

## 灵芝多糖的研究进展

刘美琴 李建中 孔繁祚

(中国科学院生态环境研究中心 北京 100085)

**关键词** 灵芝多糖, 药理活性, 抗肿瘤

**分类号** Q93-936

灵芝古称瑞草, 在我国作为药物有 2000 多年的历史。目前, 已知灵芝属约有 100 多种, 分布最广的为赤芝 (*Ganoderma lucidum*), 其次为紫芝 (*Ganoderma sinensis*)。经过大量临床和药理分析表明, 灵芝对慢性支气管炎、冠心病、心绞痛、慢性肝炎、神经衰弱、心悸头晕等均有不同程度的疗效。目前已知灵芝属的一些种具有明显的抗癌活性和抗衰老活性<sup>[1~6]</sup>。

### 1 灵芝多糖的发现和结构组成

目前, 已分离到 200 多种灵芝多糖, 其中大部分为  $\beta$ -型的葡聚糖, 大多存在于灵芝细胞壁内壁。液体培养的发酵液和固体培养的培养基中有灵芝菌丝体分泌的胞外多糖。灵芝多糖大多为异多糖, 多数有分支, 部分多糖含有肽链, 其药理活性一般也较高, 多糖链有三股螺旋单糖链组成。据梁忠岩报道, 灵芝多糖在水溶液中时一般为三股单糖链组成, 树舌 (*Ganoderma applanatum*) 的多糖链在 0.1 mol/L NaOH 溶液中会解离为单股链。多糖的药理活性与单糖间糖苷键的结合形成有关。一般单糖间以  $\beta$ -(1-3) (1-6) 连接或以  $\beta$ -(1-4) (1-6) 连接的糖苷键是有活性的。多糖的药理活性还与其立体结构有关, 若螺旋型的立体构型被破坏, 多糖活性则大大下降<sup>[7]</sup>。

灵芝多糖构型及其单糖组成现已测定的有 60 多种。李荣芷等从赤芝子实体中分离数十种灵芝多糖, 并且认为灵芝多糖结构中含有较多的糖苷键可能是其具有强烈药理活性的原因。在 GLB、GLC 系列中, 除 GLB 外, 其他单一均一体多糖的药理活性均低于 GLB 和 GLC。由此可见, GLB 和 GLC 所表现出的药理活性是多糖协同作用的结果<sup>[8]</sup>。肖培根等报道, 树舌中含有一种抗肿瘤多糖 (G-Z), 糖苷键为  $\beta$ -(1-3) (1-4) 连接<sup>[7]</sup>。梁忠岩从树舌中分离到一种多糖 (CF2 $\alpha$ ), 分子量

为 11.3~13  $\times 10^4$ u, 糖苷键以  $\beta$ -(1-3) 为主, 间位有单一 0-6 位分支的葡聚糖<sup>[7]</sup>。梁忠岩<sup>[9]</sup>从松杉灵芝 (*Ganoderma tsugae*) 子实体分离到 GF<sub>3</sub> 级分, 由 1-6 苷键葡萄糖和 1-6 苷键半乳糖构成主干。梁忠岩<sup>[10]</sup>从松杉灵芝发酵菌丝体中分离到 GF<sub>6</sub> 级分, 其主链由 1-6 葡萄糖基 1-6 半乳糖基构成, 侧链由 1-3 葡萄糖基和 1-4 葡萄糖基构成。

灵芝多糖在国外研究的较为深入, Miyaski<sup>[11]</sup>从灵芝中分离到 GL-1 灵芝多糖, 具有抗肿瘤活性, 分子量为 4  $\times 10^6$ u 由阿拉伯糖、木糖和葡萄糖组成, 含  $\beta$ -(1-3) (1-4) (1-6) 糖苷键。薄井等从树舌热水提取物中分离到四种  $\beta$ -D-葡聚糖, 其中, F-I- $\alpha$ - $\beta$  和 F-I- $\alpha_2$ - $\beta$  具有较强的抗肿瘤活性, 分子量分别为 1.01  $\times 10^5$ u 和 3.02  $\times 10^5$ u, 蛋白质含量为 0.12%~0.15%, 二者均具有 (1-6) 分支的 (1-3)  $\beta$ -D-葡聚糖特征<sup>[7]</sup>。Miyaski 通过对多种担子菌多糖的分析比较, 认为  $\beta$ -(1-3) 吡喃葡聚糖的抑瘤活性与其 (1-6) 分支的分枝度有密切关系<sup>[7]</sup>。Adachi 已制备出可检测宿主体内 (1-6)-支链抗癌葡聚糖的抗体<sup>[12]</sup>。

近年来, 朝鲜和韩国对灵芝多糖进行了广泛深入的研究。Kim 研究赤芝和树舌的亲代和子代水提取物对 S-180 的抗肿瘤特性, 发现 Fr-I 和 Fr-II 的抑瘤率分别为 57.6% 和 62.4%, 均为糖蛋白, 多糖部分由 glu、gal、man 和少量 xyl、fuc 等构成, 蛋白部分由 17 个氨基酸组成<sup>[13]</sup>。Hyun 研究赤芝担子果中的多糖, 发现 GL 的抗肿瘤活性最高, 抑瘤率为 81%, 其分子量为 47u, 由 82% 多糖、8% 蛋白质和 0.9% 氨基己糖组成, 其中多糖部分由 gul、gal、man 和 ful 构成<sup>[14]</sup>。Jeong 研究

赤芝和树舌种间原生质体融合后代 $F_2$ 菌丝体发现, Fr II 的抑瘤率最高, 其分子量为  $5.6 \times 10^4$  u, 化学组成为 85.2% 多糖 (由 glu, gal, man, ful 和 xyl 构成)、0.39% 蛋白质 (含 15 个氨基酸) 及 0.39% 氨基己糖<sup>[15]</sup>。Zhang 从松杉灵芝菌丝体中得到水溶性多糖 Fr. I, 用离子交换层析、凝胶层析和亲和层析进一步分离为 16 个多糖组分, 其中 FI-0- $\alpha$ 、FI-0-b- $\alpha$  和 FA-1-b- $\alpha$  对 S-180 有抑制作用<sup>[16]</sup>。Yeo 从赤芝和云芝属间原生质体融合后代 $F_1$ 菌丝体中提取到四种组分, 其中 Fr. IV 的抗肿瘤活性最高, 对 S-180 的抑瘤率为 68%, 其分子量为  $9 \times 10^4$ , 是糖蛋白, 由 75.75% 多糖、4.47% 蛋白质和 1.36% 氨基己糖组成<sup>[17]</sup>。

## 2 灵芝多糖的抗肿瘤活性及免疫药理作用

从灵芝子实体中提取的灵芝多糖 (GLP) 对 Lewis 肺癌和结肠癌具有相当高的抑制作用, 并能增强正常小鼠腹腔巨噬细胞吞噬作用和荷瘤小鼠 NK 细胞活性, 从而提高机体免疫功能<sup>[18]</sup>。据 Yoshiaki Sone 等研究, 用不同方法提取灵芝子实体多糖的抗肿瘤活性与多糖的分支度有关。用热水冷碱和热碱提取的灵芝多糖对 S-180 的抑制率分别为 97.9%、59.6% 和 10.9%, 多糖的分支度分别为 1 / 3.1、1 / 16.8、1 / 23.0, 用热水提取的水溶性灵芝多糖具有显著的抗肿瘤活性, 与具有非常高的分支度有关<sup>[19]</sup>。齐藤发现不同培养基培养的灵芝子实体各部位的抗肿瘤活性不同, 其中热水提取物对 S-180 的抑制率可达 96.6%~100%。给药量为 100mg / kg 时, 以枪柄为培养基的灵芝在成熟期抑制率可达 99.0%, 以麻柄 (或木屑) 为培养基的灵芝在开伞后可达 93.7% (或 91.5%)<sup>[20]</sup>。

**2.1 对免疫功能的增强作用** Xia 对小鼠腹腔注射  $BN_3C$ , 或灌胃松杉树芝多糖和松杉树芝发酵多糖, 均可增强羊红细胞致敏小鼠的空斑型细胞反应, 表明灵芝多糖可增强免疫反应<sup>[21]</sup>。灌胃松杉树芝多糖和松杉树芝发酵多糖可增强二硝基氯苯所致小鼠迟发型过敏反应, 表明灵芝多糖可增强细胞介导的免疫反应<sup>[22]</sup>。体外给药试验表明,  $BN_3A$ 、 $BN_3B$  和  $BN_3C$  均可显著促进刀豆素 (ConA) 诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖反应, 可见灵芝多糖对 T 细胞增殖有促进作用<sup>[21]</sup>。GLA、GLB 和 GLC 可明显促进小鼠的混合淋巴细胞培养反应, 且呈剂量依赖性关系。这表明赤芝多糖 GLA、GLB 和 GLC 均能明显地促进 T 淋巴细胞的增殖<sup>[23]</sup>。

**2.2 对免疫功能的恢复作用** 雷林生发现氟尿嘧啶、丝裂霉素 C 和阿糖胞苷均可使混合淋巴细胞培养反应 (MLR) 抑制达 50% 左右, GLB 可剂量依赖性地拮抗上述抗肿瘤药对 MLR 的抑制作用, 直至使 MLR 恢复正常水平。环磷酰胺可显著抑制红细胞致敏小鼠的空斑型细胞反应, 松杉树芝多糖和松杉树芝发酵多糖灌胃可分别使空斑型细胞反应恢复正常。环磷酰胺可显著抑制二硝基氯苯所致小鼠迟发型过敏反应, 松杉树芝多糖和松杉树芝发酵多糖灌胃均可使受抑制的迟发型过敏反应恢复正常<sup>[22]</sup>。

**2.3 作用机制** 用活化小鼠脾细胞法检测小鼠脾细胞 IL-2 的产生,  $BN_3A$ 、 $BN_3B$  和  $BN_3C$  均可显著增加小鼠脾细胞产生 IL-2, 并可部分地拮抗环孢霉素 A 对脾细胞产生 IL-2 的抑制作用。用 IL-2 依赖细胞株 HITZ 检测小鼠 MLR 中 IL-2 生成时, 也可证明 GLB 可浓度依赖性地促进 IL-2 产生<sup>[23,24]</sup>。利用混合淋巴细胞培养反应, 抗  $L_3T_3$  及抗  $Lyt_2$  单克隆抗体技术和空斑减少试验观察灵芝多糖对 T 细胞亚类的影响, 结果表明 GLB 可显著增加 MLR 中总 T 细胞以及  $L_3T_4$  + 细胞和  $Lyt_2$  + 细胞的回收量,  $Lyt_2$  + 细胞的百分比也明显增加。空斑减少试验显示 GLB 可显著增加细胞毒 T 细胞功能<sup>[23]</sup>。

Jeong 研究赤芝和树舌种间原生质体融合后代 $F_2$ 菌丝体中的多糖发现, Fr. II 对 S-180 的抑制率比亲本高, 其免疫增强作用是由于它可增加活化巨噬细胞中过氧化物阴离子和脾中溶血素形成细胞的数量<sup>[15]</sup>。Yeo 研究赤芝和云芝属间原生质体融合后代 $F_1$ 菌丝体中的多糖, 发现 Fr. IV 的抗肿瘤活性最高, 对 S-180 的抑瘤率为 68%。其抗肿瘤机制用 MTT 试验检测, 对肿瘤细胞无直接毒性, 但有免疫增强作用, 可使小鼠受抑制的迟发型过敏反应恢复正常<sup>[17]</sup>。

林志彬发现灵芝多糖  $BN_3C$  能显著提高小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红血球的能力, 可见灵芝多糖可促进单核巨噬细胞吞噬功能<sup>[8]</sup>。灵芝多糖一般可促进网状内皮系统的清除能力和吞噬功能<sup>[25,26]</sup>, 从而使机体的免疫力提高。

总之, 随着生物工程技术的发展, 尤其是随着基因工程和体外扩增等先进技术的发展, 灵芝多糖的获得将不再局限于子实体, 进一步明确灵芝多糖结构与活性关系, 以及对灵芝多糖的抗肿瘤机制的深入研究, 新的抗肿瘤药品将会问世。

## 参 考 文 献

- [1] 尹光琳,战立克,赵根楠主编. 发酵工业全书. 北京:中国医药科技出版社,1992,493~494.
- [2] 孙会文. 浙江中医杂志,1982,17(7):332~333.
- [3] 刘耕陶,包天桐,魏怀玲等. 药学通报,1979,14(2):83~85.
- [4] 卯晓岚. 微生物学通报,1989,16(5):290~297.
- [5] 真菌学研究室灵芝组. 微生物学通报,1992,19(3):189~190.
- [6] 雷林生,林志彬. 药科学报,1993,28(8):577~582.
- [7] 陈国良,陈晓清. 中国食用菌,1995,14(4):7~8.
- [8] 李荣芷,何云庆. 北京医科大学学报,1991,23(6):473~475.
- [9] 梁忠岩,张翼仲. 生物化学与生物物理学报,1993,25(1):59~63.
- [10] 梁忠岩,张翼仲,苗春艳. 真菌学报,1994,13(3):211~214.
- [11] Miyasaki T, Nishijima M. Chem Pharm Bull, 1981, 29(12):3611~3616.
- [12] Adachi Y, Ohno N, Yadamae T. Biol Pharm Bull, 1994, 17(11):1508~1512.
- [13] Kim C K, Kim H W, Shim M J *et al.* Seoul Univ. J. of Pharm Sci, 1990, 15(0):38~71.
- [14] Hyun J W, Choi E C, Kim B K, Korean J of Mycol, 1990, 18(2):58~59.
- [15] Jeong K H, Park W B, Kim H W, *et al.* Korean J of Mycol, 1992, 20(4):324~336.
- [16] Zhang J, Wang G Y, Li H, *et al.* Biosci. Biotech. and Biochem., 1994, 58(7):1202~1205.
- [17] Yeo K S, Shim M J, Bok J W *et al.* Seoul Univ J of Pharm Sci, 1994, 19(0):1~29.
- [18] 闵三弟,戚珍娣,宋士良等. 食用菌学报,1996,3(1):21~26.
- [19] Yoshiaki S, Reiko O, Noriko W *et al.* Agric Biol Chem, 1985, 49(9):2641~2653.
- [20] 齐藤和夫. 国外农学-食用菌,1992,3:46~48.
- [21] Xia D, Lin Z B, Li R Z *et al.* J Beijing Med Univ, 1989, 21(6):533.
- [22] 林志彬. 北京医科大学学报,1992,24(4):271~274.
- [23] Lei L S, Lin Z B *et al.* J Beijing Med Univ, 1991, 23(4):329.
- [24] MaL, Lin Z B, Li R Z *et al.* J Beijing Med Univ, 1991, 23(5):412.
- [25] 许津,钟启平,吕丁. 中国医学科学院学报,1985,7(4):301~303.
- [26] 刘正才,尤焕文. 中医免疫. 重庆:重庆出版社,1983,46.