

乌头属中药多糖研究进展*

刘淑萍¹, 张新渐², 王洪云², 曾忠兰¹, 张建英¹, 左爱学^{1△}

(1. 云南中医学院, 云南 昆明 650500; 2. 保山中医药高等专科学校, 云南 保山 678000)

摘要: 乌头属植物是重要的药用植物资源, 已经开发出草乌甲素等二萜生物碱类无成瘾性镇痛药。除二萜生物碱外, 多糖亦是乌头属植物的主要活性成分。乌头属植物多糖具有增强免疫、降血糖、抗炎、抗肿瘤、抗氧化、降胆固醇等生物活性。该文对 1986 年以来文献报道的乌头属植物多糖的提取分离、含量测定及生物活性研究进行综述, 为乌头属植物的研究开发提供参考。

关键词: 乌头属; 多糖; 提取分离; 含量测定; 生物活性; 进展

中图分类号: R932; R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)03-0001-06

Research Progress on Polysaccharides of *Aconitum* Medico-Plants

LIU Shuping¹, ZHANG Xinjian², WANG Hongyun², ZENG Zhonglan¹, ZHANG Jianying¹, ZUO Aixue¹

(1. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming, Yunnan, China 650500; 2. Baoshan College of Traditional Chinese Medicine, Baoshan, Yunnan, China 678000)

Abstract: *Aconitum* plants are important medicinal plant resources. Diterpenoid alkaloids such as bulleyaconitine A have been developed as non-addictive analgesics. In addition to diterpenoid alkaloids, polysaccharides are also the main active ingredients of *Aconitum* plants. The polysaccharides of *Aconitum* plants have the bioactivity of enhancing immunity, lowering blood sugar, anti-inflammation, anti-tumor, anti-oxidation and lowering cholesterol. In this paper, the extraction, separation, content determination and bioactivity of *Aconitum* polysaccharides reported in the literature since 1986 were reviewed, which could provide a reference for the research and development of *Aconitum* plants.

Key words: *Aconitum*; polysaccharide; extraction and separation; content determination; bioactivity; progress

毛茛科乌头属(*Aconitum*)植物全世界约有 350 种, 分布于北半球温带地区。中国是乌头属植物资源最丰富的国家, 约有 200 种, 大多数产于四川西部、云南北部及西藏东部的高山地带^[1]。乌头属中药具有回阳救逆、温阳、散寒、止痛等功效, 用于阳气虚衰之畏寒肢冷、心腹冷痛等病证。在我国传统医药中, 乌头属植物占有重要地位, 目前已有 40 余种乌头属植物当作药物使用^[2]。《神农本草经》首载: “味辛温, 主中风, 除寒湿痹”; 2015 年版《中国药典(一部)》记载的乌头属药物有草乌、川乌和附子等 6 种; 同时, 乌头属植物在民族医药也广泛使用, 《蒙医金匱》记载有 83 个方剂以草乌入药, 有 25 个方剂以草乌叶入药^[3]。

通常认为, 乌头属植物的特征化学成分是二萜类生物碱, 迄今报告的天然二萜类生物碱已近千个^[4], 并已有草乌甲素等开发成为无成瘾性镇痛药应用于临床^[5]。但乌头属植物的临床应用和一些药理作用不能完全被二萜类生物碱成分解释, 故有学者推测另一类生物活性成分多糖很可能也在乌头属植物的临床治疗及药物应用中发挥了重要作用^[6]。乌头属植物多糖的研究主要从

多糖的提取分离、结构鉴定、含量测定、生物活性等方面开展。本研究中对 1986 年以来文献报道的乌头属植物多糖化学和药理方面的研究进展进行综述, 为其开发应用提供参考。

1 药理活性

1.1 免疫调节作用

乌头属植物多糖可通过促进淋巴细胞增殖、增强细胞和体液免疫、活化巨噬细胞、抑制补体活化等途径发挥对机体的免疫调节作用。

附子多糖能明显增强刀豆蛋白 A (CoA) 和脂多糖 (LPS) 诱导的小鼠脾 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞增殖转化的能力, 增强体液免疫的抗体生成, 增加单核-巨噬细胞吞噬能力和自然杀伤细胞(NK)的杀伤活性, 对抗环磷酰胺对小鼠淋巴细胞转化、NK 细胞的杀伤活性和单核-巨噬细胞吞噬功能的抑制。且附子多糖对健康小鼠胸腺的影响不明显, 故推测附子多糖是通过影响小鼠外周的免疫组织器官和免疫细胞而发挥免疫调节作用^[7]。从附子中分离得到的水溶性多糖附子多糖(FPS)-1, 体外质量浓度为 10~100 μg/mL 时刺激刀豆蛋白诱导的

*基金项目: 云南省应用基础研究计划面上项目[2015FB155]; 云南民族大学民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室开放基金[MZY1503]。

第一作者: 刘淑萍, 硕士研究生, 研究方向为中药学, (电子信箱)1472174214@qq.com。

△通信作者: 左爱学, 博士研究生, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为中药化学, (电话)0871-65919635(电子信箱)zuoax@163.com。

鼠科啮齿动物淋巴细胞增生,为 25 ~ 100 mg/kg 时对脂多糖体外诱导的脾细胞抗体生成具有强大的刺激作用。FPS-1 在体外通过刺激抗体分泌 B 细胞促进体液免疫调节^[8]。

免疫活性细胞的活化协同作用中,巨噬细胞(表面是糖蛋白)与多糖的识别可以产生肿瘤细胞坏死因子和干扰素,从而杀伤肿瘤细胞,但未活化的巨噬细胞的吞噬杀伤作用有限。因此,活化巨噬细胞是有效参与免疫监视的先决条件^[9]。北乌头水溶性多糖 WKCP-A 能活化巨噬细胞的吞噬功能,刺激刀豆蛋白或脂多糖诱导的细胞增殖;北乌头中的另一种水溶性多糖 WKHP 也能诱导脾淋巴细胞增殖,其对巨噬细胞的吞噬作用与香菇多糖相当^[10]。异叶乌头多糖亦能刺激免疫系统的吞噬功能,但同时会抑制免疫系统的体液成分^[11]。

补体系统是人的重要免疫防御系统,但其非正常激活会引起系统性红斑狼疮和风湿性关节炎等疾病^[12],至今尚无理想治疗药物。从黄花草头(关白附)干燥块根中分离的中性多糖 KMPS-2A 及其硫酸酯 1.75 B 具有抗补体活性,且多糖硫酸酯 1.75 B 经典途径抗补体活性优于阳性对照药肝素,具有开发成为补体抑制剂的潜力^[13]。

构效关系研究表明,含有支链为(1-6)链接的(1-3)葡聚糖结构能活化白细胞、刺激白细胞的吞噬作用,增强宿主对多种疾病如肿瘤和感染的反应。相似连接模式 α -构型葡聚糖也具有免疫活性,如具有 α -(1-6)-D-葡聚糖结构的多糖显示较强的免疫活性^[8]。

1.2 抗糖尿病作用

从白附片提取分离的粗多糖能显著降低小鼠的血糖水平^[14]。KONNO 等^[15]通过活性追踪方式从附子根茎中分离得到 4 个多糖 Aconitans A, B, C, D, 均能降低正常大鼠和四氧嘧啶诱导的高血糖大鼠的血糖水平;腹腔注射 4 种多糖 24 h 后, Aconitans B 和 D 降血糖作用比 Aconitans A 和 C 更明显,主要成分 Aconitan A 腹腔注射 7 h 后对四氧嘧啶大鼠的降血糖作用亦更加明显。

糖尿病性周围神经病变是糖尿病最常见的并发症,可导致足溃疡和下肢截肢。施万细胞是髓磷脂细胞的一个亚型,在外周神经系统中具有重要作用,其能提供髓鞘,保护、营养、恢复轴突和神经元;施万细胞受损会引起神经传导速度下降、轴突萎缩及轴突的再生能力受损;当给予施万细胞高浓度糖时,通过氧化应激、活化线粒体通路和促进凋亡等导致施万细胞受损。FPS 能减轻由高糖诱导的施万细胞氧化损伤, FPS 明显上调与氧化应激相关的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助激活物 1- α

(PGC-1)水平,并下调 NADPH 氧化酶-1(Nox1)蛋白水平,增加 AMPK 活化。故推测 FPS 抗高糖诱导的细胞损伤是通过 AMPK-PGC-1 通路实现的^[16]。

1.3 抗肿瘤作用

多糖的抗肿瘤活性大多是通过激活机体的免疫系统发挥作用,而不是直接杀死肿瘤细胞。从关白附根茎中分离的多糖 ACP-a1 能抑制移植 H22 肝癌小鼠细胞的生长,延长 H22 荷瘤小鼠存活时间,增加荷瘤小鼠的体质量、提高外周血白细胞、胸腺指数和脾脏指数,促进白细胞介素 2(IL-2)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、干扰素 γ (IFN- γ)等血浆细胞因子的分泌。关白附多糖 ACP-a1 通过提高宿主器官的免疫反应,恢复 H22 荷瘤小鼠被抑制的免疫反应到正常或超过正常水平间接抑制肿瘤生长^[17]。

原癌基因-垂体瘤转化基因 1(PTTG1)在肝癌细胞和组织中过量表达并且调控 P13/Akt 和 p38MAPK 信号通路,在肝癌的形成过程中具有非常重要的作用。关白附多糖 CACP 促进 H22 肿瘤细胞凋亡主要通过抑制 PTTG1 表达、失活 Akt 磷酸化(p-Akt)、激活 p38 MAPK 信号通路实现^[18-19]。

肿瘤转移被认为是导致肿瘤患者死亡的最主要原因,约 90% 的肿瘤患者死亡因肿瘤转移造成^[20]。Rac1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1, Ras 相关的 C3 肉毒素底物 1)蛋白介导肿瘤细胞的迁移。当 Rac1 被激活后,可参与肌动蛋白应力纤维和黏附斑形成,促进细胞骨架结构重组,调节片状伪足与丝状伪足伸延,影响细胞的形体极化,增强细胞运动迁移。黄花草头多糖 ACP-1 及其硫酸衍生物 ACP-1s 通过抑制人类乳腺癌细胞 MDA-MB-435s 中肌动蛋白聚合,抑制信号分子 Vav2 的磷酸化,减少 Rac1 活化,从而抑制 MDA-MB-435s 的转移^[21]。ACP-1s 显著抑制人类脑胶质瘤细胞 U87MG 增殖,质量浓度 400, 800, 1 600 $\mu\text{g/mL}$ 均能诱导细胞凋亡;其作用机制与 NF κ B/Bcl2 细胞凋亡信号通路有关;ACP-1s 干预 U87MG 细胞后,其中的 I κ B 表达上调,且 NF- κ B 与 Bcl-2/Bax 比率下降,裂解 caspase-3 相应增加^[22]。

1.4 抗炎活性

诱导型一氧化氮合酶(iNOS)是有利于炎症发病机制的主要介质,脂多糖诱导肥大细胞中的 iNOS,导致 NO 过量生成,对各种炎症疾病的发病机制至关重要。生理浓度 NO 可作为各种组织的神经递质、血管扩展剂、免疫调节剂,但增加 iNOS 表达和释放大量的 NO 会导致诸如类风湿关节炎、慢性肝炎等。因此,抑制肥大细胞中的 iNOS 表达可用来治疗与 NO 生成增加的相关

疾病。从关白附中提取分离的多糖 KMPS-2E 质量浓度在 50, 100, 200 g/L 时抑制巨噬细胞中 iNOS、Toll 样受体 (TLR4) 和磷酸化 NF- κ B-p65 表达, 抑制 IKK (inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase, 核因子 kappa-B 激酶抑制剂即 I κ B 激酶) 和人核因子 κ B 抑制蛋白 α (NF- κ B inhibitor α , I κ B- α) 磷酸化; 减弱 I κ B- α 及 NF- κ B 调控的炎症因子 TNF- α , IL-1 β , iNOS, IL-6 的基因表达; 在 200 g/L 时, KMPS-2E 以剂量依赖方式抑制脂多糖诱导的 NF- κ B 活化, 减少 NF- κ B DNA 亲和力。大鼠口服 KMPS-2E (200 mg/kg) 还能显著抑制角叉菜诱导的足肿胀, 其效果和布洛芬单次口服 3 h 后相当^[23]。

1.5 抗氧化作用

活性氧导致的氧化应激可能是组织损伤和许多重大疾病如癌症、炎症的直接或间接原因^[24]。关白附多糖对氧自由基和羟基自由基等活性氧有明显抑制作用, 且其对羟基自由基的抑制作用更强, 对鼠肝脂质过氧化的抑制率高达 100%, 故能减少强氧化剂对机体的损伤^[25]。从关白附多糖中纯化得到的多糖 ACPSB-2 和 ACPSB-3 亦显示出强大的抗氧化活性^[26]。

从北乌头中分离得到的水溶性多糖 WKCP-A 具有显著的清除 DPPH 自由基、羟基自由基等活性, 在保护细胞成分如脂类、蛋白质、核酸等方面发挥着重要作用^[10]。紫花高乌头多糖显示出较强的清除 DPPH 自由基和羟基自由基的能力, 表现出较强的抗氧化活性^[27]。

活性氧清除机制研究显示, 多糖的端基氢原子与羟基自由基反应可能是多糖具有自由基清除活性的关键作用机制^[28]; 这种清除作用也与多糖的羟基有关^[29], 半乳糖含量高且相对分子质量小的多糖自由基清除活性更强^[10]。

1.6 降胆固醇作用

血液中胆固醇或低密度脂蛋白的增高, 将增加动脉粥样硬化疾病的发生概率, 且与冠状动脉粥样硬化性心脏病的死亡率与血胆固醇水平成正相关。附子多糖使用剂量为 224 ~ 896 mg/kg 时可显著降低高胆固醇饮食大鼠的血清胆固醇及低密度脂蛋白水平; 其通过影响低密度脂蛋白受体蛋白表达, 增加受体数量, 增强受体活性, 从而加强低密度脂蛋白的转运、清除, 从而降低高胆固醇血症大鼠血清中的胆固醇和低密度脂蛋白; 附子多糖通过增加胆汁酸合成限速酶的基因转录和蛋白表达, 进而促进体内胆固醇加速转化为胆汁酸, 随粪便排出体外, 从而降低高胆固醇血症大鼠血清中的胆固醇和低密度脂蛋白; 附子多糖还能抑制内源性胆固醇合成限速酶 (HM6. CoA reductase) mRNA 的表达, 改变其活性, 抑制

内源性胆固醇合成, 从而降低血中胆固醇^[30]。

1.7 保护心脏

血管平滑肌钙化与动脉粥样硬化、糖尿病、慢性肾病等疾病密切相关。氧化型低密度脂蛋白 (Ox LDL) 会导致人类血管平滑肌的钙化, FPS 对 Ox LDL 诱导的人类血管平滑肌的钙化具有保护作用, 且明显减轻低密度脂蛋白诱导的自噬下调^[31]。

1.8 抗 HIV-1 逆转录酶 (HIV-1 RT)

从圆锥乌头中提取的多糖, 在体外具有抗 HIV-1 逆转录酶 RT 的活性。对 HIV-1 RT 的半数抑制量 (IC_{50}) 为 95.04 μ g/mL^[32]。

2 提取和纯化

乌头属植物多糖的提取方法主要有水提取法、超声提取法等。水提取法: 原料用热水提取、过滤、浓缩、离心, 上清液经加醇后析出沉淀、去除游离蛋白质, 蒸馏水透析, 乙醇沉淀, 丙酮洗涤, 真空干燥, 得到粗多糖。多糖的纯化可根据分子结构特性选择纯化方法, 可根据杂质与多糖的极性不同采用溶剂萃取法将杂质除去, 或根据相对分子质量的大小采用透析或超滤膜过滤将小分子物质去除, 或根据多糖的吸附性选择合适的色谱柱进行分离。

哈文秀等^[33]考察了不同因素对溶剂提取法和超声提取法提取藏药唐古特乌头中多糖提取量的影响, 结果 2 种提取方法的液料比、粉碎度等因素对多糖提取量影响较大, 且提取率超声提取法高于溶剂提取法。唐古特乌头多糖的最佳溶剂提取法提取工艺为: 粉碎度 8 目, 料液比 1:16, 60 $^{\circ}$ C 回流提取 5 h; 超声法提取最佳工艺条件为: 药材粒度 8 目, 料液比 (质量比) 1:16, 提取时间 2 h^[34]。但温爱平等^[27]试验后认为, 采用回流法提取紫花高乌头多糖含量高于超声法, 其确定的最佳提取条件为: 料液比 1:25, 加水回流提取 2 次, 每次 3 h, 发现料液比对紫花高乌头多糖提取率影响较大; 其他研究亦表明, 水提多糖 (附子) 加水量对粗多糖的提取影响最明显^[35]。叶思勇等^[36]通过正交试验确定了圆锥乌头、附子^[35]、关白附^[37]多糖提取和纯化工艺^[38]。

TONG 等^[39]用水提醇沉法从关白附中提取水溶性粗多糖, 得率为 4.62%; 用 Sevage 法脱蛋白, 用 DEAE 纤维素离子交换和琼脂糖 CL-6B 凝胶色谱纯化粗多糖后得到主要部分 ACP-I, 得率为 45%, 采用苯酚-硫酸法和 Bradford 法试验证明, ACP-I 含有 84.3% 的糖和 12.4% 的蛋白结构, 相对分子质量为 2.4×10^4 , 气相色谱分析表明, ACP-I 包含有 5 种单糖, 即海藻糖、阿拉伯糖、木糖、葡萄糖、半乳糖醛酸 (其物质的量之比为 0.8:0.8:1:3.9:1.6)。

祝晓涛^[40]改善了关白附多糖的提取工艺:提取时间为3 h,提取温度为85℃,料液比为1:35,得率为8.86%。证明关白附多糖是一种酸性多糖,其单糖组成岩藻糖、阿拉伯糖、木糖、葡萄糖及半乳糖醛酸物质的量之比为1:0.9:1.7:5:0.6,与文献[39]略有差别。李晓军等^[13]从关白附中分离纯化得到1个均一的中性多糖KMPS-2A,相对分子质量为 6.76×10^5 ,结构为 α -1,6-D-Glc链接的线性多糖,分析结果表明,KMPS-2A仅含有葡萄糖,绝对构型为D型。Gao等^[10]从北乌头中分离得到一种水溶性且没有支链的多糖AKP,结构为 α -(1→3)(1→4)- α -葡聚糖,相对分子质量为 1.4×10^5 。

ZHANG等^[41]用高效液相色谱-质谱(HPLC-MS)法分析了北乌头中多糖的成分,单糖包括甘露糖、核糖、鼠李糖、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、木糖,且首次检测到北乌头多糖中核糖的存在。

孙玉军等^[42]提取纯化草乌多糖,纯度为88%,平均相对分子质量为 2.8×10^4 ,其多糖含有鼠李糖、木糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖等单糖,其物质的量之比为1:1.7:203:1.7:59.7:3.5。阮期平等^[44]从附子中分离纯化得到附子多糖F1,纯度为97%,平均相对分子质量为 2.6×10^5 ,熔点为270℃;且证明葡聚糖是其唯一的单糖。ZHAO等^[8]从附子中分离得到的水溶性多糖FPS-1,其结构主链为 α -(1→6)-D-葡聚糖,侧链为(1→3)连接的葡萄糖,平均相对分子质量约为14000。阮期平等^[43]从黄附子中得到2种糖,中性多糖3%,酸性蛋白多糖1%。

3 除蛋白质方法

蛋白质具有与多糖相似的溶解性,采用水提醇沉法所提取的多糖中常含有一定量的蛋白质,增加了多糖的吸湿性,且所带电荷可吸附大量其他杂质,使杂质的去除变得困难;蛋白质还会吸附多糖,使多糖的分级分离变得更加困难。除去蛋白质的方法有Sevag法、鞣酸法、三氯乙酸法、蛋白酶法。Sevage法反应温和,但效率较低,需要多次处理才能除尽蛋白质,费时。鞣酸法效率高,但引入了色素,使溶液颜色加深,形成更大的干扰。三氯乙酸法不仅能有效除去蛋白,还能除去部分色素,且处理次数也较少^[38]。蛋白酶法对多糖的损失较少,由于酶的降解作用,使得大部分的游离蛋白质和部分结合蛋白水解,降低了多糖随凝胶物沉淀而损失的可能,故多糖的得率提高,蛋白脱除率高^[44]。

4 含量测定及影响因素

测定方法的影响:多糖含量的测定方法有硫酸-蒽酮法和硫酸-苯酚法等,后者的稳定性高于前者^[45]。硫

酸-苯酚法测定多糖含量的原理是先用多糖在浓硫酸的作用下,水解成单糖,并迅速脱水生成糖醛衍生物,和苯酚缩合成橙黄色化合物,该化合物颜色深浅与糖的浓度成正比,用比色法测定490 nm波长处最大吸收即可确定其质量分数。

品种的影响:乌头属植物不同品种之间,多糖含量差异较大,其质量分数为2.938%~15.820%。有研究测定了不同品种多糖的含量,分别为白附子多糖(5.431 ± 0.334)%^[46],江油附子多糖3.34%^[47]、关白附多糖4.62%^[48],圆锥乌头多糖15.82%^[36]。就单个品种而言,附子多糖的含量相对稳定。舒晓燕等^[49]用蒽酮-硫酸法测定了附子不同品种多糖的含量,在2.938%~4.295%之间,虽然附子品种不同,但其多糖含量差异不显著;但乌头属药物不同采收期其不同组织部位中粗多糖的含量有差异。欧水平等^[50]采用苯酚-硫酸分光光度法探索了乌头各组织部位粗多糖的动态变化,结果表明,乌头多糖含量子根>母根>须根>叶>茎,地下部分含量>地上部分。

对照品的影响:在多糖含量测定时,通常采用单糖如葡萄糖代替对照品测定样品多糖的相对含量,存在一定的争议,不同单糖与苯酚-硫酸试剂显色不同,其标准曲线的斜率也不同,单纯用葡萄糖作标准曲线来计算多糖含量会有较大误差^[46]。一些学者采用测定换算因子法来消除单纯以葡萄糖作标准曲线引起的误差。吕永磊等^[51]采用测定换算因子法,测定乌头母根、子根、须根的多糖含量,结果分别为22.0%,33.5%,6.1%;且发现母根、子根、须根的多糖中主要含有葡萄糖,子根含有甘露糖,且母根多糖含量约为子根多糖含量的2/3。据此推测,乌头母根和子根的多糖含量不同可能是川乌、附子功效、主治和临床应用不同的原因^[52]。

其他因素:多种因素会影响乌头属植物中多糖的含量,如气候环境(降水量、温度、日照时数)、炮制操作、激素等因素。其中,日照时间是影响乌头多糖含量差异的主要原因^[53]。附子炮制后,黑附片中附子多糖含量稍有增加,但与生附片比较差异不显著,可能是由于附子在炮制过程中,水溶性成分的流失使附子总量减少,致使多糖的含量增加^[49]。此外,植物在生长过程中受到内源激素或外源激素的调节作用,赤霉素(GA)、 α -萘乙酸(NAA)、6-苄氨基嘌呤(6-BA)和6-糠氨基嘌呤(KT)等激素对附子多糖含量有增加作用,而吲哚乙酸(IAA)对多糖含量则有抑制作用,这种抑制作用可能是抑制多糖含量的原因之一^[54]。

5 展望

乌头属多糖作为有生物活性的天然产物^[9],近年来

引起了较多的关注和研究,但目前对乌头属植物开展的研究多集中在关白附和附子等品种,对其他乌头属植物多糖开展相关的结构和生物活性研究较少,故乌头属多糖研究存在较大空间。

抗炎和镇痛是乌头属植物最显著的药理活性,从乌头属植物中开发的乌头碱类成分 3-乙酰乌头碱和草乌甲素就是作为无成瘾性镇痛药在临床应用^[5]。有研究表明,乌头属植物多糖亦具有较强的抗炎活性,如黄花乌头多糖 KMPS-2E 抑制肥大细胞中 NF- κ B 信号通路调节炎性细胞因子的表达而发挥抗炎作用。而炎症在肿瘤的生成中扮演了重要角色,其通过加速肿瘤细胞增殖、诱导 DNA 损伤、刺激血管生成和组织重建而促进肿瘤的生成^[55]。有学者认为,多糖的抗肿瘤活性应部分归因于其抗炎特性。其他研究表明,乌头属多糖的抗肿瘤活性不是直接杀死肿瘤细胞,而是通过激活机体的免疫系统间接发挥作用。如关白附多糖 ACP-a1 是通过提高宿主器官的免疫反应,恢复 H22 荷瘤小鼠被抑制的免疫反应间接抑制肿瘤生长^[17]。近来发现,肿瘤细胞逃避 T 细胞摧毁的一种途径是通过在其表面产生 PD-1,当 T 细胞表面的 PD-1 识别 PD-L1 后,可传导抑制性信号,T 细胞就不能发现肿瘤细胞和向肿瘤细胞发出攻击信号。基于乌头属多糖提高免疫抗肿瘤的思路,乌头属多糖对 PD-1 是否有影响值得进一步研究。

乌头属植物多糖在抗肿瘤转移方面显示出了较好的活性,显著抑制 Rac1 蛋白介导肿瘤细胞的迁移,这是乌头属植物多糖抗肿瘤与众不同的特征。生物学功能较好地解释了乌头属植物在民间和临床常用作抗炎和抗肿瘤药的原因。

有研究表明,附子多糖对氧化低密度脂蛋白诱导的人类血管平滑肌的钙化具有保护作用,且明显减轻了低密度脂蛋白诱导的自噬下调^[31]。这或可诠释乌头属植物如附子“回阳救逆”功效用于治疗心脏疾病的原因,为乌头属植物的临床应用提供了科学依据。乌头属植物具有回阳救逆、温阳等功效,在传统医药或中医上常用于治疗心脏疾病^[10],是“火神派”最常用药物。通过现代药理学研究,可发现并阐明乌头属植物的物质基础,基于治疗思路寻找新的靶点,并可演绎发现其新的治疗适应证。

综上所述,乌头属植物多糖在抗炎、抗肿瘤、治疗心脏疾病有较好的生物活性,应加强其研究,特别是在抗肿瘤转移、提高免疫力方面。目前,对乌头属植物多糖的研究大多是粗多糖提取物,在今后的研究中应加强对乌头属多糖的分离和结构鉴定工作,并结合药理作用和作用机制进行研究,为合理开发乌头属植物多糖资源提供科学依据。

参考文献:

- [1] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 156.
- [2] 李 谦,过立农,郑 健,等. 乌头属药用植物的研究进展[J]. 药物分析杂志,2016,36(7): 1129-1149.
- [3] 乌力吉特古斯,白学良,阿拉坦松布尔,等. 蒙药草乌叶化学成分及临床研究进展[J]. 中草药,2006,37(3): 472-474.
- [4] NYIRIMIGABO E, XU Y, LI Y, et al. A review on phytochemistry, pharmacology and toxicology studies of *Aconitum*[J]. J Pharm Pharmacol, 2015, 67(1): 1-19.
- [5] GONZALEZ-COLOMA A, REINA M, MEDINAVEITIA A, et al. Structural diversity and defensive properties of norditerpenoid alkaloids[J]. J Chem Ecol, 2004, 30(7): 1393-1408.
- [6] KONNO C, SUZUKI Y, OISHI K, et al. Isolation and hypoglycemic activity of atractans A, B and C, glycans of *Atractylodes japonica* rhizomes[J]. Planta Med, 1985(2): 102-103.
- [7] 赵 驰. 附子多糖提取、分离、纯化、结构鉴定与免疫调节作用的研究[D]. 广州: 中山大学, 2007.
- [8] ZHAO C, LI M, LUO Y, et al. Isolation and structural characterization of an immunostimulating polysaccharide from fuzi, *Aconitum carmichaeli*[J]. Carbohydrate Research, 2006, 341(4): 485-491.
- [9] 施松善,王顺春. 多糖生物活性研究进展[J]. 生命科学, 2011, 23(7): 662-670.
- [10] GAO TT, MA S, SONG JY, et al. Antioxidant and immunological activities of water-soluble polysaccharides from *Aconitum kusnezoffii* Reichb. [J]. Int J Biol Macromol, 2011, 49(4): 580-586.
- [11] ATAL C, SHARMA M, KAUL A, et al. Immunomodulating agents of plant origin. I: Preliminary screening[J]. J Ethnopharmacol, 1986, 18(2): 133-141.
- [12] LIANG DY, LI XQ, SHI XY, et al. The complement component C5a receptor mediates pain and inflammation in a postsurgical pain model[J]. Pain, 2012, 153(2): 366-372.
- [13] 李晓军,蒋嘉烨,施松善,等. 关白附中 1,6-葡聚糖及其硫酸酯的抗补体活性[J]. 高等学校化学学报, 2014, 35(7): 1423-1426.
- [14] 阮期平,赵 莉,陈吉森. 附子多糖 FI 的分离纯化及生物学活性研究[J]. 四川生理科学杂志, 2000, 22(2): 40-41.
- [15] KONNO C, MURAYAMA M, SUGIYAMA K, et al. Isolation and hypoglycemic activity of aconitans A, B, C and D, glycans of *Aconitum carmichaeli* roots[J]. Planta Med, 1985(2): 160-161.
- [16] WANG BB, WANG JL, YUAN J, et al. Sugar composition analysis of Fuzi polysaccharides by HPLC-MS(n) and their protective effects on Schwann cells exposed to high glucose[J]. Molecules, 2016, 21(11): 1496-1510.
- [17] LI H, SUN M, XU J, et al. Immunological response in H22 transplanted mice undergoing *Aconitum coreanum* polysaccharide treatment[J]. Int J Biol Macromol, 2013, 55: 295-300.
- [18] LIANG M, LI S, SHEN B, et al. Anti-hepatocarcinoma effects of *Aconitum coreanum* polysaccharides[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 88(3): 973-976.

- [19] LIANG M, LIU J, JI H, et al. A *Aconitum coreanum* polysaccharide fraction induces apoptosis of hepatocellular carcinoma (HCC) cells via pituitary tumor transforming gene 1 (PTTG1) - mediated suppression of the P13K/Akt and activation of p38 MAPK signaling pathway and displays antitumor activity in vivo[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(9): 7085 - 7091.
- [20] ROBINSON DR, WU YM, LONIGRO RJ, et al. Integrative clinical genomics of metastatic cancer[J]. *Nature*, 2017, 548(7667): 297 - 303.
- [21] ZHANG Y, WU W, KANG L, et al. Effect of *Aconitum coreanum* polysaccharide and its sulphated derivative on the migration of human breast cancer MDA - MB - 435s cell[J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 103: 477 - 483.
- [22] SUN L, WANG Z, WANG H, et al. Polysaccharide sulphated derivative from *Aconitum coreanum* induces cell apoptosis in the human brain glioblastoma U87MG cell line via the NF - kappaB/Bcl - 2 cell apoptotic signaling pathway[J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(3): 1469 - 1474.
- [23] LI X, JIANG J, SHI SS, et al. A RG - II type polysaccharide purified from *Aconitum coreanum* and their anti - inflammatory activity[J]. *Plos One*, 2014, 9(6): e99697.
- [24] WADE CR, JACKSON PG, HIGHTON J, et al. Lipid peroxidation and malondialdehyde in the synovial fluid and plasma of patients with rheumatoid arthritis[J]. *Clinica Chimica Acta*, 1987, 164(3): 245 - 250.
- [25] 郭憬憬, 郭润, 张娜, 等. 关白附多糖体外抗氧化性研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2007, 26(1): 43 - 45.
- [26] LIU CH, WANG CH, XU ZL, et al. Isolation, chemical characterization and antioxidant activities of two polysaccharides from the gel and the skin of *Aloe barbadensis* Miller irrigated with sea water[J]. *Process Biochem*, 2007, 42(6): 961 - 970.
- [27] 温爱平, 杨来秀, 王玉华, 等. 紫花高乌头多糖提取工艺及抗氧化活性的研究[J]. *中药材*, 2016, 39(11): 2579 - 2581.
- [28] TSIAPALI E, WHALEY S, KALBFLEISCH J, et al. Glucans exhibit weak antioxidant activity, but stimulate macrophage free radical activity[J]. *Free Radic Biol Med*, 2001, 30(4): 393 - 402.
- [29] PRASAD KN, XIE H, HAO J, et al. Antioxidant and anticancer activities of 8 - hydroxypsoralen isolated from wampee [*Clausena lansium* (Lour.) Skeels] peel[J]. *Food Chem*, 2010, 118(1): 62 - 66.
- [30] 黄雄庆. 附子多糖降血胆固醇作用及机制的研究[D]. 广州: 中山大学, 2008.
- [31] LIAO L, ZHUANG X, LI W, et al. Polysaccharide from Fuzi protects against Ox - LDL - induced calcification of human vascular smooth muscle cells by increasing autophagic activity[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(4): 5109 - 5115.
- [32] 袁晶, 徐晓婷, 徐凌川. 圆锥乌头多糖脱蛋白及抗 HIV - 1 RT 活性研究[J]. *齐鲁药事*, 2010, 29(5): 303 - 306.
- [33] 哈文秀, 利毛才让, 热增才旦. 藏药唐古特乌头中多糖的提取实验研究[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(5): 2577 - 2578.
- [34] 哈文秀, 利毛才让. 超声法提取藏药唐古特乌头中多糖的研究[J]. *化学与生物工程*, 2010, 27(7): 63 - 65.
- [35] 马鸿雁, 刘小彬, 李楠, 等. 附子粗多糖提取工艺的优化[J]. *时珍国医国药*, 2005, 16(1): 22 - 23.
- [36] 叶思勇, 邵孟霞, 陈智. 乌头多糖的提取分离与含量测定[J]. *中国医药导报*, 2011, 8(33): 70 - 71.
- [37] 于永交, 梁冬雪, 张婷岚, 等. 响应面法优化关白附中多糖的提取工艺[J]. *食品与药品*, 2011, 13(7): 260 - 264.
- [38] 叶强, 张丹, 郭力. 附子多糖提取纯化工艺研究[J]. *中药与临床*, 2013, 4(2): 29 - 31.
- [39] TONG H, FENG K, ZHANG X, et al. Purification and chemical compositions of a proteoglycan isolated from *Aconitum coreanum*[J]. *Chem Nat Compd*, 2010, 46(2): 329 - 330.
- [40] 祝晓涛. 关白附多糖提取纯化工艺及理化性质研究[D]. 延吉: 延边大学, 2011.
- [41] ZHANG YL, GAO J, MIAO XZ, et al. Monosaccharide composition analysis of polysaccharides from *Aconitum Kusnezoffii* based on HPLC - MS[J]. *Transylvanian Review*, 2017, 1(14): 1 - 5.
- [42] 孙玉军, 陈彦, 吴佳静, 等. 草乌多糖的分离纯化和组成性质研究[J]. *中国药理学杂志*, 2000, 35(11): 11 - 13.
- [43] 阮期平, 周立, 赵莉. 黄附子中性多糖和酸性蛋白多糖的分离、纯化与鉴定[J]. *中国生化药物杂志*, 2000, 21(1): 20 - 22.
- [44] 朱晓霞, 罗学刚. 天麻多糖水提及脱蛋白工艺优化[J]. *中药材*, 2007, 30(6): 724 - 726.
- [45] 钟方晓, 任海华, 李岩. 多糖含量测定方法比较[J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(8): 1916 - 1917.
- [46] 杨帆, 郝爱国, 徐恒瑰, 等. 附子多糖的含量测定[J]. *大连医科大学学报*, 2007, 29(5): 453 - 454.
- [47] 赵祥升, 王惠, 许源, 等. 江油附子多糖含量的测定[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(2): 650 - 651.
- [48] 冯凯, 佟海滨, 田丹, 等. 关白附中多糖含量的测定[J]. *北华大学学报(自然科学版)*, 2009, 10(5): 436 - 438.
- [49] 舒晓燕, 侯大斌, 李凤. 不同品种附子生物碱和多糖含量的比较[J]. *中国药房*, 2010, 21(31): 2916 - 2918.
- [50] 欧水平, 王森, 郑琴, 等. 乌头全植株各组织部位粗多糖含量的动态差异性考察[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(5): 7 - 9.
- [51] 吕永磊, 王丹, 李向日, 等. 附子多糖的含量测定[J]. *药物分析杂志*, 2011, 31(5): 835 - 838.
- [52] 吕永磊, 卜海博, 杨蕾, 等. 乌头母根、子根、须根多糖的比较[J]. *中国中药杂志*, 2011, 31(9): 1154 - 1157.
- [53] 赵莉, 高长健, 王刚, 等. 不同气候环境对乌头粗多糖含量的影响[J]. *绵阳师范高等专科学校学报*, 2000, 19(5): 49 - 51.
- [54] 赵祥升, 侯大斌, 舒晓燕. 植物激素对附子多糖含量的影响[J]. *时珍国医国药*, 2009, 20(9): 2195 - 2196.
- [55] WU Y, ANTONY S, MEITZLER JL, et al. Molecular mechanisms underlying chronic inflammation - associated cancers[J]. *Cancer Lett*, 2014, 345(2): 164 - 173.

(收稿日期: 2018 - 04 - 27; 修回日期: 2018 - 06 - 06)