

1827

· 知识介绍 ·

349

螺旋藻多糖及其药理作用的研究进展

刘茜 焦庆才 刘志礼

(南京大学生物科学与技术系, 南京 210093)

摘要 目前对螺旋藻多糖及其药理作用的研究日渐增多, 综合起来共有五个方面内容。①螺旋藻多糖组成与结构; ②促进细胞生长; ③增强机体免疫能力; ④抗肿瘤作用; ⑤抗衰老作用。我国螺旋藻事业正在迅猛发展, 螺旋藻多糖的开发利用大有前途。

关键词 螺旋藻多糖; 组成; 结构; 药理作用

螺旋藻(*Spirulina*), 作为宝贵的营养与药物资源日渐受到科学界重视^[1]。在 1972 年国际第二次微生物蛋白会议及 1974 年联合国粮农组织会议上, 螺旋藻被公认为“人类未来的优秀粮食资源”而受推荐发展的典型产品。

大量的科学研究和临床试验表明^[2], 螺旋藻对肝病(肝炎、肝硬化)、慢性胰腺炎、糖尿病、青光眼和白内障、恶性贫血、肥胖症、胃溃疡^[3,4]以及抑制癌细胞的生长(口腔癌细胞)^[5,6]都有良好的效果。据报道^[7], 螺旋藻多糖(以下简称 SPS)在⁶⁰Co- γ 射线照射前后, 用它处理蚕豆根尖细胞可降低细胞的微核率和染色体畸变类型数。

近三十年来, 尤其经过国家“七五”和“八五”科技攻关, 我国螺旋藻的引种驯化及工业化培养技术已达到国际先进水平。近来有关 SPS 的药理作用研究日渐增多, 这为我国螺旋藻产业的进一步发展奠定了坚实的基础。

1 SPS 的提取及组成研究

SPS 是从螺旋藻中分离纯化的水溶性多糖, 干粉含量 6%~7%, 提取率约为 3%。它对机体免疫功能有提高作用^[8,9], 对移植性癌细胞有抑制作用^[10], 对核酸内切酶活性和 DNA 修复合成有增强作用^[11]。由于螺旋藻水溶性多糖的显著生理活性引起人们对 SPS 结构研究的兴趣。

目前国内外研究的 SPS 大都利用多糖溶于酸、碱、盐水溶液或纯水中而不溶于醇、醚、酮等有机溶剂的理化特性, 从钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)、大螺旋藻(*S. maxima*)、盐泽螺旋藻(*S. subsalsa*), 进行提取分离纯化^[12,13]。提取时先将螺旋藻干粉在室温下以乙醇、丙酮浸泡或加入甲醇、氯仿水浴加热搅拌 8h 进行脱脂。如需要脱色的, 则在室温下用 H₂O₂(pH=8) 脱除游离色素, 然后按多糖的特性用水(冷或热水)或稀酸、稀碱和稀盐溶液进行提取。提取液经浓缩后, 即以等量或数倍的甲醇、乙醇或丙酮沉淀析出。

用简单的溶剂提取得到的样品是粗品多糖。多糖中的游离蛋白质可用蛋白质沉淀剂如鞣酯、三氯醋酸等法去除, 少量蛋白质则用 Sevag 方法较好。天然的多糖大都与蛋白质结合而成蛋白多糖, 如需去除蛋白质部分则用 Sevag 方法或利用等电点沉淀; 如糖链较长, 因有屏蔽效应, 不能使蛋白酶达到应有的效果, 必要时只能进行 β -消除(O-糖苷键)或肼解(N-糖苷键)。小分子杂质用透析法除去。

分级处理是将脱蛋白质的 SPS 按分子量大小及形状进行分离。分子量小的多糖水溶性大, 分支多的较直链的水溶性好。采用不同浓度的有机溶剂, 如甲醇、乙醇、丙酮等进行分级沉淀, 可得到不同级分的 SPS。采用 DEAE 纤维素柱层析, 用不同浓度的盐或碱

凝胶电泳,同时可得到不同的组分,通过如此反复并级脱或分级洗脱,最后以纸层,电泳呈现一系列斑点或条带(凝胶或 DEAE 纤维素等)上呈现单峰作为纯度的鉴定标准^[16]。

同一原料采用不同方法,会得到不同的多糖样品。如 Skekharan 等^[17]分别用冷水、热水和酸抽提钝顶螺旋藻中的多糖。结果组成多糖成分发生了变化:

①冷水多糖(CWSP)由葡萄糖(20.9%),木糖(2.3%)和鼠李糖(50.6%)半乳糖(1.03%),甘露糖(17.1%)和两种未知多糖(分别占 2.1%和 6.0%)组成;②热水多糖(HWSP)由葡萄糖(38.7%),木糖(2.3%)和鼠李糖(24.4%),半乳糖(3.6%),甘露糖(9.9%)和两种未知多糖(分别占 6.1%; 14.5%);③酸多糖(ASP)由葡萄糖(97.4%),木糖(0.6%),半乳糖(0.9%),甘露糖(1.1%),但每一种方法只纯化得到一个组分。

Tseng 等^[17]从钝顶螺旋藻中用热水提取分离纯化后得到 3 个多糖组分,用紫外、红外、纸层和柱层测得分别由 L-阿拉伯糖、D-木糖、D-半乳糖、葡萄糖醛酸和一种未知单糖组成。分子量分别为 97.8、98.5、81kD。

曾和平等^[18,19]从钝顶螺旋藻中分离出一种多枝结构水溶性多糖,其主链是葡萄糖以 1,3 与 1,6- α 糖苷糖连接,由葡萄糖(95.1%),木糖(1.7%)和鼠李糖(1.8%)和一种未知多糖(1.3%)组成,分子量为 15. kD。

左绍远等^[19]从钝顶螺旋藻中分离纯化出分子量 16.5kD 的酸性杂多糖,由 L-岩藻糖、D-甘露糖、D-半乳糖、D-葡萄糖及葡萄糖醛酸组成。

由于在分离纯化时所用溶剂过酸或偏碱常常会使多糖复合体降解,用不同类型钝顶螺旋藻凝胶作为分离介质或洗脱液的收集部分不同,其多糖组成也往往不同,由于螺旋藻复合多糖成分复杂,分离纯化难度较大,关于 SPS 的精细结构至今无人报道^[14]。因此,在

目前所进行的 SPS 药理研究工作中,大多数仍是采用螺旋藻复合多作为实验材料。

2 SPS 的药理作用研究

SPS 的药理研究是基于螺旋藻的药理作用而促使人们探索其生物活性成分。最初从螺旋藻的水提取物(含蛋白、多糖、水溶性维生素等)开始研究,研究发现该水提取物能促进体内巨噬细胞吞噬功能^[20],增强体液免疫并可促使白介素-1(IL-1)的产生^[21]。研究还发现螺旋藻的水提取物对植物次生物质的代谢有影响,可提高新疆紫草和硬紫草的紫草色素含量^[22]。阮继红等^[23]用⁶⁰Co 射线照射小鼠,螺旋藻多糖蛋白对辐射引起的白细胞减少有明显的改善效果。

2.1 促进细胞生长的功能

文献报道^[24],SPS 具有体外促进人胎儿细胞(HuH-6KK)的快速生长。实验发现野生型的 HuH 细胞在含 20%的小牛血清的 RPM1 中生长不良,而在仅含 0.01%的盐泽螺旋藻多糖及含 20%的小牛血清的 RPM1 中生长良好。这对大规模细胞培养生产目的物有重要意义。

2.2 增强机体的免疫功能

2.2.1 对机体非特异性免疫功能的影响

刘力生等^[9]观察了 SPS 对小鼠胸腺皮质厚度的影响。实验采用两种给药方式:①灌胃;②腹腔注射。SPS 灌胃剂量为 1g/(kg·d),而腹腔注射剂量 300mg/(kg·d)。无论灌胃或腹腔注射,SPS 均能使小鼠胸腺皮质厚度明显增加。同时可以消除或减轻环磷酰胺(cyclophosphamide,CTX)的抑制作用。

据左绍远^[9]报道,小鼠腹腔注射 SPS (100mg/kg)能使小鼠脾脏明显增重,同时还能显著拮抗 CTX 所致的小鼠脾脏及胸腺萎缩。而对正常小鼠胸腺重量则无明显影响。

另外,SPS 还具有促进单核巨噬细胞系统的功能,增强机体的自我保护能力。结果见表 1。SPS 对小鼠单核巨噬细胞吞噬功能有明显的激活作用,与对照组相比其廓清指数

升高 77.93%。

表 1. SPS(Sp)促进小鼠单核巨噬细胞系统的作用(n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量[mg/(kg·d)]	吞噬指数	
		K	吞噬效率
对照组		0.70±0.004	5.41±0.212
SPS 组	100×7	0.13±0.012	7.32±0.611

2.2.2 对循环抗体水平的影响 文献报道^[8,9],SPS 能促进小鼠血清溶血素的生成,

同时可显著对抗 CTX 对小鼠血清溶血素形成的抑制作用。实验结果见表 2。

表 2. SPS 对小鼠血清溶血素含量的影响

组别	剂量(mg/kg)	光密度 OD×100
对照组		14.4±1.2
SPS 组	150	20.1±1.5
	200	31.4±2.4
	300	33.2±2.6

左绍远等^[1]进一步探讨了 SPS 对小鼠脾抗体形成细胞功能的影响。小鼠腹腔注射 SPS(100mg/kg),实验结果表明 SPS 对正常小鼠脾抗体形成细胞功能无明显影响,但能明显拮抗 CTX 对小鼠脾抗体形成细胞功能的抑制作用。

2.2.3 SPS 对细胞免疫功能的影响 左绍远等^[8]考察了 SPS 对体外小鼠淋巴细胞转化的影响,剂量范围从 2.5~3200 μ g/ml,结果表明,SPS 可促进 ConA 诱导的体外小鼠淋巴细胞转化。

表 3 SPS 对小鼠淋巴细胞转化的影响(n=5, $\bar{x} \pm s$)

剂量 (μ g/ml)	光密度(OD _{590nm})	转化率(%)
320	0.264±0.0042	153.8
160	0.522±0.0022	326.3
80	0.610±0.0016	381.3
40	0.684±0.0041	427.5
20	0.542±0.0032	338.8
10	0.467±0.0042	291.9
5	0.328±0.0024	205.0
2.5	0.242±0.0026	152.3
对照	0.160±0.0024	

Richmond^[25]报道从钝顶螺旋藻中提取的多糖能有效的提高淋巴细胞的活性。

以上结果表明 SPS 具有全面调节机体的免疫能力,能够增强机体的非特异性免疫、体液免疫和细胞免疫。同时还能消除或减轻 CTX 对机体免疫系统的抑制作用。

2.3 SPS 对肿瘤抑制作用

2.3.1 对体外癌细胞的抑制作用 文献尚未报道过其它多糖具有体外直接杀死肿瘤细胞或影响其生长的作用^[26]。而刘力生等报道^[10],SPS 具有对体外癌细胞的抑制作用。结果见表 4。该多糖在大剂量时对 S₁₈₀和腹水型肝癌细胞 DNA 合成的抑制率较高,而对 L₇₇₁₂细胞的 DNA 合成的抑制较低。

表 4. SPS 对腹水型肝癌、肉瘤 S₁₈₀ 和白血病 L₇₇₁₂ 细胞 DNA 合成的抑制作用

	剂量($\mu\text{g}/\text{ml}$)	³ H-TdR 在 DNA 的脉冲数	抑制率(%)
腹水型肝癌	对照	71.1 \pm 3.4	
	250	12.3 \pm 0.6	32.6
	200	17.2 \pm 1.3	76.0
	150	21.0 \pm 1.1	66.2
	100	32.2 \pm 1.4	54.7
	50	47.3 \pm 2.6	33.3
肉瘤 S ₁₈₀	对照	31.3 \pm 1.7	
	250	2.7 \pm 0.2	31.2
	200	4.3 \pm 0.2	36.2
	150	7.6 \pm 0.4	75.6
	100	12.7 \pm 0.6	39.3
	50	21.4 \pm 1.1	31.6
白血病 L ₇₇₁₂	对照	524.6 \pm 26.3	
	250	401.3 \pm 21.0	23.5
	200	432.7 \pm 21.7	17.5
	150	462.6 \pm 23.3	11.3
	100	477.6 \pm 24.4	3.9
	50	498.8 \pm 24.8	4.9

刘力生等^[10]还研究了 SPS 对 S₁₈₀ 和 AH 体外癌细胞 DNA、RNA、蛋白质合成抑制动力学。SPS 对这 3 种生命大分子的抑制均随作用时间的延长而增加,其中对 DNA 的抑制始终比 RNA 和蛋白质高。作者还进一步用 Painter 的 DNA 合成速率抑制法来判断 DNA 合成的抑制机制。研究结果表明,当

SPS 从培养液中除去后,两种癌细胞 DNA 的合成速率都逐步恢复。由此看来,SPS 的抑制机制主要属于代谢性抑制。

2.3.2 对体内癌细胞的抑制作用 刘力生观察了 SPS(200mg/kg)对荷腹水型肝癌细胞的小鼠的影响^[10]。结果表明,该多糖对体内移植性癌细胞有显著的抑制作用^[10]。

表 5. SPS 对荷腹水型肝癌细胞小鼠的影响

组别	鼠数 (n)	平均细胞数($\times 10^3$ /只) ($\bar{x} \pm s$)	抑制率(%)
对照组	12	18.82 \pm 1.14	
治疗组	12	8.65 \pm 0.43	54.0
防治组	12	1.62 \pm 0.11	91.4

SPS 的这种抗肿瘤效果主要是通过增强机体的免疫能力来实现的。左绍远等^[8]用 100mg/kg 剂量的 SPS 进行腹腔注射,与对照组相比,多糖组 k 细胞毒指数升高 54.7%,而对移植性腹水肝癌小鼠存活率的影响并不很显著^[10]。据日本 Patier^[27]报道,对接种 S₁₈₀ 癌细胞的小鼠腹腔注射 SPS,若每日剂量为 2mg/kg,连续 10 次,生命延长

率为 76.5%。

2.4 SPS 抗突变的作用

2.4.1 对微核率的抑制作用 郭宝江等^[12]利用 SPS 的粗提物及纯化物对受辐射的蚕豆根尖进行防护。两种样品均有不同程度的抑制蚕豆根尖细胞微核率的产生,并且发现无论是粗提物还是纯化物做后处理均比前处

理的防护效应更好。

阮继红等^[1]应用 SPS 蛋白对诱发小鼠 PCE 激核率进行探讨, 试验选用 NIH 雄性小鼠, 采用⁶⁰Co- γ 射线照射, 剂量 2.3Gy, 剂量率 0.4Gy/min, 辐射前与辐射后灌服 4mg/g 多糖蛋白的两个处理组, 骨髓细胞 PCE/NCE 比率显著高于阳性对照组。

2.4.2 对染色体畸变类型的影响 郭宝江等^[2]报道了 SPS 对蚕豆根尖细胞染色体畸变类型的影响, 用⁶⁰Co- γ 射线照射剂量是: 萌动种子为 2k rad, 剂量率为 250rad/min, 干种子为 30k rad, 剂量率为 500rad/min。

实验结果表明后处理比前处理的效果还要好, 这可能与一部分多糖分子在照射前被活细胞代谢降解而影响其生物活性有关。

庞启深^[3]等进一步应用核酸内切酶实验和放射自显影技术研究了螺旋藻水溶性多糖对 DNA 切除修复的效应。该多糖能显著增强辐射引起的 DNA 损伤的切除修复活性和程序外 DNA 合成(UDS)。而且能延缓以上两个重要修复反应的饱和。

3 结语

近几年来, 国内外螺旋藻产业发展较快^[28], 到目前为止全国已有螺旋藻厂近 30 家, 螺旋藻干粉年产量增到 300t 左右。不少国内的企业家和外商, 也已开始把螺旋藻生产项目当作投资的目标。

我国对螺旋藻开发应用虽然起步较晚, 但科研开发后来居上, 我国曾把螺旋藻的科学研究列入国家“七五”科技项目、国家星火计划和“八五”推广项目, 并将作为高新技术列入国家火炬计划和“九五”推广项目。

螺旋藻潜在的市场容量很大, 但从国内的生活水平和购买力情况来看, 由于目前销售价格较高, 制约了螺旋藻大批量的销售渠道的开拓。生产厂家只有设法降低生产成本, 同时在抗肿瘤、抗衰老等方面进行深层次的

开发, 制成各种新药, 如螺旋藻多糖(是一种无毒, 无副作用的天然产物)。在临床和保健上的开发应用是很有前景, 出口创汇, 则可能部分补偿生产的高成本。

预计到 2000 年, 世界螺旋藻干粉产量将增至 4500t 左右。我国产量将达到 500t 左右。随着科技投入的增加, 我国螺旋藻产品将会很快地走进千家万户。

参考文献

- 1 Vanshak A, Giuseppe T, Paola A, et al. Light and oxygen stress in *Spirulina Platensis* (Cyanobacteria) grown outdoors in tubular reactors. *Phycologia Plantarum*, 1996;97(1):175
- 2 高树田, 螺旋藻的营养保健作用. 植物杂志, 1996;(3)20
- 3 Decaire, Gloria Z, Monica S, D et al. Effect of *S. platensis* on glucose, uric acid and cholesterol levels in the blood of rodents. *Phyton*, 1995;37(1):93
- 4 Fica V, Andronescu D, Olteance D. Comparative study of the efficiency of ranitidine, cimetidine (Asiloc), de nol and spirulin in the treatment of gastric and duodenal ulcer. *Rev Med Interna Neurol Psihiatr Neurochir Dermatol-Venerol. Ser Med Interna* 1987;39(1)21
- 5 陈锋, 钟小明, 杨杏芬, 等. 螺旋藻对二甲胂诱导 SD 大鼠肠癌的保护作用. 癌变 畸变 突变, 1995;7(3):134
- 6 Mathew B, Rengaswamy S, Padmanabhan PN et al. Evaluation of chemoprevention of oral cancer with *Spirulina fusiformis*. *Nutrition and Cancer*, 1995;24(2)197
- 7 郭宝江, 庞启深, 阮继红. 螺旋藻多糖对植物细胞辐射遗传损伤的防护效应. 植物学报, 1992;34(10):809
- 8 左绍远, 朱振宇, 马漳泉. 螺旋藻多糖对机体免疫功能的提高作用及其机理研究. 海洋科学, 1991;(6):44

- 对小鼠脾脏巨噬细胞, 螺旋藻多糖对移植性癌细胞的作用及其机理的研究, 海洋科学, 1991; 15(7): 4
- 10 刘力生, 郭宝江, 阮继红, 等. 螺旋藻多糖对移植性癌细胞的抑制作用及其机理的研究, 海洋科学, 1991; 15(7): 33
- 11 庞启深, 郭宝江, 阮继红. 螺旋藻多糖对核酸内切酶活性和 DNA 修复合成的增强作用, 遗传学报, 1988; 15(3): 37
- 12 张翼神. 有关糖复合物的分级纯化、结构确定、生物活性的几个问题, 生命的化学, 1994; 14(6): 42
- 13 庞启深, 郭宝江, 阮继红. 螺旋藻抗辐射多糖的提纯和分析, 生物化学与生物物理学报, 1989; 21(5): 445
- 14 Jarvis MC, Duncan HJ. Paperchromatography of plant sugars. *J Chromatogr.* 1974; 92: 454
- 15 Volpi N. Electrophoresis separation of glycosaminoglycans on nitrocellulose membranes. *Analyt Biochem.* 1996; 240(1): 114
- 16 Shekharam K. M., Venkataraman L. V., Salimath PV. Carbohydrate composition and characterization of two unusual sugars from the bluegreen alga *S. platensis*. *Phytochemistry*, 1987; 26: 2267
- 17 Tseng Chaotsi, Yuxi Zhao. Exaraction, purification and identification of polysaccharides of *S. platensis*. *Archiv fuer Hydrobiologie supplement-band*, 1994; 105: 302
- 18 曾和平, 郭宝江. 螺旋藻多糖结构的初步分析, 药物生物技术, 1995; 2(2): 37
- 19 曾和平, 郭宝江. 螺旋藻多糖的化学研究, 药学报, 1995; 30(11): 858
- 20 Qureshi M. A., Ali R. A. *Spirulina platensis* exposure enhanced macrophage phagocytosis function in rats. *Immunopharm and Immunotoxicol.* 1996; 19(3): 437
- 21 Hayashi O., Karoh T., Okuwaki Y. Enhancement of antibody Production in mice by dietary *S. platensis*. *J. Nutritional Science & Vitaminology*, 1994; 40(5): 431
- 22 杨永华, 陆军, 赵群华, 等. 藻类流行性物质对紫草细胞生长和色素形成的影响, 植物资源与环境, 1992; 1(4): 39
- 23 阮继红, 郭宝江, 苏亮衡. 螺旋藻多糖蛋白质对辐射诱发小鼠 PCE 微核率及白细胞数的影响, 辐射研究与辐射工艺学报, 1990; 8(4): 210
- 24 Shinohara K., Kong Z. L., Nagamine K. *et al.* A novel human hepatoblastoma cell line (HuH-6KK) with rapid growth in serum-free medium without extracellular matrix. *Agric Biol Chem.* 1990; 54(10): 2599
- 25 Richmond A., *Spirulina*, in *Micro-algal Biotechnology* edited by Borowitzka M. A. and Borowitzka L. J., Cambridge university Press, 1988: 13~121
- 26 田庚元, 冯宇澄, 林颖. 植物多糖的研究进展, 中国中药杂志, 1995; 20(7): 441
- 27 范晓, 严小军. 海藻化学研究展望, 海洋科学, 1996; (2): 24
- 28 白眉良. 螺旋藻市场分析, 中国化工报, 1996年10月25日
- 29 Pang O S., Guo B and Ada K. Radioprotective effect of extract from *Spirulina platensis* in mouse bone marrow cells studied by using the micronucleus test. *Toxic Let.* 1989; 48: 165