

枸杞多糖的提取纯化与分子结构研究进展及产业化开发现状与前景分析

张芳¹, 郭盛¹, 钱大玮¹, 张霞², 张文华³, 段金庵^{1*}

1. 南京中医药大学药学院 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心/国家中医药管理局中药资源循环利用重点研究室, 江苏 南京 210023
2. 宁夏医科大学药学院, 宁夏 银川 750021
3. 宁夏百瑞源枸杞产业发展股份有限公司, 宁夏 银川 750299

摘要: 枸杞为我国传统药食两用名贵中药材, 枸杞多糖为枸杞功效发挥的主要物质基础, 生物学活性丰富, 产业化开发利用前景广阔。对近年来枸杞多糖提取纯化、结构分析研究领域的新方法、新技术的应用进行系统综述, 总结目前枸杞多糖的研究现状及发展态势, 并对枸杞多糖产业化开发的潜在产品群和产业化前景进行分析和展望, 以期对枸杞多糖的深入系统研究、枸杞资源的有效开发利用及中国枸杞资源产业链的有效提升提供科学参考。

关键词: 枸杞; 枸杞多糖; 提取纯化; 分子结构; 产业化开发

中图分类号: R284; R288 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)03-0424-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.03.002

Research progress on extraction, purification, and molecular structural elucidation of active polysaccharide from *Lycii Fructus* and analysis on its industrial development status and prospect

ZHANG Fang¹, GUO Sheng¹, QIAN Da-wei¹, ZHANG Xia², ZHANG Wen-hua³, DUAN Jin-ao¹

1. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, State Administration of Traditional Chinese Medicine Key Laboratory of Chinese Medicinal Resources Recycling Utilization, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
2. School of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750021, China
3. Ningxia Bairuiyuan Wolfberry Industry Development Co., Ltd., Yinchuan 750299, China

Abstract: *Lycii Fructus* is a precious traditional medicinal and edible herb with multifunction, in which polysaccharide is believed to be a predominant active substance with multifarious biological functions and broad utilization prospect. In this review, the new technology application in extraction, purification, and structural elucidation of *Lycii Fructus* polysaccharide was systematically untangled, the current research situation and development trend were outlined, and the potential product groups and industry prospect in *Lycii Fructus* polysaccharide industrialization were analyzed to provide scientific reference for the enhancement of effective utilization and industrial chain of *Lycii Fructus* resources.

Key words: *Lycium barbarum* L.; *Lycii Fructus* polysaccharide; extraction and purification; molecular structure; industrial development

枸杞 *Lycii Fructus* 属茄科多年生灌木植物枸杞 *Lycium barbarum* L. 的成熟干燥果实。枸杞色彩鲜艳悦目, 品之香甜可口, 历来都是备受青睐的餐桌美食和滋补佳品。枸杞味甘、性平, 归肝、肾经,

具有益精明目、滋补肝肾、养阴润肺、补虚益精等功效, 《神农本草经》将之列为上品。《本草汇言》载: “枸杞能使气可充, 血可补, 阳可生, 阴可长, 火可降, 风湿可去, 有十全之妙用焉”。

收稿日期: 2016-10-12

基金项目: 江苏省高校中药资源产业化过程协同创新中心建设专项(012092002001-10); 江苏省高校中药学优势学科 II 期建设项目(2014-ysxk)

作者简介: 张芳(1973—), 女, 河北泊头人, 博士, 讲师, 主要研究方向为中药生物技术。E-mail: fangzhang@njucm.edu.cn

*通信作者 段金庵, 教授, 博士生导师, 中国自然资源学会中药及天然药物资源研究专业委员会主任委员, 中国中药协会中药资源循环利用专业委员会主任委员, 研究方向为中药资源化学与资源循环利用。Tel: (025)85811291 E-mail: dja@njucm.edu.cn

现代研究显示,枸杞子中的多糖类物质为其功效发挥的主要物质基础之一,具有调节免疫、抗氧化及抗衰老、保肝、降血压、降血糖、调血脂、增强细胞活性等生物学功能,是目前枸杞和多糖研究领域内的热点之一^[1]。本文就枸杞多糖提取纯化、结构分析研究领域的新方法、新技术的探索性应用进行综述,总结枸杞多糖研究开发现状及发展态势,并对枸杞多糖的产品开发和产业化前景进行分析和展望,以期对枸杞多糖类的深入系统研究及我国枸杞资源的有效开发利用提供科学参考。

1 新方法、新技术在枸杞多糖提取和纯化中的应用

枸杞多糖的生物活性备受关注,但其结构复杂、相对分子质量高无法依靠人工合成手段获得,而且提取难度大,提取方法和纯化工艺尚未形成固定模式。因此,基于提取效率、成本、活性等多方面的考虑,在不破坏枸杞多糖天然结构的基础上,不断探索和完善新的提取与纯化手段,进行各种方法的开发、比较和分析,改善提纯效果,以期获得节能高效、简便易行的提取与纯化工艺,使枸杞多糖的制备向绿色、高效、节能的方向发展,仍然是枸杞多糖研究工作的焦点之一。

1.1 枸杞多糖提取新方法、新技术

枸杞多糖提取过程可大致分为预处理(脱脂、单糖及低聚糖)、多糖浸提和醇沉等几个阶段。传统水提醇沉技术虽然简便易行,但提取温度高、周期长、能耗高,多糖得率低,且产品易由于长时间蒸煮而发生褐变,其他多种水溶性小分子物质溶出也导致多糖纯度下降^[2]。近年来,随着学科的不断渗透和交流,一些新兴方法和技术手段在枸杞多糖的提取纯化中发挥着重要作用,为枸杞多糖的纯化提供了更加高效有力的支持。

1.1.1 超声波、微波辅助提取法 作为近年来涌现的植物有效成分提取的新方法,超声波、微波技术在枸杞多糖的提取中表现突出。超声波提取利用超声波辐射压强所产生的强烈空化效应及扰动、加速、击碎和搅拌作用等多级效应,加快多糖释放、扩散和溶解,从而显著提高提取效率,近年来被广泛应用于中药有效成分的提取。微波提取法则是用微波进行样品预处理,利用其波动性和高频特性,同时借助微波的电磁场,加速目标成分进入溶剂,促进提取的进行。两种方法的联合使用,结合超声振动的空化作用以及开放式微波的高能作用,实现了低温常压环境下对固体样品快速、高效、可靠的预处

理。关于这两种技术单独或联合应用于枸杞多糖提取的报道较多,相比较传统水提醇沉方法,时间短、室温操作、提取效率可提高10%~40%^[3]。

1.1.2 酶提取法 在传统溶剂提取法的基础上,利用酶的高度专一性,通过选择合适的酶,分解或降解枸杞细胞壁纤维素结构,使细胞壁软化、膨胀和崩溃,从而释放壁内的多糖而达到提取枸杞多糖的目的,是近年来备受关注的提取方法^[4]。这种方法反应条件温和、作用迅速、反应过程明确易控,同时由于酶的底物专一性可避免对目的多糖的破坏。目前常用纤维素酶、果胶酶和木瓜蛋白酶等酶制剂来提取枸杞多糖^[5-6]。值得注意的是,有研究者将以上多种方法进行整合,以期收获更好的提取效果。Liu等^[7]将脱脂后的枸杞先进行超声处理后,再用纤维素酶提取,经条件优化后获得的多糖达原料的6.3%。

1.1.3 高压脉冲电场提取技术 高压脉冲电场提取技术是目前公认的世界研究最热门、最先进的最新提取技术之一,目前在天然活性物质包括多糖分子的提取中正逐步推广使用。它利用脉冲电场产生磁场,细胞壁和细胞膜在脉冲磁场和脉冲电场交替作用下瞬间发生破坏,使细胞组分流。与传统的提取法比较而言,高压脉冲电场提取技术操作时间短、有效成分提取率高、试剂损耗低,为高压脉冲电场在中药的开发和利用方面奠定了基础。高压脉冲电场提取技术在枸杞多糖提取中的应用也有零星报道,但还没有与其他提取方法的对比数据^[8]。

1.1.4 微生物发酵法 某些特殊微生物因其特殊而精细的环境调节系统,在联合中药活性成分提取手段应用时,不但可以提高有效成分的吸收和利用、或产生新化合物、减毒增效,还可大幅提高有效成分的提取率。如有人借助发酵技术,在枸杞浸泡液中添加酵母菌,利用酵母菌的生长发酵消耗浸提液中的单糖和小分子寡糖,从而提高枸杞多糖的得率及纯度^[9-10]。

1.1.5 亚临界水提取法 亚临界水提取是一种崭新的提取方法,这种方法通过改变温度和压力,维持亚临界温度下的液态水形式,但使水的极性在较大范围内变化,从而使其能在一个较宽的范围对不同极性的组分具有良好的溶解性,并且可以通过改变温度而实现对样品中的各种成分连续萃取。近年来,亚临界水提取法在枸杞多糖的提取中也有探索性应用。如采用亚临界水提取法在110℃、5MPa

条件下, 枸杞多糖的提取效率比传统热水浸提法提高 30%左右^[11]。尤其是采用超声辅助的亚临界水提取法后, 提取效率可提高 1 倍以上。但是, 亚临界水提取对多种不同极性的组分具有良好的释放作用, 因此获得的粗多糖中各种杂质的比例也有升高, 需要后期进一步纯化去除。

1.2 枸杞多糖纯化新方法、新技术

经以上步骤处理的枸杞粗多糖, 仍含有多种杂质, 需采用多种纯化方法的有序结合除去其中的非糖杂质, 以获得化学组成、分子结构及聚合度相同的均一多糖组分。其中脱蛋白和脱色往往是进行后续纯化的重要前提, 以排除蛋白质及有色物质的干扰。Sevage 法、三氟三氯乙烷法等常见于枸杞多糖的脱蛋白处理, 但均需要反复多次操作, 有时还需配合蛋白水解酶作用, 才能达到较好的效果。而脱色处理一直是困扰枸杞多糖纯化的疑难问题, 即便在前期经乙醇、丙酮-石油醚等多种方法联合脱除色素后, 枸杞粗多糖也往往由于提取条件限制, 呈现出较深的颜色, 影响感官和对各种组分的精确定量。常见报道的脱色方法如活性炭、双氧水^[12]、大孔树脂等^[13], 往往脱色能力差、多糖损失量大, 有些虽然能够产生较为理想的脱色效果, 但同时造成枸杞多糖化学结构改变, 引起多糖失活。

1.2.1 双水相萃取技术 近年来, 双水相萃取技术作为一种重要的新型分离纯化技术, 借助其绿色、高效等特点, 逐渐被应用于天然产物和生物活性物质的萃取及分离, 其中聚合物-盐双水相系统由于良好的相容性和低廉的成本而成为双水相系统中最受欢迎的一种, 在多糖提取纯化领域表现出引人注目的提取效率和纯化效果^[14]。Wang 等^[15]报道了一种采用热敏高聚物和 NaH_2PO_4 组成的双水相系统用于枸杞粗多糖的后处理, 仅经过简单的温控分离后, 即可同时完成较为理想的脱色和脱蛋白过程, 其下相对枸杞多糖的提取率达 96.3%, 而上相可脱去 94.4%的蛋白质及大部分色素类杂质。

1.2.2 色谱纯化技术 枸杞多糖分子结构中含有大量醇羟基及糖醛酸结构, 具有较弱的酸性, 可与离子交换剂发生交联, 因此, 采用 DEAE-纤维素等离子交换色谱结合不同强度的盐溶液进行洗脱, 是很常见的枸杞多糖纯化方法。此外, 根据相对分子质量大小不同进行纯化的凝胶色谱也是枸杞多糖纯化的主力军, 常见 Sephadex、Sephacryl 等凝胶介质纯化的报道^[16]。近年来, 一些模块化、功能化、智能

化设计的色谱纯化系统, 可以提供高速、高载量和自动化的组分收集, 体现出巨大的优势。虽然目前还没有应用于枸杞多糖纯化的报道, 但随着不断推广和完善, 这些系统对于枸杞多糖纯化也必将提供更为精密可控的效果。

1.2.3 滤膜辅助纯化技术 基于膜表面机械筛分、膜孔阻滞综合效应的超滤、纳滤分离技术, 根据多糖相对分子质量特性, 通过选用不同截留相对分子质量范围的滤膜可以分离得到不同相对分子质量、不同组成的多糖组分, 为研究多糖不同成分与多糖活性的关系奠定了基础。而且滤膜可多次循环使用, 是新的产业研究方向^[17]。有研究采用微滤和超滤相结合的方法, 将枸杞多糖粗提液中的小分子去除后, 又用不同相对分子质量截留值的超滤膜将枸杞多糖分成几个相对单一的多糖, 制备得到均一的多糖组分^[18-19]。

1.3 我国枸杞多糖专利提取纯化技术分布分析

专利的数量及发展变化趋势可以体现一个国家或地区的技术发展脉络。为勾勒目前我国枸杞多糖提取纯化的技术分布和应用研究现状及发展态势, 本课题组对我国近 10 年来已经公开的枸杞多糖专利文献中涉及提取纯化技术的部分进行信息采集和数据分析, 其中所体现的发展路线和技术分布情况如图 1 所示。

由图 1 可见, 我国关于枸杞多糖提取纯化的专利最早出现于 2005 年, 直至 2012 年之前, 相关专利数量稀少, 每年仅 1~2 项专利申请, 2012 年起有明显的数量增长。除高压脉冲电场提取技术外, 上述各种提取纯化技术在专利文献中均有出现, 其中申请量较多的提取技术主要是传统水提法, 超声波、微波辅助提取法和酶提取法, 而发酵法和亚临界水提取法分别有 2 项专利涉及。这说明目前传统水提法在枸杞多糖的提取过程中仍受到较多认可, 但新方法和新技术在枸杞多糖提取过程中的应用也呈现出较为蓬勃的发展态势, 这与其他种类天然资源植物多糖的提取现状一致。而在涉及纯化技术的专利中, 滤膜法受到较多关注, 这与其方便快捷、易于产业化的优点密不可分。

经过多年的实践, 枸杞多糖的提取纯化技术得到了充分发展, 尤其是科技进步逐步推动各种学科之间的交叉和合作, 使得在枸杞多糖制备中可利用的科技资源和渠道越来越丰富, 方法也逐渐趋向高效、便捷。但必须指出的是, 目前枸杞多糖的提取

年份	水提法	超声波微波法	酶提法	发酵法	亚临界水提法	双水相萃取法	色谱法	滤膜法
2005			1	1				
2006								
2007			2					
2008		1						
2009								
2010		1						
2011		2						
2012	2		1		1	1	1	2
2013	4	1	1					2
2014	1	4	3	1	1	1	1	
2015	1	3	3			1	2	2
合计	8	12	11	2	2	3	4	6

图 1 我国近 10 年来枸杞多糖提取纯化专利技术分布

Fig. 1 Domestic patents distribution of extraction and purification technology for *Lycii Fructus polysaccharide* in recent 10 years

纯化还存在许多不足，尚无公认合理有效的提取纯化方法，因此，科学合理地综合运用各种提取纯化技术，获得活性高、纯度高的枸杞多糖产品，仍是今后枸杞多糖研究工作的焦点之一。如在枸杞多糖的提取过程中，可以结合 2 种或 2 种以上提取方法的优势，形成新型的集成化提取模式；在分离纯化过程中，可以充分开发和应用以串联色谱为代表的组合纯化技术，以获得高活性的单组分枸杞多糖，推动枸杞多糖产业化发展。

2 新方法和新技术在枸杞多糖结构分析中的应用

解析枸杞多糖的结构是进行枸杞多糖构效关系研究的基础，对于深入理解其生理功能的作用机制，以及深度利用和开发枸杞多糖具有重要意义^[20]。传统的糖类化学结构分析方法包括 HPLC、GC、高碘酸氧化、Smith 降解和甲基化分析等，仅能提供枸杞多糖结构的初步信息，包括相对分子质量分布、单糖组成及比例、糖环形式（吡喃环或呋喃环）、单糖残基类型及糖苷键连接位点、糖苷取代的异头异构形式等。这些初步的结构分析发现，枸杞多糖是一种结构复杂的酸性杂多糖同多肽或蛋白质构成的复合多糖，根据枸杞来源及分离纯化方法不同，其相对分子质量的差异很大，从 $4 \times 10^3 \sim 2.5 \times 10^5$ ^[21-22]。组成单糖也各不相同，主要以阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖、甘露糖、木糖、鼠李糖等单糖和各种糖醛酸等的报道较为常见^[23]。经不同的纯化方法，可将枸杞多糖进一

步纯化成若干个组分^[24]。其糖苷键存在 β -型糖苷键和 α -构型的吡喃糖和呋喃糖。近年来，一些新的方法和技术在枸杞多糖结构研究中发挥了重要作用。尤其是现代色谱技术的进步，使得枸杞多糖的结构解析逐渐由传统化学手段向现代色谱手段过渡，并取得了一些显著进展。

2.1 荧光基团标记的糖电泳

将糖链分子的还原端羰基进行荧光基团的衍生化标记后，再进行聚丙烯酰胺凝胶电泳，借鉴了蛋白质电泳分析的设备和方法，可以进行多个糖链样品的对照研究，尤其是与酶解方法结合后，可以方便、快速、灵敏地对糖链结构进行分析。近几年，澳门大学通过基于荧光辅助凝胶电泳的糖谱法，根据不同酶定位水解前后枸杞多糖的电泳图谱比较分析，确定了枸杞多糖的主要糖苷键类型^[25]。这一方法如果整合酶解前后生物活性的变化，可以明确与枸杞多糖活性密切相关的糖苷键型，实现多糖活性相关的结构特征分析。

2.2 高效阴离子交换色谱-脉冲安培检测 (HPAEC-PAD) 技术

HPAEC-PAD 是近年来国外刚刚兴起的多糖分析的强有力技术手段。该技术克服了以往糖链分析需要柱前或柱后衍生化的缺点，在强碱性条件下将多糖解离为阴离子，使其与高效薄壳阴离子树脂上的平衡离子发生交换，并通过脉冲安培检测器，检测糖分子结构中的羟基在金电极表面发生氧化反应

产生的电流, 表现为 3 个脉冲电位而提供多糖链的结构信息^[26]。

2.3 质谱 (MS)

质谱技术灵敏度高、重现性好, 能测定不经衍生化的天然糖类结构, 联合不同衍生化处理、同位素标记方法、GC-MC 和 LC-MC 后, 更可提供鲜明可辨的质谱图特征^[27]。尤其是一些新的离子化技术如电喷雾电离 (ESI) 和基质辅助激光解吸电离法 (MALDI) 的出现, 在与 MS 联用时能修复碎片, 使得混合物可以直接检测并获得清晰的分子离子与碎片离子之间的关系^[28]。因此, 近年来 MS 逐渐在多糖的序列分析和结构鉴定研究中体现出重要的推动作用, 成为几乎不可或缺的多糖精细结构解析工具。Sun 等^[2]制备了硫酸酯化枸杞多糖后, 经甲基化糖醇乙酸酯衍生, 采用 GC-MS 检测后, 确定了硫酸化主要的取代位点。Gong 等^[29]和 Wang 等^[30]借助 ESI-MS 技术, 发现经凝胶色谱纯化后的枸杞多糖 LbGp1 是一种具有高度分支结构的复杂多糖, 骨架由重复的 $\rightarrow 6)$ Galp (1 \rightarrow 单位组成, 并在 O-3 位发生由 (1 \rightarrow 3) 连接 -Galp、(1 \rightarrow 4) 连接 -Galp、(1 \rightarrow 2)-连接 -Araf、(1 \rightarrow 3) 连接 -Araf 及 arabinose 组成的分支取代。

2.4 核磁共振 (NMR) 技术

NMR 技术特别是 2D-NMR 目前已经成为多糖类物质结构研究和构象分析的必备手段之一, 逐渐在多糖类结构的光谱解析中起决定性的作用。即便缺乏基础信息, NMR 技术也可获得多糖类化合物最完全的结构信息及其在溶液或固态中的行为^[31]。同时, 应用 NMR 技术还可将样品的 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据与现存数据库信息通过计算机比对, 确定糖类化合物的结构。特别的是, 除了提供基本的结构解析外, NMR 还可以通过某些能量规则进行糖链优势构象的预测, 表现出强大的结构分析能力, 为多糖的精密结构分析带来了革命性变化。

上述任何一项技术都不可能完全解决多糖这一复杂结构的解析工作。因此, 在原有基本结构解析的基础上, 以上新方法、新技术的综合使用十分重要, 并且在枸杞多糖的结构鉴定中发挥了重要作用。Liu 等^[32]借助 HPAEC-PAD、NMR 并整合其他技术, 对纯化后的酸性枸杞多糖进行结构分析, 得到了较为详细的多糖链连接信息, 发现枸杞多糖是由重复的 $\rightarrow 4-\alpha\text{-GalpA-(1}\rightarrow$ 单位形成骨架, 部分区域由 $\rightarrow 4-\alpha\text{-GalpA-(1}\rightarrow$ 和 $\rightarrow 2-\alpha\text{-Rhap-(1}\rightarrow$ 交替连接, 在部分 \rightarrow

$2-\alpha\text{-Rhap-(1}\rightarrow$ 的 C-4 位点, 存在由 $\rightarrow 4-\beta\text{-Galp-(1}\rightarrow$, $\rightarrow 3-\beta\text{-Galp-(}\rightarrow$ or $\rightarrow 5-\alpha\text{-Araf-(1}\rightarrow$ 形成的分支, 而在部分 $\rightarrow 3-\beta\text{-Galp-(1}\rightarrow$ 的 C-6 位上, 又由末端 $-\alpha\text{-Araf}$ 、末端 $-\alpha\text{-Galp}$ 或 $\rightarrow 3-\beta\text{-Araf-(1}\rightarrow$ 形成二级分支。

2.5 其他方法

近年来, 糖组学 (glycomics) 研究技术不断深入, 逐渐有更多的新技术渗透至多糖结构解析研究工作中。如对于无法形成单晶的多糖, X 射线纤维衍射可替代常规 X 射线单晶衍射, 进行多糖构型的测定, 再结合计算机模拟技术, 可以从原子水平对多糖分子结构进行分析。此外, 多糖相关生物学平台建设在逐步完善, 一些高可信度的结构注释数据库和注解软件工具已开发并应用于多糖结构的信息处理、归纳分析以及糖链结构检索^[33]。虽然目前还没有枸杞多糖结构的解析实例, 但随着相关技术领域研究工具的不断更新和日趋完善, 枸杞多糖的糖链结构将会得到更加精确的解析, 推动枸杞多糖的深层次和多角度研究开发。

3 枸杞多糖的产品开发现状及产业化应用前景

3.1 枸杞多糖产业化开发的潜在产品群

枸杞是我国重要的药食两用特种经济植物资源, 在我国有着上千年的应用历史。得天独厚的区域生态条件、优良的品种品质、规范的栽培技术及丰富的产品类型等诸多优势条件, 加速带动了我国枸杞产业的飞速发展, 并形成了巨大的无形资产。随着其多重功效的逐步挖掘, 枸杞多糖日渐受到全世界研究者的关注, 为枸杞多糖的产品开发和产业化应用提供了较大的发展空间^[34]。目前, 我国枸杞的综合利用效率不高, 主要以干果形式出售, 产业化产品十分稀少, 市场品种主要有药酒、果汁饮料、枸杞果软糖、枸杞口服液、枸杞胶囊、枸杞籽油等, 仍存在品种单一、附加值低, 产品存在有效成分提取不完全、不具有核心技术价值等问题, 产业链条比较短, 枸杞的天然资源优势未能转化为枸杞产业优势, 尤其是枸杞多糖的产业化开发十分欠缺, 严重制约了产品档次的提升。因此, 在未来相当长的一段时间内, 挖掘我国枸杞资源的深度利用价值, 提高枸杞中多元功效物质尤其是枸杞多糖的利用价值, 加强枸杞多糖基础研究和产业化开发力度, 仍是为枸杞产品开发中的一个重要问题。本课题组前期基于循环经济理念, 结合枸杞多糖的产业利用现状, 构建了枸杞多糖的多途径、多层次潜在产品群开发策略^[35], 其中涉及到多种枸

杞多糖在医药、保健食品、轻工、农牧等多领域的多种可能性开发形式。

3.1.1 药品 目前我国已有香菇多糖、灵孢多糖、茯苓多糖、猪苓多糖、黄芪多糖等药品相继上市(表 1), 灰树花多糖、裂隙葡多糖、牛膝多糖等也陆续进入临床试验阶段。

表 1 我国目前已上市的多糖类药物
Table 1 Polysaccharide drugs launched in China

多糖	批准剂型	厂家数量	应用领域
香菇多糖	注射剂、胶囊、片剂	27	抗肿瘤药物
人参多糖	注射剂	17	抗肿瘤药物
灵杆菌多糖	注射剂	9	风湿疾病及免疫药物
灵孢多糖	注射剂	3	神经系统疾病药物
茯苓多糖	口服液	1	抗肿瘤药物
云芝多糖	胶囊	1	风湿疾病及免疫药物
猪苓多糖	注射剂、胶囊	2	风湿疾病及免疫药物
黄芪多糖	注射剂	1	抗肿瘤药物

相对而言, 枸杞多糖研发速度较为缓慢, 目前尚未能以成熟的药品形式面世, 也无正在进行临床研究的数据报告。但枸杞多糖在抗肿瘤、抗病毒、抗衰老、抗氧化、降血糖及神经保护等多种方面具有活性, 使其具备较大的药物开发潜力和诱人的产业化前景。枸杞多糖不但能以粗多糖、均一多糖形式开发成药品, 经结构修饰或水解后, 还可能被激发出新的活性而具备较高的开发价值。此外, 枸杞多糖还可与其他药物组成药对开发成药品, 或参与某些药物的辅助治疗, 或利用其抗原性等特性而制备成多糖疫苗, 作为抗肿瘤、抗病毒及延缓衰老的药物, 呈现出广阔的应用和开发前景。

3.1.2 保健食品开发 枸杞多糖是增强免疫力、延缓衰老的佳品^[36], 活性广泛但疗效缓慢、持久, 很适合开发成保健食品, 作为临床治疗的调理型辅助药物。枸杞多糖粗提液可加工制成保健酒、口服液、饮料, 也可以作为营养强化剂直接加入食品, 改善食品感官及营养价值, 实现枸杞多糖向功能性食品的转化。很多研究机构都已经意识到枸杞多糖的保健食品开发价值, 如雀巢公司将枸杞多糖类提取物作为抗炎症保健品有效成分申请了相关专利^[37], 我国也有一种以枸杞多糖为主要活性成分的枸杞多糖口服液作为保健食品获得批准文号。此外, 将枸

杞多糖与其他不同来源的天然植物多糖按照功效进行配比组成复合活性多糖, 可协同发挥各活性组分的功效, 是近年功能性食品的重要发展方向。虽然目前还没有枸杞多糖组成的复合活性多糖产品, 但随着提取工艺、药理及临床研究的不断深入, 枸杞多糖类有望在这一领域具有更广阔的开发空间和应用价值。

3.1.3 在农牧生产中的应用 枸杞多糖具有抗病毒和增强免疫的作用, 同时具有“prebiotic”益生元的特性^[38], 能起到调节动物肠道菌群的效果, 是一种有效的益生协同剂, 因此是潜在的天然绿色饲料添加剂, 在农牧生产、水产养殖等行业中具有广阔的应用前景。

3.1.4 其他方面的应用 枸杞多糖具有明显的保护皮肤细胞免受光损害的能力^[39], 同时具有优越的保湿性和吸附性, 因此被认为是优质的功能性化妆品添加剂。如法国欧莱雅公司已申请了将枸杞多糖粗提物作为美颜抗皱复颜补水等高端化妆品的有效添加物的相关专利^[40], 体现出枸杞多糖在日化领域的新用途。此外, 近年来多糖用于环境治理, 代表着该领域新的研究方向, 也是枸杞多糖未来的开发方向之一。

3.2 枸杞多糖产业化开发的主要限制因素

多糖类物质的研究开发已成为 21 世纪生命科学领域最受瞩目的研究热点和新兴产业, 发现和获得了许多具有重要生理活性的多糖类物质, 研究的广度和深度得到了不断扩充。尤其是从天然植物资源中提取的生物活性多糖, 不但契合当下崇尚自然与绿色的消费理念, 而且同时具有增强免疫力^[41]、抗肿瘤^[42]、抗氧化^[43]、调节血糖血脂^[44]等多重功效, 成为当今新药开发的的重要发展方向之一^[45]。我国天然植物资源丰富, 在植物多糖的提取纯化和活性研究方面积累了丰富的经验, 香菇多糖等天然植物多糖药物相继问世, 临床效果显著, 这为枸杞多糖的产业化推广孵化了较大的消费市场。但相对而言, 枸杞多糖的研究和产业化步伐均较为缓慢, 大部分还处于实验研究阶段, 很多理论和实际问题还有待解决, 尚未出现成熟的枸杞多糖产品。分析其中原因, 与以下几方面因素有较大相关性。

3.2.1 枸杞多糖质量控制指标和标准建设有待完善 与核酸和蛋白质的模块化合成过程不同, 生物体内多糖链的生物合成过程十分复杂, 尤其是蛋白聚糖类物质的合成。糖链不是基因表达的直接产物, 而

是在核心蛋白部分合成后,通过糖基转移酶从核苷酸糖上将糖基顺次地装配到已形成的糖链受体上形成的,最终形成的糖链结构受到糖基转移酶的专一性、糖受体的肽链结构及形成异头键能力等多因素的影响。尤为复杂的是,糖链可以终止于生物合成的任何阶段,从而导致糖链结构在微观上的不均一性,即同一种蛋白聚糖中的糖链结构也可以有所不同,蛋白聚糖的糖链结构是不同结构的糖链得到的复合物。这种复杂的不均一性及研究手段的匮乏,对糖链的结构解析提出了挑战,也使得多糖生产过程的质量控制难以确定统一的标准^[46]。目前我国还没有建立以多糖为主要指标成分的质量标准,对个别有关多糖的质量控制内容也比较缺乏评价的依据。《中国药典》2015年版枸杞子药材标准中,仅涉及枸杞多糖的定量测定内容,没有将多糖结构相关的特征性检测指标列入标准,因此鉴别的专属性不强。而且对于枸杞多糖的评价标准仅围绕总多糖的定量测定,在测定中采用葡萄糖为标准品,这与枸杞多糖本身复杂的单糖组成情况相去甚远,影响了测定的可靠性和准确性,使得枸杞多糖的准确定量和质量控制还远不能满足现代药学研究的要求,也阻碍了枸杞多糖的产业化发展进程。

3.2.2 枸杞多糖的提取纯化技术仍需提高 枸杞多糖的提取与纯化是各项研究的基础。在提取及分离纯化过程中,不同的工艺流程对多糖的结构、组成和生理活性等均有较大影响。随着新型技术在枸杞多糖提取中的推广应用,枸杞多糖的得率和纯度都得到了明显的提高,但枸杞多糖本身相对分子质量大、结构复杂、分离纯化难度高,质量难以控制,给研究者带来许多挑战;同时,很多新技术在多糖类物质纯化中的应用仍处于实验室研究阶段,还需经过大量基础研究和放大;此外,枸杞多糖提取的工艺研究多限于验证枸杞多糖的得率、生产周期的优化,鲜见多糖药理活性的保留或增强等关键问题的研究,在一定程度上削弱了提取工艺的合理性,成为阻碍枸杞多糖产业化的一个重要因素。因此,采用合理的技术路线和实验方案,在兼顾生物活性的前提下,将枸杞多糖最大限度地提取出来,并适用于大规模生产,是促进枸杞多糖研究及产业化进程的必由之路。

3.2.3 作用机制和构效关系研究有待加强 枸杞多糖的生物学活性非常广泛,体现在抗肿瘤^[47-48]、免疫调节^[49]、抗氧化和抗衰老^[50]、降血糖^[51]、神

经保护^[52]等诸多方面,这些活性相关的分子机制目前还缺乏科学准确的解释;同时,对于枸杞多糖的活性研究,一般以粗多糖提取物的生物活性研究为主,其中的蛋白质、枸杞色素及寡糖等其他分子等也可能参与了活性的共同发挥;现有文献中少有根据枸杞多糖相对分子质量进行分段后的药效追踪研究,有效部位研究数据十分有限,更缺乏枸杞多糖活性片段、活性中心与多糖活性之间的关系;此外,枸杞多糖在机体内的吸收分布、代谢途径等动态变化也缺乏较为详尽的研究数据。

3.2.4 枸杞多糖与枸杞药材道地性的内在联系尚有待系统阐释 现阶段,我国中药材道地性研究还处在探索阶段,多以古籍记载为主推断药材的道地性,缺乏基础研究的数据积累和应用技术的系统集成^[53]。宁夏枸杞与我国其他各省区广泛分布的枸杞野生居群地理格局及环境差异巨大。宁夏枸杞是一种极其抗旱耐盐碱的逆境指示植物,主要分布在宁夏干旱、盐碱化严重的地区,当地独特的生态和气候环境也被认为是宁夏枸杞道地性形成的重要原因之一。但对枸杞道地性的研究多集中在枸杞栽培育种、加工炮制方法及耐盐性机制等方面的研究,关于道地性对于枸杞多糖的形成和积累、活性影响等方面还未形成系统深入的研究体系,更缺乏道地与非道地枸杞中枸杞多糖结构、活性、稳定性等多方面性质的比较研究,无法充分体现枸杞道地性的特色和优势。因此,建立完善的全面表征道地枸杞药材品质与枸杞多糖相关性的评价标准,规范道地枸杞药材的体系,对于加快枸杞多糖相关研究及产业化具有重要的推动作用。

4 结语

枸杞多糖具有多种生物学活性,具有诱人的开发价值和广阔的市场前景。我国枸杞资源丰富、品质优良,使枸杞多糖的产业化开发具有无可比拟的资源优势。枸杞多糖还可与枸杞内多元资源性小分子物质集成利用开发,具备独特的产品集群优势。枸杞多糖的提取纯化和结构表征分析是枸杞多糖产业化的重要前提,目前已有多种新技术和新方法在枸杞多糖研究中发挥了积极作用,对于推动枸杞多糖纵深研究功不可没。但必须指出的是,枸杞多糖的产业化研究和开发仍然是一个复杂、长期的系统工程,仍然面临着巨大的困难。如目前多糖类物质质量控制指标和标准建设尚不完善,枸杞多糖的提取纯化手段仍不成熟,枸杞多糖生物活性作用机制、构效关系、

枸杞资源道地性与枸杞多糖活性间的相关性仍需更加科学深入的研究等。因此,借助“一带一路”国家发展战略实施的重要契机,引导和推动枸杞及枸杞多糖基础研究及产业化产品开发,建立枸杞多糖高效稳定的分离纯化方法,解除枸杞多糖在研究和应用上的诸多局限,加快枸杞多糖产品研发和产业化步伐,对于提升我国枸杞资源综合利用效率,提升我国枸杞资源产业链具有重要价值。

参考文献

- [1] Zhang X, Li Y, Cheng J, *et al.* Immune activities comparison of polysaccharide and polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum* L. [J]. *Int J Bio Macromol*, 2014, 65: 441-445.
- [2] Sun Y, Sun W, Guo J, *et al.* Sulphation pattern analysis of chemically sulphated polysaccharide LbGp1 from *Lycium barbarum* by GC-MS [J]. *Food Chem*, 2015, 170: 22-29.
- [3] Mendes M, Carvalho A P, Magalhães J M C S, *et al.* Response surface evaluation of microwave-assisted extraction conditions for *Lycium barbarum* bioactive compounds [J]. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 2016, 33: 319-326.
- [4] Kobayashi S. New developments of polysaccharide synthesis via enzymatic polymerization [J]. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2007, 83(8): 215-247.
- [5] 师婷婷. 生物酶与超滤纯化在枸杞多糖和总黄酮提取中的应用研究 [D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2016.
- [6] Zhang J, Jia S, Liu Y, *et al.* Optimization of enzyme-assisted extraction of the *Lycium barbarum* polysaccharides using response surface methodology [J]. *Carbohydr Polym*, 2011, 86(2): 1089-1092.
- [7] Liu Y, Gong G, Zhang J. *et al.* Response surface optimization of ultrasound-assisted enzymatic extraction polysaccharides from *Lycium barbarum* [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 110: 278-284.
- [8] 蔡光华, 王晓玲. 高压脉冲电场提取枸杞多糖工艺 [J]. *食品科学*, 2012, 33(8): 43-48.
- [9] Lin F Y, Lai Y K, Yu H C, *et al.* Effects of *Lycium barbarum* extract on production and immunomodulatory activity of the extracellular polysaccharopeptides from submerged fermentation culture of *coriolus versicolor* [J]. *Food Chem*, 2008, 110: 446-453.
- [10] 曹丽春, 董亮, 王伟. 酵母发酵法纯化枸杞多糖 [J]. *食品工业科技*, 2007, 28(3): 114-116.
- [11] Yang R F, Zhao C, Chen X, *et al.* Chemical properties and bioactivities of Goji (*Lycium barbarum*) polysaccharides extracted by different methods [J]. *J Funct Foods*, 2015, 17: 903-909.
- [12] 黄文书, 杨海燕, 李焕荣, 等. 枸杞多糖的脱色工艺 [J]. *食品研究与开发*, 2008, 29(3): 95-98.
- [13] 鲁晓丽, 刘继婷, 张自萍. 大孔吸附树脂脱除枸杞多糖色素技术研究 [J]. *食品工业科技*, 2014, 35(18): 293-297.
- [14] Tan Z J, Wang C Y, Yi Y J, *et al.* Three phase partitioning for simultaneous purification of aloe polysaccharide and protein using a single-step extraction [J]. *Process Biochem*, 2015, 50(3): 482-486.
- [15] Wang Y, Hu X, Han J, *et al.* Integrated method of thermosensitive triblock copolymer-salt aqueous two phase extraction and dialysis membrane separation for purification of *Lycium barbarum* polysaccharide [J]. *Food Chem*, 2016, 194: 257-264.
- [16] Zheng C P, Dong Q, Chen H J, *et al.* Activation of macrophages by polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum* L. [J]. *Int Immunopharm*, 2008, 8: 1663-1671.
- [17] Delcroix C, Bonnet J P, Etienne M, *et al.* Filtration of pharmaceutical polysaccharides: from the mass transfer to the industrial development [J]. *Procedia Eng*, 2012, 44: 768-771.
- [18] Tang H L, Chen C, Wang S K, *et al.* Biochemical analysis and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Lycium barbarum* L. [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 77: 235-242.
- [19] 张民, 唐秀丽, 王芳. 枸杞多糖的超滤分级及理化性质的研究 [J]. *中国食品添加剂*, 2013(1): 67-71.
- [20] Lu S P, Zhao P T. Chemical characterization of *Lycium barbarum* polysaccharides and their reducing myocardial injury in ischemia/reperfusion of rat heart [J]. *Int J Biol Macromol*, 2010, 47(5): 681-684.
- [21] 徐惠平, 施松善, 金红英, 等. 枸杞多糖 LBP-II-b 的分离与结构表征研究 [J]. *上海中医药杂志*, 2013, 47(1): 74-80.
- [22] Zou S, Zhang X, Yao W, *et al.* Structure characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Lycium barbarum* L. [J]. *Carbohydr Polym*, 2010, 80: 1161-1167.
- [23] Zhao R, Jin R, Chen Y, *et al.* Hypoglycemic and Hypolipidemic effects of *Lycium barbarum* polysaccharide in diabetic rats [J]. *Chin Herbal Med*, 2015, 7(4): 310-315.
- [24] Ke M, Zhang X J, Han Z H, *et al.* Extraction, purification of *Lycium barbarum* polysaccharides and bioactivity of purified fraction [J]. *Carbohydr Polym*, 2011, 86(1): 136-141.
- [25] Lv X, Long Z, Zhao J, *et al.* Characterization and comparison of polysaccharides from *Lycium barbarum* in China using saccharide mapping based on PACE and HPTLC [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 134: 12-19.
- [26] Eibinger M, Ganner T, Bubner P. Cell wall polysaccharides of Chinese Wolfberry (*Lycium barbarum*): Part 1. Characterisation of soluble and

- insoluble polymer fractions [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(52): 35929-35938.
- [27] Zhu M Y, Mo J G, He C S, et al. Extraction, characterization of polysaccharides from *Lycium barbarum* and its effect on bone gene expression in rats [J]. *Carbohydr Polym*, 2010, 80(3): 672-676.
- [28] Meitei N S, Apte A, Snovida S I, et al. Automating mass spectrometry-based quantitative glycomics using aminoxy tandem mass tag reagents with SimGlycan [J]. *J Proteomics*, 2015, 127(Part A): 211-222.
- [29] Gong G, Fan J, Sun Y, et al. Isolation, structural characterization, and antioxidant activity of polysaccharide LBP5-A from *Lycium barbarum* leaves [J]. *Process Biochem*, 2016, 51(2): 314-324.
- [30] Wang Z, Liu Y, Sun Y, et al. Structural characterization of LbGp1 from the fruits of *Lycium barbarum* L. [J]. *Food Chem*, 2014, 159: 137-142.
- [31] 林 慧, 冯 云, 颜春荣, 等. 糖类化合物的分析方法研究进展 [J]. *食品与药品*, 2014, 16(6): 448-452.
- [32] Liu W, Liu Y M, Zhu R, et al. Structure characterization, chemical and enzymatic degradation, and chain conformation of an acidic polysaccharide from *Lycium barbarum* [J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 147: 114-124.
- [33] Cummings R D, Pierce J M. The challenge and promise of glycomics [J]. *Chem Biol*, 2015, 21(1): 1-15.
- [34] 黄 莉. “一带一路”机遇下枸杞产业发展布局重点任务研究 [J]. *青海民族研究*, 2016, 27(3): 94-97.
- [35] 张 芳, 郭 盛, 钱大玮, 等. 基于国内外专利分析的枸杞多糖资源产业化途径及策略 [J]. *中国中药杂志*, 2016, 43(23): 4285-4291.
- [36] Yi Y, Liu X M, Dong Q. A study of *Lycium barbarum* polysaccharides (LBP) extraction technology and its anti-aging effect [J]. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2013, 10(4): 171-174.
- [37] 马运运, 丹 阳, 孙志一, 等. 从发明专利视角分析枸杞子开发现状 [J]. *中国现代中药*, 2016, 18(5): 541-546.
- [38] 于 莲, 马丽娜, 马淑霞, 等. 纳米枸杞多糖合生元靶向微生态调节剂的制备及质量研究 [J]. *中国微生物学杂志*, 2012, 24(7): 590-593.
- [39] Liang B, Jin M L, Liu H B. Water-soluble polysaccharide from dried *Lycium barbarum* fruits: Isolation, structural features and antioxidant activity [J]. *Carbohydr Polym*, 2011, 83: 1947-1951.
- [40] 伊莎贝尔·卡斯提尔, 欧特瑞·古昂斯. 枸杞提取物用于保持和/或恢复皮肤张力和/或紧致的用途: 中国, CN 200880122908. 7 [P]. 2009-04-21.
- [41] Li J Y, Li J Y, Zhang F C. The immunoregulatory effects of Chinese herbal medicine on the maturation and function of dendritic cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 17: 184-195.
- [42] Shao P, Pei Y P, Fang Z X, et al. Effects of partial desulfation on antioxidant and inhibition of DLD cancer cell of *Ulva fasciata* polysaccharide [J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 65: 304-313.
- [43] Lin H H, Charles A L, Hsieh C W, et al. Antioxidant effects of 14 Chinese traditional medicinal herbs against human low-density lipoprotein oxidation [J]. *J Tradit Comp Med*, 2015, 5: 51-55.
- [44] Cai W R, Xie L L, Chen Y, et al. Purification, characterization and anticoagulant activity of the polysaccharides from green tea [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 92: 1086-1090.
- [45] Liu J, Willfo S, Xu C. A review of bioactive plant polysaccharides: biological activities, functionalization, and biomedical applications [J]. *Bioact Carbohydrates Diet Fibr*, 2015, 5(1): 31-61.
- [46] 张永文. 中药多糖成分的质控及评价要点 [J]. *中国新药杂志*, 2015, 24(3): 260-264.
- [47] Zhang M, Tang X, Wang F, et al. Characterization of *Lycium barbarum* polysaccharide and its effect on human hepatoma cells [J]. *Int J Biol Macromol*, 2013, 61: 270-275.
- [48] 张鸣号, 王秀玉, 王秀梅, 等. 枸杞多糖对小鼠移植性肝癌抑制作用的实验研究 [J]. *中草药*, 2012, 43(6): 1142-1146.
- [49] Zhang X R, Qi C H, Cheng J P, et al. *Lycium barbarum* polysaccharide LBPF4-OL may be a new Toll-like receptor 4/MD2-MAPK signaling pathway activator and inducer [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 19(1): 132-141.
- [50] Zhao Q S, Dong B T, Chen J J, et al. Effect of drying methods on physicochemical properties and antioxidant activities of wolfberry (*Lycium barbarum*) polysaccharide [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 127: 176-181.
- [51] Zhu J, Liu W, Yu J P, et al. Characterization and hypoglycemic effect of a polysaccharide extracted from the fruit of *Lycium barbarum* L. [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 98(1): 8-16.
- [52] Bai R, Ma N T, Wang Y S, et al. Protective effects of *Lycium barbarum* polysaccharide on rat hippocampal neurons injured by oxygen-glucose deprivation and reperfusion [J]. *Chin Pharmacol J*, 2014, 48(20): 1728-1734.
- [53] 郑春松, 付长龙, 叶蕙芝, 等. 关于全国药材道地性评价共识指南制定方法的提议与思考 [J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(6): 2045-2047.