



中药多糖结构 与功能及其机制

丁 侃 主编



科学出版社

R28
402

中药多糖结构与功能及其机制

丁 侃 主编

中国科学院上海药物研究所
无限极中草药多糖联合实验室

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书纳入中药中多糖的化学结构、生物活性、作用机制、构效关系、质量控制、多糖药物及其机制研究的相关理论与方法。内容包括中药多糖的分离纯化、纯度、含量测定、结构与构象分析方法、糖芯片、指纹图谱、活性筛选方法及其功能机制等。着重阐述植物的根、根茎、叶、花、果实和种子中近百种多糖,以及微生物多糖、动物多糖、海洋中药多糖的结构、活性(包括抗肿瘤、抗病毒、抗辐射、降血糖、抗炎、抗感染、降血压、降脂、调节肠道菌群、抗氧化、抗衰老、保肝、抗凝血、镇痛、心肌保护和促进类神经轴突生成等)及其相关机制。本书在前人的基础上增加了中药多糖的靶向性、口服吸收机制、复合多糖等相关内容。书中汇总了我国大量糖化学与糖生物学领域学者的研究成果,同时也对本书作者多年来的学术成果进行了一定程度的归纳、总结。

作为一部有中国特色,且具有一定新颖性的中药多糖化学与糖生物学参考书,本书可供从事糖生物学与糖化学、中药化学、中药药理学、植物化学及分析化学等相关专业的研究生、教师、科研人员,以及企业中从事多糖类相关功能食品、保健品研发人员及创新药物研究者参考。

图书在版编目(CIP)数据

中药多糖结构与功能及其机制/丁侃主编. —北京:科学出版社,2016

ISBN 978-7-03-046872-7

I. ①中… II. ①丁… III. ①多糖-中药化学 IV. ①R284

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 307175 号

责任编辑:吴美丽 / 责任校对:贾伟娟 贾娜娜

责任印制:肖 兴 / 封面设计:铭轩堂

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京利丰雅高长城印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016 年 7 月第 一 版 开本:720×1000 1/16

2016 年 7 月第一次印刷 印张:37 1/4

字数:730 000

定价:296.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《中药多糖结构与功能及其机制》编委名单

名誉主编:方积年

主 编:丁 侃

副 主 编:董 群 王顺春 段金友 马忠华

编 委:曲欢欢 王培培 刘 芹 李艳玲 廖文锋

胡明华 马方励 丛启飞 秦 毅 张 蕾

王武成 王吉文 蔡德勤 韩 昆 郑昌平

陈焕君 林黎燕 姚艳丽 李雪颖

序

多糖的结构、功能及其作用机制是当今生命科学领域的前沿学科——糖生物学的核心研究内容之一。多糖结构与功能研究在理论和技术方法上的不断创新,不仅大大丰富和深化了糖生物学的内容,也有力地带动了生物医药、功能食品、保健品、纺织、化工、农业、采矿与印刷等相关产业的发展。以医药和保健品为例,在全球现已开发的多糖药物和保健品中,多糖类产品每年产生的价值近千亿元,而其中有60%~70%的原料产自中国。

中药学是最有望以我国为主导取得原始创新突破、对世界科技和医学发展产生重大影响的学科,中医药产业是我国具有原创优势和巨大发展潜力的战略性新兴产业。随着当代经济、社会和科技的发展,现代西方医学的局限和不足促使人们反思医学发展的模式,中医药的科学性、理论价值、确切疗效、重要地位越来越被国际所认识,建立中西医并重、有中国特色的医疗卫生保障体系的重要性和价值日益凸显。然而,当前中医药现代化研究的现状和水平还不能适应形势的新要求。在基因组学和蛋白质组学等新技术、新方法的推动下,国际医药领域正向精准医疗方向发展。而千百年来在中医药发展中具有重要地位的辨证施治理论和临床诊疗模式,虽然始终贯穿着个性化精准医疗理念,但由于在可重复性、精确性、量化等方面较为薄弱,难以获得更广泛的认可、得到更有效的应用。其中原因之一就是中医治病之利器——中药的药效物质基础,还仍然未能全面明了。因此,进一步开展中药活性物质基础的研究,对中药现代化和中医药的发展具有至关重要的意义。

在我国天然产物化学家的努力下,中药中所含的小分子物质的结构和活性研究取得了长足进步。但是,由于多糖大分子结构的复杂性与多样性,其分离纯化与结构解析极具挑战性,与小分子相比要复杂和困难得多,中药中活性多糖的结构与功能研究明显滞后。中药汤剂是中药用药的最主要方式,多糖是汤剂水溶性活性物质的主要成分,但迄今对其结构、活性、靶向性及相关功能机制的认识还十分模糊。开展这方面的研究,不仅有利于阐明中药药性的物质基础,也是研发基于糖类的创新药物的必经之路。我国是国际上天然药用资源最为丰富的国家之一,在中医药理论指导下开展中药多糖的结构与功能研究,有助于我国在国际糖生物学领域形成中国特色,有望为糖生物学领域做出重要贡献。为了适应中药活性物质,特别是多糖大分子研究进一步发展的要求,当前迫切需要有一本专注于我国中药多糖的结构、功能及其相关作用机制研究的专著,以供该领域研究者和教学人员参考。然而到目前为止,国内外尚无一本此类书籍出版。我国中药多糖化学研究在

老一辈多糖化学家的推动下取得了显著成果。随着糖生物学技术在中药多糖功能研究中的应用,我国中药多糖的糖生物学研究逐渐形成了自己的特色,特别是在多糖的靶向性及其机制研究方向上有了一些突破,积累了丰富的研究成果。

该书是在我的同事、我国著名多糖化学家方积年教授的指导下,由其弟子所著。可以说这本书的问世恰逢其时,必将对我国中药多糖研究和中青年研究人员的成长发挥重要作用。借该书出版之际,衷心感谢他们在科研和教学之余,耗费大量精力,为我国中药及天然药物研究贡献这样一本内容翔实的佳作,也深感荣幸被邀请为此书作序。

陈凯先

2015年12月30日

前 言

2001 年人类基因组工作草图绘制成功,随后近 15 年后基因组及蛋白质组等研究可谓如火如荼。然而人类针对重大疾病的认识及治疗并没有取得重大突破。基因的序列由 4 种碱基对的排列决定,蛋白质的结构由 20 个氨基酸构成,而糖链的结构花式是由来源于自然界的 32 种单糖组成。相比而言,糖较基因和蛋白质承载了更海量的信息。虽然无论是糖蛋白,还是蛋白聚糖上的糖链,在疾病的发生发展中均担任一定的功能,但其精细化学结构与作用机制远未明了。随着 2012 年糖科学领域路线图(Transforming of Glycoscience, A Roadmap for the Future)的绘制,该领域已成为生命科学的前沿。越来越多的科学家认识到糖链作为信息和功能分子是生命过程中不可或缺分子,在细胞的生长、分化、发育过程中担任关键角色。虽然自然界拥有 32 种单糖,而人体内糖链却只由 9 种单糖元件组成。由于人体内与自然界中存在的糖链在结构上有一定的相似度,因此外源性给予糖类化合物理论上会干扰人体内细胞自身合成的糖链功能,从而达到防病与治疗功效。事实上,细胞膜上或人体血液中几乎百分之百的蛋白质都发生了糖基化。这些功能分子及人体内存在的凝集素都可能是糖链的靶分子。

在天然产物化学家的多年努力下,中药中小分子的结构和活性研究取得了巨大进步,然而作为中药第一大剂型汤剂中的主要水溶性成分——多糖成分,由于其结构上微观不均一性及单糖组成的多样性,其分离、纯化与结构快速鉴定都存在许多挑战。中药几千年的临床应用试验证明其具有明确的功效,随着研究的深入,越来越多的来源于中药多糖的活性,诸如免疫激活、抗肿瘤、抗凝、抗病毒、降糖、降血脂、抗老年痴呆、神经保护等功能被陆续报道。但由于多糖在溶液状态下柔性大,不易结晶,从而使其靶向性研究相当滞后,这也是造成其功能机制研究不够深入的主要原因之一。

根据美国食品药品监督管理局(FDA)已批准药物的记载,近半数药物来源于天然产物及其衍生物,因此天然产物化合物是创新药物研究的重要源泉。美国功能性糖组学国际联合会(Consortion of Functional Glycomics,CFG)在 2010 年向美国国立卫生研究院(NIH)汇报其 10 年研究成果时指出,动物、植物和微生物中聚糖结构与功能研究是未来糖生物学研究的重要方向,必将为人类疾病的研究和治疗带来新的希望。

本书在前人研究的基础上,对中药中多糖的分离纯化、结构鉴定、活性筛选及其功能机制进行了概括与总结。此外,在中药多糖研究的前沿如中药多糖的吸收

机制、多糖的靶向性及复合多糖的研究进行了探索,力求发挥抛砖引玉的作用。

本书共有 15 章,中国科学院上海药物研究所无限极中草药多糖联合实验室工作人员(曲欢欢、王培培、刘芹、李艳玲、廖文锋、马忠华、胡明华、马方励)和研究生(丛启飞、秦毅、张蕾、王武成、王吉文、蔡德勤、韩昆、郑昌平、陈焕君、林黎燕、姚艳丽、李雪颖)参与了资料准备与撰写。中国科学院上海药物研究所糖化学与糖生物学实验室董群研究员、上海中医药大学王顺春教授及西北农林科技大学段金友教授进行了补充及校正。本书所用部分图片来自于国内外公开发表的科学论文与出版书籍,在此对其著者一并表示衷心感谢!

由于作者水平有限,撰写中难免有不足之处,恳请广大读者批评指正。

丁 侃

2015 年 9 月 8 日

目 录

总 论

第一章 中药多糖的提取分离与纯化	2
第一节 中药多糖的提取	2
第二节 中药多糖的分离纯化	8
第三节 多糖纯度的测定	13
第四节 多糖含量的测定	15
参考文献	22
第二章 中药多糖的结构	24
第一节 中药多糖的分类	24
第二节 多糖的结构分析方法	28
第三节 多糖的构象	42
第四节 多糖序列分析	47
参考文献	48
第三章 中药多糖的活性	50
第一节 活性方法研究	50
第二节 中药多糖活性	55
参考文献	139
第四章 中药多糖的构效关系研究	163
第一节 多糖的活性基团与常见改造方法	163
第二节 中药多糖结构改造	163
第三节 多糖芯片	166
第四节 中药多糖的构效关系	204
参考文献	220
第五章 中药多糖的活性机制	230
第一节 多糖靶向性研究	230
第二节 中药多糖口服吸收机制	238
第三节 多糖活性机制	256
参考文献	284

第六章 中药多糖的质量控制研究	297
第一节 质量控制方法	298
第二节 指纹图谱	304
参考文献	312
第七章 中药多糖的药物研究	315
各 论	
第八章 复合多糖	329
第一节 微生物复合多糖	329
第二节 植物复合多糖	330
参考文献	332
第九章 中药花类药材多糖的结构活性及机制	335
第一节 款冬多糖	335
第二节 红花多糖	337
第三节 旋覆花多糖	339
第四节 山茶花多糖	340
第五节 金银花多糖	341
第六节 山银花多糖	343
第七节 槐花多糖	344
第八节 菊花多糖	345
第九节 玫瑰花多糖	348
第十节 茉莉花多糖	350
第十一节 蒲黄多糖	351
第十二节 三七花多糖	352
第十三节 丁香花多糖	353
第十四节 夹竹桃花多糖	355
第十五节 秋葵花多糖	356
第十六节 蓝蓟多糖	356
第十七节 芦荟花多糖	357
第十八节 桃花多糖	357
参考文献	358
第十章 根与根茎类中药多糖的结构活性及机制	362
第一节 山药多糖	362
第二节 当归多糖	365
第三节 胡萝卜多糖	370
第四节 天麻多糖	371

第五节 白芍多糖·····	374
第六节 人参多糖·····	375
第七节 三七多糖·····	380
第八节 荸荠多糖·····	382
第九节 黄精多糖·····	382
第十节 黄芪多糖·····	384
第十一节 生姜多糖·····	388
第十二节 板蓝根多糖·····	389
第十三节 半夏多糖·····	390
第十四节 桔梗多糖·····	392
第十五节 天门冬多糖·····	394
第十六节 芦根多糖·····	395
第十七节 石菖蒲多糖·····	397
第十八节 漏芦多糖·····	398
第十九节 防己多糖·····	398
第二十节 细辛多糖·····	399
第二十一节 南沙参多糖·····	400
第二十二节 乌头多糖·····	400
第二十三节 防风多糖·····	401
第二十四节 白术多糖·····	404
第二十五节 葛根多糖·····	406
第二十六节 大黄多糖·····	407
第二十七节 黄连多糖·····	409
第二十八节 莲藕多糖·····	411
第二十九节 白及多糖·····	412
第三十节 贝母多糖·····	413
第三十一节 丹皮多糖·····	414
第三十二节 远志多糖·····	415
第三十三节 姜黄多糖·····	416
第三十四节 牛膝多糖·····	416
第三十五节 肉苁蓉多糖·····	418
第三十六节 续断多糖·····	421
第三十七节 附子多糖·····	421
参考文献·····	422

第十一章 叶类中药多糖的结构活性及机制	438
第一节 茶叶多糖.....	438
第二节 桑叶多糖.....	441
第三节 银杏叶多糖.....	444
第四节 人参茎叶多糖.....	447
第五节 艾叶多糖.....	450
第六节 其他叶多糖.....	454
参考文献.....	458
第十二章 果实与种子类中药多糖的结构活性及机制	462
第一节 大枣多糖.....	462
第二节 苦瓜多糖.....	463
第三节 五味子多糖.....	465
第四节 枸杞子多糖.....	467
第五节 龙眼多糖.....	469
第六节 女贞子多糖.....	470
第七节 决明子多糖.....	471
第八节 绿豆多糖.....	472
第九节 银杏多糖.....	472
第十节 胖大海多糖.....	474
第十一节 车前子多糖.....	475
第十二节 南瓜多糖.....	477
第十三节 菟丝子多糖.....	478
第十四节 夏枯草多糖.....	480
参考文献.....	481
第十三章 动物类中药多糖	485
第一节 糖胺聚糖类药物.....	486
第二节 糖蛋白类药物.....	496
第三节 糖脂类药物.....	502
第四节 其他动物类多糖——甲壳素和壳聚糖.....	505
参考文献.....	508
第十四章 海洋中药多糖	520
第一节 海洋植物中药多糖.....	520
第二节 海洋动物中药多糖.....	536
参考文献.....	549

第十五章 真菌类中药多糖的结构活性及机制·····	558
第一节 香菇·····	559
第二节 冬虫夏草·····	561
第三节 灵芝·····	563
第四节 猴头菇·····	566
第五节 黑木耳·····	567
第六节 银耳·····	568
第七节 茯苓·····	570
第八节 灰树花·····	572
第九节 马勃·····	574
第十节 猪苓·····	575
参考文献·····	577

总 论

第一章 中药多糖的提取分离与纯化

中药药效的物质基础研究是中药现代化及中药二次开发的中心议题。糖类物质(包括多糖)被认为是中药药效物质的主要类型之一。多糖的制备自然也就成了药效物质基础研究的重中之重。多糖制备是一个多步骤过程,包括药材的预处理、粗多糖的提取、除蛋白质和脱色、分离纯化等过程。其来源多样,既有植物,也有动物、微生物和海藻。来源不同的中药多糖的制备过程有差异,以下主要介绍的为植物来源的多糖的一般制备过程。

第一节 中药多糖的提取

一、中药多糖的预处理

植物中多糖通常占细胞壁干重的 90%,存在于植物中不同的部位。根据其存在的部位,植物多糖可分为细胞壁多糖和细胞外多糖。在提取中药多糖之前需进行预处理,预处理工艺一般包括清洗、粉碎、脱脂等工艺。清洗的目的是去除原料中泥土等杂质;粉碎是为了增大原料在提取过程中与提取溶剂的接触面积,从而提高提取率¹;脱脂一般是加入 95%乙醇浸泡后弃乙醇,或者使用 95%乙醇在 70℃的条件下回流,以达到去除脂溶性物质的目的。

动物多糖来自动物结缔组织基质和细胞间质,可以说是脊椎动物组织胞外空间的特征部分。提取动物多糖前,通常首先要去除表面脂肪,一般将原料粉碎后加入丙酮等脱脂,对脱脂后过滤得到的残渣再进行提取。

二、中药多糖的提取方法

中药多糖的提取方法有溶剂浸提法、酶法、超声辅助提取法、微波辅助提取法,见图 1-1。对于不同的多糖,要根据其理化性质要求和具备的条件,采用不同的提取方法。为了达到最好的提取效果,可以将几种提取方法配合使用。多糖得率受到提取设备与工艺参数,如粉碎度、料液比(药材和水体积比)、提取温度、提取时间、提取次数和提取溶剂的浓度等因素影响。可以使用单因素试验、正交试验设计、线性回归、响应面法等分析方法优化提取条件。其中溶剂浸提法中水浸提法为常用方法。以下所列的方法为一般性方法,根据提取多糖种类等不同,所加入试剂的量或步骤会稍有差别。也有一些特殊的方法,如有人使用 33%水合氯醛提取淀粉多糖,用二甘醇提取细菌多糖,用二甲亚砜提取含乙酰基的多糖,这些方法通常

适用于提取特定结构类型的多糖。

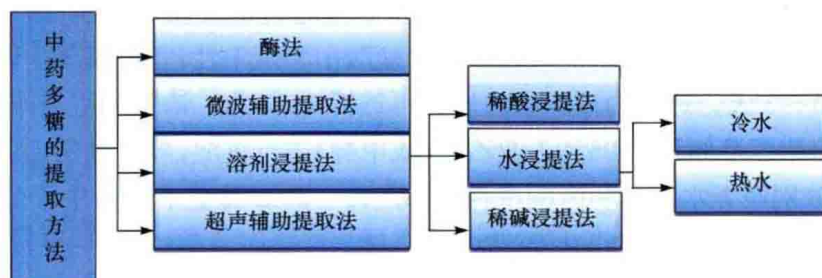


图 1-1 中药多糖的提取方法

(一) 溶剂浸提法

中药多糖的提取一般采用热水或冷水、稀酸、稀碱、稀盐等作为溶剂,所以溶剂浸提法又可分为水浸提法、稀碱浸提法、稀酸浸提法等。基于成本和方便性考虑,多数情况下是采用热水浸提法进行粗提。有时利用稀酸、稀碱作为提取溶剂,但酸碱条件下多糖可能会发生降解,从而降低产率或改变所得多糖的结构,因此温度控制在 4°C 以下为宜。

1) 水浸提法

糖类物质通常可以溶于水,而在多数有机溶剂中的溶解度很小,所以可用水进行提取后用水溶性有机溶剂作为沉淀剂来沉淀多糖。常用的有机溶剂为甲醇、乙醇、异丙醇及丙酮,这些溶剂能降低多糖在水中的溶解度而使之沉淀,其中乙醇、异丙醇是美国食品药品监督管理局(FDA)认可的适合食品级多糖提取的最佳沉淀剂²。

【步骤】

药材浸泡于热水或冷水中,热水浸提时温度一般为 $50\sim 100^{\circ}\text{C}$,时间一般为 $2\sim 5\text{h}$,过滤得滤液,滤渣加入水进行再次提取。提取多次至硫酸-苯酚法检测提取液中糖反应不明显。滤液合并后浓缩至小体积,用流动水透析 $1\sim 3$ 天。透析内液除蛋白质后再透析 $1\sim 3$ 天。浓缩至适当体积后加入 3 倍或 4 倍浓缩液体积的 95% 工业乙醇(或甲醇)进行沉淀,静置过夜,离心收集沉淀。沉淀分别经无水乙醇和丙酮洗涤后,于 $40\sim 50^{\circ}\text{C}$ 真空干燥箱中干燥或冷冻干燥,得水提粗多糖。称重,计算粗多糖的提取率。

2) 稀碱浸提法

由于一些糖类物质可以溶于碱液,如酸性多糖,因此可以采用稀碱提取粗多糖。

【步骤】

热水提取后的滤渣在 4℃ 条件下用稀 NaOH 或 KOH 溶液(浓度一般为 1mol/L)浸提 2~4h,间歇搅拌,过滤。所得滤渣进行重复提取,至硫酸-苯酚法检测提取液中糖反应不明显。滤液合并后用盐酸中和至中性,并浓缩至小体积,用流动水透析 1~3 天。透析内液除蛋白质后再透析 1~3 天。浓缩至适当体积后加入 3 倍或 4 倍浓缩液体积的 95%工业乙醇(或甲醇)进行沉淀,静置过夜,离心收集沉淀。沉淀分别经无水乙醇和丙酮洗涤后,于 40~50℃ 真空干燥箱中干燥,得碱提粗多糖。称重,计算粗多糖的提取率。

3) 稀酸浸提法

少数多糖可以溶于酸,所以可以采用稀酸提取粗多糖。

【步骤】

一般采用热或冷的 1%乙酸和 1%苯酚提取,提取液使用 NaOH 中和。其余步骤同稀碱浸提法。

(二) 酶法

植物材料中通常不仅含有多糖,还会含有蛋白质、脂类等成分。酶法是通过酶反应将原料组织的某些成分分解,加速有效成分的释放和提取。粗多糖得率受到底物、酶浓度、酶种类、提取温度、pH、提取时间等因素的影响。由于酶具有专一性和选择性的特点,应用时多采用多种酶混合而成的复合酶,常用的复合酶由纤维素酶和果胶酶混合而成。

【步骤】

药材浸泡于水溶液中,加入复合酶制剂至适当的浓度,然后在适宜的温度和 pH 条件下(使用缓冲液调节 pH)提取一定时间。100℃ 加热使酶变性失活,过滤或离心得滤液。加入酶液于滤渣中进行再次提取,提取多次至硫酸-苯酚法检测提取液中糖反应不明显。合并滤液,浓缩,透析 1~3 天。透析内液除蛋白质后再透析 1~3 天,浓缩至适当体积后加入 3 倍或 4 倍浓缩液体积的 95%工业乙醇(或甲醇)进行沉淀,静置过夜,离心收集沉淀。沉淀分别经无水乙醇和丙酮洗涤后,于 40~50℃ 真空干燥箱中干燥,得粗多糖。称重,计算粗多糖的提取率。

(三) 超声辅助提取法

超声的机械化学作用通过破坏细胞壁和加强细胞内的传质作用,提高了植物中有机化合物的提取速度。超声波在液体内传播时,液体介质不断受到压缩和拉伸,在拉力作用下,连续的液体断裂形成暂时的近似真空的空洞,压缩时,这些空洞就会发生崩溃,出现局部高温及放电现象,产生空化作用。超声波空化可以从稳态空化转化成瞬态空化,空化泡瞬间长大破裂,吸收的能量在极短的时间和极小的空