霍山石斛多糖的结构分析、生物活性研究进展及与不同种间多糖成分差异性分析

王皓南[1,2]，范 晶[2]，余坤子[2]，陆静娴[3]，刘军玲[4]，王 莹[2*]，金红宇[2]，马双成[2*]

1. 中国医学科学院北京协和医学院，北京 100005
2. 中国食品药品检定研究院，北京 100050
3. 浙江省食品药品检验研究院，浙江 杭州 310053
4. 安徽省食品药品检验研究院，安徽 合肥 230051

摘 要：霍山石斛 *Dendrobium huoshanense* 作为一种名贵的滋补类中药，收载于《中国药典》2020 年版。多糖为其主要活性成分之一，具有免疫调节、保肝、抗肿瘤、抗氧化和抗炎等药理活性。通过查阅国内外文献，基于中国知网及 PubMed 等中英文文献数据库分析当前研究现状及研究热点；总结霍山石斛多糖（*Dendrobium huoshanense* polysaccharide，DHP）的提取分离、结构解析及其生物活性；分析其多糖成分与其他常用石斛品种的差异性。以期更好地开发利用 DHP，为 DHP 产品的深入开发与研究及质量标准完善提供参考和思路。

关键词：霍山石斛；多糖；可视化分析；结构分析；生物活性；差异分析

中图分类号：R284　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：0253 - 2670(2023)15 - 5044 - 13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.15.029

Progress on structural analysis and bioactivity of polysaccharides of *Dendrobium huoshanense* and analysis of differences in polysaccharide composition between different species

WANG Hao-nan[1, 2], FAN Jing[2], YU Kun-zi[2], LU Jing-xian[3], LIU Jun-ling[4], WANG Ying[2], JIN Hong-yu[2], MA Shuang-cheng[2]

1. Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100005, China
2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China
3. Zhejiang Institute of Food and Drug Inspection, Hangzhou 310053, China
4. Anhui Institute of Food and Drug Inspection, Hefei 230051, China

Abstract: Huoshan Shihu (*Dendrobium huoshanense*), as a valuable tonic Chinese medicine, is included in the 2020 edition of *Chinese Pharmacopoeia*. Polysaccharide is one of its main active ingredients, with pharmacological activities such as immunomodulation, hepatoprotection, antitumor, antioxidantion and anti-inflammation. By reviewing the domestic and overseas literatures, we analyzed the current research status and research hotspots based on Chinese and English literature databases such as China National Knowledge Infrastructure and PubMed. The extraction and isolation of *D. huoshanense* polysaccharides (DHP), structural analysis and their biological activities were summarized, and the differences in polysaccharide compositions between commonly used *Dendrobium* species were analyzed, with view to better developing and utilizing the components of DHP, and providing reference and ideas for the in-depth development and research and the improvement of quality standards of DHP products.

Key words: *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng; polysaccharides; visualization analysis; structural analysis; biological activity; differential analysis

收稿日期：2023-03-01

基金项目：国家自然基金青年资助项目（82204617）

作者简介：王皓南，博士研究生，研究方向为中药质量与安全。E-mail: hanor312@163.com

***通信作者**：王 莹，博士，副研究员，从事中药质量与安全研究。Tel: (010)53852484　E-mail: wayi_1986@163.com

马双成，博士生导师，研究员，从事中药质量与安全研究。Tel: (010)53852076　E-mail: masc@nifdc.org.cn

霍山石斛 *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng 味甘，微寒，归胃、肾经，具有益胃生津、滋阴清热等功效[1]。以“一名林兰”始载于《神农本草经》，为中药上品[2]。霍山石斛以其味甘、黏质厚的上乘品质成为石斛中的极品，倍受历代医家推崇，且冠有“中华仙草之最”之称[3]。霍山石斛主产于安徽霍山邻近地区，亦分布于河南境内，是在历代本草中具有明确记载的药用石斛[4]。《中国药典》2015 年版石斛项下品种规定为金钗石斛、鼓槌石斛、流苏石斛的栽培品及其同属植物近似种的新鲜或干燥茎[5]，见图 1，《中国药典》2020 年版石斛项下[1]新增霍山石斛。

图 1　《中国药典》2020 年版中收录石斛属药材品种

Fig. 1　*Dendrobium* species listed in 2020 edition of *Chinese Pharmacopoeia*

霍山石斛含有丰富的化学成分，包括有生物碱类、多糖类、酚类、甾体类及挥发油等[6]。其中多糖类成分作为石斛中的重要活性成分，具有免疫调节、保肝、抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种药理作用[7-9]。《中国药典》2020 年版中多糖是霍山石斛【含量测定】项下的质控指标，标准中采用紫外-可见分光光度法对霍山石斛多糖（*D. huoshanense* polysaccharide，DHP）含量进行测定，要求按干燥品计，不得少于 17.0%。霍山石斛中的多糖类成分具有生理活性显著、不良反应小等特点，已有研究对其结构、生物活性等进行研究。本文基于 CiteSpace 软件对中英文文献数据库中 DHP 相关文献进行可视化分析，概述当前研究现状及热点。同时，对 DHP 的提取分离、结构解析及其生物活性进行总结，并将霍山石斛与其他常用石斛品种的多糖成分进行差异性分析，为 DHP 产品的深入开发与研究提供参考，为其质量标准完善提供思路。

1　基于 CiteSpace 分析 DHP 的研究现状

1.1　数据来源及处理

通过中国知网数据库（China National Knowledge Infrastructure，CNKI）及 PubMed 等中英文文献数据库中检索与 DHP 相关的国内外文献。在 CNKI 以霍山石斛和多糖等为主题词检索中文文献，PubMed 中以 *D. huoshanense* 和 polysaccharide 为主题词检索英文文献。剔除无关、重复文献，最终纳入文献 168 条，其中中文文献 113 篇，英文文献 55 篇。运用 CiteSpace 软件进行发文趋势、关键词、机构合作网络等可视化分析，部分知识图谱见图 2。

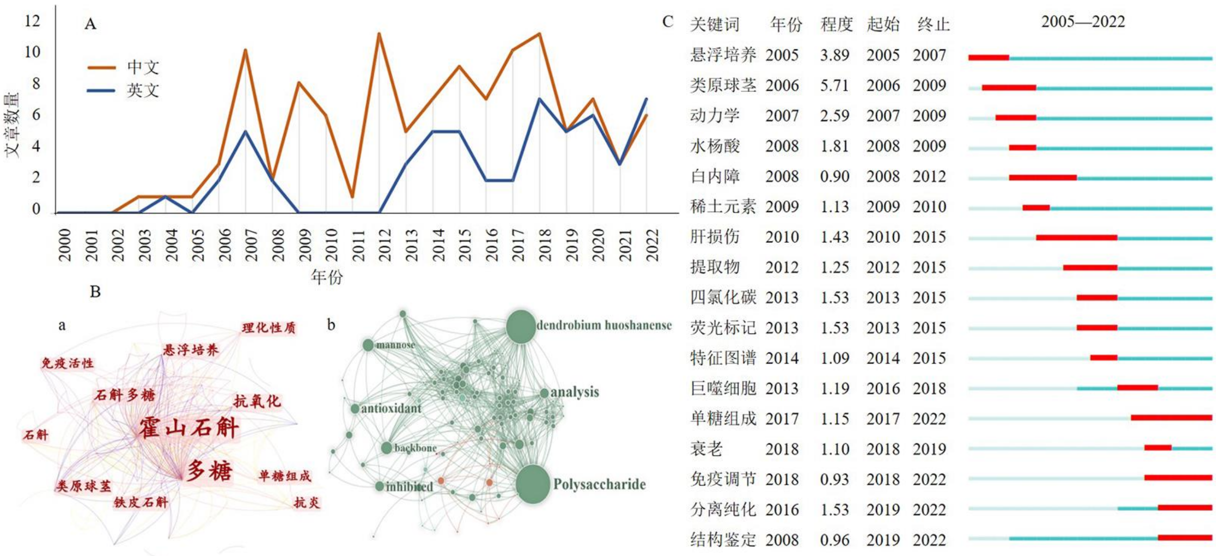
1.2　结果及趋势分析

关于 DHP 的报道首次见于 2003 年[10]，2003—2007 年研究开始逐步呈递增趋势，2007—2022 年发文数量在 0～12 篇呈现波浪式（图 2-A）。对 DHP 研究的关键词进行分析，有利于掌握该领域各时期的研究热点及未来发展方向。DHP 研究的中文文献关键词频次大于等于 5 次的统计见图 2-A，研究主要集中在种源培养、结构分析、生物活性等方面。DHP 的英文文献发表较少，依据研究热点关键词分析研究主要集中在生物活性上（图 2-B）。从图 2-C 可知，2005—2010 年主要研究霍山石斛的种源培养等对 DHP 合成的影响；随着国内药理学研究的广泛开展，自 2010 年起 DHP 的生物活性研究逐渐活跃，研究热点为肝脏保护、抗衰老、抗氧化、免疫调节、抗炎等生理活性；由于大分子结构复杂、解析难度大，自 2014 起才逐步开展 DHP 的结构表征等研究。基于 CiteSpace 的关键词突现分析，推测 DHP 的未来研究热点应是深入探索其结构解析、生物活性机制等。

2　提取与分离

2.1　提取

多糖结构复杂，且常与蛋白质、脂质等结合成多糖复合物，同时聚集体的形成不利于多糖的提取分离[11]。中药中多糖成分常见的提取方法包括热水浸提法、微波辅助法等，一般情况下多糖得率被作



A-2000—2022 年 DHP 研究的中、英文发文情况 B-DHP 相关研究热点词网络图（a-中文文献 b-英文文献） C-CNKI 中 DHP 研究的关键词突现分析

A-DHP research publications in English and Chinese from 2000 to 2022 B-DHP related research hot words network diagram (a-Chinese literature b-English literature) C-keyword burst analysis of DHP studies in CNKI

图 2 基于 CiteSpace 的 DHP 可视化分析图谱

Fig. 2 CiteSpace-based visualization analysis atlas of DHP

为评价多糖提取效率的重要指标。霍山石斛作为大宗品种的名贵药材，且多糖含量高，选择适宜的提取方法对其产品开发具有重要意义。但霍山石斛中多糖成分的提取不同于其他中药，有研究表明石斛属药用植物细胞壁结构较密，其主要成分难以用常规方法提取[12]。本研究对目前已报道的 DHP 的提取方法进行总结，主要分为传统提取技术和新兴提取方法，见表 1。

2.1.1 传统提取方法 DHP 的传统提取方法为热水浸提法，此法因其操作简单，是中药多糖提取最广泛使用的方法。但此法一般适用于提取胞壁外多糖，故采用此法 DHP 的多糖得率较低[13-18]。此外，有研

表 1 DHP 的提取方法

Table 1 Extraction methods of DHP

方法	提取条件	得率/%	文献
热水浸提	料液比 1∶20，70 ℃，4 h，重复 2 次	—	13
	料液比 1∶20，69.4 ℃，4 h，pH 5.9，重复 2 次，提取时间 1.57 h	18.21	14
	料液比 1∶10，60 ℃，4 h，重复 3 次	—	15
	料液比 1∶3，100 ℃，2 h，重复 2 次	0.13	16
	料液比 1∶340，3.25 h，86%乙醇	38.79	17
	料液比 1∶30，79 ℃，140 min	17.50	18
超声提取	料液比 1∶10（$g\cdot mL^{-1}$）、提取时间 30 min、超声功率 250 W	28.00	19
微波辅助提取	提取 4 次，40 min·次$^{-1}$，微波功率 550 W	—	12
超声波辅助提取	料液比 1∶30，81 ℃，2 h，超声功率 423 W，超声时间 8 min	1.90	20
超声波协同酶	料液比 1∶40，40 ℃，3 h，pH 7.0，超声功率 300 W，超声 6 min，酶添加量 500 $U\cdot g^{-1}$	28.30	21
半仿生提取	料液比 1∶30，60 ℃，1.5 h，30 mL 模拟胃液	6.10	22
亚临界水提取	料液比 1∶20，150 ℃（0.475 7 MPa），3 h，重复 2 次	19.52	23
超微低温萃取	料液比 1∶30，超微研磨细度 50 μm，内循环时间 5 s	64.04	24

究采用微波或超声波辅助等方法提取 DHP[12,19-20]，上述方法可以结合使用，且提取时间显著缩短，但多糖经超声或微波处理后其糖键可能会发生断裂[25]，是否会因结构发生变化而影响 DHP 的生物活性，仍有待探讨。

2.1.2 新兴提取技术 中药的细胞壁主要由纤维素构成，石斛多糖与纤维素含量呈反比[26]，推测细胞壁中的纤维素可能是制约 DHP 最大限度溶出的主要物质。而特异性的降解纤维素破坏细胞壁，可使细胞内多糖最大限度地溶出[21]。采用纤维素酶提取多糖是促进多糖溶出细胞的方法之一，可提高得率且条件温和，但多糖成分亦可能被纤维素酶降解[27]。近年来研究者提出使用半仿生方法提取 DHP，利用模拟胃液、肠液，并通过单因素与正交实验得到最佳提取条件[22]。Wang 等[23]于 2022 年提出使用亚临界水提法提取 DHP，与传统提取方法相比，该法可更快速、有效地提取多糖成分，得率达到 19.52%。同时由于水是唯一的提取溶剂，亚临界水提取法还具有环保和安全的特点[23]。有研究表明温度升高会降低多糖得率和抗氧化性[28]，王升贵等[24]采用超微低温萃取技术提取 DHP，得率高达 64.04%，该法避免了提取过程中高温处理对多糖含量及活性的影响。总之，在选择 DHP 提取方法时，需要综合分析实验目的，并结合多糖的结构特征和生物活性，进而选择合适的提取方法。

2.2 分离纯化

在获得粗多糖后，需对其进行分离纯化，去除色素、蛋白质及小分子等杂质，进而获得均一化的多糖成分[27,29]。对 DHP 的分离纯化方法[8,18,30-44]进行总结，见表 2。

2.2.1 脱色 经过前处理获得的粗多糖一般也含有一定的颜色，需要进行脱色。石斛常用的脱色方法有乙醇脱色法、H_2O_2 脱色法、活性炭脱色法及 DEAE-纤维素柱色谱法等。通过对 4 种方法的效果比较发现：DEAE-纤维素柱色谱法脱色效果最佳，多糖损失率较小，且 DEAE-纤维素材料可再生使用[18,31]。其他 3 种方法在对多糖脱色时存在一定的局限性，乙醇脱色法利用相似相溶原理，使有机色素溶解于乙醇中，损失率最大，脱色效果最差[14]；H_2O_2 脱色并不能使色素完全去除，且浓度过高易降解多糖；活性炭脱色存在色素与多糖同时被吸附的现象，从而造成多糖的损失。

2.2.2 脱蛋白 中药粗多糖一般含有一定量的蛋白，常用蛋白去除方法包括：三氯乙酸（trichloroacetic acid，TCA）法、盐酸等电法、Sevag 法及酶解法。前 2 种方法原理相似，即使蛋白质变性形成沉淀后，离心或滤过去除。此法使用溶液浓度不宜过大，避免造成多糖的损失[18]。有报道针对性的对 DHP 脱蛋白的方法进行研究，结果表明 0.5% TCA 脱蛋白效果较好且多糖损失率较低[30]，Sevag 法脱蛋白效果优于 TCA 法[32]，酶法与 Sevag 法联用在蛋白脱除率及多糖得率上表现优于单种方法[45]。因此可考虑 2 种方法联合使用进行脱蛋白，以提高 DHP 中蛋白的脱除率，同时降低多糖损失。此外，亦有采用阴离子交换树脂脱蛋白，此法有机溶剂消耗小、多糖损失率低、环保经济[37]。

2.2.3 去除小分子杂质 在进行多糖的脱蛋白脱色后，仍有小分子杂质的残留，如单糖、低聚糖、无机盐及残留溶剂。DHP 中去小分子杂质的研究报道较少，但多糖中通常应选择合适的透析膜进行透析。虽然透析膜具有一定的截留相对分子质量范围，但有些多糖分子是线性的，因此有时相对分子质量较大的多糖分子也可能通过透析袋。

2.2.4 纯化 在脱色、脱蛋白后，要得到均一的多糖成分，还需进一步纯化。现有报道中 DHP 的纯化多采用柱色谱分离法，即使用离子交换色谱法分离后，再使用凝胶滤过色谱获得纯化多糖。常用的阴离子交换材料包括：DEAE-纤维素、DEAE-葡聚糖、DEAE-琼脂糖等，其中 DEAE-52 纤维素应用最为广泛。凝胶滤过法通常采用 Sephadex G、Sephadex S 等系列的凝胶柱，也有学者采用琼脂糖 CL-6B 凝胶柱进行纯化[30-37]。

3 结构分析

多糖结构复杂，包括有 4 级结构，但现有研究一般从糖含量、单糖组成、相对分子质量、糖连接位置等方面对其结构进行表征，上述结构与多糖活性亦有密切关联[46]。除了经典的多糖分析方法外，近些年亦有研究者提出糖谱法进行多糖的质量分析。本文从基本糖含量、相对分子质量、单糖组成、糖连接位置、糖谱法 5 个方面对 DHP 的结构分析研究情况进行总结，见图 3。

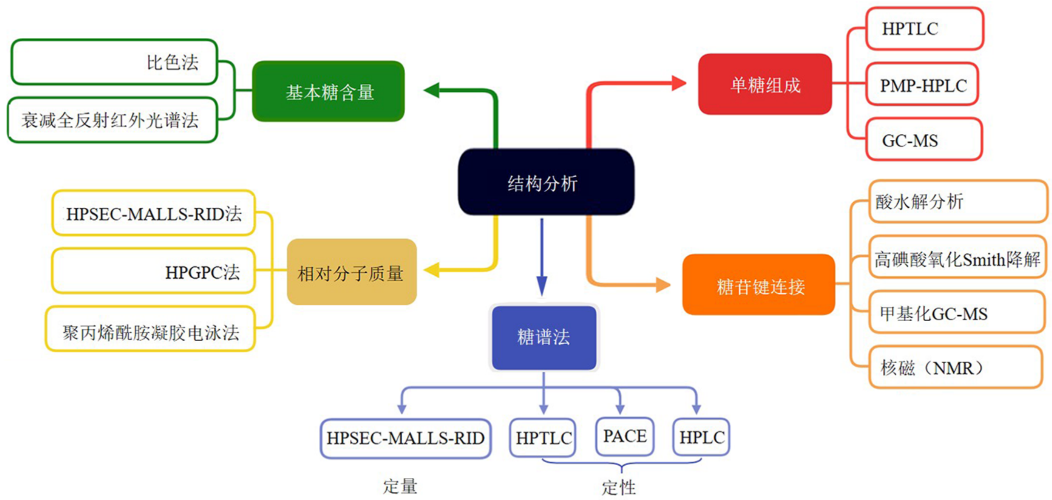
3.1 多糖的糖含量及蛋白含量测定

DHP 糖含量测定的方法为苯酚-硫酸比色法或蒽酮硫酸比色法，此法以葡萄糖为对照品，采用紫外分光光度计进行测定。已有研究表明此法检测的 DHP 含量为 9.90%～46.35%[47-49]，《中国药典》2020

表 2 霍山石斛的多糖类成分

Table 2 Polysaccharides from *D. huoshanense*

多糖名称	分离纯化方法	单糖组成	相对分子质量	文献
cDHP	DEAE 纤维素 DE-52 阴离子交换柱分离；Sephadex G-50 或 Sephacryl S-400 柱纯化	甘露糖、葡萄糖	茎、根、叶、花多糖：2.59×10^{5}、1.41×10^{4}、2.09×10^{5}、4.78×10^{5}	8
HDCP-W	盐酸法脱蛋白，活性炭脱色，DEAE-52 色谱柱分离	甘露糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖	3.5×10^{5}	18
DHPW2	15% TCA 脱蛋白，DEAE 纤维素阴离子交换柱，浓缩、透析，Sephacryl S-200 柱纯化	葡萄糖、半乳糖、木糖	7.3×10^{4}	30-31
HDP-2-A	蛋白脱除率：Sevag 法（84.73%）＞TCA 法（82.99%）；脱色效果：酒精＜H202＜活性炭＜DEAE-纤维素法；DEAE-纤维素法分离；透析浓缩，Sephacryl S-200HR 纯化	—	—	32
DHP-W4	15% TCA 溶液脱蛋白，乙醇脱色，透析除小分子杂质，DEAE-52 初步分离，Sephacryl S-200 柱反复纯化	甘露糖、阿拉伯糖、鼠李糖	1.2×10^{6}	33
Fraction B	DEAE 纤维素柱分离，Sephacryl S-200 柱纯化	甘露糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、木糖、半乳糖醛酸	9×10^{3}	34
HPS-1B23	Sevag 法脱蛋白，DEAE-纤维素阴离子交换注分离，Sephacryl S-200 和 Sephadex G-75/G-100 凝胶滤过色谱	甘露糖、葡萄糖、半乳糖	2.2×10^{4}	35
DHP1-2	Sevag 法脱蛋白，活性炭吸附法/大孔树脂 LXD-762，脱色，DEAE-52 纤维素阴离子交换柱分级纯化，琼脂糖 CL-6B 凝胶柱深入分离纯化	甘露糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖	1080	36
DHP-2	阴离子交换树脂脱蛋白	甘露糖、葡萄糖、半乳糖	—	37
DHPW1	Sevag 试剂脱蛋白，透析（截留相对分子质量 8000），DEAE-52-纤维素分离，Superdex-200 柱纯化	甘露糖、葡萄糖	2.3×10^{5}	38
DHP-1A	Sevag 法脱蛋白 5 次，然后适当蒸馏除去残留的有机溶剂，透析 24 h 后浓缩	甘露糖、葡萄糖、半乳糖	6.7×10^{3}	39
DHPD2	Sevag 法除去蛋白质，DEAE-纤维素柱分离，透析（截留相对分子质量 8000～14 000）	甘露糖、葡萄糖、阿拉伯糖	8.09×10^{6}	40
TC-DHPA4	聚酰胺柱初步分离，Sephacryl G-200 柱色谱纯化	甘露糖、葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸	8.0×10^{5}	41
cDHP-W	纤维素阴离子交换树脂 DEAE-Cellulose 纯化	甘露糖、葡萄糖	2.59×10^{5}	42
cDHP-W1	Sevage 法脱蛋白，透析（截留相对分子质量 3500），DE-52 纤维素柱分离	甘露糖、葡萄糖	2.4×10^{4}	43
HPS1-A～G	DEAE-Cellulose 色谱柱分离，Sephadex G-100 凝胶色谱柱纯化	甘露糖、葡萄糖、半乳糖	6.74×10^{6}、3.40×10^{5}、8.90×10^{3}、6.81×10^{3}、4.97×10^{3}、3.72×10^{3}、2.59×10^{3}	44



HPTLC-高效薄层色谱法　PMP-HPLC-前衍生化法-高效液相色谱　GC-MS-气相色谱-质谱联用法　NMR-核磁共振波谱法　HPSEC-MALLS-RID-高效分子排阻色谱-多角度激光散射法　HPGPC-高效凝胶渗透色谱技术　PACE-糖凝胶电泳

HPTLC-high-performance thin-layer chromatography　PMP-HPLC-PMP-high performance liquid chromatography　GC-MS-gas chromatography-mass sepetrometry　NMR-nuclear magnetic resonance　HPSEC-MALLS-RID-high performance size exclusion chromatography-multiangle laser light scattering-refractive index detector　HPGPC-high performance gel permeation chromatography　PACE-carbohydrate gel electrophoresis

图 3　目前应用于 DHP 结构的主要分析手段

Fig. 3　Main analytical tools currently applied to structures of DHP

年版采用苯酚硫酸法测定霍山石斛中多糖含量，规定其含量不得少于 17.0%。此外，Hao 等[47]采用衰减全反射红外光谱法（attenuated total reflection near infrared，ATR-NIR）测定 DHP 的糖含量。作为一种基于光学内反射原理的快速检测技术，ATR-NIR 法无损、无标记、绿色、环保，广泛用于中药的分析与表征[50]。与比色法、TMS-GC-MS 法相比，ATR-NIR 可大大减少分析步骤，降低分析成本[47]。DHP 多采用 BCA 蛋白检测试剂盒进行蛋白测定，Li 等[38]采用 BCA 法对提取的 DHPW1 中蛋白含量进行分析，得出其蛋白含量为 0.15%；田长城[39]使用福林酚法测得 DHP1 中蛋白含量为 0.6%。

3.2　相对分子质量

多糖的相对分子质量对其活性影响较大，一般认为相对分子质量越大其分子体积越大，不利于跨膜进入生物体内；多糖的相对分子量越小则容易与活性位点结合；而相对分子质量过小又不利于形成聚合结构[51]。目前 DHP 的相对分子量的常用测定方法包括：HPGPC 法、HPSEC-MALLS-RID 法等，现有研究中 DHP 的相对分子质量测定结果见表 2。从表 2 可看出，目前通过分离纯化得到的多糖其相对分子质量差异较大，这可能与提取分离方法及采用的相对分子质量检测方法相关。如使用超声波辅助提取法和热水提取法分别提取得到 DHP-1A 和 UDHP-1A，2 种多糖均为相对分子质量均一体系，相对分子质量分别为 1.17×10^4 和 6.08×10^3[20]。郝杰等[13]使用 40%、50%、60%、80%乙醇对霍山石斛总多糖分级沉淀，分别获得 4.79×10^5、3.16×10^5、3.07×10^5、8.59×10^4 的多糖。

3.3　单糖组成

单糖作为多糖的重要结构特征，可专属性的反映多糖结构特点，在中药多糖研究中尤为重要[46]。单糖组成的分析方法主要有 GC-MS 法、PMP-HPLC 法、薄层色谱法、高效阴离子交换色谱安培检测法（high performance anion exchange chromatography-pulsed amperometric detecter，HPAEC-PAD）及毛细管电泳法等，DHP 的单糖组成目前常用 GC-MS 和 PMP-HPLC 等方法进行测定。DHP 主要由葡萄糖、甘露糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖、鼠李糖等组成，还包括葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸等成分[34,38-44,51-52]。Pan 等[31]对霍山石斛采用石油醚和乙醇依次提取得到粗多糖后，使用 DEAE 纤维素阴离子交换柱、Sephacryl S-200 柱进一步分离纯化得到霍山石斛纯多糖 DHPW2，通过 GC-MS 分析发现主要由葡萄糖、木糖和半乳糖组成，其摩尔比接近 1∶1∶0.5。Li 等[38]将霍山石斛在 50%乙醇中脱水 48 h，然后在 95%乙醇中脱水 48 h，并使用 DEAE-52-纤维素柱和凝胶色谱自动纯化系统进一步纯化后得到

DHPW1，采用 HPAEC-PAD 法分析得到单糖组成，甘露糖-葡萄糖-半乳糖 37.8∶21.9∶1。刘冰[53]采用水提醇沉和添加 α-淀粉酶方法得到霍山石斛粗多糖 cDHP，cDHP 经纤维素阴离子交换树脂 DEAE-cellulose 进一步纯化，得到水洗脱的均一组分多糖 cDHP-W，采用 PMP-HPLC 法检测单糖组成得到甘露糖-葡萄糖 3∶1。表明不同的提取分离方法所获得的多糖，其单糖组成及物质的量比存在较大差异。

3.4 糖连接位置

多糖的糖连接位置主要采用 GC-MS、基质辅助激光解吸飞行时间质谱、1D 和 2D NMR 等技术进行分析和推测。通常使用酸水解分析多糖主链和支链的单糖组成；高碘酸氧化-Smith 降解后分析糖单元的键型构成及连接部位分析；甲基化 GC-MS 用以分析糖单元键型、连接部位及比例确定；NMR 法分析碳氢归属及糖连接顺序。研究表明 DHP 的糖连接位置与药理作用密切相关。Li 等[38]发现 DHPW1 成分的促成骨活性与主链结构 (1→4)-linked-β-*D*-Glcp 直接相关。一种新发现的免疫刺激性多糖 DHP-4A，其骨架由 (1→6)-Glc、(1→6)-Man 和(1→3,6)-Man 组成，可有效促进巨噬细胞释放一氧化氮、肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）和 IL-10 等[54]。此外，通过修饰 DHP 结构，亦会对其生物活性产生影响，DHP 硫酸化后，其抗糖基化活性显著增强[42]。

3.5 糖谱法

糖谱法[55-56]是指通过系列定位酶切技术联用各种色谱分析，结合多糖活性评价，可实现基于活性结构特征的多糖定性、定量分析，并应用于多种中药多糖及其产品的质量控制[46]。糖谱法的关键步骤在于确定酶的种类，并能通过酶解产生特异性的多糖片段，最终通过色谱法对特异性片段分析实现对不同多糖的鉴别。目前，有研究采用 HPSEC-MALLS-RID、GC-MS、NMR 和基于 PACE、HPTLC 多糖分析的糖图谱，对 DHP 进行定性定量分析[49]。其中，多糖部分酸水解和酶水解产物的 PACE 指纹图谱与 HPTLC 指纹图谱相似。

4 生物活性

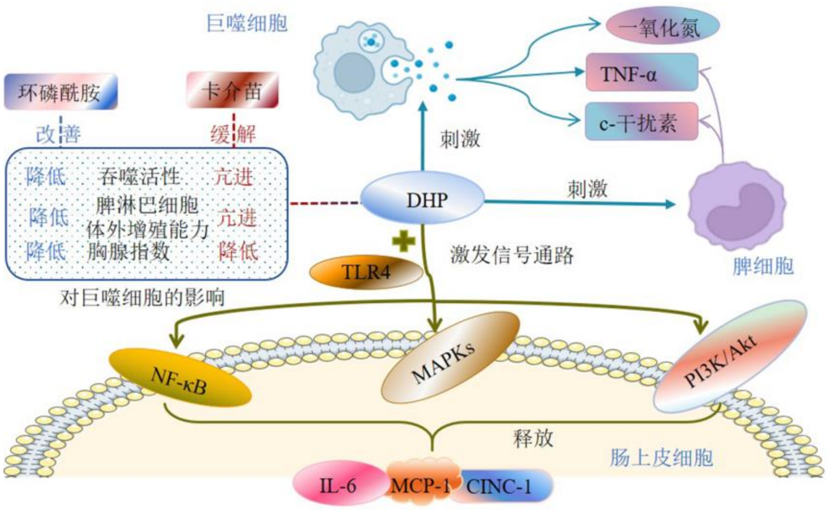
4.1 免疫调节

DHP 具有显著的免疫调节作用，研究表明其对于免疫细胞及肠道黏膜均可产生正向调节作用。王超群等[57]和徐海军等[58]发现 DHP 具有双向免疫调节作用，改善环磷酰胺诱导的小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能降低，缓解卡介苗诱导的小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能亢进。同时发现其对腹腔巨噬细胞免疫调节作用的强弱与多糖结构存在密切关联，袁晨琳[44]研究发现 DHP 中具有各自的结构特征的 7 种组分多糖（HPS1-A～G），其中，巨噬细胞分泌一氧化氮的影响与多糖 1,4-linked *D*-Glcp 和 1,3,6-linked *D*-Manp 含量呈正相关，与 1-linked *D*-Galp 含量及相对分子质量大小呈负相关；刺激小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的活性与 1,4,6-linked *D*-Glcp 和 1,3,6-linked *D*-Manp 的含量呈正相关，而与相对分子质量大小呈负相关。

DHP 的免疫调节活性不仅与多糖结构有关，还与给药浓度、温度相关。郝冉等[59]采用溴化氰活化法对 DHP 进行荧光标记，检测其肠黏膜免疫调节活性，发现 DHP 200 μg/mL 作用最为显著，为空白对照组的 160.5%。DHP 的提取量随提取温度的升高而增加，但其肠道黏膜免疫调节活性随提取温度的升高而下降[60]。Xie 等[61]对 DHP 的免疫调节作用机制进行研究（图 4），发现 DHP 可通过 Toll 样受体 4（Toll-like receptor 4，TLR4）刺激肠上皮细胞，进一步诱导固有层细胞的免疫调节作用。同时，DHP 对脾细胞和巨噬细胞中 c-干扰素和 TNF-α 的产生具有明显的刺激作用，促进巨噬细胞分泌一氧化氮和 TNF-α，增强巨噬细胞吞噬中性红细胞的能力[35,44,61-63]。此外，DHP 具有肠黏膜免疫调节活性，被小肠吸收后分布于肠道固有层内，并可通过 Peyer’s 结刺激骨髓细胞的增殖[59]。

4.2 保肝作用

DHP 具有明显的肝脏保护功能，且保肝作用与其抗氧化、抗炎和抗凋亡作用密切有关。黄静等[64]和田长城等[65]通过研究 DHP 对四氯化碳诱导的小鼠肝损伤模型保肝作用的影响，发现 DHP 可显著降低小鼠血清中的丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶水平的升高，减轻四氯化碳对肝组织的病理损伤，降低肝匀浆中丙二醛含量，增强超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）和过氧化氢酶（catalase，CAT）活性。同时，DHP 各剂量组肝组织中 TNF-α 表达显著降低，炎症反应减轻，肝细胞损伤得到明显改善[64]。其中，DHP 可刺激肠黏膜相关免疫系统分泌促进骨髓细胞增殖细胞因子，并且 DHP 被三氟乙酸全水解为单糖后其免疫活性全部消失，表明 DHP 是以大分子的形式调节肠道免疫系统[66]。



PI3K/Akt-磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B　MAPKs-丝裂原活化蛋白激酶　NF-κB-核因子-κB　CINC-1-中性粒细胞趋化因子-1　MCP-1-单核细胞趋化蛋白-1

PI3K/Akt-phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B　MAPKs-mitogen-activated protein kinases　NF-κB-nuclear factor-κB　CINC-1-cytokine-induced neutrophil chemoattractant-1　MCP-1-monocyte chemotactic protein-1

图 4　DHP 的免疫调节作用

Fig. 4　Immunomodulatory effects of DHP

DHP 对肝损伤和肝纤维化有干预作用，可有效减少转化生长因子-β1 和肝脏内胶原蛋白表达，阻止肝纤维化的形成，从而维持肝实质细胞膜的正常流动性[67]。此外，DHP 可改善酒精诱导的肝组织脂质代谢异常，通过提高 SOD 和谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase，GSH-Px）的活性、谷胱甘肽的含量及降低丙二醛的水平。从而维持肝组织的抗氧化体系平衡状态，加快酒精及其代谢产物的氧化、水解、排出，减轻并改善代谢产物乙醛对肝细胞的病理损伤[68-69]。在非酒精性脂肪性肝损伤中，DHP 对肝组织内总胆固醇、三酰甘油、高密度脂蛋白等生理生化指标有一定的抑制作用，表明对脂质代谢平衡具有一定调节功效，且具有降低患有心血管类疾病的风险[70]。

4.3　抗炎

中药多糖可通过调控炎性信号通路，活化转录，促进细胞因子的释放，从而发挥其抗炎作用[71-72]。研究表明 DHP 可抑制巨噬细胞炎性介质的表达和分泌，减轻结肠黏膜损伤，改善类风湿性关节炎，预防溃疡性结肠炎，抑制足肿胀小鼠环氧合酶-2（cyclooxygenase-2，COX-2）活性的作用（图 5）[73-74]。其作用机制主要通过与巨噬细胞表面的 TLR4 受体结合，抑制相关信号通路，有效阻断 NF-κB 和激活蛋白-1（activator protein-1，AP-1）的 DNA 结合活性。同时，iNOS、COX-2 等的激活受到抑制，*iNOS* 和 *IL-1β* 等 mRNA 表达降低，最终减少一氧化氮、前列腺素 E_2（prostaglandin E_2，PGE_2）、TNF-α 和 IL-1β 的释放，从而缓解炎性[43,75-76]。此外，DHP 可通过减少特应性皮炎相关的细胞因子，从而较好的改善儿童特应性皮炎症状，并且口服 4 周后暂无不良影响[77]。此外，DHP 通过抗炎作用亦可对动脉粥样硬化发挥具有治疗作用，显著改善高胆固醇饮食诱导的脂质沉积、氧化应激和炎症反应，主要表现为 SOD 活性显著提高，斑块形成减少，中性粒细胞募集和总胆固醇、三酰甘油、丙二醛和活性氧水平等降低[78]。

4.4　抗氧化与抗衰老

氧化与衰老都与体内自由基和氧化反应相关，当前研究表明 DHP 具有较好的抗氧化活性（图 5）。DHP 可显著改善衰老模型大鼠小肠形态结构[79]，并对 $FeCl_2$ 诱导的脂质过氧化反应具有明显的抑制作用，可减轻其肝线粒体氧化损伤，有效提升 *D*-半乳糖诱导的大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤 PC12 细胞的活力[80-81]。同时，通过抑制衰老相关基因表达，使蛋白表达降低，进而调控细胞周期，降低氧化应激，从而维护细胞内环境与机体组织器官稳态，并发挥抗衰老作用[82-83]。此外，不同相对分子质量的 DHP 成分均有抗氧化作用，其中组分 S1（4.79×10^5）对

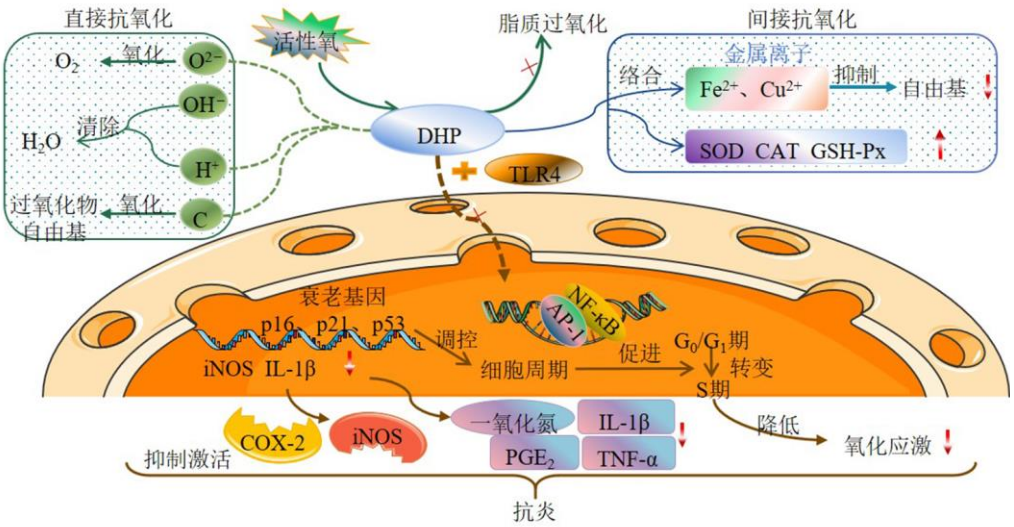


图 5　DHP 的抗炎、抗氧化作用

Fig. 5　Anti-inflammatory and anti-oxidant effects of DHP

H_2O_2、OH 的清除作用强于其他多糖组分[13]。不同提取工艺的 DHP 抗氧化能力不同，超声波辅助提取的 DHP 还原力和 2,2′-联氮基双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)自由基清除力比于热水浸提工艺更强[20]。

4.5　抗肿瘤

DHP 对多种类型的恶性肿瘤细胞有一定的治疗作用，并且具有久服厚肠胃的传统功效。研究表明 DHP 对胃癌细胞生长有明显的抑制作用，且抑制效果与剂量、时间呈正相关[84]。同时，DHP 可抑制胃癌细胞的生长并诱导其凋亡，其抗胃癌活性与有效上调肿瘤凋亡相关基因 p53、B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3（cysteinasparate protease-3，Caspase-3）和 Caspase-9 等表达相关，并且可下调血管生成相关基因和 CD34 表达与分泌、抑制肿瘤血管生成，增强肿瘤组织 T 细胞免疫功能[53]。此外，DHP 可增加肺泡数量，增厚肺泡壁，抑制肺大疱形成，减少炎症细胞浸润，从而抵抗香烟诱导的肺部炎症，抑制香烟诱导的血清和肺中 TNF-α 和 IL-1β 分泌的增强[76]。DHP 对 CT26-W 结肠癌荷瘤小鼠具有显著的抗肿瘤作用，可能在其抑制肿瘤细胞增殖和血管生成、促进肿瘤细胞凋亡中发挥重要作用[85]。Liu 等[8]通过对霍山石斛的茎、根、叶、花中多糖成分的抗胃癌活性进行分析比较，发现霍山石斛不同部位中的多糖成分均表现出抗肿瘤活性。其中，茎多糖（cDHPS）表现出最佳的抗胃癌活性，其抗胃癌活性的差异与其结构特征差异有关。cDHPS 结构是由 (→4)-β-*D*-Manp-(1→和→4)-β-*D*-Glcp-(1→) 组成的 *O*-乙酰化多糖，乙酰基连接在 (→4)-β-*D*-Manp- (1→) 的 *O*-3 位，与 cDHPS 相比，其他多糖均为支链多糖。

5　不同品种间及不同生长年限、生长模式下石斛属药材多糖差异性分析

《中国药典》2020 年版[1]石斛项下收录的品种包括霍山石斛、金钗石斛、鼓槌石斛、流苏石斛；此外铁皮石斛在《中国药典》2020 年版中作为单独品种收录。多糖作为霍山石斛中的重要活性成分，无论是从质量评价还是产业发展来看，对其不同品种间、生长年限及生长模式下多糖的差异性进行比较研究具有重要意义。

5.1　不同品种间石斛属药材多糖差异性分析

除铁皮石斛多糖（21.8%）外，DHP（34.8%）的含量远高于《中国药典》中其他石斛多糖的含量（金钗石斛：3.53%、鼓槌石斛：5.61%、流苏石斛：2.43%）[86-87]。叶梦娟等[88]对 8 个品种石斛（霍山石斛、河南石斛、细茎石斛、紫皮石斛、铁皮石斛、金钗石斛、鼓槌石斛、流苏石斛）进行单糖组成分析发现，均由甘露糖、葡萄糖、半乳糖和木糖组成，含量上存在一定的差异。其中，紫皮石斛中甘露糖占比达到 84.35%，而葡萄糖含量仅 2.36%，其单糖含量及组成摩尔比明显区别于其他石斛，为鉴别紫皮石斛提供了新思路。此外，有研究对霍山石斛和其他 4 种药典石斛粗多糖的降血糖活性效果综合分析发现，霍山石斛粗多糖通过胰内外 2 种作用机制协同干预糖尿病小鼠，降血糖效果最优[89]。DHP

表现出较好的抗氧化活性，且显著优于铁皮石斛多糖[90]，在对 DHP 与铁皮石斛、金钗石斛、鼓槌石斛 3 种多糖比较后发现，DHP 对四氧嘧啶所致的氧化损伤保护作用最强，且 DHP 抗氧化能力优于其他石斛多糖[91]。同时，DHP 在与其他品种多糖保肝作用比较研究中显示出较好的保肝效果，这可能与多糖含量、相对分子质量、单糖组成和糖苷键连接方式等相关联[92-93]。

5.2 不同生长年限、采收季节的石斛属药材多糖差异性分析

一般认为优质的霍山石斛生长年限较长，同时通过对不同生长年限的霍山石斛进行代谢组学分析，得出最佳收获时间为 3 年[94-95]，并且 3 年生的多糖含量优于 4 年生[96]。在 3 年的生长期里，总糖含量先下降后增加，这些变化可能与其营养阶段的自身转化和能量代谢有关[93]。Hao 等[47]通过对不同采收期的霍山石斛干燥茎多糖进行测定，发现多糖含量存在一定的季节性规律，这可能于不同月份的湿度和光照有关。在 5～9 月份（夏季）多糖主要表现为高相对分子质量组分，低相对分子质量组分基本消失[47]。有研究对不同生长年限的霍山石斛保肝作用进行研究，发现 2 年生霍山石斛保肝作用最佳，其多糖含量达到峰值，随后逐渐下降[97]。

5.3 不同生长模式的石斛属药材多糖差异性分析

野生霍山石斛资源稀少，现有资源已不能满足当前市场需求。因此，通过栽培技术可实现霍山石斛的大规模种植，促进产业的可持续发展。在对大棚栽培、林隙地栽培和活树附生 3 种栽培模式下霍山石斛产量及品质进行比较，发现活树附生栽培下霍山石斛活性成分积累较多，品质更好，为实现高品质栽培霍山石斛提供理论依据[98]。综上，DHP 无论是从多糖含量还是生物活性上都显示出一定的优势。

市场流通霍山石斛价格高、商品规格复杂，导致很多其他种属石斛植物混入药材市场，假冒伪劣、以劣充好的问题屡见不鲜。传统的质量控制手段如性状鉴别、薄层色谱鉴别等，难以对霍山石斛药材进行有效的质量控制。因此，提高检测方法专属性、准确性极具意义。多糖作为霍山石斛中的重要活性成分，应作为质量标准控制的重要指标。此处，可运用新思路开发 DHP 测定方法，如采用生物活性检测法评价其功效活性，进而可全面反映药材质量。

6 结语与展望

霍山石斛作为上品中药，既是中药也是保健食品，富有极高的商业价值[99-100]。多糖作为霍山石斛中主要成分和重要功效成分，对产品开发和质量评价具有重要意义。本文对 DHP 的研究现状进行总结，认为 DHP 研究仍存在几个关键问题需要解决突破：（1）多糖结构解析和构效关系的研究仍不够深入，大多只是提取了霍山石斛粗多糖，同时对其单糖组成、相对分子质量进行测定，鲜有研究对其结构进行深入解析。故应加强 DHP 的化学结构研究，并在一级结构和高级结构层次上开展多糖的构效关系研究，为深入开发 DHP 产品奠定基础。（2）多糖作用机制研究仍不够深入。尽管已有研究从细胞、动物模型证明其活性，但多糖作用途径还未进行深入探讨。多糖的代谢研究是探索其作用途径的关键部分，然而目前仅采用体外实验考察口服 DHP 在胃中的代谢情况。多糖在人体内的吸收、分布及代谢是一直以来的研究难点，后期应采用多组学、网络药理学等技术对其进行深入探索。

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: 94-97.

[2] 吴普. 神农本草经 [M]. 孙星衍, 孙冯翼辑. 太原: 山西科学技术出版社, 1991: 45.

[3] 童晨曦, 齐蕾. 霍山石斛的研究进展及可持续发展 [J]. 医学综述, 2015, 21(24): 4512-4514.

[4] 钱程程, 欧金梅, 戴亚峰, 等. 霍山石斛化学成分及其药理活性研究进展 [J]. 云南中医学院学报, 2021, 44(1): 98-102.

[5] 中国药典 [S]. 一部. 2015: 92.

[6] Shi L. Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 92: 37-48.

[7] Zha X Q, Zhao H W, Bansal V, *et al*. Immunoregulatory activities of *Dendrobium huoshanense* polysaccharides in mouse intestine, spleen and liver [J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 64: 377-382.

[8] Liu B, Shang Z Z, Li Q M, *et al*. Structural features and anti-gastric cancer activity of polysaccharides from stem, root, leaf and flower of cultivated *Dendrobium huoshanense* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 143: 651-664.

[9] Xie S Z, Hao R, Zha X Q, *et al*. Polysaccharide of *Dendrobium huoshanense* activates macrophages via toll-like receptor 4-mediated signaling pathways [J].

Carbohydr Polym, 2016, 146: 292-300.
[10] 罗建平, 查学强, 姜绍通. 药用霍山石斛原球茎的液体悬浮培养 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(7): 611-614.
[11] 薛丹, 黄豆豆, 黄光辉, 等. 植物多糖提取分离纯化的研究进展 [J]. 中药材, 2014, 37(1): 157-161.
[12] Xian G H, Li B, Zang H C. Microwave technique for polysaccharide extraction from *Dendrobium huoshanense* [J]. *Agric Sci Technol*, 2014, 15(8): 1304-1307.
[13] 郝杰, 查学强, 鲍素华, 等. 霍山石斛不同分子量多糖体外抗氧化研究 [J]. 食品科学, 2009, 30(15): 94-98.
[14] 黄森, 查学强, 罗建平, 等. Box-Behnken 法优化提取霍山石斛活性多糖的研究 [J]. 中药材, 2007, 30(5): 591-594.
[15] 李秀芳, 邓媛元, 潘利华, 等. 霍山石斛多糖对糖尿病性白内障大鼠眼球晶状体组织抗氧化作用的研究 [J]. 中成药, 2012, 34(3): 418-421.
[16] 王正明. 提取温度对霍山石斛多糖理化性质及肠道粘膜免疫活性的影响 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2013.
[17] 张炜玲, 王新生, 戴亚峰, 等. 响应面法优化霍山石斛多糖提取工艺 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40(12): 7061-7064.
[18] 董泽梁. 霍山铁皮石斛多糖的提取优化、分离纯化及结构特征的研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2014.
[19] 秦霞, 董海丽, 刘红. 响应面法优化霍山石斛多糖超声提取工艺 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40(12): 7065-7066.
[20] 刘艳艳. 超声波辅助提取霍山石斛多糖及其对多糖理化性质和抗氧化活性的影响 [D]. 芜湖: 安徽工程大学, 2016.
[21] 魏明, 邵平, 姚红, 等. 超声波协同纤维素酶法提取霍山石斛多糖的研究 [J]. 食品工业科技, 2009, 30(3): 199-201.
[22] 戴玮, 罗建平. 霍山石斛多糖的半仿生提取工艺优化与抗炎活性评价 [J]. 安徽农业科学, 2018, 46(23): 151-154.
[23] Wang L, Mao Y G, Zeng X, *et al*. Structure and bioactivities of a novel polysaccharide extracted from *Dendrobium huoshanense* by subcritical water [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 877871.
[24] 王升贵, 马荣锋. 响应面法优化霍山石斛多糖超微低温萃取工艺 [J]. 食品工业, 2022, 43(1): 148-152.
[25] Xing X H, Cui S W, Nie S P, *et al*. A review of isolation process, structural characteristics, and bioactivities of water-soluble polysaccharides from *Dendrobium* plants [J]. *Bioact Carbohydr Diet Fibre*, 2013, 1(2): 131-147.
[26] 何虎翼, 谭冠宁, 何新民, 等. 不同铁皮石斛品种石斛多糖与纤维素关系及聚类分析 [J]. 作物杂志, 2017(2): 29-33.
[27] 唐川, 李志, 王升贵, 等. 霍山石斛多糖的制备、功能和产品开发的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(3): 313-320.
[28] 林锦铭, 肖小茵, 李俊健, 等. 烘干温度对铁皮石斛叶多糖抗氧化活性影响的研究 [J]. 粮食与食品工业, 2020, 27(4): 28-31.
[29] 吴蓓丽, 吴月国, 赵铮蓉, 等. 铁皮石斛免疫调节作用及相关活性成分多糖的研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(21): 5373-5379.
[30] 冯宝军. 霍山石斛多糖的分离纯化及结构鉴定 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2010.
[31] Pan L H, Feng B J, Wang J H, *et al*. Structural characterization and anti-glycation activity *in vitro* of a water-soluble polysaccharide from dendrobium huoshanense [J]. *J Food Biochem*, 2013, 37(3): 313-321.
[32] 黄森. 霍山石斛多糖提取分离以及抗肿瘤活性的研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2007.
[33] 蒋玉兰. 霍山石斛多糖 DHP-W4 的分离纯化及结构表征 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2011.
[34] Hsieh Y S, Chien C E, Liao S K, *et al*. Structure and bioactivity of the polysaccharides in medicinal plant *Dendrobium huoshanense* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16(11): 6054-6068.
[35] Zha X Q, Luo J P, Luo S Z, *et al*. Structure identification of a new immunostimulating polysaccharide from the stems of *Dendrobium huoshanense* [J]. *Carbohydr Polym*, 2007, 69(1): 86-93.
[36] 余茂元. 霍山石斛多糖分离纯化及其益生作用 [D]. 芜湖: 安徽工程大学, 2019.
[37] 戴玮. 霍山石斛多糖精制工艺及其抗炎性质的研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2018.
[38] Li X J, Zhang Q, Zhu Y Z, *et al*. Structural characterization of a mannoglucan polysaccharide from *Dendrobium huoshanense* and evaluation of its osteogenesis promotion activities [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 211: 441-449.
[39] 田长城. 霍山石斛保肝多糖的结构表征与功效评价 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2015.
[40] Li X L, Xiao J J, Zha X Q, *et al*. Structural identification and sulfated modification of an antiglycation *Dendrobium huoshanense* polysaccharide [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 106: 247-254.
[41] Si H Y, Chen N F, Chen N D, *et al*. Structural characterisation of a water-soluble polysaccharide from tissue-cultured *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng [J]. *Nat Prod Res*, 2018, 32(3): 252-260.
[42] 刘冰, 罗建平. 霍山石斛 (栽培) 茎多糖一级结构研究 [A] // 中国食品科学技术学会第十五届年会论文摘要集 [C]. 青岛: 中国食品科学技术学会, 2018: 749-750.

[43] 王淑琪. 霍山石斛 (栽培) 抗炎多糖的结构鉴定及活性评价 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2018.
[44] 袁晨琳. 霍山石斛多糖对巨噬细胞的免疫调节活性及其与结构特征的关系 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2013.
[45] 王琳炜, 欧阳臻, 张碧娟, 等. 霍山铁皮石斛多糖的脱蛋白工艺及结构分析 [J]. 食品科学, 2017, 38(12): 164-170.
[46] 王莹, 金红宇, 丁侃, 等. 中药多糖质量控制体系初探 [J]. 药物分析杂志, 2021, 41(10): 1670-1680.
[47] Hao J W, Chen N D, Chen C W, *et al*. Rapid quantification of polysaccharide and the main onosaccharides in *Dendrobium huoshanense* by near-infrared attenuated total reflectance spectroscopy [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 151: 331-338.
[48] 邓辉, 韩邦兴, 陈乃东, 等. 安徽霍山产 3 种石斛多糖组成的比较研究 [J]. 中药材, 2017, 40(6): 1300-1304.
[49] Deng Y, Chen L X, Han B X, *et al*. Qualitative and quantitative analysis of specific polysaccharides in *Dendrobium huoshanense* by using saccharide mapping and chromatographic methods [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 129: 163-171.
[50] Tiernan H, Byrne B, Kazarian S G. ATR-FTIR spectroscopy and spectroscopic imaging for the analysis of biopharmaceuticals [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2020, 241: 118636.
[51] 柯汉女. 不同分子量铁皮石斛多糖分离及抗肿瘤、抗氧化活性研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2016.
[52] 秦丹阳, 尚贞子, 钱明雪, 等. 霍山石斛多糖理化性质与生物活性的年动态变化研究 [J]. 食品工业科技, 2020, 41(12): 29-34.
[53] 刘冰. 霍山石斛 (栽培) 多糖化学结构系统解析及抗胃癌活性构效关系研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2019.
[54] Li F, Cui S H, Zha X Q, *et al*. Structure and bioactivity of a polysaccharide extracted from protocorm-like bodies of *Dendrobium huoshanense* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72: 664-672.
[55] 李绍平, 吴定涛, 赵静. 糖谱及其在中药多糖质量控制中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(17): 3505-3513.
[56] Wu D T, Cheong K L, Deng Y, *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.
[57] 王超群, 李德文, 袁晨琳, 等. 霍山石斛多糖不同组分理化性质及免疫活性的比较研究 [J]. 安徽农业科学, 2018, 46(13): 160-164.
[58] 徐海军, 方予, 汪俊涛, 等. 霍山石斛多糖对小鼠的双向免疫调节作用 [J]. 免疫学杂志, 2018, 34(8): 731-736.
[59] 郝冉, 王正明, 查学强, 等. 霍山石斛多糖的肠黏膜免疫调节活性及在小肠中的吸收分布 [J]. 食品科学, 2014, 35(9): 256-259.
[60] 江贤敏, 王正明, 潘利华, 等. 提取温度对霍山石斛多糖理化性质及肠道黏膜免疫活性的影响 [J]. 食品科学, 2017, 38(7): 176-181.
[61] Xie S Z, Shang Z Z, Li Q M, *et al*. *Dendrobium huoshanense* polysaccharide regulates intestinal *Lamina propria* immune response by stimulation of intestinal epithelial cells via toll-like receptor 4 [J]. *Carbohydr Polym*, 2019, 222: 115028.
[62] Lin J, Chang Y J, Yang W B, *et al*. The multifaceted effects of polysaccharides isolated from *Dendrobium huoshanense* on immune functions with the induction of interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) in monocytes [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94040.
[63] 陈程, 吴胡琦, 查学强, 等. 霍山石斛组织快繁中不同发育阶段多糖理化性质和免疫活性的比较研究 [J]. 中药材, 2012, 35(8): 1195-1199.
[64] 黄静, 李胜立, 赵宏伟, 等. 霍山石斛多糖对四氯化碳致急性肝损伤小鼠的保护作用 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(4): 528-532.
[65] 田长城, 罗建平. 霍山石斛中不同多糖组分的保肝活性 [J]. 食品科学, 2015, 36(7): 162-166.
[66] 赵宏伟. 基于小肠免疫研究霍山石斛多糖预防 CCl_4 致急性肝损伤的机制 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2012.
[67] 陆俊. 霍山石斛多糖干预亚硒酸钠致大鼠肝损伤和肝纤维化的研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2010.
[68] 聂春艳, 汪鹤, 潘利华, 等. 霍山石斛水溶性多糖抗亚急性酒精性肝损伤研究 [J]. 安徽农业科学, 2017, 45(17): 100-105.
[69] 王晓玉. 霍山石斛多糖干预小鼠亚急性酒精性肝损伤的蛋白质组学及代谢组学研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2014.
[70] 姜苏薇. 霍山石斛多糖对非酒精性脂肪性肝损伤的干预及改善作用研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2012.
[71] 王小军, 蔡曦光, 刘华, 等. 黄芪多糖对稳定期慢性阻塞性肺疾病患者外周单核巨噬细胞 Toll 样受体 4/核因子-κB 通路的影响 [J]. 临床内科杂志, 2017, 34(7): 489-492.
[72] 李鸿佳, 王淑娟, 李艳丽, 等. 不同剂量脂多糖预处理对哮喘小鼠肺部炎症的影响的研究 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2008, 24(10): 1008-1010.
[73] Gu F L, Huang R S, He X M, *et al*. *Dendrobium huoshanense* polysaccharides prevent inflammatory

response of ulcerative colitis rat through inhibiting the NF-κB signaling pathway [J]. *Chem Biodivers*, 2021, 18(7): e2100130.

[74] Shang Z Z, Qin D Y, Li Q M, *et al*. *Dendrobium huoshanense* stem polysaccharide ameliorates rheumatoid arthritis in mice via inhibition of inflammatory signaling pathways [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 258: 117657.

[75] 谷仿丽, 黄仁术, 何晓梅, 等. 霍山石斛抗急性炎症有效部位筛选研究 [J]. 宜春学院学报, 2022, 44(3): 1-5.

[76] Ge J C, Zha X Q, Nie C Y, *et al*. Polysaccharides from *Dendrobium huoshanense* stems alleviates lung inflammation in cigarette smoke-induced mice [J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 189: 289-295.

[77] Wu K G, Li T H, Chen C J, *et al*. A pilot study evaluating the clinical and immunomodulatory effects of an orally administered extract of *Dendrobium huoshanense* in children with moderate to severe recalcitrant atopic dermatitis [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2011, 24(2): 367-375.

[78] Fan X C, Han J C, Zhu L J, *et al*. Protective activities of *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng polysaccharide against high-cholesterol diet-induced atherosclerosis in zebrafish [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 8365056.

[79] 徐海军, 高温婷, 杨健, 等. 霍山石斛多糖对衰老模型大鼠肠道消化吸收功能和形态结构的影响 [J]. 皖西学院学报, 2018, 34(2): 1-4.

[80] Wang S, Wei F J, Cai Y P, *et al*. Anti-oxidation activity *in vitro* of polysaccharides of *Dendrobium huoshanense* and *Dendrobium moniliforme* [J]. *Agric Sci Technol*, 2009, 10(6): 121-124.

[81] Tian C C, Zha X Q, Pan L H, *et al*. Structural characterization and antioxidant activity of a low-molecular polysaccharide from *Dendrobium huoshanense* [J]. *Fitoterapia*, 2013, 91: 247-255.

[82] 刘峻麟. 八种石斛初生代谢产物比较研究及霍山石斛多糖抗衰老作用机制初探 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2021.

[83] Ye M J, Liu J L, Deng G H, *et al*. Protective effects of *Dendrobium huoshanense* polysaccharide on *D*-gal induced PC12 cells and aging mice, *in vitro* and *in vivo* studies [J]. *J Food Biochem*, 2022, 46(12): e14496.

[84] 张丹丹, 黄森, 查学强, 等. 霍山石斛多糖对人胃癌细胞生长的抑制作用 [J]. 食品与生物技术学报, 2014, 33(5): 542-547.

[85] 施青青. 霍山石斛多糖对结肠癌荷瘤小鼠的抑瘤作用研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2021.

[86] 徐雅囡, 钟淳菲, 陈燕兰, 等. 不同石斛品种的品质差异 [J]. 食品工业, 2020, 41(9): 280-284.

[87] 熊文皙, 黄清俊, 黄金龙, 等. 国内主要石斛种类茎部有效成分石斛多糖的含量比较 [J]. 南昌大学学报: 理科版, 2022, 46(3): 327-333.

[88] 叶梦娟, 俞年军, 刘峻麟, 等. 基于柱前衍生化 HPLC 分析 8 种石斛精制多糖的单糖组成及含量 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(9): 5126-5130.

[89] 李秀芳. 霍山石斛和四种药典石斛多糖降血糖活性比较研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2012.

[90] 查学强, 王军辉, 潘利华, 等. 石斛多糖体外抗氧化活性的研究 [J]. 食品科学, 2007, 28(10): 90-93.

[91] Pan L H, Li X F, Wang M N, *et al*. Comparison of hypoglycemic and antioxidative effects of polysaccharides from four different *Dendrobium* species [J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 64: 420-427.

[92] 王凯, 眭丹娟, 王长锁, 等. 5 种石斛对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(10): 1945-1950.

[93] 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]. 中国药学杂志, 2015, 50(24): 2117-2123.

[94] Jin Q, Jiao C Y, Sun S W, *et al*. Metabolic analysis of medicinal *Dendrobium officinale* and *Dendrobium huoshanense* during different growth years [J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146607.

[95] 刘刚, 俞年军, 韩荣春, 等. 不同生长年限霍山石斛高效液相指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2018, 49(6): 1424-1429.

[96] 袁颖丹. 大别山区 3 种石斛的品质鉴定评价及生态因子研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2020.

[97] 李志强. 不同生长年限霍山石斛主要药用成分和保肝抗炎作用的研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2020.

[98] 王兆成, 刘华, 任媛, 等. 栽培模式对霍山石斛生长和主要内含物的影响 [J]. 安徽农业大学学报, 2022, 49(4): 527-532.

[99] 方悦, 丰志培, 唐梦雪. 专利视角下霍山石斛产业链的 SWOT 分析 [J]. 中草药, 2021, 52(12): 3775-3782.

[100] 邓光辉, 俞年军, 王妍妍, 等. 霍山石斛活性成分对肝脏疾病作用及其机制研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(21): 6959-6967.

[责任编辑 赵慧亮]