

植物多糖的研究进展

陶遵威¹, 郑 夺¹, 邸明磊², 单晓菊²

1 天津市医药科学研究所, 天津 300020;

2 天津中医药大学, 天津 300073

摘 要 多糖是由单糖连接而成的多聚物, 具有促进免疫调节、抑制肿瘤及降低血糖等广泛的药理作用, 具有广阔的前景; 此外, 由于多糖本身在质量标准、表征鉴定等方面有自身研究难度和特殊性, 有待于深入研究。对植物多糖的提取、分离、鉴定、结构分析及生物活性研究发展予以综述。

关键词 多糖; 提取; 结构分析; 药理作用

中图分类号: R282.71 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2010) 02-0148-05

Advances in studies on plant polysaccharides

TAO Zun-wei¹, ZHENG Duo¹, DI Ming-lei², SHAN Xiao-ju²

1 Tianjin Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Tianjin 300020, China;

2 Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300073, China

Abstract Polysaccharides are combined by the monosaccharide. The investigation shows that the polysaccharides have the extensive function on immunity regulate, restraining tumor, and lowering the blood sugar. Therefore, their application has wide prospect. In addition, because there are many difficulties and distinctions of polysaccharides on the quality standards, structural characterization and so on, they need for further research. This article summarizes research developments on their extraction, separation, identification, structural analysis and biological activities.

Key words polysaccharides; extract; structural analysis; pharmacological effect

多糖 (polysaccharide) 是存在于自然界的醛糖和 (或) 酮糖通过糖苷键连接在一起的聚合物, 它是生物体内除蛋白质和核酸以外的又一类重要的信息分子。植物、海洋生物及菌类等来源的多糖已作为有生物活性的天然产物中的一个重要类型出现, 各种多糖所具有的抗肿瘤、免疫、抗凝血、降血糖和抗病毒活性已相继被发现。到目前为止, 虽然国内外对多糖的研究日益重视, 但就其研究的层次和水平来说, 与蛋白质和核酸相比还有很大的差距^[1]。因此, 对多糖的深入研究将为探讨发展多糖类药物治疗奠定基础。本文对植物多糖的提取、分离、鉴定、结构分析及生物活性研究发展予以综述。

1 植物多糖的提取、分离纯化及结构鉴定

1.1 多糖的提取

首先要根据多糖的存在形式及提取部位不同决定在提取之前是否作预处理。许多植物的种子或动物样

品含较多的脂类物质, 因此在提取之前用石油醚、乙醚等溶剂除去脂溶性杂质。目前多糖的提取方法主要有溶剂提取法^[2]、酸提法^[3]、碱提法^[4]、酶解法^[5]、超声法^[6]、微波法^[7]、超滤法^[8]、超临界流体萃取法^[9]。因原料不同多糖的提取方法不同, 各种提取法各有利弊。水提法提取成本低, 适用于游离态多糖的提取, 且干扰物质少或易除去, 但时间长且效率低。超声波法提取, 其提取率较低, 一般应与其他方法结合使用。酸性条件下提取, 也会引起多糖降解及糖苷键的断裂, 因此在稀酸提取时, 时间宜短、温度不宜太高。碱提多糖时, 易使多糖的糖苷键断裂, 通常要充氮气或加入硼氢化钠或硼氢化钾加以保护, 且这种提取方法只适用于含果胶物质少, 黏度小的原料。酶法提取多糖具有条件温和、杂质易除和得率高等优点, 但提取成本较高。

1.2 多糖的脱蛋白、除色素

脱蛋白较好的方法是 *Sevag* 法,它是根据蛋白质在氯仿等有机溶剂中变性的特点,使蛋白质变性成胶状,此法条件温和,可避免多糖的降解。按氯仿:正丁醇=4:1 比例混合后,加至样品中摇荡,样品中的蛋白质变性形成不溶状态,存留在氯仿和水交接面处,可用离心法除去,要达到除尽游离蛋白质的目的需反复多次处理。目前有报道,利用蛋白质水解酶(如胃蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、链蛋白酶等)使样品中蛋白质部分降解后,用 *Sevag* 方法则效果更好^[10]。*Sevag* 方法的缺点是一次只能除去少量蛋白质,需进行多次操作,一般 4~6 次除尽,且多糖损失大;冻融-*Sevag* 联合法蛋白清除率高,但多糖损失较大;TCA 法操作简便,蛋白清除率高,多糖损失相对较小^[11]。

粗多糖中常含有一些色素,根据其不同性质采取不同的除色素方法。常见的脱色方法有离子交换法、氧化法、金属络合物法、吸附法。DEAE 纤维素吸附法是目前最常用的脱色方法,通过离子交换柱不仅达到脱色的目的,而且可以进行多糖的分离。双氧水是一种氧化脱色剂,浓度不宜过高,宜在低温下进行,否则会引起多糖的降解。由于双氧水脱色方法是提取液中直接氧化其中的色素,并未脱除。因此,氧化后的色素仍然作为杂质留在提取液内,不能保证多糖的最后品质^[12]。对于同时含有游离蛋白和色素的多糖,可通过生成金属络合物的方法同时除去蛋白和色素,即加入费林试剂生成不溶性络合物,经分离后用阴离子交换树脂分解络合物^[13]。吸附脱色法也常应用,如通过活性炭、硅藻土、高岭土达到脱色的目的^[14]。对于一些低分子质量的杂质,如无机盐、脱蛋白残留溶剂、低聚糖等,常用透析法、离子交换树脂法和凝胶过滤法将其除去。

1.3 多糖的定量测定

多糖的检测方法可分为 2 大类,一类是利用组成多糖的单糖的性质进行测定,其中利用单糖缩合反应而建立的方法最多,如比色法、滴定法。目前使用的比色法有:蒽酮-硫酸法^[15]、苯酚-硫酸法^[16]和 3,5-二硝基水杨酸盐(DNS)比色法^[17]。其原理为多糖水解生成单糖,单糖可与强酸共热产生糠醛或糠醛衍生物,然后通过显色剂缩合成有色络合物,比色定量,间接求出多糖的量;另一类是直接测定多糖本身,如高效毛细管电泳法、高效液相色谱法、气相色谱法和酶法。这类方法需要昂贵的仪

器和多糖的纯品,且需要特定的酶。

1.4 多糖的分离纯化

有机溶剂分部沉淀法根据多糖在不同浓度的低级醇或酮中具有不同的溶解度的性质,逐次按比例由小到大加入这些醇或酮(常用的是甲醇、乙醇和丙酮)分部沉淀。这种方法适宜于分离各种溶解度相差较大的多糖。盐析法根据不同多糖在不同盐浓度中具有不同溶解度的性质,加入不同盐析剂使之逐步析出。常用的盐析剂有 NaCl、KCl、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 CH_3COOK 等,以 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 最佳。金属络合物法根据不同多糖能与 Cu^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Ba^{2+} 形成不溶性络合物而沉淀的性质。常用的络合物有菲林溶液、氯化铜、氢氧化钡和醋酸铅等。得到的络合物沉淀经水充分洗涤后,用 5% 无机酸乙醇液或硫化氢分解。季铵盐沉淀法根据长链季铵盐能与酸性多糖成盐,形成水不溶性多糖化合物的特性,常用此法分离酸性及中性多糖。常用的季铵盐为十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)六烷基吡啶(CPC)。但用此法必须控制多糖混合液的 pH 小于 9 及无硼砂存在,否则中性多糖也会沉淀。离子交换柱层析法按电荷性质的不同,常用交换剂为 DEAE-纤维素、DEAE-Sephadex、CM-Sephadex、SE-Sephadex 等,以纯水、缓冲液或酸碱液洗脱,此法适合于分离各种酸性、中性及黏性多糖。吸附力一般随分子中酸性基团的增加而增大。对于线性分子,相对分子质量大的比小的易吸附,直链多糖比分支多糖易吸附。凝胶柱色谱法是根据多糖分子的大小和形状不同而达到分离目的。常用的凝胶介质有交联葡聚糖凝胶、琼脂糖凝胶及聚丙烯酰胺凝胶等,洗脱液为各种浓度的盐溶液及缓冲液,它们的离子强度不应低于 0.02 mol/L ^[18]。

此外,粗多糖的纯化方法还有超滤分级法、亲和色谱分级法、超速离心法、区带电泳法、微波辅助及酶解法、膜技术^[19-22]等。

1.5 多糖的纯度鉴定

多糖的纯度标准不能用通常化合物的纯度标准来衡量,因为即便是多糖纯品,其微观也是不均一的。它的纯度只代表相似链长的平均配布。通常所说的多糖纯品实质是一定相对分子质量范围的均一组分。最好的纯度标准是建立多项指标,每一项指标测定一种不同的特性。

目前,国内外多糖类复合物纯度的鉴定方法主

要有：比旋度法，超离心法，电泳法和凝胶色谱法等。比旋度法是利用糖的结构具有旋光性，比旋度的值不改变则为纯品，但比旋度法受溶液的温度、浓度，特别是微量成分的改变而影响较大，一般结果具有较大偏差，只能作参考；超离心法是利用相同大小的分子具有相同的相对分子质量，在离心力场中所受离心力相同的原理，分离均一的分子，但超离心法不能完全将溶液中相对分子质量不同的分子分开；电泳法是根据糖分子的大小、所带电荷数和形状不同，在电场的作用下，在固体胶上迁移率不同，与纯标样的迁移率相比较而确定；凝胶色谱法是多糖经凝胶色谱柱洗脱，若得一对称峰，则证明该多糖为单一组分。高效液相凝胶渗透色谱法（HPGPC）最为常用，具有快速、高分辨和重现性好的优点^[23]。

1.6 多糖的相对分子质量测定及结构鉴定

多糖的相对分子质量只代表相似链长的平均分布，同一多糖，其重均相对分子质量和数均相对分子质量也不同，通常文献报道的相对分子质量是重均相对分子质量。目前测定多糖相对分子质量的方法也很多，主要有：渗透压法、蒸汽压法、端基法、光散射法、黏度法、超过滤法、聚丙烯酰胺凝胶电泳法、凝胶过滤法、高效液相凝胶渗透色谱法等^[24]。

多糖与蛋白质等生物大分子一样也有明确的三维空间结构，可以用一、二、三、四级结构来描述，其中二、三、四级结构属高级结构，多糖的一级结构是指多糖的单糖残基的组成、排列顺序、相邻单糖残基的连接方式、异头物的构型及糖链有无分支、分支的位置和长短等。多糖的二、三、四级结构是指多糖分子中主链的构象，侧链的空间排布，单糖残基空间相对定位等。由于单糖的种类比构成蛋白质的氨基酸种类多，连接的位点也多，故具有多分支结构的杂多糖结构的确定比蛋白质困难得多。目前多糖化学结构测定方法很多，主要有酸完全水解、部分水解法、碱降解法、高碘酸氧化和 Smith 降解法、甲基化反应、酶降解、薄层色谱、高效液相色谱、红外光谱、核磁共振谱、质谱、气质联用、X-射线衍射等^[25]。

2 植物多糖的药理作用

2.1 抗肿瘤作用

主要是通过增强机体免疫功能，激活免疫监视系统来实现的。多糖能在多条途径，多个层面对免

疫系统发挥调节作用。如肉苁蓉多糖（CDPS）可明显提高巨噬细胞吞噬及分泌功能，活化巨噬细胞^[26]、树舌多糖 GF 可通过降低 N-ras、C-myc 蛋白的表达，抑制 HepA 瘤细胞的增殖^[27]、杜仲总多糖能够抑制 S-180 肉瘤的生长并能够提高胸腺指数和脾指数，增加骨髓有核细胞计数及外周血白细胞计数^[28]。此外，还有黄芪多糖^[29]、党参多糖、人参多糖、茯苓多糖^[30]、香菇多糖、云芝多糖、猪苓多糖、白术多糖、灵芝多糖及甘草多糖等许多多糖已经证明具有明显的抗肿瘤作用。

2.2 降血糖作用

多糖降血糖作用可能与影响糖代谢酶的活性，加速糖的分解，抑制糖异生或肝肌糖原的输出，促进外周组织对葡萄糖的利用及对激素的调节有关。灵芝多糖^[31]对四氧嘧啶致高血糖小鼠及去甲肾上腺素致高血糖小鼠具有明显降血糖作用，而对正常小鼠血糖水平影响较小。

2.3 降血脂作用

龙胆多糖^[32]能显著降低高脂模型鼠的三酰甘油（TC），总胆固醇（TG），低密度脂蛋白（LDL-C），而高密度脂蛋白（HDL-C）明显高于高脂模型组。表明龙胆多糖具有明显的降血脂作用。南瓜多糖^[33]使糖尿病小鼠的 TC、TG、LDL-C 显著降低，HDL-C 极显著升高；并且南瓜多糖的降血脂效果与优降糖相比无显著差异。

2.4 多糖的抗衰老作用

多糖抗衰老与其免疫调节剂调节机体免疫功能及增强机体对自由基的清除和抗氧化能力有关。当归多糖（ASP）可拮抗脾脏的萎缩、增强血清和脑组织 SOD 活力、减少 MDA 的量、提高 GSH-PX 活性、降低脑细胞凋亡指数。说明当归多糖有很好的抗衰老作用^[34]。山茱萸多糖可通过提高机体抗氧化能力、抑制脂质过氧化、提高老化相关酶活性发挥抗脑老化作用，提高大鼠学习记忆能力^[35]。

2.5 抗凝血活性

大蒜粗多糖及其分离组分 GPI 能显著延长人体血浆的 APTT 值，通过影响内源性凝血系统发挥抗凝血作用^[36]；龙胆多糖对大鼠部分凝血活酶时间（APTT）、大鼠凝血酶原时间（PT）有抑制作用，血浆凝固时间显著延长，同时对凝血酶也有抑制作用，使纤维蛋白凝固时间显著延长^[37]。此外，许多例子表明硫酸化多糖的非常特殊的结构对应特殊的

蛋白质有非常高的亲和力^[38]。

2.6 抗炎作用

通过二甲苯诱导小鼠耳肿胀试验和松节油诱导大鼠气囊肉芽增生模型,观察灰树花 β -葡聚糖的抗炎作用,结果表明灰树花 β -葡聚糖对实验动物急性、慢性炎症均有明显的抗炎作用^[39];茯苓多糖对二甲苯所致的小鼠耳肿大剂量组能增强小鼠耳肿胀,小剂量组则明显抑制小鼠耳肿,对大鼠慢性皮下肉芽肿生成有一定抑制作用^[40];金耳多糖对大鼠过敏性鼻炎炎症具有抑制作用^[41]。

2.7 抗疲劳作用

黄精多糖能增强小鼠游泳耐力、延长爬杆时间,降低血乳酸、血中尿素氮水平,提高肝糖原水平和肌糖原水平,表明黄精具有很好的抗疲劳作用^[42]。五味子粗多糖能显著提高小鼠游泳和缺氧存活时间,具有一定的抗疲劳作用^[43]。

2.8 其他作用

多糖还具有抗溃疡^[44]、抗病毒、抗辐射、抗突变、免疫调节^[45]等作用,随着研究的不断深入,越来越多的多糖及其药理活性将会显现出来。

3 现状及展望

植物多糖作为一类重要的天然活性物质,其最大优点是毒副作用小,来源广泛。目前国内也有多种产品上市,比如猪苓多糖注射液(增强免疫功能,同乙肝疫苗结合治疗慢性乙肝);香菇多糖注射液(治慢性肝炎及肿瘤治疗的辅助药);灵芝多糖片、灵芝复方糖浆等(主要用于肿瘤辅助治疗慢性气管炎、高血压、神经衰弱、糖尿病、高血脂等);云芝多糖产品,云星胶囊、云星胶束、云芝苷肽冲剂等(用于治疗慢性乙型肝炎、癌症辅助治疗、免疫功能低下的老年病等)。

尽管我国活性多糖研究方面取得了不少成就和进展,但与国外研究相比,在多糖结构鉴定、构象分析、构效关系研究、生物活性测试等方面,差距仍然很大。对活性多糖进行深入研究,明确多糖的提取方法,弄清多糖的构效关系,进一步探讨多糖功能的分子基础以弄清楚它的作用机制,加强临床研究实验,研制好的剂型提高生物利用率等等,还有待广大科学工作者的继续努力。我国多糖资源丰富,尤其是来源于中药的植物多糖具有较大的开发潜力。随着多糖的分离纯化、结构、合成、药理及临床研究的不断深入,多糖类药物将具有更广阔

的应用前景。

参考文献:

- [1] 韦巍. 多糖的研究进展[J]. 国外医学药学分册, 2005, 32(3):179-184.
- [2] 谢建军, 胡蔓菁, 孙桂菊, 等. 玉竹多糖提取工艺的优化[J]. 江苏中医药, 2009, 41(10):59-60.
- [3] 任初杰, 姚华杰, 王承明, 等. 酸提花生粕多糖工艺研究[J]. 食品科学, 2007, 28(9):128-132.
- [4] 丁重阳, 张笑然, 张梁, 等. 姬松茸胞内多糖碱提取工艺[J]. 生物加工过程, 2008, 6(5):21-27.
- [5] 夏平, 谢何青. 复合酶法提取桑叶中多糖的工艺条件优化[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(1):198-199.
- [6] 向鸣, 王晓君, 王维香. 超声波提取川芎多糖的工艺优选[J]. 中成药, 2008, 30(11):1621-1623.
- [7] 黄鸿飞, 王维香. 微波辅助提取川芎多糖的研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(11):2734-2735.
- [8] 王子尧, 陈彦卜, 孙文秀, 等. 超滤法分离丹皮多糖的研究[J]. 膜科学与技术, 2009, 29(4):98-101.
- [9] 廖周坤, 杨儒逵. 超临界 CO₂ 萃取藏药雪灵芝中总皂苷及多糖的研究[J]. 中草药, 1998, 29(9): 601-602.
- [10] 马丽, 覃小林, 刘雄民, 等. 不同的脱蛋白方法用于螺旋藻多糖提取工艺的研究[J]. 食品科学, 2004, 25(6):116-119.
- [11] 徐敏, 裴文武, 王平. 江蓠多糖除蛋白的方法研究[J]. 食品科技, 2007, 9:119-120.
- [12] 媛文华, 尹卓荣. 大枣多糖脱色的工业化研究[J]. 天然产物分离, 2006, 4(1):6-8.
- [13] 杨其林. 采用 CTAB 沉淀法提取茶多糖[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(10):139-142.
- [14] 孔凡利, 张名位, 于淑娟, 等. 荔枝多糖活性炭脱色方法研究[J]. 食品科技, 2008, 33(6):115-117.
- [15] 张作法, 金洁, 时连根. 桑枝多糖的含量测定方法[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4):462-464.
- [16] 郁玮, 杨小明, 刘伟民, 等. 苯酚-硫酸法测定无花果中多糖含量的研究[J]. 食品科技, 2009, 34, (10):256-262.
- [17] 王红英, 钱斯日古楞, 赵前程, 等. 3, 5-二硝基水杨酸比色法测定麦冬多糖含量[J]. 沈阳农业大学学报, 2005, 36(5): 628-630.
- [18] Lu Rong, Yoshida T. Structure and molecular weight of Asian lacquer polysaccharides [J]. Carbohydr Polym, 2003, 54:419-424.
- [19] Chun H, Shin D H, Hong B S, et al. Biochemical properties of polysaccharide from blackpepper [J]. Biol Pharm Bull, 2002, 25(9):1203-1208.
- [20] 赵维民. 制备色谱技术在天然大分子物分离中的应用[M]. 科学出版社, 2000.

- [21] 陈彦佐, 冯 怡, 徐德生, 等. 膜技术在多糖分离应用中存在问题探讨[J]. 中草药, 2009, 40(6):991-993
- [22] Yang Y F, Feng J Q, Xu H Y, *et al.* Influence of different extraction and purification methods on Astragalus polysaccharides and pharmacological evaluation [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(1):54-61.
- [23] 张惟杰. 复合多糖生化研究技术[M]. 第二版. 上海: 上海科技出版社, 1999.
- [24] 魏远安, 万积年. 高效凝胶渗透色谱法测定多糖纯度及分子量[J]. 药学报, 1989, 24(7):532-536.
- [25] 匡海学. 中药化学[M]. 第一版. 中国中医药出版社, 2003.
- [26] 王翔岩, 齐 云, 蔡润兰. 肉苁蓉多糖的巨噬细胞活化作用[J]. 中国药理学通报, 2009, 25(6):787-790.
- [27] 徐 颖, 周忠光, 于英君. 树舌多糖 GF 对 HepA 瘤细胞 N-ras、C-myc 蛋白表达的影响[J]. 中医药信息, 2008, 25(6):69-70.
- [28] 辛晓明, 王大伟, 赵 娟. 杜仲总多糖抗肿瘤作用的实验研究[J]. 医药导报, 2009, 28(6):719-721.
- [29] 金 璋, 沈 洁. 注射液黄芪多糖对 II-III 期非小细胞肺癌放疗患者免疫功能的影响[J]. 中草药, 2009, 40(4):611-612.
- [30] 王爱云, 陈 群, 李成付, 等. 茯苓多糖修饰物抗肿瘤作用及其机制研究[J]. 中草药, 2009, 40(2):268-271.
- [31] 黄智璇, 欧阳蒲月. 灵芝多糖降血糖作用的研究[J]. 食用菌, 2009, 1:60-61.
- [32] 江蔚新, 何文顺, 赵 玺. 龙胆多糖的降血脂作用的研究[J]. 黑龙江医药, 2008, 21(4):31-33.
- [33] 常慧萍. 南瓜多糖的降血脂作用研究[J]. 生物学杂志, 2008, 25(3):57-58, 64.
- [34] 徐 露, 董 志. 当归多糖抗衰老作用的实验研究[J]. 激光杂志, 2008, 29(4):89-90.
- [35] 金 红, 欧 芹, 王迪迪. 山茱萸多糖对衰老模型大鼠学习记忆能力影响的研究[J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(2):1467-1469.
- [36] 崔莹莹, 张剑韵, 张容鹤, 等. 大蒜多糖的体外抗凝血作用及结构分析[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(4):24-27.
- [37] 江蔚新, 赵 玺. 龙胆多糖的抗凝血作用的研究[J]. 黑龙江医药, 2008, 21(5):31-32.
- [38] Mulloy B. The specificity of interactions between proteins and sulphated polysaccharides [J]. *An Acad Bras Cienc*, 2005, 77:651-654.
- [39] 张彬彬, 徐泽平, 王宝琴. 灰树花 β -葡聚糖的镇痛抗炎作用[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2009, 27(2):134-139.
- [40] 侯安继, 彭施萍, 项 荣. 茯苓多糖抗炎作用研究[J]. 中药药理与临床, 2003, 19(3):15-16.
- [41] 蒋剑平, 熊耀康. 金耳多糖对哮喘大鼠气道炎症反应的影响[J]. 中草药, 2009, 40(10):1623-1626.
- [42] 刘诗琼, 秦晓群, 李世胜. 黄精多糖对小鼠抗疲劳作用的实验研究[J]. 实验研究, 2009, 16(10):31-35.
- [43] 栗 爽, 李慧婷, 单会娇, 等. 五味子粗多糖抗疲劳药理作用的研究[J]. 实用中医内科杂志, 2009, 23(4):27-28.
- [44] 孙 红, 杨 明, 于德伟, 等. 树舌多糖对大鼠胃黏膜损伤的保护作用[J]. 中草药, 2008, 39(10):1546-1547.
- [45] 张洪建, 杨 琳, 李劲平. 海带多糖药理作用研究进展[J]. 现代药物与临床, 2009, 24(4):217-219.