

金线莲多糖的药理作用及其机制研究进展

俞晓玲¹, 姜文倩², 游晨², 叶寒辉^{2*}

1. 福建医科大学孟超肝胆医院 药学部, 福建 福州 350025

2. 福建医科大学孟超肝胆医院 感染科, 福建 福州 350025

摘要: 金线莲来源于兰科开唇兰属植物金线兰 *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl., 主要分布于中国福建、浙江、江西等地。金线莲多糖作为其主要成分, 具有抗糖尿病、保肝、抗炎和抗肿瘤等药理作用, 其主要通过抗氧化、调节脂质代谢、调节机体免疫以及诱导细胞凋亡等发挥作用。就金线莲多糖的上述药理作用及作用机制的研究进展进行阐述, 旨在为其后续的制剂开发、临床研究与应用提供理论基础及文献依据。

关键词: 金线莲多糖; 药理作用; 作用机制; 研究进展

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2021) 05-1117-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.05.032

Research progress on pharmacological action and mechanism of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii*

YU Xiaoling¹, JIANG Wenqian², YOU Chen², YE Hanhui²

1. Department of Pharmacy, Mengchao hepatobiliary hospital of Fujian medical university, Fuzhou 350025, China

2. Department of Infection Disease, Mengchao hepatobiliary hospital of Fujian medical university, Fuzhou 350025, China

Abstract: *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. belongs to the orchids, which mainly distributed in Fujian, Zhejiang and Jiangxi provinces. Polysaccharides of *Anoectochilus roxburghii* is the main component of *Anoectochilus roxburghii*, which has the effect on the anti-diabetic, hepatoprotective, anti-inflammatory and anti-tumor, mainly through antioxidation, regulation of lipid metabolism, regulation of body immunity and induction of apoptosis. In the review, we summarized the progress of pharmacological action and mechanism of *Anoectochilus roxburghii*, to provide a theoretical basis and literature for the subsequent preparation development, clinical research and application of the valuable Chinese herb.

Key words: polysaccharide of *Anoectochilus roxburghii*; pharmacological action; mechanism; research progress

金线莲来源于兰科开唇兰属多年生草本植物金线兰 *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl., 广泛分布于从印度到喜马拉雅山脉、从东南亚到夏威夷的热带地区, 以及中国的江西、浙江和福建等省份^[1]。金线莲是中国的传统草药, 从该植物中提取的多糖具有抗炎、抗肿瘤、免疫调节作用^[2-3], 多糖是醛糖和(或)酮糖通过糖苷键连接在一起的大分子极性聚合物^[4], 金线莲多糖 (polysaccharides of *Anoectochilus roxburghii*) 主要由 *L*-鼠李糖、*L*-阿拉伯糖、*D*-木糖、*D*-甘露糖、*D*-葡萄糖和 *D*-半乳糖等单糖组成^[5], 水溶性的金线莲多糖作为金线莲水提取

物的主要成分, 已报道其具有药用价值, 包括抗糖尿病^[6]、保肝^[7]、治疗类风湿关节炎^[8]和抗肿瘤^[9]。其主要通过调节葡萄糖和脂质代谢、调节肝脏代谢、增加机体免疫保护能力、提高机体抗氧化能力、减少炎症因子的产生、抑制肝细胞凋亡、调节肝脏代谢、促进免疫细胞的活性、诱导细胞凋亡等发挥作用。

目前仅有文献对金线莲进行植物化学、药理学和临床应用进行综述^[10], 对金线莲多糖的药理作用及作用机制的研究综述较少, 本文从抗糖尿病活性、保肝作用、抗炎活性和抗肿瘤活性等方面阐述

收稿日期: 2020-12-24

基金项目: 福州市科技局社会发展项目(2019-SZ-42); 福州市感染性疾病医学中心资助项目(2018080306)

第一作者: 俞晓玲(1982—), 女, 副主任药师, 博士, 研究方向为抗感染临床药学。Tel: (0591)88116130 E-mail: xiaolingyu82@163.com

*通信作者: 叶寒辉(1964—), 男, 主任医师, 研究方向为感染性疾病诊治。Tel: (0591)88116006 E-mail: 15960102808@163.com

了金线莲多糖的药理作用及作用机制的研究进展,旨在为名贵中药材金线莲的后续制剂开发、临床研究与应用提供理论基础及文献依据。

1 抗糖尿病

目前治疗糖尿病的方法包括使用胰岛素及其类似物和口服降糖药。但是,持续胰岛素和口服降糖药治疗常会诱发副作用,以及胰岛素抵抗^[1],一些具有降糖活性的低毒天然产物越来越受到人们的关注,金线莲多糖的降血糖活性以及对糖尿病患者相关并发症的治疗成为其药理活性研究的热点。

1.1 降血糖

Zhang等^[6]研究了金线莲多糖对高脂饮食和链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病小鼠的降糖作用。通过给予高脂食物和ip单剂量STZ(140 mg/kg)诱导获得糖尿病小鼠模型(非空腹血糖水平高于11.1 mmol/L),以给予标准动物饲料和溶媒(水)的健康小鼠作为对照。糖尿病模型小鼠分为4组:ig水(空白对照),ig二甲双胍200 mg/kg(阳性对照),分别ig金线莲多糖100、300 mg/kg水溶液,每天给药,连续治疗25 d。结果发现与空白对照组相比,金线莲多糖100、300 mg/kg治疗25 d后可显著降低糖尿病小鼠的血糖水平[空白对照的空腹血糖为(32.32±6.43)mmol/L,100、300 mg/kg金线莲多糖的空腹血糖分别为(23.47±8.71)、(23.07±7.10)mmol/L]和增加肝糖原含量[空白对照的肝糖原含量为(4.31±0.91)mg/g,100、300 mg/kg金线莲多糖的肝糖原含量分别为(6.70±1.46)、(6.52±1.66)mg/g]。从胰腺和肝组织切片可以看出,金线莲多糖治疗减轻了糖尿病小鼠的胰岛萎缩和纤维化,刺激了实质细胞的肥大和增殖,明显减轻糖尿病小鼠胰腺和肝脏的病理损伤,改善胰腺和肝脏功能;同时,糖尿病小鼠胸腺和脾脏质量恢复正常,说明金线莲多糖具有免疫保护作用。

以上研究结果表明金线莲多糖可能是通过改善糖尿病小鼠的胰腺和肝脏功能,从而调节葡萄糖和脂质代谢、增加机体免疫保护能力来发挥其抗糖尿病作用。

1.2 对糖尿病肾损伤的保护作用

糖尿病肾损伤是糖尿病的主要微血管并发症之一,Li等^[12]研究了金线莲多糖对高脂饮食和STZ诱导的糖尿病小鼠的肾脏保护作用。结果表明金线莲多糖给药15 d后,糖尿病小鼠血糖水平降低[空白对照组的空腹血糖为(32.50±5.57)mmol/L,100、300 mg/kg金线莲多糖的空腹血糖分别

为(23.41±7.37)、(22.96±6.82)mmol/L]。从肾小球形态看出,与对照组相比,金线莲多糖100、300 mg/kg治疗可减轻肾小球病变。通过免疫印迹试验(Western blotting)、酶联免疫吸附测定(ELISA)等手段检测p38-MAP激酶信号通路分子的表达水平发现,与对照组相比,金线莲多糖100、300 mg/kg治疗组显著下调phos-MKK3/6、phos-p38、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、纤维连接蛋白(fibronectin, FN)和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP2/9)。

由此可见在高脂饮食和低剂量STZ诱导的糖尿病小鼠模型中,金线莲多糖不仅能够调节糖尿病小鼠的血糖水平和体质量,而且改善了糖尿病小鼠的肾功能。金线莲多糖给药后肾小球系膜基质沉积和微血管结构受损明显减少,其作用主要是通过抑制肾脏p38 MAP激酶级联反应及其下游炎症因子的表达,包括TNF- α 、MCP-1、FN、MMP2/9,从而减弱了炎症反应和高糖诱导的肾损害。

1.3 对糖尿病血管病变的保护作用

金线莲多糖对糖尿病血管病变有一定的保护作用。Liu等^[13]体外评价了高糖条件下金线莲多糖在人脐静脉内皮细胞(HUVECs)中的血管保护作用。HUVECs分别用不同浓度的金线莲多糖(10、20、30 μ g/mL)预处理1 h,然后用高糖培养(35 mmol/L)70 h,对照组用标准培养基。在高糖条件下,HUVECs产生的活性氧(ROS)明显增加。发现高糖刺激的细胞中核因子- κ B(NF- κ B)和p38 MAPK信号通路被显著激活;而在高糖条件下,经金线莲多糖处理的HUVECs中p-NF- κ B和p-p38 MAPK的表达显著降低。表明金线莲多糖对糖尿病血管病变的保护作用可能与NF- κ B和p38 MAP激酶通路有关。

上述研究表明,金线莲多糖不仅有降血糖活性,还对糖尿病肾损伤及糖尿病血管病变具有一定的保护作用,金线莲作为具有降糖活性的低毒食用中药材,在该领域中有广阔的应用前景。

2 保肝作用

2.1 对四氯化碳(CCl₄)肝损伤的保肝作用

丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)活性被广泛用于评估肝功能。CCl₄可以诱导肝毒性,使肝脏指数、血清ALT和AST活性显著增加,ALT和AST活性增加归因于肝结构损伤,导致这些酶释放到循环系统中^[14],CCl₄

在肝实质细胞中积累,并被细胞色素P450代谢成三氯甲烷自由基($\bullet\text{CCl}_3$)和三氯甲烷过氧自由基($\text{CCl}_3\text{OO}\bullet$),导致膜脂过氧化、细胞坏死,最后导致肝损伤^[15]。因此,氧化应激被认为是 CCl_4 毒性的主要机制。

金线莲多糖对 CCl_4 诱导的急性肝损伤具有保护作用,可显著降低血清中ALT、AST和三酰甘油(triglyceride, TG)水平,抑制肝脏丙二醛(malondialdehyde, MDA)的形成,并显著增强了肝组织中抗氧化酶活性,如谷胱甘肽(glutathione, GSH)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase)^[16],显著抑制细胞色素P450亚家族2E1(cytochrome P450 sub family 2E1, *CYP2E1*) mRNA的表达,降低NF- κ B p65的表达,从而阻碍前炎症因子(TNF- α 和IL-6)和趋化因子(MCP-1、MIP-2和KC)的分泌,抑制转化生长因子 β 1(transforming growth factor-beta1, TGF- β 1)的表达和肝细胞凋亡^[17]。

有研究表明,利用液相色谱-质谱联用的代谢组学分析金线莲多糖在 CCl_4 诱导的肝损伤中的保肝机制,在肝组织样本中发现了8种代谢物(缬氨酸、磷酸羟基丙酮酸、磷酸胆碱、鸟氨酸、吡啶、黄嘌呤、尿苷和葡萄糖6-磷酸);在血清和肝组织样本中都观察到1种代谢物(磷酸胆碱),这些内源性代谢产物被认为是金线莲多糖的肝脏保护作用的反应,参与氨基酸代谢、脂质代谢、肠道细菌代谢、能量代谢和甲基化途径,以减轻 CCl_4 导致的肝毒性^[18]。

2.2 对酒精性肝损伤及非酒精性脂肪肝的保肝作用

除 CCl_4 肝损伤有保护作用外,金线莲多糖对酒精性肝损伤及非酒精性脂肪肝均具有保护作用,有研究表明通过酒精性肝损伤的小鼠模型,金线莲多糖可降低小鼠血清ALT和AST的含量,减轻肝细胞损伤程度;升高肝脏中GSH和SOD的含量,有效清除超氧阴离子自由基,阻断氧自由基对细胞造成的损害,并及时修复受损细胞;降低MDA、 H_2O_2 、NO和TNF- α 的含量,防止破坏细胞膜结构,导致细胞肿胀坏死;降低一氧化氮合酶(NOS)的活性,减少NO的产生,避免肝细胞凋亡和坏死,该研究表明了金线莲多糖对酒精性肝损伤小鼠具有保护作用^[19]。

王秋新^[20]研究了金线莲多糖对8周高脂乳剂ig诱发的非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠模型的影响,金线莲多糖可通过减少肝细胞游离脂肪酸的摄入,减轻由于游离脂

肪酸过量产生的毒性作用,缓解肝脂肪异位堆积并改善脂质代谢紊乱及肝脂肪变性。此外,还可通过升高SOD、降低MDA水平,上调线粒体 β 氧化,有效清除自由基及脂质过氧化产物,保护肝线粒体,从而改善机体的脂质过氧化及氧化应激状态,有效逆转NAFLD。

上述研究表明金线莲多糖对 CCl_4 肝损伤、酒精性肝损伤及NAFLD均具有保护作用,其作用机制主要与减轻氧化应激反应、调节肝脏代谢等有关。药在市场上有很好的开发潜力。

3 抗炎

有研究表明中、高剂量金线莲水提取物能显著抑制醋酸诱导的小鼠毛细血管通透性增加,表明其具有抗炎作用^[21]。该研究并未明确金线莲起到抗炎作用的有效成分,但有部分研究已指出金线莲多糖是其抗炎作用的有效成分。有文献报道,在体内实验中,以地塞米松(0.05 mg/kg)为阳性对照,使用金线莲多糖(120 mg/kg)可减轻II型胶原诱导的关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)大鼠的脚掌肿胀的症状,显著降低CIA大鼠的关节炎指数,并改善了炎症细胞的浸润和滑膜组织的破坏;在体外实验中,RAW 264.7细胞与不同浓度的金线莲多糖和脂多糖共孵育的试验表明,金线莲多糖可抑制NO的产生,具有抗氧化活性,其主要通过抑制I κ B和p65的磷酸化来抑制NF- κ B通路的激活,进而下调脂多糖刺激的RAW 264.7细胞白细胞介素(IL)-1 β 和IL-6 mRNA的表达^[22]。也有研究表明,金线莲多糖对小鼠免疫系统以及溶血素水平具有显著影响,可明显提高脾脏、胸腺和吞噬指数,促进小鼠溶血素生成和脾淋巴细胞增殖^[23],增强小鼠免疫功能^[24],并减轻小鼠肝脏损伤后产生的炎症^[25]。上述研究表明,金线莲多糖具有一定的抗炎作用。

4 抗肿瘤

笔者所在的课题组进行了金线莲多糖对肿瘤细胞(如肺癌A549、骨肉瘤143B、大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤pc12、乳腺癌MCF-7、急性白血病H 60、慢性白血病K562、结肠癌SW620、食管癌oe19、肝癌HepG2和神经胶质瘤U251细胞)的体外研究,结果表明金线莲多糖对食管癌oe19细胞的抑制作用最强,半数抑制浓度(IC₅₀)值为(5.67 \pm 0.831) $\mu\text{mol/L}$,荧光分析和流式细胞术结果表明金线莲多糖可诱导食管oe19细胞凋亡及G₂/M期阻滞^[26]。对金线莲多糖的体外抑瘤活性研究表明,其对肝癌SMMC7721细胞,宫颈癌HeLa细胞,肺腺癌spcA1

细胞和人乳癌 Bcap37 细胞具有细胞杀伤活性^[27]。上述研究表明金线莲中药材是非常有前景的抗肿瘤辅助药物。

5 结语

大量的动物实验和临床研究表明了金线莲多糖在降血糖、保护肝脏、抗炎及抗肿瘤等方面均有显著疗效,其作用机制为通过提高肝组织清除自由基的相关酶的活力、抑制脂质的过氧化反应、稳定细胞膜,减轻肝细胞脂肪变性、坏死和炎症细胞浸润程度;增强免疫功能、改善肝脏病理组织学病变;缓解血脂代谢紊乱、改善肝脏脂质代谢及肝脂肪变、修复肝损伤等起作用。

金线莲多糖提取自金线莲,近年来人工种植金线莲产量与品质不断提高^[3],为其新药研发提供了资源保障。本文从抗糖尿病活性、保肝作用、抗炎活性和抗肿瘤活性等方面阐述了金线莲多糖的药理作用及作用机制的研究进展,旨在为名贵中药材金线莲的后续制剂开发、临床研究与应用提供理论基础及文献依据。然而,目前对于金线莲的研究也存在诸多不足之处,部分研究还停留在动物实验及细胞实验,尚未进行临床疗效研究,其作用机制和临床疗效尚未完全明确;如何充分发挥金线莲所具有的药用价值,对其系统药理学研究有待进一步深入。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Shao Q, Wang H, Guo H, Zhou A. Effects of shade treatments on photosynthetic characteristics, chloroplast ultrastructure, and physiology of *Anoectochilus roxburghii* [J]. PLoS One, 2013, 9(2): 859-896.
- [2] Ananthi S, Raghavendran H R, Sunil A G, et al. *In vitro* antioxidant and *in vivo* anti-inflammatory potential of crude polysaccharide from *Turbinaria ornata* (Marine Brown Alga) [J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48(1): 187-192.
- [3] 沈廷明, 黄春情, 刘知远, 等. 林下仿生态种植金线莲的质量标准研究 [J]. 中草药, 2018, 49(2): 450-454.
Shen T M, Huang C Q, Liu Z Y, et al. Study on quality standard of imitation ecological planting *Anoectochilus roxburghii* under forest covering [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2018, 49(2): 450-454.
- [4] Xu Z, Chen X, Zhong Z, et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharides: immunomodulation and potential anti-tumor activities [J]. Am J Chin Med, 2011, 39(1): 15-27.
- [5] Tian T, Prasad N, Jang Y Y. *In vitro* modeling of alcohol-induced liver injury using human-induced pluripotent stem cells [J]. Methods Mol Biol, 2014, 8(1): 18-25.
- [6] Zhang J G, Liu Q, Liu Z L, et al. Antihyperglycemic activity of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharose in diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 164: 180-185.
- [7] Zeng B, Su M, Chen Q, et al. Antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii* [J]. Carbohydr Polym, 2016, 153: 391-398.
- [8] Guo Y, Ye Q, Yang S, et al. Therapeutic effects of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii* on type II collagen-induced arthritis in rats [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 122: 882-892.
- [9] 翁秀华, 王长连, 袁曦, 等. 金线莲对人前列腺癌 PC-3 细胞增殖能力的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2011, 13(2): 1083-1087.
Weng X H, Wang C L, Yuan X, et al. Effect of *Acanthopanax* on the proliferation of PC-3 cells in human prostate cancer [J]. Chin J Hosp Pharm, 2011, 13(2): 1083-1087.
- [10] Ye S, Shao Q, Zhang A. *Anoectochilus roxburghii*: a review of its phytochemistry, pharmacology, and clinical applications [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 209: 184-202.
- [11] Lebovitz H E. Insulin resistance: definition and consequences [J]. Exp Clin Endocrinol Diabet, 2001, 109(2): S135-148.
- [12] Li L, Li Y M, Liu Z L, et al. The renal protective effects of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharose on diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 178: 58-65.
- [13] Liu Z L, Zhang J G, Liu Q, et al. The vascular protective effects of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharose under high glucose conditions [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 202: 192-199.
- [14] Gan D, Ma L, Jiang C, et al. Medium optimization and potential hepatoprotective effect of mycelial polysaccharides from *Pholiota dinghuensis* Bi against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice [J]. Food Chem Toxicol, 2012, 50(8): 2681-2688.
- [15] Guo T T, Xu H L, Zhang L X, et al. *In vivo* protective effect of *Porphyra yezoensis* polysaccharide against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in mice [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2007, 49(2): 101-106.
- [16] Yang Z, Zhang X, Yang L, et al. Protective effect of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide against CCl₄-induced oxidative liver damage in mice [J]. Int J Biol Macromol, 2017, 96: 442-450.

- [17] Zeng B, Su M, Chen Q, et al. Protective effect of a polysaccharide from *Anoetochilus roxburghii* against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 200: 124-135.
- [18] Zeng B, Su M, Chen Q, et al. *Anoetochilus roxburghii* polysaccharide prevents carbon tetrachloride-induced liver injury in mice by metabolomic analysis [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2020, 1152: 122202.
- [19] 杨晓灵. 金线莲多糖对酒精诱导小鼠肝损伤的保护作用及其颗粒冲剂的研制 [D]. 福州: 福建医科大学, 2017.
Yang X L. Protective effect of polysaccharide from *Anopheles nobilis* on liver injury induced by alcohol in mice and preparation of granule granule [D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2017.
- [20] 王秋新. 金线莲多糖提取物对NAFLD调脂保肝作用及机制研究 [D]. 广州: 广东药科大学, 2018.
Wang Q X. Study on the effect and mechanism of polysaccharide extract of *Anoclematis rotundii* on lipid regulation and liver protection of NAFLD [D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2018.
- [21] Lebovitz H E. Insulin resistance: definition and consequences [J]. Exp Clin Endocrinol Diabet, 2001, 109 (2): 135-148.
- [22] Zeng B, Su M, Chen Q, et al. Protective effect of a polysaccharide from *Anoetochilus roxburghii* against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 200: 124-135.
- [23] 张赛男. 金线莲多糖口服液调节免疫功能实验研究 [J]. 实用中医药杂志, 2014, 30(11): 987-988.
Zhang S N. Experimental study on regulating immune function of *lotus polysaccharide* oral liquid [J]. J Pract Tradit Chin Med, 2014, 30(11): 987-988.
- [24] 陈育青, 林艺华, 邹毅辉, 等. 金线莲生药鉴定、活性成分影响因素及药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2020, 42 (8): 2141-2144.
Chen Y Q, Lin Y H, Zou Y H, et al. Progress in the identification, influencing factors of active components and pharmacological effects of *Anoetochilus roxburghii* [J]. Chin Patent Med, 2020, 42(8): 2141-2144.
- [25] Zeng B, Su M, Chen Q, et al. Protective effect of a polysaccharide from *Anoetochilus roxburghii* against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 200: 124-135.
- [26] Yu X L, Lin S E, Huang L Y, et al. Purification of polysaccharide from artificially cultivated *Anoetochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. by high-speed counter current chromatography and its antitumor activity [J]. J Separat Sci, 2017, 40(22): 4338-4346.
- [27] 王常青, 严成其, 王勇, 等. 台湾金线莲多糖的分离纯化及其体外抑瘤活性研究 [J]. 中国生化药物杂志, 2008, 29(2): 93-96.
Wang C Q, Yan C Q, Wang Y, et al. Isolation, purification and *in vitro* antitumor activities of *Anoetochilus formosanus* [J]. Polysacch Chin J Biochem Pharm, 2008, 29(2): 93-96.

[责任编辑 李红珠]