

金钗石斛多糖提取分离、结构解析及生物活性研究进展

代国娜¹, 尚明越¹, 王嘉乐¹, 郑加梅¹, 徐福荣², 宋经元³, 段宝忠^{1*}

1. 大理大学药学院, 云南 大理 671000

2. 云南中医药大学中药学院, 云南 昆明 650504

3. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193

摘要: 金钗石斛 *Dendrobium nobile* 为传统中药材, 具有益胃生津、滋阴清热等功效。系统总结了近年来金钗石斛多糖的提取分离、结构解析及生物活性的研究进展, 发现其主要活性成分为多糖, 提取方法主要有水提取、有机溶剂提取、超声波辅助提取、微波辅助提取和酶提取法等; 多糖的单糖组成丰富, 主要由阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖和甘露糖组成, 还含有鼠李糖、甘露糖、木糖、半乳糖醛酸等; 多糖具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、增强免疫力、保肝等生物活性, 在药品、食品和保健品等方面具有极大的开发利用价值, 今后应进一步加强其多糖提取、纯化方法优化, 多糖高级结构和构效关系解析, 以及关联药效作用机制阐释等方面研究, 以促进金钗石斛多糖在功能性食品和药品中的开发利用。

关键词: 金钗石斛; 多糖; 提取分离; 结构解析; 生物活性

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)12-3821-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.12.029

Research progress on extraction and separation, structure analysis and biological activity of polysaccharides from *Dendrobium nobile*

DAI Guo-na¹, SHANG Ming-yue¹, WANG Jia-le¹, ZHENG Jia-mei¹, XU Fu-rong², SONG Jing-yuan³, DUAN Bao-zhong¹

1. College of Pharmacy, Dali University, Dali 671000, China

2. College of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650504, China

3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

Abstract: *Dendrobium nobile* is a well-known traditional Chinese medicine and has been used for reinforcing the *yin* and protecting the stomach. Research progress on extraction and separation, structure analysis and biological activity of polysaccharides from *D. nobile* were summarized in this paper. Results showed that the polysaccharides were one of the main bioactive components of *D. nobile*. The extraction methods of polysaccharides include water extraction, organic solvent extraction, ultrasonic-assisted extraction, microwave-assisted extraction, and enzyme extraction. They were mainly composed of arabinose, glucose, galactose, mannose, and rhamnose, which exhibit diverse biological activities, such as anti-inflammatory, anti-oxidation, anti-tumor, enhancing immunity, and protecting the liver, etc. Thus, polysaccharides of *D. nobile* have excellent development value in medicine, food, and health products. More attention should be focused on the extraction and purification methods, advanced structures, and structure-activity relationship to provide references for in-depth understanding, exploitation, and utilization of these polysaccharides.

Key words: *Dendrobium nobile* Lindl.; polysaccharides; extraction and separation; structure analysis; biological activity

金钗石斛 *Dendrobium nobile* Lindl. 是名贵药材 具有益胃生津、滋阴清热的功效, 用于热病津伤、
石斛的基原植物之一, 药用部位为新鲜或干燥茎, 口干烦渴、胃阴不足、食少干呕、病后虚热不退、

收稿日期: 2021-11-27

基金项目: 云南省重大科技专项 (202002AA100007); 云南省兴滇英才支持计划项目 (YNWR-QNBJ-2020251); 云南省院士专家工作站 (202205AF150026, 202105AF150053)

作者简介: 代国娜 (1998—), 硕士研究生, 研究方向为中药资源与鉴定。E-mail: 1278804003@qq.com

*通信作者: 段宝忠, 教授, 博士, 研究方向为中药资源与种质创新。Tel: (0872)2257411 E-mail: bzduan@126.com

阴虚火旺、骨蒸劳热、目暗不明、筋骨痿软^[1]。现代研究表明金钗石斛含有多糖、生物碱等多种化合物^[2]，其中生物大分子多糖也是金钗石斛的主要生物活性分子之一，具有免疫调节、抗氧化、抗衰老、抗肿瘤等药理活性^[3-6]。近年来，已有学者对金钗石斛的化学成分和药理作用进行了相关报道^[7-9]，但尚未见对其多糖的提取分离、结构解析和生物活性进行系统报道。鉴于此，本文对近年来国内外金钗石斛多糖提取分离、结构特征和生物活性及其作用机制的研究进行了系统综述，以期对金钗石斛资源的开发利用提供科学参考。

1 金钗石斛多糖的提取和分离纯化

1.1 金钗石斛多糖的提取

金钗石斛多糖的提取方法主要有水提取法、有机溶剂提取法、超声波辅助提取法、微波辅助提取法和酶提取法等^[8]。基于上述提取工艺，多位学者采用单因素与正交试验或响应面法相结合的方式，以苯酚硫酸法检测多糖得率，对金钗石斛多糖的提取工艺进行了优化^[10-13]。研究显示，微波辅助提取法提取率高、提取时间短、耗能小、成本低，更合适

广泛推广和普及，该法与传统水提醇沉法相比可显著提高金钗石斛多糖的提取率，影响金钗石斛多糖得率的因素依次为料液比、提取时间、微波时间^[11]；水提取法操作简单，成本低，应用广泛，一般考察料液比、提取时间、提取温度和提取次数等因素，多采用料液比 1:10~1:52，温度在 59~100 °C，提取时间 1~2.5 h，反复提取后，得粗多糖^[14-18]。有机溶剂提取法中多以乙醚为提取剂，60~100 °C 加热回流 2~3 h 进行提取^[13,19]。超声波辅助提取法利用超声振动的空化、机械粉碎以及热学等作用，破坏药材细胞，加快药材有效成分的溶出，进而达到高效提取的目的^[20]。余芳等^[10]通过正交试验考察超声辅助提取法各因素对金钗石斛多糖得率的影响，明确影响大小依次为料液比、超声时间、温度，并建立了最佳工艺。酶提取法利用酶水解或降解植物细胞壁，增强细胞通透性，从而提高有效成分的提取率^[21]。张晓敏等^[22]对金钗石斛多糖纤维素酶提取工艺进行优化，发现该法的多糖得率比热回流提取法高 43.84%。金钗石斛多糖提取方法的相关参数见表 1。

表 1 金钗石斛多糖提取方法

Table 1 Extraction methods of polysaccharides from *D. nobile*

提取方法	工艺优化方法	优化的提取工艺	提取率/%	文献
微波辅助提取法	单因素结合正交试验法	料液比 1:30、提取时间 120 min、微波频率 1470 Hz、微波时间 10 min	4.23	11
	单因素结合响应面法	料液比 1:28.2、提取温度 67.30 °C、提取时间 10.68 min	19.75	12
水提取法	单因素结合正交试验法	料液比 1:10、提取时间 1.5 h、提取次数 3 次		14
		提取温度 85 °C、乙醇浓度 75%、提取次数 3 次		15
	单因素结合响应面法	料液比 1:39.87、提取温度 68.87 °C、提取时间 2.45 h		16
		料液比 1:52、提取温度 59 °C、提取时间 90 min	13.27	17
		料液比 1:15、提取时间 2 h、提取次数 3 次、提取温度	8.36	18
有机溶剂提取法	单因素结合正交试验法	提取温度 100 °C、提取时间 2 h、提取次数 3 次		13
		料液比 1:45、提取温度 90 °C、提取时间 2.5 h	2.80	19
	单因素结合响应面法	料液比 1:30、提取温度 82 °C、提取时间 3.3 h	10.27	23
超声波辅助提取法	单因素结合正交试验法	料液比 1:25、提取温度 80 °C、提取时间 120 min、超声波提取功率 450 W	6.945	10
		料液比 1:15、提取温度 60 °C、提取时间 50 min、超声波提取功率 450 W	3.11	24
	单因素结合响应面法	料液比 1:45、提取温度 65 °C、提取时间 72 min、提取次数 2 次	7.57	25
		聚乙二醇 200 浓度 44%、提取温度 60 °C、超声功率 195 W	15.23	26
	单因素结合响应曲面法	聚乙二醇 200 浓度 45%、提取温度 58.5 °C、超声功率 193 W	15.23	27
酶提取法	单因素结合正交试验法	料液比 1:50、pH 5.0、提取时间 170 min、提取温度 55 °C、酶用量 4500 U/g	7.71	22

1.2 金钗石斛多糖的分离纯化

金钗石斛粗多糖样品中一般含有低聚糖、蛋白质、色素和脂质等杂质，需分离去除杂质后，再进行纯化方可获得均一多糖^[28]。金钗石斛粗多糖中的小分子物质通常采用多次醇沉去除^[29]；蛋白多采用Savage法和冻融法去除^[26,30-31]，脱色方法常采用活性炭吸附法、双氧水氧化法、吸附树脂法^[30,32]。金钗石斛多糖的分离纯化主要采用柱色谱法、分步沉

淀法和超滤法等^[33]；其中以柱色谱法应用最为广泛，通常采用二乙氨基乙基（diethylaminoethyl, DEAE）纤维柱联合葡聚糖凝胶柱进行分离，首先采用DEAE-52纤维柱按极性大小进行分离，再根据相对分子质量大小，用Sephacryl S和Sephadex G系列柱进行纯化^[34]。除此之外，还有少数采用AB-8大孔树脂吸附法或乙醇梯度醇沉法^[17,26]；金钗石斛多糖的相关纯化方法见表2。

表2 金钗石斛多糖的分离纯化过程及结果

Table 2 Separation and purification of polysaccharides from *D. nobile*

柱色谱	脱色方法	脱蛋白方法	分离纯化多糖名称	多糖纯度	文献
AB-8 大孔树脂、Sephadex G-25	AB-8 大孔树脂		低聚糖糖 1	均一多糖	17
DEAE-52 cellulose、乙醇梯度醇沉		Sevag 法、冻融法	JCP-40	均一多糖	26
DEAE-纤维素柱、Sephacryl S-200、Sephadex G-100		Sevag 法	DNP-W1A、DNP-W1B、DNP-W2、DNP-W3、DNP-W4、DNP-W5、DNP-W6	均一多糖	34
DEAE-Cellulose-52、Sephacryl S-200、Sephadex G-100	活性炭脱色法	Sevag 法	DNPE4(2)、DNPE4(4)、DNPE4(7)、DNPE6(1)、DNPE6(4)、DNPE6(5)、DNPE6(6)、DNPE6(7)、DNPE6(8)、DNPE6(11)	均一多糖	35
DEAE Sepharose Fast Flow、Sephacryl S-100 HR			JCS0、JCS1、JCS2S1、JCN1-1、1AE1、1AE2、B1	均一多糖	36
DEAE-52、Sephadex G-100		Sevag 法	DDNP		37
		Sevag 法	DNP		38
DEAE-纤维素柱、Sephadex G-200			DNP1-1、DNP2-1、DNP3-1、DNP4-2	均一多糖	39

2 金钗石斛多糖的结构研究

2.1 金钗石斛多糖相对分子质量

相对分子质量是多糖重要物理特征之一，可间接反映其纯度^[40]。多位学者均采用高效凝胶渗透色谱法对金钗石斛中多糖的相对分子质量进行了测定，分离得到均一多糖的相对分子质量主要分布范围为817~770 000^[17,34-35,39]，见表3。

2.2 金钗石斛多糖的单糖组成

单糖组成通常先通过酸水解的方法将多糖水解成单糖，以标准单糖为对照，水解产物采用柱前衍生高效液相色谱法^[46]、阴离子交换色谱法^[47]、糖醇乙酸酯衍生化后联合气相色谱法^[31,36]和1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮柱前衍生化-高效液相色谱（PMP-HPLC）法^[36,41]等进行定性、定量分析。研究结果显示，金钗石斛多糖的单糖组成丰富，但主要

由阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖和甘露糖组成，此外还含有鼠李糖、甘露糖、木糖、半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸等，见表3。

2.3 金钗石斛多糖的结构特征

金钗石斛多糖精细结构的研究甚少，仍处于起步阶段，目前，有关其化学结构解析主要通过甲基化、高碘酸盐氧化、Smith降解及¹D/²D核磁共振谱（NMR、COSY、HSQC、HMBC和TOCSY）分析^[26,34-36]。金钗石斛多糖的结构信息见表3。

3 金钗石斛多糖的生物活性

3.1 抗炎

炎症与多种疾病密切相关^[48]。研究显示，金钗石斛多糖可抑制脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）诱导的小鼠腹腔巨噬细胞肿瘤坏死因子- α （tumor necrosis factor- α , TNF- α ）和一氧化氮（nitric oxide,

表3 金钗石斛多糖结构信息

Table 3 Structural information of polysaccharides from *D. nobile*

组分名称	相对分子质量	单糖组成	构型及糖苷键	文献
低聚糖糖 1	0.817	Gal-Glc-Man	β -D-Glc, β -D-Man, β -D-Gal	17
JCP-40	67.46		\rightarrow 4)- β -D-Manp-(1 \rightarrow and \rightarrow 4)- β -D-Glcp-(1 \rightarrow	26,41
DNP-W1A	24	Man-Glc-Gal (5.4 : 1.6 : 1.0)	α -(1 \rightarrow 6)-linked Manp and α -(1 \rightarrow 3)-linked Manp	34
DNP-W1B	770	Glc-Ara-Gal (6.2 : 3.1 : 0.9)	\rightarrow 4)- β -Glcp-(1 \rightarrow 6)- β -Glcp-(1 \rightarrow	34
DNP-W2	18	Glc-Man-Gal (6.1 : 2.9 : 2.0)	β -(1 \rightarrow 4)-linked Glcp, β -(1 \rightarrow 6)-linked Glcp 及 β -(1 \rightarrow 4)-linked Manp	34,42
DNP-W3	710	Ara-Rha-Gal (1.0 : 1.1 : 3.1)	β -(1 \rightarrow 3)-linked Galp	34
DNP-W4	500	Man-Glc-Gal-Xyl-Rha-GalA (1.0 : 4.9 : 2.5 : 0.5 : 1.0 : 0.9)	β -(1 \rightarrow 4)-Glcp, β -(1 \rightarrow 6)-linked Glcp 及 β -(1 \rightarrow 6)-linked Galp	34
DNP-W5	460	Man-Glc-Gal-Xyl-Rha-GalA (3.1 : 8.1 : 8.2 : 0.6 : 4.2 : 3.9)	\rightarrow 4)- α -GalAp-(1 \rightarrow 2)- α -Rhap-(1 \rightarrow	34,43
DNP-W6	660	Man-Glc-Gal-Rha-GalA (0.6 : 1.0 : 1.5 : 1.0 : 1.1)	\rightarrow 4)- α -GalAp-(1 \rightarrow 2)- α -Rhap-(1 \rightarrow	34
DNPE4(2)	2.55	Ara-Gal-Glc-Man-Xyl-Rha (2.8 : 1.7 : 2.3 : 1.1 : 2.2 : 2.5)	\rightarrow 1)-D-Arap-(4 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Manp-(2 \rightarrow , \rightarrow 1)-L-Rhap-(3 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Xylp-(3 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Galp-(6 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Galp-(3 \rightarrow and \rightarrow 1)-D-Glcp-(4 \rightarrow	35
DNPE4(4)	84.5	Ara-Gal-Glc-Man (0.1 : 8.0 : 1.4 : 0.6)	\rightarrow 1)-D-Glcp-(2,4,6 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Galp-(3 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Manp-(2,4 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Arap-(4 \rightarrow	35
DNPE4(7)	8.41	Ara-Gal-Glc-Man-Xyl-Rha (4.5 : 6.6 : 7.1 : 1.4 : 3.6 : 3.4)	\rightarrow 1)-D-Galp-(3 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Manp-(2,4 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Xylp-(2,3 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Arap-(4 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Glcp-(4 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Glcp-(6 \rightarrow	35
DNPE6(1)	164	Ara-Gal-Glc-Man-Xyl-Rha (2.5 : 0.4 : 0.9 : 0.8 : 2.1 : 2.5)	\rightarrow 1)-D-Galp-(3 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Galp-(6 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Manp-(3,6 \rightarrow , \rightarrow 1)-L-Araf-(3 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Glcp-(4 \rightarrow	35
DNPE6(4)	99.2	Ara-Gal-Glc-Man (2.5 : 0.9 : 0.3 : 0.8)	\rightarrow 1)-D-Galp-(3 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Galp-(6 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Manp-(3,6 \rightarrow , \rightarrow 1)-L-Araf-(3 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Glcp-(4 \rightarrow	35,44
DNPE6(5)	130	Ara-Gal-Glc-Man-Rha (3.2 : 2.9 : 6.5 : 1.9 : 2.6)	\rightarrow 1)-D-Arap-(4 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Arap-(2 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Manp-(2,4 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Manp-(2 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Galp-(6 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Glcp-(4 \rightarrow	35
DNPE6(6)	2.56	Ara-Gal-Glc-Man-Rha (3.0 : 2.1 : 7.3 : 1.1 : 2.6)	\rightarrow 1)-D-Arap-(4 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Manp-(3,6 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Manp-(2 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Glcp-(4 \rightarrow	35
DNPE6(7)	2.57	Gal-Glc-Rha (1.1 : 1.0 : 2.5)	\rightarrow 1)-D-Galp-(6 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Galp-(3 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Glcp-(4 \rightarrow	35
DNPE6(8)	2.57	Ara-Gal-Glc-Man-Xyl (2.6 : 0.5 : 1.5 : 0.9 : 2.2)	\rightarrow 1)-D-Glcp-(6 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Glcp-(4 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Arap-(2 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Arap-(3 \rightarrow , \rightarrow 2)-D-Xylp-(3,4 \rightarrow	35
DNPE6(11)	3.00	Gal-Glc-Man (3 : 11 : 3)	\rightarrow 1)-D-Manp-(3,6 \rightarrow , \rightarrow 1)-D-Glcp-(4 \rightarrow	35,45
JCS0	14.3	Man-Glc (4.6 : 1.0)		36
JCS1	12.3	Glc-Man-Gal-Xyl-Ara (40.2 : 6.1 : 4.8 : 2.9 : 1.9)	1,4- α -Glcp	36
JCS2S1	54.0	Man-Rha-GlcA-GalA-Glc-Gal-Ara (3.1 : 2.5 : 1.0 : 1.1 : 4.4 : 5.7 : 1.5)		36

续表 3

组分名称	相对分子质量	单糖组成	构型及糖苷键	文献
JCN1-1	20.3	Rha-Ara-Xyl-Man-Glc (1.8 : 1.0 : 16.6 : 1.2 : 6.6)		36
1AE1	89.0	Rha-Ara-Xyl-Man-Glc-Gal (1.0 : 4.3 : 1.0 : 2.4 : 25.6 : 17.3)		36
1AE2	37.1	Rha-Ara-Xyl-Man-Glc-Gal (1.0 : 9.4 : 3.2 : 1.3 : 12.0 : 18.7)		36
B1	94.8	Glc-Gal-Ara (1.0 : 1.9 : 1.5)		36
DDNP	16.4	Man-Glc-Xyl-Fru (0.71 : 7.62 : 0.22 : 0.44)	β-构型吡喃糖	37
DNP	87.6	Rha-Ara-Xyl-Man-Glc-Gal (1.00 : 2.80 : 2.20 : 30.76 : 117.96 : 31.76)	(1→6)-linked-α-D-glucopyranosyl and (1→6)-linked-D-galactopyranosyl	38
DNP1-1	136	Rha-Ara-Xyl-Man-Glc-Gal (2.11 : 3.54 : 0.89 : 12.97 : 44.65 : 35.85)		39
DNP2-1	27.7	Man-Glc-Gal (16.99 : 53.26 : 29.74)		39
DNP3-1	11.8	Rha-Ara-Man-Glc-Gal (3.76 : 8.48 : 6.55 : 12.58 : 68.63)		39
DNP4-2	11.4	Rha-Ara-Man-Glc-Gal (12.59 : 4.20 : 11.64 : 23.47 : 48.10)		39

Gal-半乳糖 Glc-葡萄糖 Man-甘露糖 Xyl-木糖 Rha-鼠李糖 Ara-阿拉伯糖 Fru-果糖 GalA-半乳糖醛酸 GlcA-葡萄糖醛酸
Gal-galactose Glc-glucose Man-mannose Xyl-xylose Rha-rhamnose Ara-arabinose Fru-fructose GalA-galacturonic acid GlcA-glucuronic acid

NO) 释放, 显著抑制炎症反应^[49-50], 后续的研究发现, 其还可显著降低大鼠脑缺血-再灌注区炎症反应^[51-52]。此外, 金钗石斛多糖可对抗 LPS 引起的大鼠海马神经元炎症反应, 降低 TNF-α、白细胞介素-1β (interleukin-1β, IL-1β)、转化生长因子-β1 (transforming growth factor-β1, TGF-β1) 蛋白及其 mRNA 表达, 发挥神经元保护作用^[53]; 另有研究表明, 金钗石斛多糖可保护神经元免受炎症因子的损伤, 其机制为抑制核因子-κB (nuclear factor-κB, NF-κB) 和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路, 减少炎症因子 TNF-α、IL-6、IL-1β 和环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 的产生^[54-55]。

3.2 免疫调节

机体免疫功能的维持依赖体内各种免疫器官及细胞。金钗石斛精制多糖和粗制多糖均能直接促进脾细胞的增殖, 并对刀豆蛋白、LPS 分别诱导的脾 T 细胞和 B 细胞的增殖有促进作用^[19]; 多项研究发现, 金钗石斛多糖 DNP-W1B、DNP-W、DNP-W2、DNP-W3、HDNP-W2 等均对脾 T 细胞和 B 细胞具增殖作用, 且呈剂量相关性^[31,44,56]。此外, 金钗石斛多糖 DNP-W5 的分支和乙酰基, 具有增强 T 细胞和 B 细胞免疫活性作用^[45]; Fan 等^[57]研究了含金钗石斛多糖的血清对小鼠巨噬细胞样细胞系 RAW264.7

的影响, 结果表明含药血清可显著提高其吞噬能力, 促进细胞因子 TNF-α、IL-6、IL-1 的分泌, 并在转录水平上促进 IL-1β 的表达。

3.3 抗氧化和抗衰老

金钗石斛多糖对不同的氧化体系均具有抗氧化能力, 具有显著的量效关系, 并对 2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 + [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)⁺, ABTS⁺], 二苯基苦基肼 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、羟基自由基 (·OH)、亚硝酸根 (NO₂⁻) 有较强的清除能力^[58-60], 与其他石斛多糖相比, 金钗石斛多糖清除·OH、NO₂⁻能力最佳, 但无明显差异^[59]; 通过对金钗石斛等 5 种石斛植物多糖的 ABTS⁺、·OH 清除能力进行研究, 发现各酸性多糖抗氧化活性与糖醛酸含量呈正相关, 与硫酸糖含量呈负相关^[60]; 研究显示, 金钗石斛多糖可抵抗高糖诱导下的氧化应激损伤, 保护细胞的氧化还原稳态, 其机制为促进细胞核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor NF-E2-related factor 2, Nrf2) 蛋白表达和核移位, 上调醌氧化还原酶 1 (quinone oxidoreductase 1, NQO1) mRNA 的表达^[61]。此外, 谢苗苗等^[18]采用 H₂O₂ 诱导的细胞损伤模型, 发现金钗石斛多糖有显著的抗细胞衰老作用; 亦有研究表明, 金钗石斛多糖具有抗衰老作用, 可拮抗 D-半乳糖诱导的衰老小鼠免疫器官及组织的萎缩

和病变^[62]；还可延缓秀丽隐杆线虫平均生存时间，其机制与提高线虫抗应激能力有关^[5,63]。

3.4 抗肿瘤

抗肿瘤领域的相关研究是多糖药效研究的热点，从金钗石斛中分离得到的 DNP-W1、DNP-W3 多糖，对肉瘤 S-180 细胞和人早幼粒白血病 HL-60 细胞具有显著的抑制活性^[64]；金钗石斛水提物对人宫颈癌 HeLaS3 细胞和肝癌 HepG2 细胞有不同程度的抑制作用，其可能机制是抑制原癌基因 *c-myc* 的表达^[65]；金钗石斛多糖可抑制 BALB/c 荷瘤鼠皮肤腺癌移植瘤的生长，其机制与促进肿瘤细胞凋亡有关^[4]；此外，多糖 DNP4-2 能显著提高免疫指数，并促进 IL-2、TNF- α 和 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 的分泌，降低血清中丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 浓度，提示 DNP4-2 是一个潜在的抗肿瘤药物^[30]；金钗石斛多糖能明显降低肾母细胞瘤 WT1 蛋白表达水平，对白血病细胞有一定杀伤作用^[66]，亦可直接抑制慢性粒细胞白血病 K562 细胞增殖并诱导其凋亡，其可能机制与金钗石斛多糖抑制 K562 细胞中 *BCR-ABL* 融合基因的表达有关^[67]。

3.5 抗肝损伤

金钗石斛多糖的抗肝损伤作用主要包括抗酒精性、非酒精性和肝纤维化肝损伤。研究发现金钗石斛多糖对亚急性酒精性肝损伤有一定程度的保护作用，其机制可能为通过抑制肝组织氧化和炎性损伤^[68]；金钗石斛多糖对肝纤维化大鼠的肝损伤具有明显的效果，其机制与亚急性酒精性肝损伤相同^[69]；进一步研究显示，金钗石斛多糖抗肝纤维化的作用机制可能与下调 *TGF- β 1*、金属蛋白酶组织抑制剂-1 (tissue inhibitor of metalloproteinases-1, *TIMP-1*) mRNA 表达，上调基质金属蛋白酶-13 (matrix metalloproteinase-13, *MMP-13*) mRNA 表达有关^[70]；此外，金钗石斛多糖可明显改善高脂高糖饮食诱导的非酒精性脂肪肝病大鼠肝功能和血脂，机制可能与降低炎性小体 NOD 样受体蛋白 3 的蛋白及 mRNA 的表达，进而调控 IL-1 β 和 IL-18，减轻炎症反应有关^[71]；亦有研究显示，金钗石斛多糖可以明显改善非酒精性脂肪肝病的预后，降低大鼠肝脏中细胞色素 P4502E1 (cytochrome P4502E1, *CYP2E1*) 蛋白及 mRNA 表达，进而改善肝功能和血脂水平，提高过氧化氢酶和超氧化物歧化酶活力，最终有效缓解非酒精性脂肪肝病^[72]。

3.6 抗糖尿病及其并发症

糖尿病是临床最常见的代谢性疾病，多由于胰岛素分泌缺陷或胰岛素作用障碍，以高血糖为特征，其病程缓慢，在发展过程中可导致多种并发症，尤其是易引起相关器官损害，以糖尿病心肌损伤最为常见^[73-74]。研究表明，金钗石斛多糖对肾上腺素引起的高血糖小鼠有明显的降血糖作用，但对正常小鼠血糖无明显影响，其可能机制为抑制肝糖元分解和肌糖元酵解，促进外周组织对葡萄糖的摄取和利用^[75]；赵亨等^[76-77]研究发现金钗石斛多糖能增加高糖诱导的大鼠胰岛细胞瘤细胞的胰岛素分泌量；此外，研究表明金钗石斛多糖可降低血糖和升高胰岛素含量，可明显促进糖尿病大鼠心肌细胞中 B 细胞淋巴瘤-2 (B-cell lymphoma-2, *Bcl-2*) 和 *Bcl-xL* 分泌，并降低 *Bcl-2* 相关 X 蛋白 (*Bcl-2* associated X protein, *Bax*) 和 *Bad* 的表达，实现心肌细胞保护作用^[78]；进一步的研究发现，金钗石斛多糖可提高大鼠抗氧化能力，增加心脏组织中 *MMP-1* 和 *MMP-9* 的表达，改善 2 型糖尿病心肌损伤大鼠心功能，且具有明显的剂量相关性^[74,79]；同时，王军辉^[34]研究证实，金钗石斛粗多糖及各均一多糖组分都对链脲佐菌素诱导的糖尿病性白内障有一定的延缓作用，且各多糖处理组之间差异较大，以粗多糖与 DNP-W1A 的效果最好，呈剂量相关性。

3.7 其他

金钗石斛多糖还具有其他药效，如多糖乙酰衍生物可促进肾上腺嗜铬细胞瘤 PC-12 细胞神经轴突出的生长，硫酸衍生物可抑制微血管内皮细胞 HMEC-1 的管腔形成、HMEC-1 的迁移以及体内血管生成^[36]；樊小宝等^[80]研究表明，金钗石斛多糖可改善多柔比星肾病大鼠的肾功能和肾纤维化。此外，金钗石斛粗多糖通过拮抗晶状体氧化损伤，发挥抗白内障的作用^[81]；多糖 JCP-40 对预防胃黏膜具有保护作用^[26]。还可增加脂肪的利用，延缓乳酸的积累，起到抗疲劳作用^[82]。

金钗石斛多糖的主要生物活性及其作用机制见图 1。

4 结语

石斛入药始载于《神农本草经》，列为上品，在传统医学中应用十分广泛，被称为“九大仙草”，具有益胃生津、滋阴清热的功效，这与现代研究相近；多糖作为金钗石斛中的主要活性物质，药理研究表

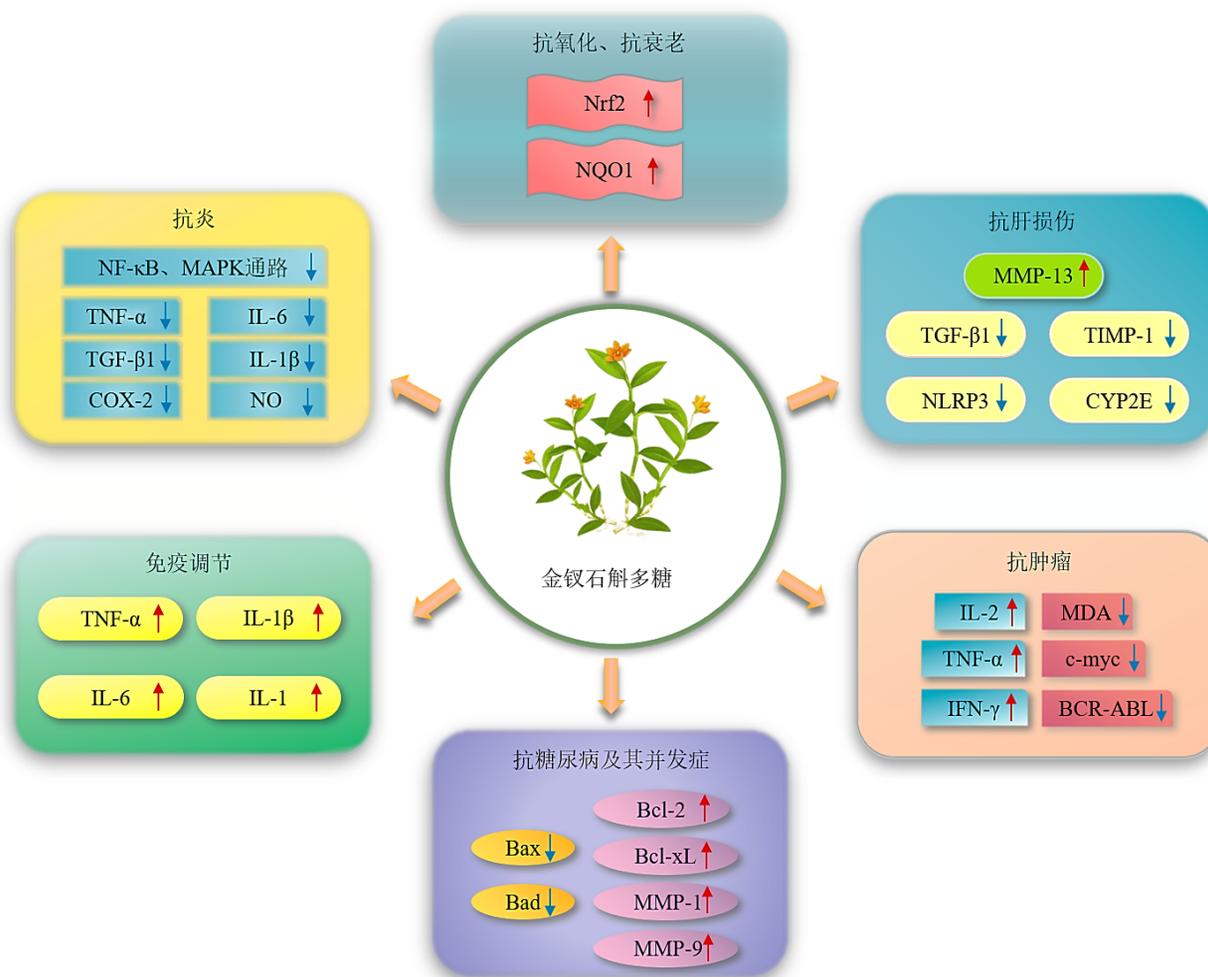


图1 金钗石斛多糖的主要生物活性及其作用机制

Fig. 1 Main bioactivities and mechanisms of polysaccharides from *D. nobilis*

明具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗衰老、抗糖尿病、保肝等多方面的药理活性，无疑将会成为开发健康产品的最佳原料选择之一，存在巨大的开发价值。目前，对金钗石斛多糖的提取分离、结构鉴定、活性评价方面的研究已取得一定进展，但其多糖的结构及质量和药效评价尚存在很多问题。一方面，金钗石斛多糖的提取纯化和结构表征分析，是金钗石斛多糖产业化重要前提，但金钗石斛的提取、分离纯化方法仍不成熟，质量控制指标和标准建设尚不完善，以致最终得到的多糖结构及活性均存在一定的差异；其次，金钗石斛多糖结构的研究不少，但是真正得到一级结构的却很少，其多糖的结构特征与各种活性之间的构效关系尚只是初步探讨，探索金钗石斛多糖的质控评价方法和高级结构解析技术，加深对其结构及生物活性之间关系的解析，是未来研究金钗石斛多糖的重点，仍需要大量的研究工作补充确定；此外，有关金钗石斛多糖生物

活性的研究，尚处于细胞、器官和组织的初级探索阶段，许多目标靶点的分子机制仍然需要深入探讨。因此，建立高效稳定的分离纯化方法和质量标准，进一步深入研究金钗石斛多糖的结构特征、药理活性及其构效关系，将为金钗石斛资源综合利用和产业链延伸具有重要价值。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 94.
 [2] 周威, 夏杰, 孙文博, 等. 金钗石斛的化学成分和药理作用研究现状 [J]. 中国新药杂志, 2017, 26(22): 2693-2700.
 [3] 刘景, 石京山. 金钗石斛多糖对炎症所致神经元损伤的保护作用及机制研究 [A] // 2013年全国老年性痴呆与相关疾病学术会议论文集汇编 [C]. 南京: 中国药学会, 2013: 111-112.
 [4] 李珂, 朱琼妮, 吴芹, 等. 金钗石斛多糖对皮肤腺癌移植瘤抑瘤作用及机制研究 [J]. 重庆医学, 2020, 49(S1):

- 7-10.
- [5] 张宗敏, 潘先花, 周姝, 等. 金钗石斛多糖对秀丽隐杆线虫衰老的影响 [J]. 贵州医药, 2018, 42(8): 913-916.
- [6] 李小琼. 金钗石斛多糖对脂多糖诱导的小鼠腹腔巨噬细胞分泌 TNF- α 、NO 的影响 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2008.
- [7] 安凤娟, 何宇新. 金钗石斛多糖的研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2014, 42(13): 3857-3862.
- [8] 余芳, 郑萍. 金钗石斛多糖提取纯化工艺研究进展 [J]. 江苏调味副食品, 2016, 33(2): 1-3.
- [9] 张晓敏, 孙志蓉, 陈龙, 等. 金钗石斛的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2014, 31(7): 895-899.
- [10] 余芳, 郑萍, 哈清, 等. 金钗石斛多糖提取工艺研究 [J]. 食品研究与开发, 2016, 37(21): 46-50.
- [11] 刘文, 熊耀康. 微波辅助提取金钗石斛多糖的工艺研究 [J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(6): 1315-1317.
- [12] 荆晶, 王晓红, 张倩茹, 等. 微波辅助提取金钗石斛多糖的响应面优化 [J]. 遵义医学院学报, 2016, 39(4): 418-422.
- [13] 范益军, 何兴金, 何涛, 等. 正交设计优选金钗石斛多糖提取工艺研究 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(23): 10999-11000.
- [14] 陈丽琼, 傅蔚兰. 金钗石斛总多糖提取工艺研究 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2007, 5(4): 24-26.
- [15] 郑斯卓, 葛小军, 李小琼, 等. 金钗石斛多糖含量测定条件和提取工艺的优化 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(12): 2676-2677.
- [16] 董媛琪, 舒畅, 李达梅, 等. 金钗石斛水溶性多糖提取的研究 [J]. 农业开发与装备, 2017(9): 96-97.
- [17] 渠婷. 金钗石斛低聚糖的分离、结构鉴定及其功能性研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- [18] 谢苗苗, 肖柳, 杨磊, 等. 金钗石斛多糖的分离纯化及其抗衰老活性研究 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(12): 1489-1493.
- [19] 陈志国, 叶松山, 范迎, 等. 金钗石斛多糖提取工艺的优化及对小鼠脾细胞增殖的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15): 27-32.
- [20] 张晓东, 潘国凤, 吕圭源. 超声提取在中药化学成分提取中的应用研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2004, 15(12): 861-862.
- [21] 张艳, 黄宝银, 刘雪松, 等. 生物酶法提取中草药活性成分研究进展 [J]. 中国兽药杂志, 2021, 55(3): 69-74.
- [22] 张晓敏, 孙志蓉, 朱南南, 等. 纤维素酶提取金钗石斛多糖工艺研究 [J]. 中医药信息, 2015, 32(2): 50-53.
- [23] 孟映霞. 金钗石斛叶水溶性多糖的提取分离纯化及体外生物活性研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- [24] 邓维泽, 唐显福, 古霞, 等. 超声波辅助提取金钗石斛多糖工艺优化研究 [J]. 食品与生物技术学报, 2015, 34(10): 1101-1106.
- [25] 曾宇馨, 贺雨馨, 祝天添, 等. 星点设计-响应曲面法优化金钗石斛多糖提取工艺 [J]. 中医药信息, 2018, 35(3): 47-51.
- [26] 张怡. 金钗石斛多糖的分离纯化、结构表征及其对乙醇诱导胃黏膜损伤的保护作用 [D]. 无锡: 江南大学, 2018.
- [27] Zhang Y, Wang H X, Wang P, et al. Optimization of PEG-based extraction of polysaccharides from *Dendrobium nobile* Lindl. and bioactivity study [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 92: 1057-1066.
- [28] 邹胜, 徐溢, 张庆. 天然植物多糖分离纯化技术研究现状和进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(8): 1501-1509.
- [29] 姚晓东, 刘章泉, 汪巍, 等. 金钗石斛水溶性多糖分子量分布及单糖组份分析 [J]. 遵义医学院学报, 2015, 38(3): 239-243.
- [30] Luo A X. Immune stimulating activity of water-soluble polysaccharide fractions from *Dendrobium nobile* Lindl. [J]. *Afr J Pharm Pharmacol*, 2011, 5(5): 625-631.
- [31] 王军辉, 查学强, 潘利华, 等. 金钗石斛免疫活性多糖 DNP-W1B 的结构特征 [J]. 高等学校化学学报, 2013, 34(4): 881-885.
- [32] 张玉, 吕文平, 寇兴然, 等. 大孔树脂对金钗石斛粗多糖脱色的研究 [J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(2): 211-216.
- [33] 杨颖, 魏梦昕, 伍耀业, 等. 白术多糖提取分离、化学组成和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(2): 578-584.
- [34] 王军辉. 金钗石斛多糖的化学结构与抗白内障活性研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2011.
- [35] 李洙锐. 赤水金钗石斛活性多糖的分离纯化、结构鉴定及其抗病毒活性的研究 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2020.
- [36] 靳灿. 金钗石斛多糖的结构鉴定及其乙酰化和硫酸化衍生物的生物活性研究 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2017.
- [37] 钟伟萍. 石斛多糖提取、抗氧化活性比较及结构的初步探究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2019.
- [38] Luo A X, He X J, Zhou S D, et al. *In vitro* antioxidant activities of a water-soluble polysaccharide derived from *Dendrobium nobile* Lindl. extracts [J]. *Int J Biol Macromol*, 2009, 45(4): 359-363.
- [39] Luo A X, He X J, Zhou S D, et al. Purification, composition analysis and antioxidant activity of the polysaccharides from *Dendrobium nobile* Lindl. [J]. *Carbohydr Polym*, 2010, 79(4): 1014-1019.
- [40] 陈丽, 陆安霞, 刘飞, 等. 茶多糖结构特征研究进展 [J]. 食品科学, 2021, 37(1): 1-14.
- [41] Zhang Y, Wang H X, Guo Q B, et al. Structural characterization and conformational properties of a

- polysaccharide isolated from *Dendrobium nobile* Lindl. [J]. *Food Hydrocoll*, 2020, 98: 104904.
- [42] Wang J H, Luo J P, Yang X F, et al. Structural analysis of a rhamnoarabinogalactan from the stems of *Dendrobium nobile* Lindl. [J]. *Food Chem*, 2010, 122(3): 572-576.
- [43] Wang J H, Luo J P, Zha X Q. Structural features of a pectic polysaccharide from the stems of *Dendrobium nobile* Lindl. [J]. *Carbohydr Polym*, 2010, 81(1): 1-7.
- [44] Li Z R, Shi J, Hu D Y, et al. A polysaccharide found in *Dendrobium nobile* Lindl. stimulates calcium signaling pathway and enhances tobacco defense against TMV [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 137: 1286-1297.
- [45] Li Z R, Xiang J, Hu D Y, et al. Naturally potential antiviral agent polysaccharide from *Dendrobium nobile* Lindl. [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2020, 167: 104598.
- [46] 许莉, 郭力, 罗方利, 等. 柱前衍生化高效液相色谱法分析不同生长年限金钗石斛多糖的单糖组成 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(7): 1725-1727.
- [47] 陈懿瑶, 罗阳, 闫燊, 等. HPAEC-PAD 法测定石斛属植物单糖组分与主成分聚类分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(15): 106-111.
- [48] 马昕, 江月萍. 胃肠胰神经内分泌肿瘤炎症相关因子研究进展 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2021, 30(7): 832-835.
- [49] 李小琼, 金徽, 葛晓军, 等. 金钗石斛多糖对脂多糖诱导的小鼠腹腔巨噬细胞分泌 TNF- α 、NO 的影响 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(28): 3634-3635.
- [50] 张俊青. 金钗石斛有效成分对脂多糖激活星形胶质细胞产生炎症因子的影响 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2010.
- [51] 詹剑, 李小琼, 郝仁方. 金钗石斛多糖对局灶性脑缺血-再灌注大鼠的作用 [J]. 中国脑血管病杂志, 2017, 14(1): 25-31.
- [52] 李小琼, 詹剑, 冯赞杰, 等. 金钗石斛多糖减轻大鼠脑缺血再灌注损伤 [J]. 中成药, 2017, 39(4): 677-683.
- [53] 王丽娜. 金钗石斛多糖减轻脂多糖诱导的大鼠学习记忆减退及机制研究 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2011.
- [54] 林牧, 龚其海, 吴芹, 等. 金钗石斛多糖对大鼠混合培养皮层细胞炎症相关因子表达的抑制作用 [J]. 中国新药杂志, 2016, 25(24): 2843-2846.
- [55] 林牧, 龚其海, 吴芹, 等. 金钗石斛多糖对脂多糖作用大鼠皮层胶质细胞-神经元体系的保护作用 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(8): 1144-1148.
- [56] Wang J H, Zha X Q, Luo J P, et al. An acetylated galactomannoglucan from the stems of *Dendrobium nobile* Lindl. [J]. *Carbohydr Res*, 2010, 345(8): 1023-1027.
- [57] Fan Y J, Yu Q S, Wang G, et al. Effects of non-thermal plasma treatment on the polysaccharide from *Dendrobium nobile* Lindl. And its immune activities *in vitro* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 153: 942-950.
- [58] 王再花, 章金辉, 李杰, 等. 3 种药用石斛多糖的抗氧化活性比较研究 [J]. 华南师范大学学报: 自然科学版, 2015, 47(5): 65-70.
- [59] 李海春. 八种石斛多糖抗氧化、抗衰老活性的比较研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2016.
- [60] 廖滢, 袁雯瑜, 郑雯珂, 等. 石斛酸性多糖官能团与自由基清除活性的相关性 [J]. 中药材, 2015, 38(11): 2281-2284.
- [61] 何晓然, 张艳磊, 刘园园, 等. 金钗石斛多糖对高糖诱导的大鼠肾系膜细胞 Nrf2 表达的影响 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(11): 2577-2579.
- [62] 王令仪. 石斛多糖和生物碱测定及多糖抗衰老实验研究 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2009.
- [63] 张宗敏. 金钗石斛多糖对秀丽隐杆线虫衰老的影响 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2018.
- [64] Wang J H, Luo J P, Zha X Q, et al. Comparison of antitumor activities of different polysaccharide fractions from the stems of *Dendrobium nobile* Lindl. [J]. *Carbohydr Polym*, 2010, 79(1): 114-118.
- [65] 鲍丽娟. 四种石斛抗肿瘤活性的研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2007.
- [66] 葛晓军, 郑丽梅, 王永伦, 等. 金钗石斛多糖对髓系白血病细胞 *WT1* 基因表达的影响 [J]. 重庆医学, 2015, 44(10): 1305-1307.
- [67] 郑斯卓. 金钗石斛多糖对 K562 细胞增殖和凋亡的影响 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2009.
- [68] 钱明雪, 李胜立, 李凡, 等. 6 种石斛多糖抗亚急性酒精性肝损伤作用的比较 [J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(24): 2117-2123.
- [69] 安祯祥, 何远利, 陈昱江, 等. 金钗石斛多糖对肝纤维化大鼠肝功能损伤治疗作用及机制探讨 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(8): 1865-1867.
- [70] 安祯祥, 何远利, 王敏. 金钗石斛多糖对肝纤维化大鼠转化生长因子及基质金属蛋白酶的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(3): 530-533.
- [71] 范艳, 喻涓, 杨榆青, 等. 金钗石斛多糖调控炎症小体 NLRP3 对非酒精性脂肪肝大鼠的保护作用 [J]. 世界中医药, 2021, 16(4): 566-570.
- [72] 吴梦龄, 范艳, 杨榆青, 等. 金钗石斛多糖通过下调 CYP2E1 表达改善非酒精性脂肪肝大鼠症状 [J]. 西部医学, 2020, 32(4): 505-509.
- [73] 方伟. 人参皂苷干预糖尿病及其并发症研究进展 [J]. 实用中医药杂志, 2019, 35(5): 630-632.
- [74] 刘莹莹, 武俊紫, 李伟, 等. 金钗石斛多糖对 2 型糖尿病大鼠心肌组织中 RIP 蛋白表达影响 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(12): 44-48.
- [75] 李菲, 黄琦, 李向阳, 等. 金钗石斛提取物对肾上腺素

- 所致血糖升高的影响 [J]. 遵义医学院学报, 2008, 31(1): 11-12.
- [76] 赵亨. 金钗石斛多糖对高糖诱导的 INS-1 细胞胰岛素分泌及转录因子 Pdx1 和 MafA 的影响 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2014.
- [77] 赵亨, 昌智平, 张艳磊, 等. 金钗石斛多糖对高糖诱导的大鼠 INS-1 细胞胰岛素分泌的影响 [J]. 中国保健营养旬刊, 2014, 24(4): 2456-2457.
- [78] 刘莹莹, 武俊紫, 李伟, 等. 金钗石斛多糖对 2 型糖尿病大鼠心肌组织凋亡相关蛋白的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16(18): 2621-2626.
- [79] 刘莹莹, 武俊紫, 李伟, 等. 金钗石斛多糖对 II 型糖尿病大鼠心肌组织中 MMP-1 和 MMP-9 表达的影响 [J]. 西部医学, 2017, 29(10): 1346-1351.
- [80] 樊小宝, 吴雅岚, 王晶, 等. 金钗石斛多糖对多柔比星肾病大鼠肾纤维化及 PI3K/Akt/HIF-1 α 通路的影响 [J]. 中国药师, 2019, 22(10): 1835-1840.
- [81] 龙艳, 魏小勇, 詹宇坚, 等. 金钗石斛提取物抗白内障的体外实验研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2008, 25(4): 345-349.
- [82] 梁钧淞, 邓业成, 玉桂成, 等. 金钗石斛多糖对小鼠抗疲劳能力的作用 [J]. 食品科学, 2012, 33(19): 282-288.

[责任编辑 崔艳丽]