
PCS3-II	没有取代	-	+	没有取代	没有取代	没有取代	没有取代
S-PCS3-II	硫酸酯化	++	-	0.44	0.24	0.34	1.02
C-PCS3-II	羧甲基化	++	-	0.71	0.35	0.21	1.27
M-PCS3-II	甲基化	++	+	0.33	0.21	0.15	0.69
HE-PCS3-II	羟乙基化	+	+	0.25	0.24	*	0.49
HP-PCS3-II	羟丙基化	+	+	0.23	*	*	0.23

<sup>1</sup>裸眼目测; ++: 较好溶解; +: 可溶解; -: 不能溶解.

chromatography combined with laser light scattering, SEC-LLS): 尺寸排除色谱和光散射仪联用装置的光散射仪为上述DAWN<sup>®</sup>DSP多角度激光光散射仪, 尺寸排除色谱装置使用P100型泵和RI-150示差折光检测器. 色谱柱类型: 水体系为TSK-GEL PWXL G5000和G3000联用色谱柱, Me<sub>2</sub>SO体系为G4000-H6色谱柱. 测试温度为37℃, 流动相为PBS溶液或无水Me<sub>2</sub>SO, 在测量前经光学纯化处理, 进样量200  $\mu$ L, 流速1.0 cm<sup>3</sup>/min. Astra软件用于数据采集和分析.

1.2.4 细胞培养和抗肿瘤活性试验方法: (1)细胞复苏: 在液氮罐中取出冻存的不同分化程度的胃腺癌细胞株(MKN-45、SGC7901、MKN-28), 37℃水浴融化, 离心, 2 500 g $\times$ 5 min. 去上清, RPMI 1640培养液洗1次, 接种于25 mL的培养瓶中, 加8 mL含100 mL/L胎牛血清的RPMI 1640培养液, 37℃, 50 mL/L CO<sub>2</sub>培养, 次日换培养液1次; (2)细胞传代: 在显微镜下观察细胞生长情况, 如生长正常(细胞清亮、椭圆形、上清不浑浊)且基本长满瓶底时即可传代, 2-3 d传1次; (3)抗肿瘤活性试验: 体外抑瘤实验: 采用MTT法, 取对数生长期细胞, 用胰蛋白酶消化制成单细胞悬液, 调整细胞浓度为1 $\times$ 10<sup>5</sup> cells/mL, 以每孔200  $\mu$ L(5 $\times$ 10<sup>3</sup>)接种于96孔培养板上培养24 h. 之后弃去原培养液, 再分别每孔加入新鲜培养液和多糖试样使其浓度分别为0.005、0.05、0.5、5 g/L 4组处理胃腺癌细胞和正常的胃腺细胞; 实验同时设空白(溶媒)对照组和阳性对照组(5-Fu), 每组处理设5个复孔. 放在37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱培养72 h, 收集各组细胞, 每孔加入终浓度为5 g/L的MTT液20  $\mu$ L, 继续培养4 h; 终止培养, 吸去上清液, 加二甲基亚砜150  $\mu$ L/孔, 充分震荡10 min后, 用酶标仪(Bio-Tek EX-800, USA)在570 nm波长比色测定每孔吸光

度(A)值. 按以下公式计算细胞抑制率: 细胞抑制率(%) = (1-实验组A值/对照组A值) $\times$ 100%, 每组实验数据重复3次.

**统计学处理** 数据用mean $\pm$ SD表示, 采用SPSS19.0统计软件分析. 多组之间用方差(one-way ANOVA)分析, 两组之间用t检验. 若P<0.05, 则差异有显著性意义; 若P<0.01, 则差异有极显著性意义; 若P>0.05, 则差异无显著性意义.

## 2 结果

2.1 化学结构 样品S-PCS3-II、C-PCS3-II和M-PCS3-II的取代主要发生在C-6位羟基, 其次在C-4和C-2位; 而HE-PCS3-II的取代发生在C-6和C-4位, HP-PCS3-II几乎全部在C-6位, 他们都属于非选择性取代. 5种衍生多糖取代度大小和取代难易程度的顺序为C-PCS3-II>S-PCS3-II>M-PCS3-II>HE-PCS3-II>HP-PCS3-II. 由<sup>13</sup>C NMR得到他们的取代度在0.23-1.27之间. 5种衍生物在水或二甲亚砜中的溶解情况显示, 所有衍生物都具有比原多糖PCS3-II更好的水溶性, 其水溶性大小顺序依次为S-PCS3-II>C-PCS3-II>M-PCS3-II>HE-PCS3-II>HP-PCS3-II, 与取代度顺序相似(表1). PCS3-II不溶于水, 是因为他存在强的分子间氢键而导致分子在水溶液中形成聚集. 无水Me<sub>2</sub>SO被证明是该 $\beta$ -葡聚糖的良溶剂, 他能打断分子间和分子内氢键, 将聚集体解离为单股链. 因此本实验中, 对水溶液中易聚集样品的分子量和粘度测量可用无水Me<sub>2</sub>SO作溶剂.

2.2 分子量和粘度 S-PCS3-II、C-PCS3-II和M-PCS3-II 3样品在PBS溶液中37℃下的SEC-LLS谱图示于图1, 这3种衍生物的示差和光散射检测都只显示出单峰, 表明他们在水溶液中无聚集体形成<sup>[31]</sup>. 图2及图3显示出了样品HE-PCS3-II和HP-PCS3-II分别在PBS溶液及无水Me<sub>2</sub>SO中37℃下的SEC-LLS谱图, 这2种衍生

## ■创新盘点

本文用硫酸酯化、羧甲基化、羟乙基化、羟丙基化及甲基化5种衍生化方法对茯苓多糖进行化学改性来探讨其衍生物和抗不同分化程度的胃腺癌细胞株活性之间的关系.

### ■应用要点

天然茯苓菌核多糖体外没有抗胃腺癌活性, 水不溶性。茯苓多糖链上引入羧甲基和硫酸酯基后, 其衍生物溶于水, 且链刚性增大, 同时其抗胃腺癌活性增强。

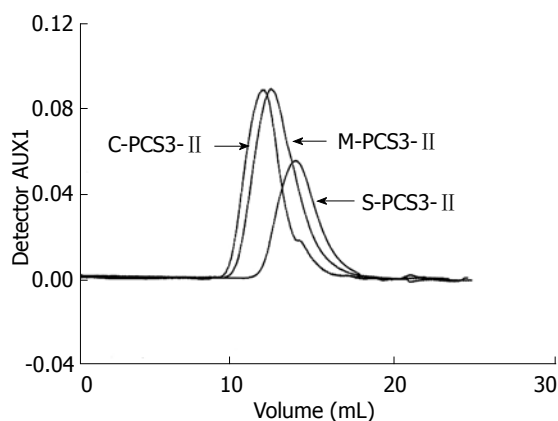


图1 S-PCS3-II、C-PCS3-II和M-PCS3-II在PBS溶液中37 °C下的SEC-LLS谱图。

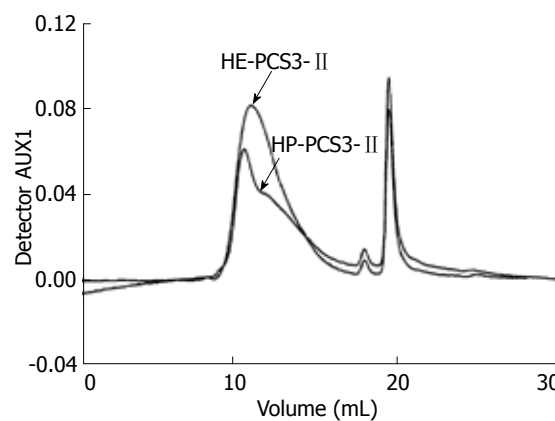


图2 HE-PCS3-II、HP-PCS3-II在PBS溶液中37 °C下的SEC-LLS谱图。

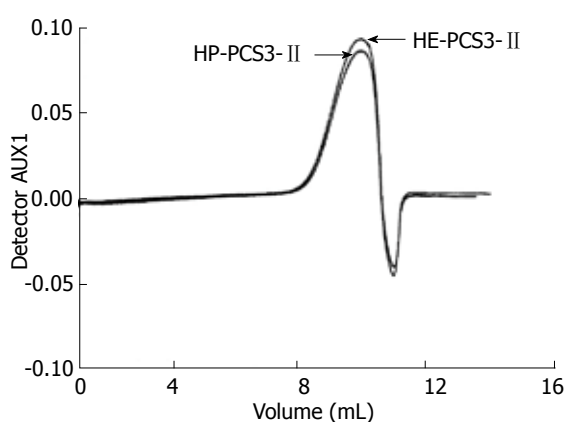


图3 HE-PCS3-II、HP-PCS3-II在无水 $\text{Me}_2\text{SO}$ 溶液中37 °C下的SEC-LLS谱图。

物样品在PBS溶液则显示出2个以上的峰, 而在 $\text{Me}_2\text{SO}$ 中只显示单峰, 说明他们在水溶液中存在聚集, 而在 $\text{Me}_2\text{SO}$ 解离为单股链。通过粘度法、LLS和SEC-LLS测得的各样品在PBS溶液或 $\text{Me}_2\text{SO}$ 中的特性粘数 $[\eta]$ 、 $M_w$ 、 $\langle s^2 \rangle^{1/2}$ 和多分散系数( $M_w/M_n$ )见表2。结果发现S-PCS3-II、C-PCS3-II和M-PCS3-II 3样品由LLS测得的 $M_w$ 值与SEC-LLS测得的结果基本一致, 与PCS3-II的 $M_w$ 值( $12.3 \times 10^4$ )相比, 硫酸酯衍生物S-PCS3-II的 $M_w$ 较低, 这是因为剧烈的反应条件导致了原多糖的降解。然而, C-PCS3-II和M-PCS3-II 2样品的 $M_w$ 值却比PCS3-II的更高, 这是因为在PCS3-II糖环羟基上引入了羧甲基和甲基基团, 且他们的降解较弱。有趣的是, HE-PCS3-II和HP-PCS3-II 2样品在PBS溶液中的 $M_w$ 值比其他样品高很多, 这是由于他们的取代度较低(0.2-0.5), 大量的-OH基团仍保留在衍生物糖环上, 导致在水溶液中分子间的聚集效应, 多糖在水溶液中的聚集行为也常给他们的分子量测量带来了不确定性, 因而2样品在无水 $\text{Me}_2\text{SO}$ 中测

得的 $M_w$ 值被认为是他们的真实分子量。

2.3 链构象 聚合物的 $[\eta]$ 和 $\langle s^2 \rangle^{1/2}$ 值通常反映出聚合物链刚性的情况, 相对高的 $[\eta]$ 和 $\langle s^2 \rangle^{1/2}$ 值反映出聚合物具有相对伸展的链构象。从表2中的数据可以看出, 样品C-PCS3-II在PBS溶液中具有比HE-PCS3-II和HP-PCS3-II更伸展的链构象。S-PCS3-II的 $M_w$ 值在5种衍生物样品中是最低的, 但是他的 $\langle s^2 \rangle^{1/2}$ 值却几乎与M-PCS3-II和C-PCS3-II 2样品的相等, 这说明S-PCS3-II在水溶液中表现为比其他样品更为伸展的链构象, 即具有更高的链刚性。

2.4 抗肿瘤活性 5-氟尿嘧啶(5-Fu)、PCS3-II和5种衍生物样品抗胃腺癌肿瘤细胞株MKN-45、SGC-7901、MKN-28的活性结果见图4-6。PCS3-II和5种衍生物样品对正常胃腺细胞无抑制作用。多糖PCS3-II几乎未观察到抗肿瘤活性, 说明他对胃腺癌细胞株增殖无抑制作用。然而5种样品均显示出比PCS3-II更高的抑制率, 而S-PCS3-II和C-PCS3-II 2样品在所有实验浓度都具有显著增强的抑制率, 特别是S-PCS3-II在5 g/L浓度时显示出所有样品中最高的抑制率(对MKN-45的抑制率为48.9%, 对SGC-7901抑制率为36.7%, MKN-28的抑制率为43.7%)。此外, S-PCS3-II和C-PCS3-II在所有实验浓度范围内都观察到抑制率的剂量依赖关系, 这说明他们对人体胃癌细胞株具有十分稳定的药效。

### 3 讨论

从以上体外抗胃腺癌实验结果可发现, 化学改性能显著提高茯苓菌核水不溶性 $\beta$ -D-葡聚糖的抗胃腺癌活性, 并且对正常胃腺细胞没有抑制作用。总的来说, 硫酸酯和羧甲基衍生化改性具有比其他几种衍生化更高的抗胃腺癌活性。5种



表 2 PCS3-Ⅱ和5种衍生物在PBS溶液及Me<sub>2</sub>SO中37℃下的LLS和SEC-LLS检测的实验数据表

样品	溶媒	$[\eta]$ (cm <sup>3</sup> /g)	$\langle s^2 \rangle^{1/2}$ (nm)	LLS	SEC-LLS	
				$M_w \times 10^{-4}$ (g/mol)	$M_w \times 10^{-4}$ (g/mol)	$M_w/M_n$
PCS3-Ⅱ	Me <sub>2</sub> SO	76.3	56.4 <sup>1</sup>	12.3	14.0	1.7
S-PCS3-Ⅱ	PBS	20.2	44.2 <sup>2</sup>	3.8	3.5	1.6
C-PCS3-Ⅱ	PBS	167.1	45.0 <sup>1</sup>	18.9	25.1	1.7
M-PCS3-Ⅱ	PBS	132.2	42.4 <sup>1</sup>	16.0	21.1	2.0
HE-PCS3-Ⅱ	PBS	122.5	39.9 <sup>2</sup>	76.8	62.8	18.0
HP-PCS3-Ⅱ	Me <sub>2</sub> SO	146.2	23.9 <sup>2</sup>	—	20.1	1.7
	PBS	156.5	48.3 <sup>2</sup>	224.3	297.0	2.3
	Me <sub>2</sub> SO	162.3	29.9 <sup>2</sup>	—	19.1	1.6

—: 数据没有测; <sup>1</sup>由LLS检测的实验数据; <sup>2</sup>由SEC-LLS检测的实验数据。

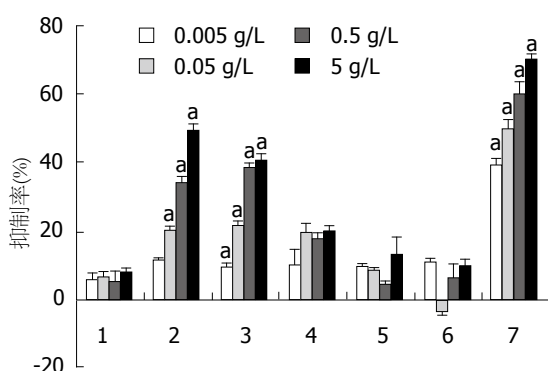


图 4 PCS3-Ⅱ和5种衍生物在体外不同浓度下对胃癌细胞株MKN-45的抑制率。1: PCS3-Ⅱ; 2: S-PCS3-Ⅱ; 3: C-PCS3-Ⅱ; 4: M-PCS3-Ⅱ; 5: HE-PCS3-Ⅱ; 6: HP-PCS3-Ⅱ; 7: 5-Fu; <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs PCS3-Ⅱ。

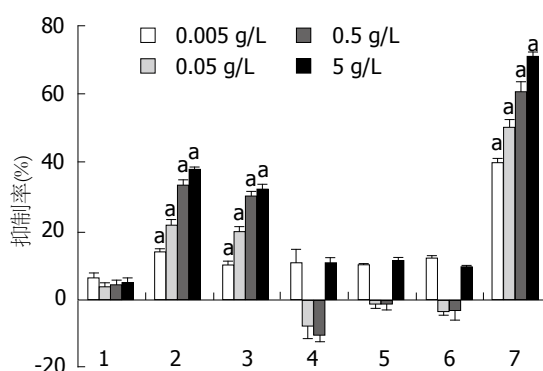


图 5 PCS3-Ⅱ和5种衍生物在体外不同浓度下对胃癌细胞株SGC-7901的抑制率。1: PCS3-Ⅱ; 2: S-PCS3-Ⅱ; 3: C-PCS3-Ⅱ; 4: M-PCS3-Ⅱ; 5: HE-PCS3-Ⅱ; 6: HP-PCS3-Ⅱ; 7: 5-Fu; <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs PCS3-Ⅱ。

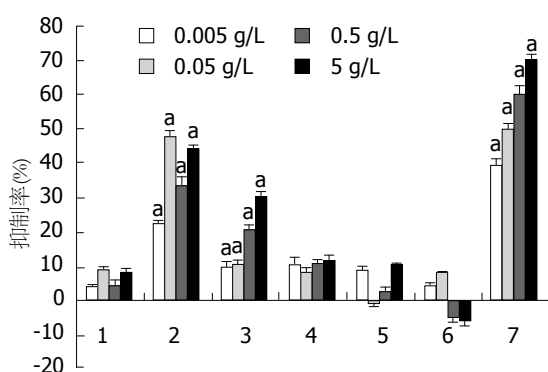


图 6 PCS3-Ⅱ和5种衍生物在体外不同浓度下对胃癌细胞株MKN-28的抑制率。1: PCS3-Ⅱ; 2: S-PCS3-Ⅱ; 3: C-PCS3-Ⅱ; 4: M-PCS3-Ⅱ; 5: HE-PCS3-Ⅱ; 6: HP-PCS3-Ⅱ; 7: 5-Fu; <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs PCS3-Ⅱ。

衍生物样品的抗胃腺癌活性高低顺序与其水溶性大小顺序基本一致; 而原始 $\beta$ -D-葡聚糖不溶于水, 他也几乎不具抗胃腺癌活性; 因此, 提高多糖样品水溶性是提高其抗胃腺癌活性的关键因素。此外, 具有相对较高取代度的衍生物, 因为其水溶性较好, 因而抗胃腺癌活性也更高。

值得一提的是, S-PCS3-Ⅱ和C-PCS3-Ⅱ2样品在水溶液中的链刚性相对较高, 而他们的体外抗胃腺癌抑制率也比M-PCS3-Ⅱ、HE-PCS3-Ⅱ和HP-PCS3-Ⅱ更高; 虽然S-PCS3-Ⅱ和C-PCS3-Ⅱ的水溶性相差不大, 但S-PCS3-Ⅱ的抗胃腺癌抑制率总体上又比C-PCS3-Ⅱ高, 这与S-PCS3-Ⅱ样品在水溶液中具有比C-PCS3-Ⅱ更大的链刚性有关。Unursaikhan等<sup>[14]</sup>报道硫酸酯化香菇(lentinus edodes)多糖在水溶液中的链刚性对其抗艾氏腹水瘤(ehrlich ascites carcinoma)抑制率的影响具有不可忽视的作用。因此, S-PCS3-Ⅱ样品所具有的相对高的链刚性有助于提高他的抗胃腺癌活性。此外, HE-PCS3-Ⅱ和HP-PCS3-Ⅱ2样品在水溶液中的 $M_w$ 值比其他样品高, 而他们的抗胃腺癌活性却较低, 这也显示了分子量对这些样品抗胃腺癌活性的影响, 在水溶液中具有适中的分子量( $\leq 3 \times 10^5$ )的衍生物能够明显提高原始多糖抗胃腺癌活性。

总之, 根据实验结果我们可以知道茯苓菌

#### ■名词解释

化学修饰: 保持药物的基本结构, 仅在某些功能基上作一定的化学结构改变, 接上一些自己需要的功能基团。

# 同行评价

本文探讨了茯苓多糖及其衍生物的结构与抗胃腺癌活性之间的构效关系,具有一定的开发意义。

核中提取的(1→3)- $\beta$ -D-葡聚糖样品PCS3-II的硫酸酯、羧甲基、羟乙基、羟丙基及甲基化衍生物在PBS溶液中的 $M_w$ 值分别为 $3.8 \times 10^4$ 、 $18.9 \times 10^4$ 、 $16.0 \times 10^4$ 、 $76.8 \times 10^4$ 和 $224.3 \times 10^4$ 。几种衍生化样品证明引入取代基团后样品的结构发生了变化,有序程度有所提高。未经过化学改性的 $\beta$ -葡聚糖几乎无任何体外抗胃腺癌活性,然而他的衍生物却具有较好的水溶性,在水溶液中具有相对伸展的柔顺链构象和明显的抗胃腺癌活性。此外,他的硫酸酯和羧甲基衍生物十分显著地改善了原多糖对人体胃癌细胞株的体外抗胃腺癌活性。从分子参数和抗胃腺癌活性的实验数据可以发现,具有良好水溶性,在水溶液中具有相对较高链刚性和适中分子量( $\leq 3 \times 10^5$ )的衍生物能够明显地提高原始多糖的抗胃腺癌活性。而且其活性的高低与引入的不同取代离子基团、取代度、取代位、水溶性、分子量和链的构象有关。

## 参考文献

- Li XT, Zhang YK, Kuang HX, Jin FX, Liu DW, Gao MB, Liu Z, Xin XJ. Mitochondrial Protection and Anti-aging Activity of Astragalus Polysaccharides and Their Potential Mechanism. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 1747-1761
- Joseph MM, Aravind SR, Varghese S, Mini S, Sreelekha TT. Evaluation of antioxidant, antitumor and immunomodulatory properties of polysaccharide isolated from fruit rind of Punica granatum. *Mol Med Report* 2012; 5: 489-496
- Melo-Silveira RF, Fidelis GP, Costa MS, Telles CB, Dantas-Santos N, de Oliveira Elias S, Ribeiro VB, Barth AL, Macedo AJ, Leite EL, Rocha HA. In vitro antioxidant, anticoagulant and antimicrobial activity and in inhibition of cancer cell proliferation by xylan extracted from corn cobs. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 409-426
- Tang YL, Luo Q, Ding W, Ding X, Yang ZR. [Antitumor activity of polysaccharides extracted from two wild amanitas]. *Sichuan Daxue Xuebao Yixueban* 2011; 42: 792-796
- Liu Y, Li Y, Yang W, Zhang L, Cao G. Anti-hepatoma activity in mice of a polysaccharide from the rhizome of Anemone raddeana. *Int J Biol Macromol* 2012; 50: 632-636
- Jeong SC, Koyyalamudi SR, Jeong YT, Song CH, Pang G. Macrophage immunomodulating and antitumor activities of polysaccharides isolated from Agaricus bisporus white button mushrooms. *J Med Food* 2012; 15: 58-65
- Skyberg JA, Rollins MF, Holderness JS, Marlenee NL, Schepetkin IA, Goodyear A, Dow SW, Jutila MA, Pascual DW. Nasal Acai polysaccharides potentiate innate immunity to protect against pulmonary Francisella tularensis and Burkholderia pseudomallei Infections. *PLoS Pathog* 2012; 8: e1002587
- Fontaine T, Delangle A, Simenel C, Coddeville B, van Vliet SJ, van Kooyk Y, Bozza S, Moretti S, Schwarz F, Trichot C, Aebi M, Delepierre M, Elbim C, Romani L, Latgé JP. Galactosaminogalactan, a new immunosuppressive polysaccharide of Aspergillus fumigatus. *PLoS Pathog* 2011; 7: e1002372
- Xu X, Pan C, Zhang L, Ashida H. Immunomodulatory beta-glucan from Lentinus edodes activates mitogen-activated protein kinases and nuclear factor-kappaB in murine RAW 264.7 macrophages. *J Biol Chem* 2011; 286: 31194-31198
- Kulkarni RV, Mutalik S, Mangond BS, Nayak UY. Novel interpenetrated polymer network microbeads of natural polysaccharides for modified release of water soluble drug: in-vitro and in-vivo evaluation. *J Pharm Pharmacol* 2012; 64: 530-540
- Chen X, Zhang L, Cheung PC. Immunopotential and anti-tumor activity of carboxymethylated-sulfated beta-(1→3)-d-glucan from Poria cocos. *Int Immunopharmacol* 2010; 10: 398-405
- Wang J, Zhang L, Yu Y, Cheung PC. Enhancement of antitumor activities in sulfated and carboxymethylated polysaccharides of Ganoderma lucidum. *J Agric Food Chem* 2009; 57: 10565-10572
- Wang X, Zhang L. Physicochemical properties and antitumor activities for sulfated derivatives of lentinan. *Carbohydr Res* 2009; 344: 2209-2216
- Unursaikhan S, Xu X, Zeng F, Zhang L. Antitumor activities of O-sulfonated derivatives of (1→3)-alpha-D-glucan from different Lentinus edodes. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006; 70: 38-46
- Tao Y, Zhang Y, Zhang L. Chemical modification and antitumor activities of two polysaccharide-protein complexes from Pleurotus tuber-regium. *Int J Biol Macromol* 2009; 45: 109-115
- Kawashima T, Murakami K, Nishimura I, Nakano T, Obata A. A sulfated polysaccharide, fucoidan, enhances the immunomodulatory effects of lactic acid bacteria. *Int J Mol Med* 2012; 29: 447-453
- Vishchuk OS, Ermakova SP, Zvyagintseva TN. Sulfated polysaccharides from brown seaweeds Saccharina japonica and Undaria pinnatifida: isolation, structural characteristics, and antitumor activity. *Carbohydr Res* 2011; 346: 2769-2776
- You R, Wang K, Liu J, Liu M, Luo L, Zhang Y. A comparison study between different molecular weight polysaccharides derived from Lentinus edodes and their antioxidant activities in vivo. *Pharm Biol* 2011; 49: 1298-1305
- Gao Y, Li C, Yin J, Shen J, Wang H, Wu Y, Jin H. Fucoidan, a sulfated polysaccharide from brown algae, improves cognitive impairment induced by infusion of A $\beta$  peptide in rats. *Environ Toxicol Pharmacol* 2012; 33: 304-311
- Jang TR, Kao MF, Chen CH, Hsieh KC, Lai WY, Chen YY. Alleviating effects of dehydration under no hyperthermia on the immunomodulatory response to the polysaccharide fraction from fu-ling (Poria cocos) in male collegiate wrestlers. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124: 530-536
- Ríos JL. Chemical constituents and pharmacological properties of Poria cocos. *Planta Med* 2011; 77: 681-691
- Wang Y, Xu W, Chen Y. Surface modification on polyurethanes by using bioactive carboxymethylated fungal glucan from Poria cocos. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2010; 81: 629-633
- Huang Q, Zhang L. Solution properties of (1→3)-alpha-D-glucan and its sulfated derivative from Poria cocos mycelia via fermentation tank. *Biopolymers* 2005; 79: 28-38

- 24 Wang Y, Yu Y, Mao J. Carboxymethylated beta-glucan derived from *Poria cocos* with biological activities. *J Agric Food Chem* 2009; 57: 10913-10915
- 25 伍海鹰, 陈一明, 林龙, 林友刚, 邱庆安, 刘宁. 体外香菇多糖对顺铂抑制胃癌细胞增殖的促进作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 344-348
- 26 Ina K, Furuta R, Kataoka T, Kayukawa S, Yoshida T, Miwa T, Yamamura Y, Takeuchi Y. Lentinan prolonged survival in patients with gastric cancer receiving S-1-based chemotherapy. *World J Clin Oncol* 2011; 2: 339-343
- 27 刘芳, 刘靛雯, 蔡云, 王丽娟, 耿越. 马尾松花粉多糖硫酸酯对肝癌HepG2细胞的诱导分化. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2990-2995
- 28 Wang JL, Bi Z, Zou JW, Gu XM. Combination therapy with lentinan improves outcomes in patients with esophageal carcinoma. *Mol Med Report* 2012; 5: 745-748
- 29 张俐娜, 王艺峰, 侯晓华, 李云桥. 抗肿瘤活性茯苓菌核葡聚糖硫酸酯及其制备方法和用途. 中国专利 200410013243. 2005-02-23
- 30 Wang Y, Zhang M, Ruan D, Shashkov AS, Kilcoyne M, Savage AV, Zhang L. Chemical components and molecular mass of six polysaccharides isolated from the sclerotium of *Poria cocos*. *Carbohydr Res* 2004; 339: 327-334
- 31 Huang Z, Ren H, Duan X, Zhang L. Chain conformation and bioactivity of water-soluble polysaccharide extracted from *Rhizoma Panacis Japonici*. *Biopolymers* 2010; 93: 383-390

编辑 张姗姗 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

**本刊讯** 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号.如马连生<sup>[1]</sup>报告……,潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……;PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>.文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8].所参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和*World Journal of Gastroenterology*(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊:序号,作者(列出全体作者).文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页.