

3 种石斛多糖及其降血糖活性的比较研究

叶广英,章金辉,李 杰,刘海林,王再花*

广东省农业科学院环境园艺研究所 广东省园林花卉种质创新综合利用重点实验室,广州 510640

摘要:天然多糖安全、低毒,是潜在糖尿病治疗药物。为寻找活性高、含量高的植物多糖资源,本文从多糖得率、结构和降血糖活性三个方面,对云南地方药材大苞鞘石斛、铁皮石斛和金钗石斛进行比较。通过热水浸提、透析和层析得到多糖,然后用糖尿病小鼠模型测定降血糖活性。结果表明大苞鞘石斛的多糖得率高(14.1%,DW),且分子量较小,其单糖组成与铁皮石斛多糖相似;降血糖效果强于铁皮石斛和金钗石斛多糖。大苞鞘石斛可作优良的亲本,为降血糖的石斛多糖资源开发提供育种资源。

关键词:大苞鞘石斛;天然多糖;提取;纯化;降血糖活性

中图分类号:R931.2

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)5-0727-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.5.002

Comparison of polysaccharides and its hypoglycemic activity from three *Dendrobium* species

YE Guang-ying, ZHANG Jin-hui, LI Jie, LIU Hai-lin, WANG Zai-hua*

¹Environmental Horticulture Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences Guangdong Provincial Key Lab of Ornamental Plant Germplasm Innovation and Utilization, Guangzhou 510640, China

Abstract: Natural polysaccharides are safe and low-toxic, and are potential drugs for the treatment of diabetes. In order to find plant polysaccharide resources with high activity and high content, *Dendrobium wardianum* Warner, *D. officinale* and *D. nobile* were compared in terms of yield, structure and hypoglycemic activity of polysaccharides. Polysaccharides were obtained by hot water leaching, dialysis and chromatography, and then the hypoglycemic activity was measured using a diabetic mouse model. The results showed that *D. wardianum* had a highest polysaccharide yield (14.1%, DW). DWCP had the lowest molecular weight and its monosaccharide composition is similar to DOPP. The hypoglycemic activity of DWCP was significantly better than the other two polysaccharides. It indicated that *D. wardianum* could be used as an excellent parent, which provides breeding resources for the development of hypoglycemic polysaccharide resources.

Key words: *Dendrobium wardianum*; polysaccharide; extraction; purification; hypoglycemic activity

糖尿病(diabetes mellitus)是当今社会一种主要慢性疾病,一般分为 I 型和 II 型,后者约占 90%,主要特征是高血糖^[1]。长期高血糖会增加组织器官功能负担,尤其血管损伤,进而诱发多种急慢性疾病,降低血糖是治疗糖尿病的关键^[2]。临床降血糖药物-胰岛素类似物,磺酰脲类,双胍类,噻唑烷酮等效果显著,多引发副作用,开发安全可靠的降血糖药

物成为研究热点^[3]。

许多研究发现天然多糖多具降血糖活性^[4]。作为治疗糖尿病的中药处方-黄芪,多糖是主要活性成分,体外研究表明黄芪多糖(APS)通过 AMP-AMPK-AS160 途径刺激 L6 肌管对葡萄糖的摄取,降低血糖水平^[5]。具有降血糖活性的中国传统食补品枸杞,研究表明枸杞主要通过多糖来促进胰岛细胞增殖和胰岛素分泌达到降低血糖的效果^[6]。此外,麦冬、灵芝、当归、人参等许多植物中的多糖也具有降血糖活性^[7]。一般认为,天然多糖主要通过促进血浆中胰岛素水平升高,胰高血糖素水平下降;提高胰岛素敏感性;抑制消化系中糖苷酶活性;保护胰岛细胞等机制实现降血糖^[3]。天然多糖为降血糖

收稿日期:2019-12-16 接受日期:2020-05-27

基金项目:广东省重点领域研发计划(2019B020214005);广东省现代农业产业技术体系创新团队项目(粤农农函 2019 [1019]号);2019 年院新兴学科团队创意农业研究团队项目(201806xx);科技创新战略专项(高水平农科院建设)(R2019PY-QY003)

* 通信作者 Tel:86-013610225065; E-mail: wangzaihua@163.com

药物开发提供了丰富的资源。

石斛作为传统名贵药材和滋阴品,多糖是其重要生物活性物质。2015 版药典将铁皮石斛 (*D. officinale*)、金钗石斛 (*D. nobile*)、鼓槌石斛 (*D. chryso-toxum*) 和流苏石斛 (*D. fimbriatum*) 四种石斛纳入药材使用^[8]。研究表明,霍山石斛 (*D. huoshanense*) 多糖能有效降低糖尿病大鼠的血糖含量^[9]。金钗石斛多糖对四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠降血糖效果显著^[10]。此外,有学者发现金钗石斛、铁皮石斛和霍山石斛多糖均能明显降低四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠的血糖^[11]。降血糖的石斛多糖资源,具有显著开发价值。

为寻找更为经济的天然多糖石斛,本课题组对多种石斛属植物的多糖含量进行了比较分析,发现传统云南药材-大苞鞘石斛(腾冲石斛)产量高,单株茎重是铁皮石斛的 3~5 倍,而多糖含量与铁皮石斛(38%, DW)相当,是优良的多糖植物,具有潜在的开发价值^[12]。本文在原有研究基础上,对大苞鞘石斛多糖的化学特征和降血糖活性进行分析,并与传统的铁皮石斛和金钗石斛进行比较,为其降血糖多糖的开发提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

试验材料为大苞鞘石斛 (*D. wardianum* Warner)、铁皮石斛 (*D. officinale* Kimura et Migo) 和金钗石斛 (*D. nobile* Lindl.)。铁皮石斛由云南野生铁皮石斛经广东省农业科学院环境园艺研究所组培繁育而来;大苞鞘石斛和金钗石斛采于云南,栽培于广东省农业科学院环境园艺研究所温室大棚内(均由广东省农业科学院环境园艺研究所徐晔春研究员鉴定)。取两年生石斛茎,切成小段,蒸馏水洗净,于 105 °C 杀青 15 min,然后降温至 60 °C,烘干至恒重。粉碎机磨成粉末,过 60 目筛,保存于干燥器中备用。

实验小鼠:90 只 SPF 级雄性 KM 小鼠,8 周龄,雌雄各半,体重 20 ± 2 g,由广东省医学实验动物中心提供,实验动物质量合格证编号:SCXK(粤)2019-0035。所有动物均饲养在 SPF 级屏障环境 IVC 笼中,所有动物自由采食和饮水。

1.2 试剂

主要试验试剂:胰蛋白酶(1:250 细胞培养级,250 U/mg),上海伯奥生物科技有限公司;透析袋(截留分子量为 7.0 kDa),威佳生物科技有限公司美国进口分装;Cellulose-DEAE-52,北京鼎国生物技

术有限责任公司;核糖(ribose,SH-B21897-100mg)、鼠李糖(rhamnose,BW1833-20mg)、阿拉伯糖(arabinose,SH-B21891-100mg)、木糖(xylose,BW1831-20mg)、甘露糖(mannose,BW1745-20mg)、葡萄糖(glucose,BW1731-100mg)、半乳糖(galactose,SH-B21893-100mg)等单糖标准品均为中国药检所生产,含量为 99.0%;无水乙醇、正丁醇、石油醚(沸点 60~90 °C)、丙酮、葡萄糖及其它试剂均为分析纯。透析袋(截留相对分子量为 7.0 kDa),威佳生物科技有限公司美国进口分装。填料 DEAE-52 纤维素葡聚糖凝胶 Sephadex-100 购于 sigma 公司。

1.3 仪器及设备

BAO-150A 鼓风干燥箱(施都凯仪器设备有限公司);冷冻干燥机(VIRTIS Freeze mobile 25 L,美国 Long Island Scientific 公司);RE-52 AAB 旋转蒸发器(上海嘉鹏科技有限公司);SHZ-D(Ⅲ)型循环水式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂);离心机,5415D 型(德国 Eppendorf 公司);SBS-100 数控计滴自动部分收集器(上海沪西分析仪器厂);UV-2405 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司);气相质谱仪(HP6890GC/HP5973iMSD,安捷伦公司);液相色谱仪(安捷伦 G1311C)。

1.4 实验方法

1.4.1 多糖的提取与纯化

粗多糖提取^[13]:样品粉末,料液比(1:10),用石油醚(沸程 60~90 °C)80 °C 索氏回流提取 1 h,回收溶剂后,提取残渣并挥干溶剂;然后所得滤渣再加 80% 的乙醇水溶液(料液比 1:10)80 °C 回流提取 1 h,减压抽滤的滤渣,挥干溶剂,得脱脂干粉;脱脂干粉再用蒸馏水(料液比 1:10),80 °C 提取 2 h,减压抽滤,收集滤液;最后减压浓缩至原体积 1/20 后,加入 8 倍浓缩液体积的预冷无水乙醇,4 °C 静置过夜,12 000 rpm 离心,收集沉淀得石斛粗多糖 DCPs(大苞鞘石斛粗多糖 DWCP、铁皮石斛粗多糖 DOCP 和金钗石斛粗多糖 DNCP)。

精多糖制备:将 1.0 g 粗多糖溶于 25 mL 蒸馏水中,按 Sevag 法去除蛋白^[14],胰蛋白酶 250 U/g 粗多糖样品,30 °C 酶解 5 h 后,90 °C 灭活 15 min,冷却后加 1/3 体积的 Sevag 溶液(氯仿:正丁醇体积比为 4:1)振荡 10 min,静置,收集上层水相。然后,装入透析袋(截留分子量为 7.0 kDa)中,蒸馏水透析 24 h。再加 4 倍体积预冷无水乙醇,4 °C 静置过夜,12 000 rpm 离心,收集沉淀,冻干得石斛精多糖 DPPs

(大苞鞘石斛精多糖 DWPP、铁皮石斛精多糖 DOPP 和金钗石斛精多糖 DNPP)。

精多糖分级:精多糖溶于 10 倍的蒸馏水中,上样量 6.0 mL;用 DEAE-52 柱层析(2.6 cm × 50 cm)的 NaCl 梯度洗脱去除阴离子杂质(以硫酸显色法测定洗脱管中多糖含量,合并后冻干)。然后,再将所得多糖溶于 10 倍的蒸馏水中,上样量 6.0 mL,用 Sephadex-100 柱层析(2.6 cm × 50 cm)水洗进一步纯化(以硫酸显色法测定洗脱管中多糖含量,合并后冻干),得石斛水溶性多糖 DPPs-I(大苞鞘石斛水溶性多糖 DWPP-I、铁皮石斛水溶性多糖 DOPP-I 和金钗石斛水溶性多糖 DNPP-I)。

1.4.2 多糖的分子量测定

采用凝胶渗透色谱法(gel permeation chromatography, GPC)测定多糖分子量大小^[15]。

GPC 条件:色谱柱为 TSK SWXL 4000-3000(2 柱串联),(8 mm, 7.8 × 300 mm),柱温 35 °C;流动相为 0.05 mol/L 的 NaH₂PO₄-Na₂HPO₄ 缓冲液(pH 6.7, 加 0.05% NaN₃);流速为 0.5 mL/min;示差折光检测器 1260RID(安捷伦),恒温 35 °C;进样量为 20 μL,用安捷伦 GPC 分析模块 B.01.01 进行分析。

多糖分子量测定:取已知相对分子质量为 738、5 800、 1.22×10^4 、 2.37×10^4 、 4.8×10^4 、 1.0×10^5 、 1.86×10^5 、 3.8×10^5 的多糖标样,用 0.05 mol/L 的 NaH₂PO₄-Na₂HPO₄ 缓冲液(pH 6.7, 加 0.05% NaN₃)溶解,经 0.45 μm 滤膜过滤,进行 GPC 分析。样品保留值 RT 或 Ve 与其分子量 M 存在着对应的函数关系即 $\log M = A + BRT(Ve)$,式中 A, B 为常数。然后被测样在相同条件下测出 RT(Ve) 值,计算出分子量。

1.4.3 多糖的单糖组成分析

单糖组成分析^[16]。分别称取 10.0 mg 三种石斛 DPPs 和 DPPs-I 样品于水解管中,加 2.0 mL 的 2 mol/L H₂SO₄ 溶液中水解,然后用饱和 Ba(OH)₂ 溶液中和,过滤后的清液蒸干水分。将水解样品转移至 10 mL 离心管中,氮气保护,加 25 mg NaBH₄,加入 3 mL 双蒸水充分溶后,室温避光还原过夜。加乙酸使其 pH 值为 5,减压蒸干后,再加入甲醇减压蒸干,使 NaBH₄ 彻底除去。冻干后加入 1 mL 吡啶和 5 mg 盐酸羟胺,密封,90 °C 水浴反应 30 min。取出冷却至室温,加入 0.5 mL 醋酸酐,90 °C 继续反应 30 min 进行乙酰化,冷却至室温,0.22 μm 有机膜过滤后,得衍生化产物。各种单糖标样同上进行乙酰化。

GC-MS 测定条件:仪器为 HP6890GC/HP5973iMSD 气相色谱/质谱联用仪,具体的 GC 分析条件为:色谱柱:OV-1(0.25 μm, 15 m × 0.20 mm);柱温:起始温度 80 °C,保持 1 min,以 10 °C/min 的升温速率升至 250 °C;进样口温度 250 °C,载气 He,流速 0.6 mL/min,进样量 0.2 μL;MS 条件:EI 离子源,电子能量 70 eV,扫描范围 29 ~ 450 u,四极杆温度 150 °C,离子源温度 230 °C,电子倍增器电压 1 500 V,GC/MS 接口温度 280 °C。

1.4.4 多糖的降血糖活性分析

糖尿病动物模型建立^[17]:KM 小鼠适应性喂养 1 周后,禁食 12 h,正常饮水,称取体重,腹腔注射 1% 四氧嘧啶 300 mg/kg,72 h 后尾静脉取血,测空腹血糖,选择血糖值大于 15 mmol/L 的小鼠为糖尿病模型鼠。

动物分组及其处理:把模型鼠随机分成模型组(M-CK)、阳性药物治疗组(P-CK)、多糖组(大苞鞘石斛 DWPP, DWPP-I;铁皮石斛 DOPP, DOPP-I;金钗石斛 DNPP, DNPP-I),每组 10 只。正常组(CK)为未注射四氧嘧啶,模型组为注射四氧嘧啶的糖尿病模型小鼠,阳性药物资料组为糖尿病模型小鼠 20 mg/kg 的阿卡波糖溶液灌胃;已有研究表明铁皮石斛多糖具有降血糖活性的给药浓度为 200 mg/kg,金钗石斛多糖则为 500 mg/kg,因此为比较三种多糖的降血糖效果的多糖组,采用每天给予(灌胃) 300 mg/kg 的多糖给药浓度^[15,16],正常组和模型组则用相同体积的生理盐水进行灌胃处理。试验中,饲料和饮水中不给予胰岛素和任何降血糖的药物。试验周期为 4 周。

血糖测定方法:于各组试验动物灌胃 2 周和 4 周,每组小鼠尾静脉取血,血糖仪测定空腹血糖。

1.4.5 计算分析

所有数据由平均值 ± 标准差表示,使用 Origin 9.0 进行作图,IBM SPSS Statistics 19.0 软件进行统计分析, Duncan 多重比较法进行差异显著性检验($P < 0.05$)。

2 实验结果

2.1 三种石斛多糖得率

通过提取,获得大苞鞘石斛、铁皮石斛和金钗石斛的粗多糖,简称 DCPs,分别命名为 DWCP、DOCP 和 DNCP。通过 Sevag 除蛋白法获得精多糖,简称 DPPs,分别命名为 DWPP、DOPP 和 DNPP。再经 DEAE-52 柱层析水洗纯化和 Sephadex-100 柱层析进一步分级纯化得石斛水溶性多糖,简称 DPPs-I,分别命

名为 DWPP-I、DOPP-I 和 DNPP-I。

表 1 三种石斛多糖的得率

Table 1 Comparison of the polysaccharide yields from three *Dendrobium* species

材料 Sample	粗多糖得率 Yields of DCPs(%)	精多糖得率 Yields of DPPs(%)	精多糖含量 Content of DPPs(g/100g)
大苞鞘石斛 <i>D. wardianum</i>	24.3 ± 1.2 ^a	14.1 ± 1.3 ^a	14.12 ± 0.95 ^a
铁皮石斛 <i>D. officinale</i>	17.9 ± 1.3 ^b	9.6 ± 0.6 ^b	9.64 ± 0.60 ^b
金钗石斛 <i>D. nobile</i>	9.1 ± 0.7 ^c	4.1 ± 0.2 ^c	4.12 ± 0.33 ^c

注:得率为初始石斛干粉(DW)的百分比;^{abc}表示三种不同石斛多糖得率间的差异显著性($P < 0.05$)。

Note: The yield is the percentage of the initial *Dendrobium* dry powder (DW); ^{abc} indicate significant differences of different polysaccharide yields within three *Dendrobium* species ($P < 0.05$).

由表 1 可知,大苞鞘石斛粗多糖和精多糖得率是最高,显著高于铁皮石斛和金钗石斛,其中大苞鞘石斛粗多糖得率达到 24.3%,为铁皮石斛的 1.35 倍,金钗石斛的 2.67 倍。大苞鞘石斛精多糖得率为 14.1%,则是铁皮石斛的 1.5 倍,金钗石斛的 3.42 倍。100 g 大苞鞘石斛干粉可得精多糖 14.12 g,显著高于铁皮石斛和金钗石斛,说明大苞鞘石斛多糖产量更高,开发潜力更大。

2.2 三种石斛多糖分子量

分子量是影响天然多糖活性的重要特征数据^[4],通过 GPC 方法,用多糖标准品校正后对所得多糖组分进行分析,精多糖和水洗精多糖的凝胶色谱图通过计算机程序拟合计算得 DPPs 和 DPPs-I 的数均分子量和重均分子量,DPPs 数均分子量和重均分子量的范围分别为 14.0 ~ 22.2 和 24.1 ~ 76.9 kDa,分布宽度指数 D 在 1.73 ~ 3.46 之间(表 2)。从数均分子量上看,DOPP(22.2 kDa)和 DNPP(22.2 kDa)一致,而 DWPP(14.0 kDa)最小。从重

均分子量上看,所有精多糖的重均分子量(Mw)均高于数均分子量(Mn);其趋势与数均分子量基本一致, DNPP(76.9 kDa)最高,其次为 DOPP(42.5 kDa),最低为 DWPP(24.1 kDa);就分布宽度而言, DNPP(3.46)最高, DWPP(1.73)最低。与 DPPs 相比, DPPs-I 数均分子量和重均分子量较低,分别为 4.55 ~ 13.1 和 12.0 ~ 26.4 kDa,分布宽度指数 D 在 2.01 ~ 3.46 之间(表 2)。从数均分子量上看, DOPP-I(13.1 kDa)最大,其次为 DWPP-I(4.69 kDa), DNPP-I(4.55 kDa)最低;从重均分子量上看,所有多糖组分的重均分子量均高于数均分子量,其趋势与数均分子量基本一致, DOPP-I(26.4 kDa)和 DWPP-I(13.8 kDa),最低为 DNPP-I(12.0 kDa);就分布宽度而言, DWPP-I(2.94)最高, DOPP-I(2.01)最低,彼此间相差不大,且数值较小,分子分布较为均一。通过比较表明大苞鞘石斛多糖的分子量更小,与报道中的活性多糖分子大小接近^[18]。

表 2 三种石斛多糖的分子量及其分布

Table 2 The molecular weight and distribution of polysaccharides of three *Dendrobium* species

分子量 Molecular weight	大苞鞘石斛 <i>D. wardianum</i>		铁皮石斛 <i>D. officinale</i>		金钗石斛 <i>D. nobile</i>	
	DWPP	DWPP-I	DWPP	DWPP-I	DWPP	DWPP-I
数均分子量 Mn(kDa)	14.0	4.69	22.2	13.1	22.2	4.55
重均分子量 Mw(kDa)	24.1	13.8	42.5	26.4	76.9	12.0
分布宽度 D	1.73	2.94	1.92	2.01	3.46	2.63

2.3 三种石斛多糖单糖组成

单糖是多糖的基本单位,单糖组成是多糖的重要化学特性,对生物活性有着重要的影响^[19]。通过衍生的 GC-MS 方法,测定了多糖中单糖的组成,根据标准单糖的峰面积算出各种单糖的占比(表 3)。

大苞鞘石斛的 DPPs 和 DPPs-I 单糖组成中,甘露糖和葡萄糖为主要单糖,铁皮石斛和金钗石斛多糖的单糖组成也以甘露糖和葡萄糖为主。药典中甘露糖含量是铁皮石斛的重要指标,通过比较,大苞鞘石斛多糖的甘露糖含量在 75% ~ 80% 之间,与铁皮石斛

多糖相似;尤其两者水溶性精多糖的甘露糖含量基本一致。金钗石斛多糖的甘露糖占比相对较低,其精多糖和水溶性精多糖的甘露糖组成均低于70% ,

低于大苞鞘石斛多糖和铁皮石斛多糖。通过单糖组成分析,结果表明大苞鞘石斛多糖的在甘露糖含量、甘露糖/葡萄糖比例方面,与铁皮石斛多糖更接近。

表3 石斛多糖的单糖组成及其质量分数(%)

Table 3 The monosaccharide composition and mass fraction of three *Dendrobium* polysaccharides (%)

多糖 Polysaccharide	核糖 Ribose	鼠李糖 Rhamnose	阿拉伯糖 Arabinose	木糖 Xylose	甘露糖 Mannose	葡萄糖 Glucose	半乳糖 Galactose	甘露糖/葡萄糖 Mannose/Glucose
DWPP	0.022	0.023	0.250	0.140	78.23	20.86	0.470	3.75
DWPP-I	0.028	0.012	0.220	0.016	76.66	22.85	0.210	3.35
DOPP	0.021	0.021	0.270	0.120	80.78	18.39	0.400	4.39
DOPP-I	0.037	0.080	0.250	0.084	75.91	23.45	0.190	3.24
DNPP	0.059	0.058	0.850	0.260	68.21	28.84	1.720	2.37
DNPP-I	0.014	0.027	0.360	0.078	67.01	32.15	0.360	2.08

2.4 三种石斛多糖降血糖活性

从多糖分子量和单糖组成上看,大苞鞘石斛多糖与铁皮石斛多糖相近,为进一步比较在降血糖活

性方面的差异,本文以四氧嘧啶诱导的高血糖小鼠为模型,对三种石斛多糖的降血糖进行比较,结果如图1。

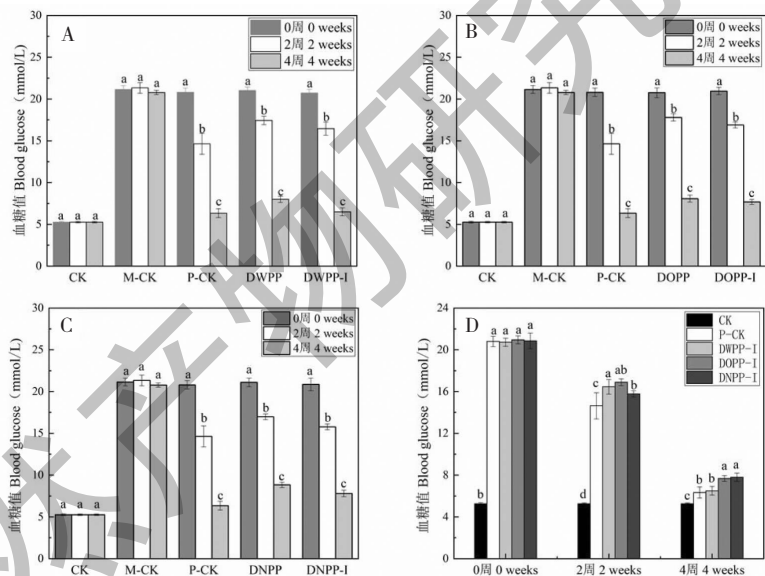


图1 石斛多糖对小鼠血糖的影响

Fig. 1 Effects of *Dendrobium* polysaccharides on mice blood glucose level

注:A:大苞鞘石斛多糖;B:铁皮石斛多糖;C:金钗石斛多糖;D:三种石斛水溶性多糖的降血糖效果比较。CK是正常组,M-CK是模型组,P-CK是阳性对照;图A、B和C中不同小写字母表示同组内不同处理时间的差异显著性($P < 0.05$),图D中不同小写字母表示同一处理时间内不同处理间的差异显著性($P < 0.05$)。Note:A:The polysaccharides from *D. wardianum*; B:The polysaccharides from *D. officinale*;C:The polysaccharides from *D. nobile*;D:Hypoglycemic effects of three water-soluble polysaccharides. CK was normal group,M-CK was control group,P-CK was positive control. In figure A,B and C,different lowercase letters indicate significant differences in different treatment times. within the same group ($P < 0.05$). In figure D,different lowercase letters indicate significant differences in different treatment group within the same time ($P < 0.05$).

由图1中可以看出,与正常组(CK)相比,试验各组小鼠初始血糖水平显著升高($P < 0.05$),说明糖尿病模型建立成功。分别给药2周和4周后,和

模型组(M-CK)相比,阳性对照组(P-CK)及石斛多糖组均能显著降低糖尿病小鼠空腹血糖水平。在给药2周后,石斛多糖的降血糖作用要显著低于阳性

对照组 (14.64 mmol/L); 在给药 4 周后, 除了大苞鞘石斛 (6.5 mmol/L) 多糖与阳性对照组 (6.34 mmol/L) 在降血糖作用方面没有显著差异, 其它石斛多糖的降血糖作用都要显著小于阳性对照组 (图 1D)。大苞鞘石斛多糖方面, 在给药 2 周后, DWPP (17.44 mmol/L)、DWPP-I (16.46 mmol/L) 在降血糖方面没有显著差异; 在给药 4 周后, DWPP-I (6.50 mmol/L) 降血糖作用要显著高于 DWPP (8.00 mmol/L)。铁皮石斛多糖方面, 给药 2 周后, DOPP-I (16.90 mmol/L) 的降血糖作用与 DOPP (17.80 mmol/L) 无显著差异; 给药 4 周后, DOPP (8.08 mmol/L) 和 DOPP-I (7.68 mmol/L) 的降血糖效果无显著差异, 并低于阳性对照。金钗石斛多糖方面, 在给药 2 周后, 在降血糖作用方面 DNPP-I (15.78 mmol/L) > DNPP (16.98 mmol/L), 具有显著差异性; 在给药 4 周后, 在降血糖作用方面 DNPP-I (7.80 mmol/L) > DNPP (8.84 mmol/L), 具有显著性差异。从给药 4 周的降血糖效果上看, 大苞鞘石斛多糖与阳性对照相近, 好于金钗石斛多糖和铁皮石斛多糖 (图 1-D)。

3 结论

多糖是石斛类中药材的主要药效成分^[8], 与药典中的铁皮石斛和金钗石斛同属同组的大苞鞘石斛, 通过比较表明其精多糖得率是铁皮石斛的 1.5 倍, 金钗石斛的 3.42 倍, 而多糖含量与铁皮石斛相当, 可见开发潜力大。在活性多糖的构效关系中, 分子量和单糖组成是影响多糖生物活性的 2 个关键结构信息; 分子的大小是多糖具备生物活性的必要条件, 是多糖形成高级结构的基础, 一般认为多糖的分子量大小多与免疫活性有关, 大苞鞘石斛多糖的分子量均小于铁皮石斛和金钗石斛, 但是仍在已报道的降血糖植物多糖的 3.2 ~ 59 kDa 之间^[20]。天然多糖的抗氧化活性多由单糖组成决定, 多糖的抗氧化活性则是降血糖中的一种作用机理; 大苞鞘石斛多糖的单糖组成与铁皮石斛多糖基本一致, 其中甘露糖的含量均达到 75% 以上, 这与药典中以甘露糖含量作为衡量铁皮石斛有效成分标准是一致的^[8]。通过比较, 在分子量和单糖组成方面, 大苞鞘石斛多糖更接近于铁皮石斛。

本研究以四氧嘧啶诱导的高血糖小鼠为模型, 发现大苞鞘石斛、铁皮石斛和金钗石斛的多糖均具有降血糖活性, 给药 2 周后的血糖降低效果与报道的铁皮石斛、霍山石斛、金钗石斛等给药 12 天的效

果基本一致^[11], 但显著低于阳性药物对照, 而给药 4 周后, 大苞鞘石斛多糖的降血糖效果显著优于与铁皮石斛多糖和金钗石斛多糖, 且在给药 4 周的效果比较, 且与阳性药物对照差异不显著。

本文通过大苞鞘石斛多糖与铁皮石斛、金钗石斛多糖的比较研究, 发现大苞鞘石斛多糖得率显著高于后两者, 多糖的分子量相对较低, 但单糖组成与铁皮石斛一致。除具较高生物量外, 大苞鞘石斛多糖在给药 4 周后的降血糖活性显著优于铁皮石斛和金钗石斛, 可作为铁皮石斛多糖的潜在替代品。此外, 大苞鞘石斛茎粗且长, 可作优良的亲本, 为降血糖的石斛多糖资源开发提供育种资源。

参考文献

- 1 Tan SY, Mei Wong JL, Sim YJ, et al. Type 1 and 2 diabetes mellitus: a review on current treatment approach and gene therapy as potential intervention[J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2019, 13:364-372.
- 2 Khalil H. Diabetes microvascular complications-a clinical update[J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2017, 11:133-139.
- 3 Wu J, Shi S, Wang H, et al. Mechanisms underlying the effect of polysaccharides in the treatment of type 2 diabetes: a review[J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 144:474-494.
- 4 Yu Y, Shen M, Song Q, et al. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review[J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 183:91-101.
- 5 Tang SM, Yang ZM, Chen WQ, et al. *Astragalus* polysaccharide improves type 2 diabetes mellitus in rats by protecting islet β cells[J]. *Acad J Sec Milit Med Univ* (第二军医大学学报), 2017, 38:482-487.
- 6 Cheng J, Zhou Z, Sheng H, et al. An evidence-based update on the pharmacological activities and possible molecular targets of *Lycium barbarum* polysaccharides[J]. *Drug Des Dev Ther*, 2015, 9:33-78.
- 7 Wu LM, Cheng LY, Cao Y, et al. Effect and mechanism of low-molecular-weight citrus pectin on type II diabetic mice[J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2019, 31:133-138.
- 8 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015:11.
- 9 Luo J, Deng Y, Zha X. Mechanism of polysaccharides from *Dendrobium huoshanense*. on streptozotocin-induced diabetic cataract[J]. *Pharm Biol*, 2008, 46:243-249.
- 10 Zhao Y, Son Y, Kim S, et al. Antioxidant and anti-hyperglyce-

- mic activity of polysaccharide isolated from *Dendrobium chrysotoxum* Lindl [J]. *BMB Reports*, 2007, 40: 670-677.
- 11 Pan L, Li X, Wang M, et al. Comparison of hypoglycemic and antioxidative effects of polysaccharides from four different *Dendrobium* species [J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 64: 420-427.
 - 12 Wang ZH, Li J, Zhang JH, et al. Comparison of polysaccharide and alkaloid contents in *Dendrobium* [J]. *Chin Agr Sci Bull* (中国农学通报), 2015, 31: 242-246.
 - 13 Wang S, Lu A, Zhang L, et al. Extraction and purification of pumpkin polysaccharides and their hypoglycemic effect [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 98: 182-187.
 - 14 Vilkas E, Radjabi-Nassab F. The glucomannan system from *Aloe vahombe* (Liliaceae). III. Comparative studies on the glucomannan components isolated from the leaves [J]. *Biochimie*, 1986, 68: 1123-1127.
 - 15 Hilz H, Bakx EJ, Schols HA, et al. Cell wall polysaccharides in black currants and bilberries-characterisation in berries, juice, and press cake [J]. *Carbohydr Polym*, 2005, 59: 477-488.
 - 16 Yang LQ, Zhao T, Wei H, et al. Carboxymethylation of polysaccharides from *Auricularia auricula* and their antioxidant activities *in vitro* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2011, 49: 1124-1130.
 - 17 Xu W, Zhou Q, Yin JJ, et al. Anti-diabetic effects of polysaccharides from *Talinum triangulare* in streptozotocin (STZ)-induced type 2 diabetic male mice [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72: 575-579.
 - 18 He TB, Huang YP, Yang L, et al. Structural characterization and immunomodulating activity of polysaccharide from *Dendrobium officinale* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 83 (10): 34-41.
 - 19 Huang K, Li Y, Tao S. Purification characterization and biological activity of polysaccharides from *Dendrobium officinale* [J]. *Molecules*, 2016, 21: 701.
 - 20 Wang P, Zhao S, Yang B, et al. Anti-diabetic polysaccharides from natural sources: a review [J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 148: 86-97.

根据《天然产物研究与开发》编委工作制度以及 2019 年度编委给予本刊指导和支持等情况,评选出及元乔等 7 位优秀编委;根据论文被引用及下载情况结合专家评审意见,评选出《延胡索化学成分及药理活性研究进展》等 7 篇影响力优秀论文。名单如下。谨向获奖专家和论文作者表示衷心感谢和热烈祝贺!

2019 年度优秀编委:

及元乔	宋流东	周先礼	缪剑华
张国林	丁立生	周光雄	

2019 年度影响力优秀论文:

1. 冯自立,赵正栋,刘建欣. 延胡索化学成分及药理活性研究进展.
2. 田丁,史梦琪,王赞. 连翘挥发油化学成分及其药理作用研究进展.
3. 李容,陈华国,周欣. 植物多糖免疫调节机制研究进展.
4. 徐凯,魏永鸽. 高乌甲素磷脂复合物纳米粒的制备、表征及药动学研究.
5. 胡长玉,吴永祥,吴丽萍,赵成龙,葛超,王雅群. 白芨活性成分的抗氧化和对 α -淀粉酶的抑制作用.
6. 谭亮,赵静,马家麟,冀恬,董琦,沈建伟. 青海玉树沙棘不同部位营养成分分析与营养价值评价.
7. 元超,王鸿发,胡璇,庞玉新. UPLC-Q-TOF-MS^E 技术快速定性艾纳香抗菌有效部位的化学成分.