

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2025.01.016

不同修饰方法对多糖结构及其免疫调节活性的影响

魏博文 综述 黄路芬 审校

(济宁医学院药学院,日照 276826)

摘要 多糖是一类广泛存在于自然界的天然大分子物质,具有免疫调节、抗氧化、抗肿瘤、抗病毒及抗凝血等多种生物活性。多糖的生物活性与其结构关系密切,通过不同修饰方法改变多糖结构,是研究多糖活性提高与改变的重要手段,选择合适修饰方法是其活性研究的关键。本文主要概述了化学、生物及物理修饰方法对多糖表征及免疫调节活性的影响,包括多糖的硫酸化修饰、磷酸化修饰、基因工程技术修饰等,并对多糖结构修饰中存在的问题及应用前景进行了展望,以期为多糖修饰的深入研究及相关产品开发提供依据及参考。

关键词 结构修饰;多糖;免疫调节;活性

中图分类号:O629.12 **文献标识码**:B **文章编号**:1000-9760(2025)02-080-04

Research progress of different modification methods on polysaccharide characterization and its immunomodulatory activity

WEI Bowen, HUANG Lufen

(School of Pharmacy, Jining Medical University, Rizhao 276826, China)

Abstract: Polysaccharide is a kind of natural macromolecular substance with many biological activities, such as immune regulation, anti-oxidation, anti-tumor, anti-virus and anti-coagulation. The biological activities of polysaccharides are closely related to their structure. It is an important direction to modify the structure of polysaccharide by kinds of methods in order to study the improvement and change of polysaccharide activity. Thus, select appropriate modification method is the key process. This article mainly reviewed the chemical, biological, and physical modification methods of polysaccharides and the effects of modification methods on the characterization and the immunomodulatory activity of polysaccharides, including sulfated modification, phosphorylated modification, genetic engineering modification and so on. The problem and application prospect of polysaccharide structure modification was prospected, so as to provide a basis and reference for the future research of polysaccharide modification and the related product development.

Keywords: Structure modification; Polysaccharide; Immunomodulation; Activity

多糖是一类普遍存在于动植物和微生物的复杂大分子化合物,广泛参与细胞多种生命活动而产生不同生物学功能,如免疫调节、抗氧化等^[1],其中免疫调节活性研究是近年来研究的热点,多糖免疫调节活性多受其分子结构或理化性质制约。因此,采取合适方法,对多糖结构进行适当修饰是增强其免疫调节活性的有效途径,对多糖生物活性深入研究及多糖产品的开发利用具有重要实践指导意义。目前,主要运用化学、物理和生物修饰方法对多糖进行修饰。

本文主要综述了多糖修饰方法的原理、修饰后多糖结构改变及其对免疫调节活性的影响,对近年来国内外多糖化学修饰的研究成果进行总结,为多糖结构修饰深入研究与多糖类新型药物开发与利用提供有价值的参考。

1 化学修饰方法

1.1 硫酸化修饰

硫酸化修饰是多糖结构修饰的一个重要方向,常用方法有氯磺酸-吡啶法、浓硫酸法和三氧化硫-吡啶法。硫酸化修饰的基本原理是在一定条件下将多糖溶液与硫酸试剂反应,使硫酸基团与多糖羟基结合形成硫酯键。吡喃型多糖的硫酸化修饰,常用氯磺酸-吡啶法,该方法是强酸反应体系反应过程较为剧烈,多伴随多糖降解与反应过程的操控

[基金项目] 中医药公共卫生服务补助专项全国中药资源普查项目(财社[2019]); 济宁医学院大学生创新训练计划项目(CX2022095Z)

[通信作者] 黄路芬, E-mail: huanglufen0029@126.com

困难,但此法产物回收率较高,回收方便;浓硫酸法是使用浓硫酸作为磺化试剂,相对氯磺酸-吡啶法具有反应体系稳定、副反应少、试剂毒性小的优势,是多糖修饰一种较为经济高效的方法;三氧化硫-吡啶法,操作比较简单方便,反应过程比较温和,但是试剂价格过于昂贵^[2]。

1.2 乙酰化修饰

乙酰化修饰主要对多糖支链引入乙酰基,使多糖链的伸展发生变化,暴露出更多糖内固定的羟基或羧基,改善其水溶性,提高其生物活性。乙酰化修饰常用方法是乙酸酐-吡啶法,首先将多糖溶解于有机溶剂中(甲酰胺、甲醇、DMAc/LiCl 等),其次加入乙酰化试剂(乙酸和乙酸酐)以完成酰化反应,为了提高反应效率,加入 N-溴代琥珀酰亚胺(NBS)、4-二甲氨基吡啶(DMAP)、吡啶等催化剂加速反应,提高乙酰化取代度^[3]。

1.3 羧甲基化修饰

多数大分子多糖水溶性较差,影响其生物活性,羧甲基化修饰是解决该问题的方法之一。羧甲基化修饰方法的基本原理是多糖与氯乙酸在碱性条件下反应,将羧甲基引入原多糖残基上的某些羟基上,常用方法有水媒法和溶媒法两种^[3]。水媒法是将多糖溶于氢氧化钠等碱性溶液后,加入适量氯乙酸,醚化反应得到羧甲基化多糖产物。溶媒法是多糖溶解于乙醇等有机溶剂中,在碱性条件下,加入氯乙酸,醚化反应得到羧甲基化修饰产物^[4]。溶媒法相比水媒法,具有反应过程稳定、反应体系均一性好、副作用少、反应快、醚化试剂利用率高的显著优势。

1.4 碘化修饰

硒是人体必需微量元素,摄入不足可导致多种疾病,如克山病、免疫力低下等。硒元素多以化合物的形式被人体吸收,其中有机硒化合物因活性较高,更容易被人体利用。碘多糖是近几年研究较多的有机碘补充剂,具备碘和多糖的双重生理作用,在医药和食品等领域有广泛的应用前景。碘化修饰的原理是基于多糖含有的羟基、醛、酮等基团,在一定条件下,将碘化试剂(单体碘、亚碘酸或亚碘酸盐)与多糖反应从而合成碘多糖。该方法具有较高碘化效率,修饰后多糖碘含量远高于天然碘多糖和生物转化得到的碘多糖^[5]。此方法反应条件简单,效率高,对大部分天然多糖均适用。

1.5 磷酸化修饰

多糖结构修饰的另一个重要方向是磷酸化修饰,多糖与相应磷酸试剂反应,使磷酸基团附着在羟基上。基于磷酸试剂的不同,主要有 3 种方法,一是使用磷酸,将多糖溶于二甲亚砷或氯化锂中,加入磷酸与尿素,在油浴下进行反应获得多糖磷酸酯,是磷酸化修饰最早的方法,但磷酸使用量过大容易造成多糖水解;二是使用磷酸盐试剂(磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、三聚磷酸钠等),该方法反应活性及磷酸化修饰的取代度比较低;三是使用磷酰氯,与磷酸盐相比,反应活性与取代度都较高,但其反应产物不纯,实验分析难度

较大^[6]。

2 生物方法修饰

2.1 酶修饰

酶法修饰,就是运用专一性或非专一性酶对多糖进行生物降解,获取低分子量多糖或寡糖,糖的有效功能基团与自身结构不被破坏。此方法,反应条件温和、易控制,不需要加入大量的化学试剂且降解速度快,是一种较为理想的多糖降解方法^[7]。目前酶法修饰技术在多糖结构修饰中的应用,仅限于对某些多糖降解的酶类,积极开发其它如转移酶、合成酶等类型的酶,丰富酶法修饰技术在多糖结构修饰中的应用具有重要意义。

2.2 基因工程技术

随着基因工程技术的发展,通过调控微生物基因表达或引入外源基因,控制微生物体内多糖合成途径,从而产生所需多糖,成为基因工程在多糖结构修饰中的应用方向。Chen 等^[8]研究表明,在铁皮石斛幼苗中过量表达 DoUGP 基因后,其水溶性多糖含量增加了 11.1%,并且其抗逆性也得到了增强,表明基因工程技术在多糖产率与活性方面有广阔的应用前景。

3 物理方法修饰

3.1 超声波降解修饰

超声波降解修饰方法,主要是通过增加超声波的质点震动能量,切断多糖大分子中的化学键以降低分子量增加水溶性,提高多糖生物活性。反应过程容易控制,容易获取目标分子量,且无杂质引入。运用超声波降解修饰黑加仑果实多糖,可发现超声处理多糖的初级结构依然存在,但其抗氧化能力与超声处理时间呈正相关^[9]。

3.2 电离辐射修饰

电离辐射修饰主要是利用 γ 射线、X 射线及电子束等电离辐射诱导多糖发生物质聚合、交联、接枝或降解等物理化学变化,改变多糖分子结构以提高其生物活性。运用 γ 射线修饰黄芪多糖后,黄芪多糖的分子量显著降低,表观黏度降低,溶解度增加,细胞实验结果表明修饰后多糖活性增强^[10]。

4 不同修饰方法对多糖结构与免疫调节活性的影响

4.1 硫酸化修饰对多糖结构及免疫调节活性的影响

硫酸化修饰多糖的电镜结构呈现片状破碎、表面粗糙不平或出现较多蜂窝煤状小孔、褶皱明显甚至卷曲成棒状伴随明显凹痕^[2,11]。硫酸化修饰多糖的免疫调节活性增强。Yao 等^[12]以松果菊多糖为研究对象,发现硫酸化修饰后多糖能显著增加骨髓树突状细胞的增殖。

4.2 乙酰化修饰对多糖结构及免疫调节活性的影

响

乙酰化修饰蛹虫草多糖后,多糖原本光滑的片状及不规则碎片上散布密集堆积的粒状团聚体^[13]。对来源于青钱柳叶子的多糖进行乙酰化修饰后,可发现多糖在电镜下呈现不规则圆形,表面趋向光滑,这种形态上的变化可能与乙酰化过程中强酸和高温有关^[14]。

4.3 羧甲基化修饰对多糖结构及免疫调节活性的影响

羧甲基化修饰多糖常表现出较强的免疫调节、抗氧化及抗肿瘤活性。对莲藕多糖运用水媒法进行羧甲基修饰后,多糖呈蓬松状,颗粒体积变小且分布更加均匀^[15]。运用溶媒法对玉米麸皮多糖羧甲基修饰后,多糖薄层结构变得粗糙,表面出现气孔与褶皱,可能与新网络结构的形成相关^[16]。羧甲基化五味子多糖对多氯联苯 126 (PCB126) 暴露小鼠表现出更高的免疫调节活性,能够显著改善 PCB126 诱导的免疫器官萎缩^[17]。羧甲基化修饰为多糖作为免疫调节剂使用,带来了更好的发展前景。

4.4 硒化修饰对多糖结构及免疫调节活性的影响

对紫花苜蓿根中提取的多糖进行硒化修饰,修饰后多糖具有更加松散的碎片状外貌,但表面光滑有褶皱^[18]。运用亚硒酸钠/稀硝酸法对冬虫夏草多糖进行修饰,电镜下可观察到修饰多糖块状结构更加松散,呈现较大的叶片状且表面光滑^[19]。近年来,越来越多的研究发现硒化修饰能有效增强多糖的生物活性,运用 HNO₃-Na₂SeO₃ 方法对月桂果果肉多糖进行修饰,修饰后多糖能显著增免疫细胞巨噬细胞活性^[20]。硒化修饰多糖在医疗保健或医药开发方向,具有较大潜力。

4.5 磷酸化修饰对多糖结构及免疫调节活性的影响

运用三聚磷酸钠和三偏磷酸钠对青钱柳多糖进行磷酸化修饰后,多糖呈现凹凸不平的形态,表面形貌不粗糙,但有较多孔洞结构^[21]。对三七花多糖进行磷酸化修饰后,多糖表面形貌出现较多裂隙与裂纹^[22]。磷酸化修饰多糖上带负电荷的磷酸基团与免疫细胞表面受体有更高的亲和力,能有效激活免疫应答。磷酸化修饰川芎多糖具有增强腹腔巨噬细胞吞噬能力及提高免疫小鼠细胞和体液免疫的作用^[23]。目前,关于磷酸化多糖调控免疫活性的研究报道相对较少,磷酸基团与多糖残基作用免疫系统的机制仍需进一步研究。

4.6 生物修饰对多糖结构及免疫调节活性的影响

在对猴头菇多糖进行酶降解后,多糖表征发生了显著变化,出现不同的形状和颗粒大小,大量球形粒子堆积成网状结构,表面光滑^[24]。采用蜗牛酶对麦麸中提取的可溶性与不溶性膳食纤维进行改性后,其结构更加松散、多孔洞、形成网状结构^[25]。猴头菌多糖进行酶降解后,能够促进巨噬细胞与树突状细胞的吞噬能力,表现出较好的免疫调节

活性^[26]。

4.7 物理修饰对多糖结构及免疫调节活性的影响

运用 H₂O₂-Vc-超声体系与 H₂O₂-Fe²⁺ 超声体系,对圆柱藻多糖修饰后,多糖的分子量和形态特征均可发生变化, H₂O₂-Vc-超声体系中多糖表面光滑平坦、有裂纹,而 H₂O₂-Fe²⁺ 超声体系中多糖表面粗糙、呈现薄片和棒状碎片状,修饰过程中多糖之间较强静电作用与多糖间糖苷键分解可能是导致其形态变化的原因^[27]。使用 10、100 与 1000kGy 剂量的 γ 射线对羊肚菌多糖进行处理,扫描电镜观察结果显示多糖表面出现了微皱、破碎和孔洞,体外实验结果表明其抗氧化活性显著提高,提示辐射修饰是提高多糖活性的有效方法^[28]。目前,物理修饰对多糖结构及免疫调节活性的研究相对较少,有待进一步深入研究。

5 小结与展望

多糖在自然界蕴藏丰富,种类繁多,是一种重要的生物活性大分子物质。多糖不仅具有抗氧化、免疫调节、抗肿瘤等多种药理活性,还具备安全性好、易制备、对人体副作用小等优点,成为当代新药研发的热点。多糖活性直接或间接受其分子结构的影响,采取一定方法对多糖分子结构进行适当修饰可以改变其活性或增加新的功能,是当前对多糖活性研究的热点方向之一。多糖修饰方法主要有化学方法、生物方法和物理方法修饰。多糖经过不同方法修饰后,电镜下多糖表征发生相应改变,免疫调节活性增强,有利于多糖类免疫调节药物的开发与应用。采取适当的方法对多糖进行结构修饰,不断提升和完善,使多糖发挥更广泛的用途是未来的研究重点。

利益冲突:所有作者均申明不存在利益冲突。

参考文献:

- [1] 宋志刚,张向阳. 黄原胶免疫调节作用研究进展[J]. 济宁医学院学报, 2019, 42(2): 139-143, 148. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-9760. 2019. 02. 015.
- [2] Gunasekaran S, Govindan S, Ramani P. Sulfated modification, characterization and bioactivities of an acidic polysaccharide fraction from an edible mushroom *Pleurotus eous* (Berk.) Sacc[J]. *Heliyon*, 2021, 7(1): e05964. DOI: 10. 1016/j. heliyon. 2021. e05964.
- [3] Li S, Xiong Q, Lai X, et al. Molecular modification of polysaccharides and resulting bioactivities [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2016, 15(2): 237-250. DOI: 10. 1111/1541-4337. 12161.
- [4] 苏晓文, 答丽霞, 王威威. 多糖的化学修饰方法研究进展[J]. *农业技术与装备*, 2020(3): 18-20. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-887X. 2020. 03. 005.
- [5] Muneeb AM. Recent trends in chemical modification and antioxidant activities of plants-based polysaccharides; a review [J]. *Carb Polym Technol Appl*, 2021, 2: e100045. DOI: 10. 1016/J. CARP-TA. 2021. 100045.

- [6] Song Y, Ni Y, Hu X, et al. Effect of phosphorylation on antioxidant activities of pumpkin (*Cucurbita pepo*, Lady godiva) polysaccharide[J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 81: 41-48. DOI: 10.1016/j.ijbiomac. 2015. 07. 055.
- [7] Huang G, Chen X, Huang H. Chemical modifications and biological activities of polysaccharides[J]. *Curr Drug Targets*, 2016, 17(15): 1799-1803. DOI: 10.2174/1389450117666160502151004.
- [8] Chen J, Wang L, Liang H, et al. Overexpression of DoUGP enhanced biomass and stress tolerance by promoting polysaccharide accumulation in *dendrobium officinale*[J]. *Front Plant Sci*, 2020, 11: 533767. DOI: 10.3389/fpls. 2020. 533767.
- [9] 徐雅琴, 杜明阳, 杨露, 等. 超声波处理对黑加仑果实多糖性质与生物活性的影响[J]. *食品科学*, 2019(15): 148-153. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20180916-157.
- [10] Ren L, Wang X, Li S, et al. Effect of gamma irradiation on structure, physicochemical and immunomodulatory properties of *Astragalus* polysaccharides[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 120(Pt A): 641-649. DOI: 10.1016/j.ijbiomac. 2018. 08. 138.
- [11] Huang L, Huang M, Shen M, et al. Sulfated modification enhanced the antioxidant activity of *Mesona chinensis* Benth polysaccharide and its protective effect on cellular oxidative stress[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 136: 1000-1006. DOI: 10.1016/j.ijbiomac. 2019. 06. 199.
- [12] Yao L, Bai L, Tan Y, et al. The immunoregulatory effect of sulfated *Echinacea purpurea* polysaccharide on chicken bone marrow-derived dendritic cells[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 139: 1123-1132. DOI: 10.1016/j.ijbiomac. 2019. 08. 028.
- [13] Ren YY, Sun PP, Ji YP, et al. Carboxymethylation and acetylation of the polysaccharide from *Cordyceps militaris* and their α -glucosidase inhibitory activities[J]. *Nat Prod Res*, 2020, 34(3): 369-377. DOI: 10.1080/14786419. 2018. 1533830.
- [14] Xie JH, Zhang F, Wang ZJ, et al. Preparation, characterization and antioxidant activities of acetylated polysaccharides from *Cyclocarya paliurus* leaves[J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 133: 596-604. DOI: 10.1016/j.carbpol. 2015. 07. 031.
- [15] Yan YY, Wang Q, Sun LH, et al. Extraction, preparation, and carboxymethyl of polysaccharide from Lotus root [J]. *Food Sci Technol*, 2022, 42. DOI: 10.1590/fst. 17822.
- [16] Li J, Shang WT, Si X, et al. Carboxymethylation of corn bran polysaccharide and its bioactive property [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2017, 52(5): 1176-1184. DOI: 10.1111/ijfs. 13382.
- [17] Zhao T, Guo YC, Yan SY, et al. Preparation, structure characterization of carboxymethylated schisandra polysaccharides and their intervention in immunotoxicity to polychlorinated biphenyls [J]. *Process Biochem*, 2022 (prepublish). DOI: 10.1016/J.PROCBIO. 2022. 02. 005.
- [18] Gao P, Bian J, Xu S, et al. Structural features, selenization modification, antioxidant and anti-tumor effects of polysaccharides from alfalfa roots[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 149: 207-214. DOI: 10.1016/j.ijbiomac. 2020. 01. 239.
- [19] Wang L, Li X, Wang B. Synthesis, characterization and antioxidant activity of selenium modified polysaccharides from *Hohenbuehelia serotina*[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 120(Pt B): 1362-1368. DOI: 10.1016/j.ijbiomac. 2018. 09. 139.
- [20] Zhan Q, Chen Y, Guo Y, et al. Effects of selenylation modification on the antioxidative and immunoregulatory activities of polysaccharides from the pulp of *Rose laevigata* Michx fruit[J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 206: 242-254. DOI: 10.1016/j.ijbiomac. 2022. 02. 149.
- [21] Xie L, Shen M, Wen P, et al. Preparation, characterization, antioxidant activity and protective effect against cellular oxidative stress of phosphorylated polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 145: 111754. DOI: 10.1016/j.fct. 2020. 111754.
- [22] Huo N, Ameer K, Wu Z, et al. Preparation, characterization, structural analysis and antioxidant activities of phosphorylated polysaccharide from *Sanchi* (*Panax notoginseng*) flower[J]. *J Food Sci Technol*, 2022, 59(12): 4603-4614. DOI: 10.1007/s13197-022-05539-5.
- [23] Feng H, Fan J, Lin L, et al. Immunomodulatory effects of phosphorylated radix *cyathulae officinalis* polysaccharides in immunosuppressed mice [J]. *Molecules*, 2019, 24(22): 4150. DOI: 10.3390/molecules24224150.
- [24] Liu X, Ren Z, Yu R, et al. Structural characterization of enzymatic modification of *Hericium erinaceus* polysaccharide and its immune-enhancement activity[J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 166: 1396-1408. DOI: 10.1016/j.ijbiomac. 2020. 11. 019.
- [25] Liu X, Suo KK, Wang P, et al. Modification of wheat bran insoluble and soluble dietary fibers with snail enzyme [J]. *Food Sci Human Wellness*, 2021, 10(3): 356-361. DOI: 10.1016/J.FSHW. 2021. 02. 027.
- [26] Yu R, Sun M, Meng Z, et al. Immunomodulatory effects of polysaccharides enzymatic hydrolysis from *Hericium erinaceus* on the MODE-K/DCs co-culture model[J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 187: 272-280. DOI: 10.1016/j.ijbiomac. 2021. 07. 131.
- [27] Yan S, Pan C, Yang X, et al. Degradation of *Codium cylindricum* polysaccharides by H_2O_2 -Vc-ultrasonic and H_2O_2 - Fe^{2+} -ultrasonic treatment; structural characterization and antioxidant activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 182: 129-135. DOI: 10.1016/j.ijbiomac. 2021. 03. 193.
- [28] Xiong C, Li P, Luo Q, et al. Effect of γ -irradiation on the structure and antioxidant activity of polysaccharide isolated from the fruiting bodies of *Morchella sextelata* [J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(9): BSR20194522. DOI: 10.1042/BSR20194522.

(收稿日期 2023-05-11)

(本文编辑:石俊强)