

- [10] Putalun W, Taura F, Qing W, *et al.* Anti-solasodine glycoside single-chain Fv antibody stimulates biosynthesis of solasodine glycoside in plants [J]. *Plant Cell Rep*, 2003, 22: 344-349.
- [11] Bernal A J, Willats W G T. Plant science in the age of phage [J]. *Trends Plant Sci*, 2004, 9(10): 465-468.
- [12] Putalun W, Tanaka H, Shoyama Y. Rapid detection of glycyrrhizin by immunochromatographic assay [J]. *Phytochem Anal*, 2005, 16(5): 370-374.
- [13] Zhu S H, Shimokawa S, Shoyama Y, *et al.* A novel analytical ELISA-based methodology for pharmacologically active saikosaponins [J]. *Fitoterapia*, 2006, 77(2): 100-104.
- [14] Morinaga O, Tanaka H, Shoyama Y. Detection and quantification of ginsenoside Re in ginseng samples by a chromatographic immunostaining method using monoclonal antibody against ginsenoside Re [J]. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci*, 2006, 830(1): 100-104.
- [15] Morinaga O, Fujino A, Tanaka H, *et al.* An on-membrane quantitative analysis system for glycyrrhizin in licorice roots and traditional Chinese medicines [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2005, 383(4): 668-672.
- [16] Tanaka H, Fukuda N, Yahara S, *et al.* Isolation of ginsenoside Rb₁ from *Kalopanax pictus* by eastern blotting using anti-ginsenoside Rb₁ monoclonal antibody [J]. *Phytother Res*, 2005, 19(3): 255-258.
- [17] Lu Z, Massaki T, Shoyama Y, *et al.* Construction and expression of a single chain Fv fragment against pharmacologically active paeoniflorin in *Escherichia coli*, and its potential use in an enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Planta Med*, 2006, 72(2): 151-155.

硒多糖的研究与应用进展

李晓坤, 闫吉昌*, 崔晓莹, 翟玉娟, 石金娥, 闫福成

(东北师范大学化学学院, 吉林 长春 130024)

硒是生命必需的微量元素^[1], 是谷胱甘肽过氧化物酶的主要活性成分, 它可以直接或间接地清除体内氧自由基, 可抑制脂氧化或过氧化, 并能引起过氧化物的广泛分解或还原。某些癌症、肿瘤、心血管疾病、克山病、大骨节病和艾滋病等^[2~4]都与体内缺硒有关。

但是, 硒不能由生物体自主合成, 只能通过外吸收获得。硒在自然界中的存在形式分为无机硒与有机硒 2 种。与无机硒相比, 有机硒因其具有更高的生物活性和更低的毒性而易被生物体吸收利用。有机硒包括硒多糖、硒蛋白、硒核酸等。其中硒多糖又称硒酸酯多糖、硒化卡拉胶(Kappa-Se), 是硒与活性多糖键合的化合物。硒多糖能发挥微量元素硒和多糖的双重功能, 并且活性高于硒与多糖。目前国外多研究有机硒药物的合成及在生物体内的作用和代谢机制, 但对硒多糖的研究较少。而我国的中药中, 大多数都含有多糖甚至硒多糖, 因此研究和应用较多。近年来, 硒多糖在抗氧化、抗肿瘤、免疫调节、抗衰老等发面发挥越来越多的作用。

1 硒多糖的来源与结构

硒多糖一般存在于高等植物、微生物中。硒作为硒多糖的特征性部分^[5], 在硒多糖中的存在形式可能有-SeH 和 R₁SeO₂R₂ 2 种, 其中后者同时含有硒氧单键和硒氧双键。硒多糖在天然植物或微生物中量甚少。在高硒地区的富硒植物中, 所含硒多糖中硒也仅有百分之一。但利用一定的富硒手段如人工胁迫富硒栽培、富硒酵母培养等可以使硒多糖增加。Lisk 等^[6]经过实验证实, 市售大蒜的含硒量小于 0.05 μg/g, 而通过人工富硒培养可达到 0.1~1.355 mg/g。

不仅硒多糖在植物和微生物中量较少, 同时与硒键合的多糖结构复杂, 这都给硒多糖的提取和纯化以及结构分析带

来一定的困难。借助于凝胶色谱和薄层色谱等可进行分离纯化, 借助于紫外、红外和核磁共振等波谱可对硒多糖进行结构验证。已经有很多研究者进行天然硒多糖的提取、分离和利用生物或化学手段进行人工合成的研究, 并取得一定的成果。

1.1 天然硒多糖的提取: 尚德静等^[7]对灵芝菌丝深层富硒培养后, 利用 DEAE-cellulose 柱色谱纯化出 6 种硒多糖, 并对其中的 1 种 SeGLP-1 进行了结构分析。经 Sephadex G-100、聚丙烯酰胺凝胶电泳和紫外光谱分析鉴定, SeGLP-1 为均一组分; 经红外光谱分析, 确定 SeGLP-1 是由 α-糖苷键连接的吡喃多糖。同时, 测得 SeGLP-1 中含硒的量为 1.642 mg/g; 并利用红外光谱、核磁共振、激光拉曼光谱等推断, SeGLP₁ 中 Se 活性中心的可能为 O=Se=O, 即 Se 取代了灵芝多糖 GLP₁ 中甲氧基结构上的甲基, 从而形成了硒氧双键结构。

杨铭等利用 G25-G200 葡萄糖凝胶色谱柱进行过滤, 从湖北高硒地区恩施产的富硒大蒜中提取分离出相对分子质量为 1.5×10⁴ 的大蒜硒多糖, 经高效液相色谱法及纸色谱检验, 其组成化学成分均一, 为甘露聚糖与硒的化合物。药现实验表明, 大蒜硒多糖具有清除活性氧自由基的能力, 对 SiO₂ 引起的细胞损伤有保护作用, 对细胞特异性病变抑制显示出较好的结果, 对人巨细胞病毒形成空斑的抑制率为 38.6%。能阻止高分子蛋白质的形成, 在预防紫外照射对晶状体的氧化损伤有重要的保护作用。

1.2 人工合成: 在保留了硫酸酯多糖的基本构型的情况下, 利用硒取代部分硫制备了硒化角叉菜胶。动物实验表明, 硒化角叉菜胶的生物利用性与生理增益效应均优于亚硒酸钠。刘建林等^[9]对硒化 κ-角叉菜胶进行元素分析、红外光谱、拉

曼光谱及一维、二维核磁共振氢谱和碳谱等方法确定卡拉胶为硒酸酯吡喃半乳糖。

龚晓钟^[10]从黄芪根中提取相对分子质量约为 12 300 的黄芪多糖,将其与氧、氯化硒反应制得含硒量达 14.294 mg/g 的硒化黄芪多糖,经紫外光谱、红外光谱、核磁共振碳谱等验证其结构可能为五元环的亚硒酸酯。

还从湖北恩施箬叶中提取了含硒多糖,并用箬叶多糖与硒化合物反应人工合成了箬叶硒多糖。上述提取和人工合成的硒多糖通过动物实验研究表明,两者均具有直接清除活性氧自由基的能力并能有效地提高血液中的硒和 GPx 的活性,具有明显的免疫增强效应。

2 硒多糖生理活性与应用

活性氧自由基对重要生物分子起损害作用,甚至造成 DNA 链断裂或变异。而硒则对因脂质过氧化产生的自由基具有清除作用。硒多糖兼具硒与多糖的双重功效,在临床或动物实验中已经有较多的应用,下面仅对硒多糖在免疫调节、抗肿瘤、抗氧化以及拮抗重金属等方面的应用进行综述。

2.1 免疫调节功能:随着肿瘤免疫和肿瘤生物治疗研究的不断深入,人们逐渐认识到宿主的免疫功能明显影响肿瘤的生长,并影响到肿瘤患者的治疗和预后。硒具有生物反应调节剂的作用,可增强机体免疫活性细胞的特异性杀伤活性。

徐兵河等^[11]为了研究硒酸酯多糖的促进免疫作用以及对化、放疗的影响,组织了全国多中心随机分组双盲临床试验,发现硒酸酯多糖能显著提高恢复期肿瘤患者 T4 细胞数量及 T4/T8 比值。对化、放疗患者,还表现出降低过高的 T8 细胞数量的作用,IgG、IgA 水平亦显著上升,巨噬细胞吞噬率显著增大。这些结果表明,硒酸酯多糖能明显提高化、放疗及恢复期患者的免疫功能,特别是细胞免疫功能。

赵美英等^[12]为证明香菇硒多糖(Se-LEN)对大鼠免疫调节及促进 T 细胞亚群增殖的作用,通过建立免疫缺陷模型,经 Se-LEN 干预,采用流式细胞术观察 T 细胞亚群等的变化。结果表明,Se-LEN 对淋巴细胞等的增殖有明显的促进作用,脾指数、胸腺指数明显增加。认为 Se-LEN 具有增强细胞免疫调节功能。

胡群宝等^[13]研究了螺旋藻中的硒多糖(SePS)对肿瘤细胞抑制和对小鼠免疫功能的影响。发现 SePS 对肿瘤细胞的抑制率大于相同剂量的多糖,对靶细胞的杀伤率达到 33.2%。

李莉莉等^[14]通过对 98 例癌症病人服用硒酸酯多糖治疗前后的效果对照表明,癌症病人的红细胞 C3b 受体花环率、红细胞 Ic 花环率、自然肿瘤红细胞花环率、协同肿瘤红细胞花环率、直向肿瘤红细胞花环率均有显著性差异,红细胞调节因子促进率、红细胞调节因子抑制率、促进肿瘤红细胞花环率相差显著,提出硒酸酯多糖有增强肿瘤患者红细胞免疫黏附肿瘤的能力。

2.2 抗肿瘤作用:硒多糖经人或动物吸收和代谢后^[15],能提高免疫能力和抗氧化能力,通过提高氧化酶活性发挥清除自由基的功能,使脂质过氧化损伤降低,从而减轻活性氧自由基对免疫系统的损伤,抵抗癌细胞。虽然硒多糖不能对所

有的肿瘤有明显作用,但对肝癌、肺癌、乳腺癌、前列腺癌等的疗效已经被实验所证实。

Clerk 随机选取 1 312 例正常人,以 20 $\mu\text{g}/\text{d}$ 的剂量持续供给 4-5 年后发现,补硒能降低肺癌、前列腺癌等的发病率和死亡率近 50%。Clement^[16]在接种乳腺癌细胞的小鼠实验中发现,富硒大蒜(大蒜硒多糖为主要成分)抑制乳腺癌细胞增殖率为 66% 以上,效果为富硒酵母的 2 倍。何更生等^[17]认为硒多糖抑制乳腺癌细胞增殖的机制可能与硒多糖对表皮生长因子受体和癌基的表达水平的调节有关。刘珊林等^[18]在人肝癌细胞株培养液中,加入一定浓度的硒多糖,发现其能抑制肝癌细胞增殖,并促使细胞凋亡。认为可能与其能增强抗氧化活性、阻遏自由基对癌细胞增殖的介导及促进 NO 释放增加有关。吴兴等^[19]通过 MT 法检测细胞活力,荧光显微镜、扫描电镜观察凋亡细胞形态,流式细胞仪分析凋亡峰及细胞周期等,研究硒多糖对骨肉瘤细胞的诱导凋亡作用。根据作用的时间与浓度同细胞生长曲线成正相关的结果得出结论,硒酸酯多糖可在体外诱导人骨肉瘤细胞凋亡。

2.3 抗氧化、清除自由基作用:芮立新等^[20]将硒多糖作用于 60 例肿瘤病人,观察其对肿瘤患者体内过氧化脂质(LPO)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性的影响,发现肿瘤病人摄入适量(400 $\mu\text{g}/\text{d}$)的硒酸酯多糖可增加体内 GSH-Px 活性,减轻化疗药物对正常细胞的过氧化损伤。认为硒酸酯多糖作为化疗辅助药物能降低化疗药物对肿瘤患者机体的损害。

张宏莲^[21]通过测定小鼠心、肝、脾、肾的全血脂质过氧化物水平、谷胱甘肽过氧化物酶及超氧化物歧化酶的活性,观察了云芝硒多糖对机体各组织及全血抗氧化能力的影响。结果表明,云芝硒多糖能提高机体各组织的谷胱甘肽过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性,降低脂质过氧化物的量,提示云芝硒多糖能有效的提高机体抗氧化能力,为其防止或减轻脂质过氧化损伤提供了实验依据。

2.4 对铅、汞、砷等重金属的拮抗作用:硒多糖对重金属的拮抗作用主要体现在降低铅、汞、砷等在生物体内的毒性。Das 等^[22]通过实验证明了硒可以促进汞在体内的重新分配,即从肾、神经系统等高敏感器官转移到肌肉组织等低敏感器官。张百岩等^[23]研究木耳硒多糖对大鼠体内铅、汞的拮抗作用。试验表明,硒多糖可增加各组织中的硒量,降低各组织的汞和铅,且效果好于亚硒酸钠。程继忠等^[24]采用体内、外实验方法研究了硒多糖和亚硒酸钠拮抗亚砷酸钠毒性作用机制,认为硒多糖通过增强 GSH-Px 的活性,清除有害的过氧化代谢产物,阻断脂质过氧化链反应,明显拮抗亚砷酸钠对线粒体丙酮酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶活性的抑制,且作用强于亚硒酸钠。

2.5 硒多糖与其他药物的协同作用:以硒与维生素 E(VE)的研究较多。硒作为谷胱甘肽过氧化物酶的组成成分,位于细胞浆内,可有效防止自由基的产生;而 VE 是体内最有效的脂溶性抗氧化剂,保护细胞膜免受过氧化物的损害。有关 VE 和硒在营养学上的相互关系是许多学者研究的重要课题。

Schwarz 等在 1957 年就已经证实了硒与 VE 的协同作用。

张亚非等^[25]观察了 VE 和硒化黄芪多糖对小鼠 S₁₈₀ 肉瘤的抑瘤作用和抗氧化指标的影响,以及两者之间的相互作用。证实同时或分别给予硒化黄芪多糖和 VE 均有提高全血 GSH-Px 活性的功能,而同时给予的抑瘤率更加显著。

3 硒多糖的毒性

硒作为必需微量元素,其生理功能之一是作为体内自由基的清除剂并防止体内氧化损伤。但在不同条件下,硒化物既能清除自由基,又能产生自由基,视其在研究体系内的浓度而定。在较低浓度下,可能以清除自由基为主要倾向,表现出有益的生理反应;而在较高浓度下,则以产生自由基(活性氧)为主,导致毒性作用。硒多糖与无机硒相比,毒性大大降低,但目前还未有硒多糖毒性的定量研究报道,仅有不良反应比无机硒大大降低的描述。

4 展望

在人们遭受越来越多的疾病威胁的今天,寻找和开发无污染、低毒副作用、安全有效的药物越来越为科研工作者所重视。硒多糖作为一种安全有效的免疫反应调节剂,具有毒性小,生物利用度高,药理作用明确等特点^[9],已经用于食品添加剂和作为临床药物用于恢复期肿瘤病人或在化疗时辅助应用。多糖广泛存在于中草药中,资源极其丰富。许多中药多糖本身就是广谱的非特异性免疫促进剂,并且对人体正常细胞无不良效应。而硒与多糖的结合,优化了各自的功效,使其抗肿瘤、免疫调节等作用更加显著。但是,硒在多糖性的植物或微生物中的量不一,即使是富含硒的植物与微生物中,合成硒多糖的量也极少,目前国内发现或人工合成的硒多糖仅有海藻硒多糖、大蒜硒多糖、黄芪硒多糖、灵芝硒多糖、云芝硒多糖等。因此,对硒多糖资源的开发和利用具有广阔的空间,具有一定的现实意义和重要前景。但是多糖的结构复杂,对硒多糖化学结构的确定以及体内作用机制尚不完全清楚,还有待于进一步的研究。

References:

- [1] Birniger M, Pilawa S, Flohe L. Trends in selenium biochemistry [J]. *Nat Prod Rep*, 2002, 19: 693-718.
- [2] Ip C, Dong Y, Ganther H E. New concepts in selenium chemoprevention [J]. *Cancer Metast Rev*, 2002, 21: 281-289.
- [3] Xu X M, Carlson B A, Grimm T A, et al. Rhesus monkey simian immunodeficiency virus infection as a model for assessing the role of selenium in AIDS [J]. *Acquired Immune Defic Syndr*, 2002, 31: 453-463.
- [4] Tan J A, Zhu W Y, Wang W Y, et al. Selenium in soil and endemic diseases in China [J]. *Sci Total Environ*, 2002, 284: 227-235.
- [5] Huang Z, Zheng W J, Guo B J, et al. Research progress on Se-containing biomacromolecules [J]. *J Hainan Univ: Nat Sci* (海南大学学报:自然科学版), 2001, 19(2): 169-175.
- [6] Lisk D J. Efficacy of cancer prevention by high selenium-garlic is primarily dependent on the action of selenium [J]. *Carcinogenesis*, 1995, 16: 2649-2652.
- [7] Shang D J, Wang X J, Xu Y T, et al. Separation, purifica-

- tion and analysis of selenium activity structure of SeGLP-1 [J]. *Acta Edulis Fungi* (食用菌学报), 2002, 9(1): 22-27.
- [8] Yang M, Wang M Y, Hu Q Y. Inhibition of lens damages induced by UV irradiation by Se-containing garlic polysaccharide [J]. *Illumin Eng* (照明工程学报), 1995(12), 21-24.
- [9] Liu J L, He X X, Chen H. Kappa-selenocarrageenan and its applications in food industry [J]. *Beve Fast Frozen Food Ind* (冷饮与速冻食品工业), 2003, 9(3): 27-29.
- [10] Gong X Z. Investigation on selenoatranganlan [J]. *J Shenzhen Univ: Sci Eng* (深圳大学学报:理工版), 1996, 13(3-4): 68-75.
- [11] Xu B H, Song X M, Sun Y, et al. Reports on phase I clinical trial of κ -selenocarrageenan in cancer patients [J]. *J Chin New Med* (中国新药杂志), 1998, 7(4): 258-261.
- [12] Zhao M Y, Cai W D, Xiao Z J. The research on Se-lentinan's intervention to SD rat's immunodeficiency [J]. *China Public Health* (中国公共卫生), 2000, 16(10): 901-902.
- [13] Hu Q B, Guo B J. Analysis of spirulina-selenium polysaccharide improvement on mice immunological competence [J]. *China J Mar Drugs* (中国海洋药物杂志), 2001, 5: 18-20.
- [14] Li L L, Sun J M, Huang M H. Kappa-Selenocarrageenan on influences of tutor cell immunity and a just function to cancer suffers [J]. *J Commun Med* (社区医学杂志), 2004, 2(1): 12-14.
- [15] Shang D J, Li Q W, Cuo Q, et al. Study on antioxidative and antitumor effect of selenium containing polysaccharide in ganoderma lucidum in mice [J]. *Acta Nutri Sin* (营养学报), 2002, 24(3): 249-251.
- [16] Ip C, Birringer M, Block E, et al. Chemical speciation influences comparative activity of selenium-enriched garlic and yeast in mammary cancer prevention [J]. *Agric Food Chem*, 2000, 48: 2062-2070.
- [17] He G S, Cheng Z, Lu R F, et al. Studies on biological effects of Kappa-selenocarrageenan on human breast cancer cell line BcaP-37 [J]. *Chin J Prev Med* (中华预防医学杂志), 1997(3), 31(2): 103-105.
- [18] Liu S L, Shi D Y, Pan X H, et al. Study on effects of Se on apoptosis of hepatoma cell [J]. *Acta Biophys Sin* (生物物理学学报), 1998, 14(3): 553-557.
- [19] Wu X, Chen Z Y, Chen Z W. Effect of Kappa-selenocarrageenan inducing apoptosis of oste osarcoma cell line *in vitro* [J]. *Chin J Cancer Prev Treat* (肿瘤防治杂志), 2004, 11(9): 927-930.
- [20] Rui L X, Zhou Y X, Mei W D, et al. Antagonistic effects of kappa-selenocarrageenan on the lipid peroxidation induced by chemotherapy in the patients with cancer [J]. *Trace Elements Health Res* (微量元素与健康研究), 1998, 15(1): 21-23.
- [21] Zhang H L, Fu Z D, Chen W R. Effect of Se-PSK on antioxidant capacity in deferent tissue and blood of mice [J]. *J Shanghai Jiaotong Univ: Agric Sci* (上海交通大学学报:农业科学版), 2001, 19(3): 92-94.
- [22] Das K, Jacob V, Bouquegneau J M. White-sided dolphin metallothioneins: purification, characterisation and potential role [J]. *Comp Biochem Physiol Part C*, 2002, 131: 245-251.
- [23] Zhang B Y, Zhang T Y, Wang L, et al. Selenium-enriched auricularia auricula: cultivation and extraction of selenium polysaccharide [J]. *Agri-environm Protect* (农业环境保护), 2002, 21(4): 309-313.
- [24] Cheng J Z, Wu H Q, Song R K, et al. The antagonism and mechanism of selenium compounds mitochondrial enzymes in rats [J]. *Acta Univ Med Tongji* (同济医科大学学报), 1996, 25(2): 119-122.
- [25] Zhang Y F, Wu F L, Zhang M Z. Interaction between Vitamin E and Se- astragalus membranaceus polysaccharide on the effects of tumor inhibition on S₁₈₀ in mice [J]. *Cancer* (癌症), 1996, 15(3): 193-194.