

中药糖蛋白的研究进展

唐雅楠,韩喜桃,刘子琴,杜红*

北京中医药大学中药学院,北京 102488

摘要:糖蛋白是寡糖与多肽链共价连接的结合蛋白质,广泛存在且具有显著药用功效和保健功能,如抗氧化、抗肿瘤、免疫调节等。本文对近年来中药糖蛋白的提取、分离纯化、结构鉴定及药理作用的研究进行概述,探讨糖蛋白是否能够作为中药材发挥药效的物质基础之一,进一步开发应用。

关键词:中药;糖蛋白;提取;分离纯化;结构鉴定;药理作用

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2021)10-1797-11

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.10.020

Research progress on glycoprotein of Chinese materia medica

TANG Ya-nan, HAN Xi-tao, LIU Zi-qin, DU Hong*

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Glycoprotein is a type of binding protein formed by covalently connecting oligosaccharides and polypeptide chains, which is widely present in variety, and have significant therapeutic and health care effects, such as anti-oxidation, anti-tumor and immune regulation, etc. In this paper, the studies of extraction, isolation and purification, structure identification and pharmacological actions of glycoproteins of Chinese materia medica in recent years are summarized, to discuss whether glycoproteins can be used as one of the material bases for Chinese materia medica to exert its efficacy and be further developed and applied.

Key words: Chinese materia medica; glycoprotein; extraction; isolation and purification; structure identification; pharmacological actions

糖蛋白是指由寡糖与多肽链共价连接而成的一类结合蛋白质^[1],广泛存在于植物、动物和微生物中^[2]。近年来对糖蛋白的研究日益增多,许多研究发现它具有显著的药用功效和保健功能,如免疫调节、抗氧化、抗疲劳、抗肿瘤等^[3],吸引着包括化学、生物学、细胞生物学、食品科学等众多学科在内的工作者从事这一领域的研究。这也引起了中医药领域学者们的关注,许多学者对部分中药材进行了相关研究,如黄芪^[4]、枸杞^[5]、土鳖虫^[6]等,并取得了一定成果。本文就近年来对中药糖蛋白的研究作一概述,以期对中药材物质基础的研究及糖蛋白类药物的研发提供参考。

1 糖蛋白提取

糖蛋白兼具多糖和蛋白质的某些性质,大多数可溶于水、稀盐、稀酸和稀碱等溶液,因此,目前用于

中药糖蛋白提取的方法主要有水提、稀盐溶液和缓冲溶液浸提、酸碱溶液提取以及酶解法^[7,8]等。在进行提取工艺优化时,常以蛋白质提取率或糖提取率为指标,也有研究将所得糖蛋白干燥后,以重量法计算所得粗糖蛋白得率为指标。具体见表1。

1.1 水浸提法

由于糖蛋白中糖链的多羟基结构,大多数糖蛋白具有高度亲水性,因此水提法是糖蛋白提取的常用方法之一。水提法较其他方法更为经济,且工艺简单,但提取过程中常产生较多水溶性杂质,降低提取率。水提法在进行工艺优化时,通常考察提取时间、提取温度、提取次数和料液比。

1.2 盐溶液浸提法

由于盐离子能与糖蛋白的蛋白质部分结合,使其不易变性,稀盐和缓冲溶液浸提法是糖蛋白提取最常用的方法^[27]。应用该方法进行提取,提取率高,且所得糖蛋白完整性和生物活性都较高,但后续需进行脱盐处理^[7]。Deng等^[9]在进行霍山石斛糖蛋白提取时,通过SDS-PAGE条带染色分析,发现

收稿日期:2020-08-24

接受日期:2021-01-22

基金项目:国家重点研发计划“中医药现代化研究”重点专项(2018YFC1706303)

*通信作者 Tel:86-10-84738616;E-mail:duhong@vip.163.com

表 1 糖蛋白提取方法
Table 1 Methods for glycoprotein extraction

糖蛋白来源 Source of glycoprotein	提取方式 Methods of extraction	评价指标及得率 Evaluation index and yield	参考文献 Ref.
霍山石斛 <i>Dendrobium huoshanense</i> C. Z. Tang et S. J. Cheng	NaCl 溶液浸提	粗糖蛋白得率 12.56%	9
覆盆子 <i>Rubus chingii</i> Hu	水浸提 超声波辅助提取	粗糖蛋白得率 7.53% 粗糖蛋白得率 10.259%	10
蒲公英 <i>Taraxacum mongolicum</i> Hand. -Mazz.	NaCl 溶液浸提	糖得率 0.44%	11
蒲公英 <i>Taraxacum mongolicum</i> Hand. -Mazz.	超声波辅助提取	粗糖蛋白得率 5.33%	12
薏米 <i>Coix lacryma-jobi</i> L. var. <i>ma-yuen</i> (Roman.) Stapf	水浸提	粗糖蛋白得率 3.70%	13
山药 <i>Dioscorea opposita</i> Thunb.	水浸提	糖得率 1.23%	14
山药 <i>Dioscorea opposita</i> Thunb.	微碱法	糖得率 0.74%	15
山药 <i>Dioscorea opposita</i> Thunb.	超声波辅助提取	粗糖蛋白得率 6.847%	16
山药 <i>Dioscorea opposita</i> Thunb.	微波辅助提取	粗糖蛋白得率 1.683%	17
美洲大蠊 <i>Periplaneta Americana</i> L.	水浸提	蛋白质得率 1.92%; 糖得率 1.35%	18
远志 <i>Polygala tenuifolia</i> Willd.	Tris-HCl 缓冲液提取	蛋白质得率 5.96%	19
玉竹 <i>Polygonatum odoratum</i> (Mill.) Druce	磷酸缓冲液提取	蛋白质得率 13.1%	20
玉竹 <i>Polygonatum odoratum</i> (Mill.) Druce	微波辅助提取	糖得率 8.85%	21
生姜 <i>Zingiber officinale</i> Rosc.	磷酸缓冲溶液	蛋白质得率 0.24%; 糖得率为 1.17%	22
黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	Tris-HCl 缓冲液提取	蛋白质得率 2.94%	23
丹参 <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bge.	NaCl 溶液浸提	糖得率 4.68%	24
北五味子 <i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Baill.	微碱法	蛋白质得率 7.72%; 糖得率 19.24%	25
海蜇 <i>Rhopilema esculentum</i>	酶解法	粗糖蛋白得率 6.25%	26

NaCl 溶液浸提法获得的糖蛋白谱带在浓度、数量和分子量范围上都显著高于水提法。Li^[28] 从黄芪中提取糖蛋白时,通过测定蛋白质和糖的得率及 SDS-PAGE 胶图分析对包括 Tris-HCl 缓冲液提取、水提、醇提和碱提酸沉在内的 4 种提取方法进行比较,结果以 Tris-HCl 缓冲液提取法提取率最高。稀盐溶液浸提法通常需要考察盐浓度、提取时间、提取温度、提取次数和料液比,缓冲液提取还要考察 pH。

1.3 酸碱提取法

糖蛋白中的蛋白质是具有等电点的两性电解质,提取溶剂的 pH 应偏离等电点,一般碱性蛋白质

用偏酸性溶液提取,酸性蛋白质则用偏碱性溶液^[27]。用酸碱提取法提取糖蛋白时,要注意提取溶剂不能过酸、过碱,以避免糖蛋白发生不可逆变化导致活性丧失。

1.4 乙醇浸提

采用乙醇浸提法可以提取到部分不溶于水但可溶于乙醇的糖蛋白。Li 等^[29] 采用 50% 乙醇对山茱萸进行提取时,能够得到对 α -葡萄糖苷酶活性抑制率最高糖蛋白。Lee 等^[30,31] 对龙葵、栀子糖蛋白进行研究时,均采用醇提法进行提取,将药材用 95% 或 99% 乙醇于黑暗中浸泡 3~4 个月后,经硫酸铵

沉淀、柱色谱洗脱、透析等分离纯化得到糖蛋白纯品。但醇提法耗时久、溶剂耗用量大,生产成本较高,一般应用较少。

1.5 酶解法

酶解法能使不溶性糖蛋白分解为可溶性糖肽、游离肽或氨基酸,提高提取效率,并且由于酶的专一性和选择性,能够排除部分杂质,提高得率。应用酶解法提取糖蛋白时,要综合考虑酶的种类、用量、酶解时间和温度等,但目前酶解法在中药糖蛋白提取中应用较少,酶解条件和酶的种类都还需要进一步探讨。

1.6 其他设备辅助提取

为提高效率,在提取糖蛋白时也会使用辅助设备,其中比较常用的是超声波或微波辅助提取法,这两种技术均能够使原料的细胞壁易于破碎,有利于糖蛋白的溶出,从而达到缩短时间、增加得率的效果。Wang 等^[10]在进行覆盆子糖蛋白提取时,对水浸提及超声提取进行了比较,超声提取法可将糖蛋白得率由 7.526% 提升至 10.259%,并将提取时间由 4 h 缩短至 20 min。Wang^[32]应用 NaCl 溶液浸提和超声提取法提取丹参糖蛋白,发现超声提取可提高糖蛋白得率、缩短提取时间并降低溶剂盐浓度。Chen 等^[11]在提取蒲公英糖蛋白时,对稀盐溶液浸提及超声提取进行了比较,超声提取虽然将提取时间由 3 h 缩短至 15 min,但得率由 0.44% 下降为 0.26%,考虑到该研究提取液未经除杂处理,得率下降可能是其他成分溶出增加导致。超声波或微波辅助提取法除考察料液比、提取温度、提取时间和提取次数外,还需要考察频率及功率。

目前糖蛋白提取最常用且较为成熟的提取方法为 Tris-HCl 缓冲液提取,该方法较水提法提取率高,较稀盐溶液或其他缓冲液提取所需温度低、时间短,但将 Tris-HCl 缓冲液提取与设备辅助提取相结合进行工艺优化的研究较少。此外,超高压技术(ultra-

high pressure processing, UHPP) 是一种近几年发展起来的新型提取技术,研究^[33]表明该提取法由于压力较高,极大地加快了溶剂浸润和溶质扩散过程,能够缩短提取时间、提高提取率并减少杂质含量,且耗能低,适用于大生产。但超高压容易影响蛋白质、核酸等生物大分子的立体结构,使其变性或失活,目前该方法在中药糖蛋白提取中应用较少^[34],其是否适用于糖蛋白提取、在何种压力条件下能够提高提取效率并保证糖蛋白完整性,还要进一步探讨。

2 糖蛋白分离纯化

糖蛋白的分离纯化是指除去杂质获得单一糖蛋白组分的过程,一般流程为先除去提取物中的大量游离蛋白、多糖和小分子杂质,再进一步分离纯化。

2.1 初步纯化

初步纯化阶段要将提取液中的非糖蛋白组分除去,一般是先除去游离蛋白质,再除去其他小分子杂质,最后得到粗糖蛋白。脱蛋白常用的方法为 Sevage 试剂法,由于样品蛋白质含量不同,具体次数和比例需通过实验验证^[24]。对于粗糖蛋白中其他小分子杂质,一般通过透析法除去^[35-37],也有学者采用超滤法对糖蛋白进行初步纯化^[38]。除去杂质后,常需采用硫酸铵或醇沉的方法,将糖蛋白从提取液中分离出来,对于应用碱性溶液提取的糖蛋白,也可以采用碱提酸沉法^[39]。

2.2 分级纯化

分级纯化是将粗糖蛋白中的单一组分分离。最常用的方法是阴离子交换柱层析、凝胶柱层析法。阴离子交换柱层析以二乙基氨基乙纤维素(dielhaminoethy)应用最为广泛,适用于分离各种酸性、中性或碱性的糖蛋白;凝胶柱层析由于价格昂贵,一般在用其他柱层析法处理后再使用。此外还有亲和柱层析法、超离心法、区带电泳法等。具体方法见表 2。

表 2 糖蛋白的分离纯化

Table 2 Separation and purification of glycoprotein

糖蛋白来源 Source of glycoprotein	初步纯化 Preliminary purification	分级纯化 Fractional purification	参考文献 Ref.
玉竹 <i>Polygonatum odoratum</i> (Mill.) Druce	无	葡聚糖凝胶 G-100 过滤 刀豆凝集素 A 亲和层析纯化	20
升麻 <i>Cimicifuga foetida</i> L.	Sevage 法、乙醇沉淀、透析法	DEAE-52 纤维素柱层析 Sephacrose CL-4B 凝胶层析柱	35
海马 <i>Hippocampus kuda</i> Bleeker	Sevage 法、乙醇沉淀、透析法	DEAE-52 柱层析法 Sephadex G-100 柱层析法	36

续表 2(Continued Tab. 2)

糖蛋白来源 Source of glycoprotein	初步纯化 Preliminary purification	分级纯化 Fractional purification	参考文献 Ref.
兰州百合 <i>Lilium davidii</i> var. <i>unicolor</i> Salisb.	硫酸铵沉淀、透析法	SephadexG-200 层析柱 DEAE-Cellulose 52 阴离子交换柱	37
霍山石斛 <i>Dendrobium huoshanense</i> C. Z. Tang et S. J. Cheng	Sevage 法、硫酸铵沉淀、超滤法	DEAE Bsarose Fast Flow 离子色谱柱 Sephadex G-200 凝胶柱	38
山药 <i>Dioscorea opposita</i> Thunb.	碱提酸沉	DEAE-52 纤维素柱 Sephadex G-75 凝胶柱	39
天麻 <i>Gastrodia elata</i> Bl.	95% 乙醇沉淀	DEAE-纤维素柱层析色谱 快速蛋白液相层析色谱(FPLC)	40
紫苏 <i>Perilla frutescens</i> (L.) Britt.	氯化十六烷基吡啶(CPC)、 乙醇沉淀	DEAE-Toyopearl 柱层析 硅胶柱层析 Cellulofine GC-700 柱层析 Toyopearl 亲和柱 Sephacryl S-200 柱	41

糖蛋白的分离纯化技术已趋于成熟,多采用硫酸铵或乙醇沉淀、Sevage 试剂除去游离蛋白、透析除盐进行初步纯化,再通过阴离子交换柱层析、凝胶柱层析法、亲和柱层析法等进行分级纯化。初步纯化阶段硫酸铵、Sevage 试剂的用量及 Sevage 试剂中正丁醇、氯仿的比例,需要根据样品进行考察;而分级纯化则需要对洗脱液进行追踪检测。总体而言,目前糖蛋白的分离纯化过程还较为复杂繁琐,无法适用于大生产,对中药糖蛋白的进一步开发及应用,如新型药物的研发、保健食品的开发等有所限制。

3 糖蛋白结构和组成分析

3.1 糖蛋白的纯度鉴定

分离纯化得到的糖蛋白在进一步分析前需要进行纯度鉴定,高纯度的糖蛋白是结构鉴定的基础。一般而言,糖蛋白的纯度需要两种以上的方法进行验证,常用方法有凝胶层析法、亲和层析法、毛细管电泳法、薄层色谱法和高效液相色谱法,若结果得到单一对称的洗脱峰,或显色位置相同,则证明糖蛋白是均一组分。如 Zhang 等^[42]通过毛细管区带电泳法、聚丙烯酰胺凝胶法、高压柱层析法等对人参糖蛋白进行纯度鉴定,所得结果均显示单一对称峰或染色带位置相同,表明经分离纯化后得到的人参糖蛋白为均一组分。此外,Shi 等^[43]采用尺寸排阻色谱-多角度激光光散射联用仪(SEC-MALLS)对锁阳糖蛋白组分 CSG-1 进行分析,所得色谱图呈对称峰,表明 CSG-1 是均一组分。SEC-MALLS 法对任何相对分子质量(Mr)范围的高分子化合物,都可获得样品洗脱图中每一级分点的浓度和 Mr,无需对照品即可得到准确的样品 Mr 及其分布^[44],非常适合进行

聚合物分子量及其分布的测定,但目前在糖蛋白鉴定中应用较少。

3.2 糖蛋白糖肽键连接类型鉴别

糖肽键是糖链和肽链的连接键。*N*-型糖肽键和 *O*-型糖肽键,前者对碱稳定,后者可在 NaOH 作用下发生 β -消除反应,使糖肽链上的丝氨酸、苏氨酸分别转化为在 240 nm 处产生明显紫外吸收的 α -氨基丙烯酸和 α -氨基丁烯酸。基于此,研究人员^[45,46]一般取糖蛋白样品溶于氢氧化钠溶液中反应,以溶于水的样品为对照,比较 240 nm 处的紫外吸收峰,对糖蛋白的糖肽键类型进行初步判断。

3.3 糖蛋白糖链的结构分析

对于糖链结构的分析方法多样,如凝集素法、高碘酸氧化、Smith 降解、甲基化反应、红外光谱法、核磁共振等^[2]。Zhao 等^[22]采用凝集素微阵列技术,以荧光强度为标准筛选出与生姜糖蛋白特异性结合的 5 种凝集素:VVA、ConA、STL、LCA 及 LEL,由此推测出生姜糖蛋白可能存在 GlcNAc、mannose、GlcNAc、mannose 和 LacNAC 等糖链结构。Sun 等^[35]通过红外光谱分析、Smith 降解和高碘酸氧化推测,升麻糖蛋白组分 CF-I 的糖链结构为 α -吡喃型糖苷键,主要以 1 \rightarrow 4、1 \rightarrow 6 糖苷键连接而成。Du^[47]对从薏苡仁糖蛋白组分 TDBP-a、b 进行红外光谱分析,结果显示二者均含有吡喃环。

3.4 单糖及氨基酸的组成分析

在对糖蛋白中单糖组成进行分析时,最常采用的方法是将糖蛋白衍生化处理或水解后,使用气相色谱法进行分析,如 Li 等^[48]对黄芪糖蛋白进行糖腈乙酸酯衍生物处理后,进行气相色谱分析;

Wang^[49]对兰州百合糖蛋白进行三氟乙酸水解、糖腈乙酸酯衍生化处理后采用 GC-MS 分析;此外,纸层析法^[32]、薄层色谱法^[42]、高效液相色谱法^[50]等也常常使用。对氨基酸组成的分析,一般选择酸水解后使用氨基酸自动分析仪进行分析^[32,42],也有学者采用高效液相色谱法^[49,50]。

目前糖蛋白在结构方面的探索还不够深入,主要集中在对多糖与氨基酸组成及含量的分析、糖链及糖肽链的初步判断上。而糖蛋白作为寡糖与多肽

链共价相连的结合蛋白,其单糖与氨基酸的组成、含量及排列顺序,糖链、肽链及糖肽链的结构都可能影响糖蛋白的药理活性,因此对糖蛋白结构的探索还有待进一步深入。

4 中药糖蛋白的药理作用

研究发现从中药材中提取得到的糖蛋白具有一种或多种药理活性,主要包括免疫调节、抗氧化、抗肿瘤等,具体见表3。

表3 中药糖蛋白的药理作用

Table 3 Pharmacological actions of glycoprotein from Chinese materia medica

药理作用 Pharmacological action	糖蛋白来源 Source of glycoprotein
免疫调节作用	黄芪、山药、百合、肉桂、丹参
降血糖作用	山药、淫羊藿、山茱萸、桔梗
对神经系统的保护作用	人参
对心血管系统的保护作用	天麻
抗肿瘤作用	霍山石斛、土鳖虫、龙葵
抗氧化作用	霍山石斛、生姜、栀子、薏苡仁、桔梗、玉竹、蒲公英、海马、丹参、山药、北五味子、覆盆子
抗衰老作用	远志、覆盆子
抗炎作用	栀子、蒲公英

4.1 免疫调节作用

肉桂糖蛋白^[51]能够增强细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 活性,对 B 细胞产生免疫球蛋白 (Ig) 和单核细胞产生白细胞介素 (IL-1) 有促进作用;山药^[52]及丹参^[53]糖蛋白均能明显增强小鼠免疫器官胸腺器官指数及巨噬细胞吞噬功能,促进 T 细胞的增殖、分化及体液免疫中抗体的生成,这表明以上三者对非特异性免疫、体液免疫和细胞免疫作用均有增强作用,其中山药糖蛋白可能是通过调节 MAPK 和 NF- κ B 信号通路来发挥免疫调节作用的;兰州百合糖蛋白^[49]能够明显促进 RAW 264.7 细胞的增殖、释放 NO 及分泌 TNF- α 的能力,且呈现一定的浓度依赖性,表明兰州百合糖蛋白能促进 RAW 264.7 细胞的大量增殖,并激活其免疫功能。

此外,许多学者发现黄芪糖蛋白具有免疫抑制作用。Yang 等^[54]发现黄芪糖蛋白在 T 细胞增殖早期对其有抑制作用,在高浓度 (10 μ g/mL) 下能显著抑制双向混合淋巴反应,该反应相当于体外的同种异体排斥反应,说明黄芪糖蛋白能够抑制排斥反应。Zhao^[55-57]、Zhang^[58,59]、Xing^[60]、Zhang^[61]等学者发现黄芪糖蛋白对佐剂性关节炎大鼠的关节炎及实

验性自身免疫性脑脊髓炎 (EAE) 小鼠的临床症状有缓解作用,研究发现黄芪糖蛋白能够通过调节凋亡相关因子 Fas、FasL、Bax、Bcl-2 的表达水平诱导脾细胞凋亡,上调转录因子 Foxp3 的表达,显著降低外周血中 CD3⁺CD28⁺、CD3⁺CD278⁺ 细胞的比例,抑制促炎趋化因子 CCL2 和 CCL5 的表达,减少炎症因子的释放,且实验显示黄芪糖蛋白在抑制其他炎症因子如 TNF- α 、IL-2 的同时能够提高 IFN- γ 的分泌,表明黄芪糖蛋白在发挥免疫抑制作用的同时能够在一定程度上避免其他感染,表现出双向调节的优势,为代替目前常用但毒副作用较大的免疫抑制剂如硫唑嘌呤、环磷酰胺等^[62]提供了可能。

4.2 降血糖作用

α -糖苷酶抑制剂是治疗 2 型糖尿病的常用药物之一,其通过与 α -糖苷酶的竞争性抑制,延缓寡糖、淀粉等的分解,减缓葡萄糖吸收速度,达到降糖目的^[63],其不良反应相对较小,但目前临床应用较多的药物如阿卡波糖等,也存在用药后可能出现肠胃不适、腹胀等问题^[64]。而中药治疗糖尿病则具有多靶点、多途径、生物效应相对缓和、不良反应少等优点^[65],研究发现许多中药糖蛋白具有 α -糖苷酶抑制

活性。

Sharma^[66]、Yang 等^[67]均从山药中分离得到了具有 α -糖苷酶抑制作用的糖蛋白纯品, Yang 认为其抑制能力的强弱可能与多糖含量有关。Qiao^[68]从淫羊藿中分离纯化得到的淫羊藿糖蛋白组分 II, 能够抑制 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶活性, 抑制作用较阿卡波糖缓和。Tang 等^[69]分离得到分子量约 118.8 kDa 的山茱萸糖蛋白 GoGP, 能够抑制 α -淀粉酶活性, 其抑制类型表现为反竞争抑制。Zhao 等^[70]发现桔梗糖蛋白对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用随浓度增大而增加, 其抑制能力及抑制趋势与阳性药阿卡波糖相近。

4.3 对神经系统的作用

Song 等^[71]研究发现人参糖蛋白能够通过升高海马内单胺类递质的含量, 如 5-HT 及其代谢产物, 以逆转利血平诱导的体温降低和眼睑下垂, 对行为绝望模型小鼠具有保护作用。Lv^[72]、Luo 等^[73]发现人参糖蛋白能够提高记忆获得障碍模型小鼠或老年痴呆模型大鼠的学习记忆能力、减轻 $A\beta_{25-35}$ 诱导的大鼠记忆障碍症状, 研究发现人参糖蛋白能够抑制 $A\beta_{25-35}$ 诱导的人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y 细胞凋亡, 阻止其 DNA 合成期的中止, 降低 NO 的释放及 iNOS 活性^[74,75], 从而有效保护神经细胞。Wang 等^[76]发现人参糖蛋白具有镇静安眠及镇痛^[77]作用, 能够显著降低小鼠自主活动次数, 减少阈下剂量戊巴比妥钠所致小鼠的睡眠潜伏期、延长睡眠时间; 在高剂量 (40 mg/kg) 下其镇痛活性远高于阿司匹林; 纯化得到的三种组分 PGG1、PGG2、PGG3, 以蛋白质含量最高的 PGG3 镇痛作用最强, 推测人参糖蛋白镇痛作用的强弱与蛋白质含量有一定关系。

4.4 对心血管系统的作用

Ding 等^[78,79]研究发现天麻糖蛋白能够显著延长小鼠的凝血时间、出血时间和血浆复钙时间, 降低血小板聚集率, 对 ADP 致血小板凝集血栓的形成有抑制作用; 也能够降低急性血瘀模型大鼠高切、中切的全血黏度和血浆黏度, 及红细胞聚集指数, 减少大鼠体外形成的血栓长度、湿重和干重; 对人血浆凝血酶时间 (TT) 和活化部分凝血活酶时间 (APTT) 有明显延长作用, 表明天麻糖蛋白具有显著的抗凝、抗栓作用。Wei 等^[80]研究发现天麻糖蛋白能够提高 SOD 活力及 NO 含量, 降低 MDA 含量及 MPO 活性, 以改善胃黏膜局部的血液循环、清除氧自由基达到保护胃黏膜的作用。

4.5 抗肿瘤作用

中药糖蛋白主要是通过诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞增殖及血管形成, 同时调节机体免疫功能来实现抗肿瘤目的。

Deng 等^[38]从霍山石斛中纯化得到的相对分子质量为 22.5、19.8 kDa 的糖蛋白组分 RG1、RG2 对人肝癌细胞 HepG2 有毒活性, 表明二者可能是霍山石斛抗肿瘤活性的物质基础之一。Han 等^[6]从土鳖虫内提取纯化得到的糖蛋白组分 1 对 HeLa 细胞和食管癌 Eca109 细胞有明显抑制作用; Li 等^[81]从地鳖体内分离纯化得到的纤溶活性蛋白 (EFP), 对鸡胚尿囊膜新生血管生成有良好的抑制作用, 红外光谱特征吸收峰推断 EFP 为一种糖蛋白。Sun^[82]、Lee^[30]和 Oh 等^[83]发现龙葵糖蛋白各组分能够对人乳腺癌 MCF-7 细胞及 HeLa 细胞产生细胞毒性, 其中对 MCF-7 细胞毒性较强的 SNL-I 能够抑制 1,2-二甲基肼 (DMH) 诱导的结肠癌小鼠模型结肠黏膜上癌前病变, 即异位隐窝灶 (ACF) 的产生^[84]。研究显示龙葵糖蛋白能够抑制细胞外调节蛋白激酶 (ERK) 磷酸化、增殖细胞核抗原 (PCNA) 和凋亡相关蛋白前体 (pro-caspase-3 和 pro-PARP) 的表达及 NF- κ B、AP-1 的活性, 促进细胞色素 c 的释放、caspase-8 及 caspase-3 的活化和 PARP 裂解, 降低 iNOS、COX-2 的表达及血浆中硫代巴比妥酸反应物质 (TBARS) 含量, 表明龙葵糖蛋白能够通过抑制细胞增殖、促进凋亡、抑制促炎症蛋白和因子表达及抗氧化来发挥抗肿瘤作用。

4.6 抗氧化作用

体内自由基过量会损伤体内生物大分子而造成机体损伤, 癌症、衰老等都与自由基过量有关^[85], 因此, 具有抗氧化活性的物质一直受到人们的广泛关注, 在对中药糖蛋白的研究过程中发现, 许多中药糖蛋白都具有较强的抗氧化活性。

玉竹^[21]及蒲公英^[86,87]糖蛋白均被发现具有较强的体外抗氧化活性, 对羟基自由基、超氧阴离子自由基和 DPPH 自由基具有较强的清除作用, 对脂质过氧化具有抑制作用; 二者均能提高小鼠血清、肝脏和脑组织中超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 及谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性, 降低丙二醛 (MDA) 含量^[88,89]。从山药^[17,90]、海马^[91]和丹参^[92,93]中分离得到的各级糖蛋白纯品, 也具有较强的体外抗氧化活性, 其中海马糖蛋白组分 HG-11 和 HG-21, 以疏水性氨基酸和芳香族氨基酸含量较

高的 HG-21 活性较强;山药糖蛋白纯品 CYG1 和 CYG2,以多糖含量较高的 CYG-2 活性稍强。

4.7 抗衰老作用

衰老主要表现为机体全身各组织、器官的退行性变化,使细胞变性、萎缩、数量减少、组织脱水以致大部分脏器重量减轻^[94],在年龄增长过程中,生物体内产生的抗氧化剂或酶类物质如 SOD、GSH-Px 逐渐下降,过氧化脂质逐渐增多,造成过氧化损伤,加速衰老^[95]。因此,除了脏器指数、细胞形态等,体内抗氧化酶活性、MDA 含量也常作为评价衰老的指标。

Zhang^[45]通过血清代谢组学研究发现远志糖蛋白主要通过核苷酸代谢、碳水化合物合成代谢及糖代谢等通路发挥作用,其对 D-半乳糖诱导的衰老小鼠的脏器指数、血清中过氧化氢酶(CAT)及脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)的活力均有增强作用,能够减缓器官萎缩、降低脑组织中丙二醛(MDA)的含量。Qi^[96]发现覆盆子糖蛋白能够改善衰老小鼠体重增长缓慢的现象、缓解脏器损伤、提高体内抗氧化酶活性,其中经纯化得到的体外抗氧化活性最强的组分 GP3,能够降低 H₂O₂ 损伤下的 TCMK-1、NRK-52E 细胞的死亡率及 β -半乳糖苷酶活性;RT-PCR 及 Western-blot 实验结果表明 GP3 能使衰老小鼠肾脏中 Klotho 基因表达增多^[97]。故推测覆盆子糖蛋白可能是通过清除体内有害自由基、修复脏器损伤,同时调节体内抗衰老基因 Klotho 的表达水平来实现抗衰老作用的。

4.8 抗炎作用

中药糖蛋白的抗炎机制主要是通过抑制 NF- κ B、AP-1 等信号通路,降低 iNOS 和 COX-2 等促炎介质的转录水平,从而抑制炎性因子如 TNF- α 、IL-6 等的分泌,最终达到抗炎目的。

Lee 等^[98,99]发现从梔子中分离得到的分子量为 27 kDa 的糖蛋白能够增强抗氧化酶(SOD 和 GPx)活性,清除体内氧自由基以抑制其对 AP-1 和 NF- κ B 的激活,从而抑制受二者调控的炎性因子 TNF- α 、IL-6、COX-2、iNOS 的表达,达到抑制炎症反应的目的。Xia 等^[100]发现蒲公英糖蛋白能够显著上调受脂多糖刺激的 RAW264.7 细胞内 I κ B- α 的蛋白表达,并下调 P-I κ B- α 的蛋白表达,表明蒲公英糖蛋白可能是通过抑制 NF- κ B 信号通路的活化,以减少炎症因子等的生成实现抗炎效果的。

糖蛋白药理活性广泛,大部分与原药材保持一

致,如龙葵能够通过促进细胞凋亡、调控细胞周期等发挥抗肿瘤作用^[101],与龙葵糖蛋白药理作用相似;有些中药糖蛋白的药理活性甚至强于目前普遍认为的药材有效成分,Wang 等^[77]研究发现相同剂量下人参糖蛋白表现出远高于人参总皂苷的镇痛作用,这提示我们某些中药糖蛋白可能是中药材发挥药效的重要基础;但也存在相反的情况,如黄芪具有免疫增强作用,其糖蛋白却有较强的免疫抑制活性。故糖蛋白与其原药材之间药理活性的关系及糖蛋白本身药理活性的影响因素尚不明确,如海马糖蛋白的抗氧化活性可能与疏水性氨基酸和芳香族氨基酸含量有关,山药糖蛋白的抗氧化活性则与多糖含量有关。

5 结语

目前对中药糖蛋白的研究,除了存在富集纯化过程复杂、无法适应大生产,结构研究不够深入,药理活性影响因素不明确等问题,还存在其他问题:如前文提到某些中药糖蛋白的药理活性或可强于目前普遍认为的有效成分,是中药材发挥药效的重要基础,那么对于许多没有明确指标性成分作为质量评价标准的中药材,糖蛋白是否可以成为其质量标准的评价指标之一?但针对此方面,对中药糖蛋白与普遍认为的有效成分之间的比较,以及以糖蛋白为指标进行质量评价的相关研究还少见报道。此外,中医临床用药要进行炮制或配伍,对中药材进行炮制或配伍时,是否会引入糖蛋白含量或结构的改变,糖蛋白的改变是否与药效改变有所联系,这些都未见报道。

虽然对中药糖蛋白的研究还存在很多问题和困难,但中药糖蛋白的研究无疑是有重要意义的:除了能够为中药基础研究提供新思路,还能为中药新药研发提供参考。如前文所述黄芪糖蛋白的免疫抑制作用相较于目前常用的免疫抑制剂,具有毒副作用小、双向调节的优势;对新生血管生成有良好抑制作用的地鳖虫糖蛋白或可作为抗血管生成类药物参与肿瘤的临床治疗;而具有 α -糖苷酶抑制作用的中药糖蛋白则有着药理作用广泛、作用效果更加缓和的优势。因此,中药糖蛋白作为多靶点、高疗效、低毒性的中药活性成分,为中药研发提供了参考,具有广阔的应用前景。

参考文献

1 Zhu KX, et al. Structure and function of glycoproteins from

- plant[J]. Food Ferment Ind(食品与发酵工业),2002,28(12):57-61.
- 2 Lv KF, et al. Study on anti-tumor and extraction of natural glycoproteins[J]. J Harbin Univ Commerce; Nat Sci(哈尔滨商业大学学报:自科版),2013,29(1):1-3.
- 3 Zhu KX, et al. Study methods of plant glycoconjugates[J]. Food Sci(食品科学),2002,23(12):141-145.
- 4 Wang XJ. Study of the extraction and activity of effective ingredients from *Astragalus mongholicus* Bunge[D]. Taiyuan: Shanxi University(山西大学),2005.
- 5 Sun W. The separation and purification of *Lycium* glycoprotein LbGp5-B and N-glycans structure analysis[D]. Xi'an: Northwest University(西北大学),2015.
- 6 Han YL, et al. The glycoprotein group extracted and purified from *Eupolyphaga Sinensis* Walker inhibits the growth of tumor cell *in vitro*[J]. J Shantou Univ; Nat Sci(汕头大学学报:自科版),2006(4):46-50.
- 7 Zhao WZ, et al. Progress of research on glycoprotein from edible plant[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技),2016,37(16):389-395.
- 8 Hou QE, et al. Review on glycoprotein research progress[J]. Farm Prod Process(农产品加工),2016(2):69-71.
- 9 Deng H, et al. Optimization of extract method and analysis of antioxidant activity of glycoprotein from *Dendrobium huoshanensis*[J]. J Biol(生物学杂志),2019,36(2):107-111.
- 10 Wang F, et al. Study on the extraction technology of glycoproteins from *Rubus chingii* Hu[J]. J Anhui Agr Sci(安徽农业科学),2009,37:3756-3758.
- 11 Chen Q, et al. Study of quantitative determination method and optimizing conditions for glycoprotein extraction from *Dandelion*[J]. Guangzhou Chem Ind(广州化工),2012,40(12):69-71.
- 12 Ren T, et al. Optimization of ultrasonicwave extraction of *Taraxacum mongolicum* polyphenols by RSM[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技),2011,32(7):297-301.
- 13 Zhang Y, et al. Optimization of extraction process of glycoprotein in coix seed[J]. Food Eng(食品工程),2017(2):31-34.
- 14 Gong GM, et al. Extraction and purification of yam rhizome glycoprotein[J]. Chin Wild Plant Resour(中国野生植物资源),2008,27(6):54-56.
- 15 Zhang LM, et al. Optimize extraction of yam glycoprotein in alkali solution[J]. Food Sci Technol(食品科技),2012,37(3):206-209.
- 16 Li JZ. Study on ultrasonic assisted extration of glycoprotein from Chinese yam and its immune adjustment function[D]. Zhenjiang: Jiangsu University(江苏大学),2005.
- 17 Shao H, et al. Microwave assisted extraction and antioxidation activity of glycoprotein from Chinese yam[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技),2009,30(5):131-133.
- 18 Li CC, et al. Optimization of extraction technology of glycoprotein from *Periplaneta americana* by orthogonal test[J]. J Chengdu Univ TCM(成都中医药大学学报),2014,37(3):4-7.
- 19 Zhang JJ, et al. Optimal extraction process of *Polygala tenuifolia* Willd. glycoprotein by response surface experiments[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志),2016,31:4226-4229.
- 20 Wang Y, et al. Purification of glycoprotein from *Polygonatum odoratum* and its antioxidant activity *in vitro*[J]. Food Sci(食品科学),2015,36(2):52-56.
- 21 Chen S, et al. Microwave-aided extraction and antioxidant activities of glycoprotein in *Polygonatum odoratum*[J]. J Anhui Agr Sci(安徽农业科学),2016,44(9):116-118.
- 22 Zhao WZ, et al. Study the extraction and antioxidant activity of ginger glycoprotein[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技),2016,37(22):309-314.
- 23 Zhang LL, et al. Orthogonal experiment optimization Radix *Scutellariae* glycoprotein extraction process[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药),2017,28:594-596.
- 24 Wang YQ, et al. Study on extraction and purification of glycoprotein and its physicochemical properties from *Salvia miltiorrhiza* Bunge[J]. J Guangxi Agr Biol Sci(广西农业生物科学),2007,26:335-338.
- 25 Liu C, et al. Optimization of extraction process for water-soluble glycoprotein from *Schisandra chinensis*(Turcz.) Baill. by response surface analysis[J]. Food Res Dev(食品研究与开发),2017,38(10):38-43.
- 26 Fan XP, et al. Extraction of glycoprotein from the skin of jellyfish by enzymolysis[J]. Food Res Dev(食品研究与开发),2008,29(3):108-111.
- 27 Liu XH, et al. Extraction, separation and purification of natural glycoproteins[J]. Prog Pharm Sci(药学进展),200630:542-547.
- 28 Li M, et al. Study on extraction methods and antioxidant activity of *Astragalus* glycoprotein[J]. J Shanxi Univ Chin Med(山西中医学院学报),2018,19(6):31-35.
- 29 Li HM, et al. Optimization of extraction condition of *Cornus officinalis* flesh in taking inhibition rate of α -glucosidase activity as index[J]. J Plant Resour Environ(植物资源与环境学报),2013,22(1):112-114.
- 30 Lee SJ, et al. Antioxidative effects of glycoprotein isolated from *Solanum nigrum* Linne on oxygen radicals and its cytotoxic effects on the MCF-7 cell[J]. J Food Sci,2003,68:

- 466-470.
- 31 Lee SJ, et al. Glycoprotein isolated from *Gardenia jasminoides* Ellis has a scavenging activity against oxygen radicals and inhibits the oxygen radical-induced protein kinase C alpha and nuclear factor-kappa B in NIH/3T3 cells [J]. *Environ Toxicol Pharm*, 2006, 21(1): 8-21.
- 32 Wang YQ. Studies on the isolation, purification and bioactivity of glycoprotein from *Salvia miltiorrhiza* Bunge [D]. Xi'an; Shaanxi Normal University (陕西师范大学), 2007.
- 33 Chen RZ, et al. Optimizing super pressure extracting technique for ginsenoside from *Panax ginseng* by orthogonal test [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36: 365-368.
- 34 Zhang HL. Extraction and purification of ginger glycoprotein and its activities [D]. Jinjiang: Bohai University (渤海大学), 2019.
- 35 Sun YJ, et al. Purification and analysis of *Cimicifuga foetida* glycoprotein (CF-I) [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2007, 30: 155-157.
- 36 Su YT, et al. Study on the extraction and purification of glycoprotein from the yellow seahorse, *Hippocampus kuda* Bleeker [J]. *Food Sci Nutr*, 2015, 3: 302-312.
- 37 Wang CB, et al. Extraction, purification and structural characterization of glycoprotein from *Lilium davidii* var. *unicolor* Salish. [J]. *Bull Biol* (生物学通报), 2019, 54(4): 43-46.
- 38 Deng H, et al. Purification and cytotoxicity of glycoprotein isolated from *Dendrobium huoshanense* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2017, 42: 130-134.
- 39 Li C, et al. Analysis of the N-glycoforms and immunoactivity of a Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) glycoprotein 30CYGP [J]. *J Proteome Res*, 2019, 19(1): 28-35.
- 40 Ding CS. Isolation, purification and hemorrhheological effect of glycoprotein from *Gastrodia elata* (GGE2b) in blood stasis rats [J]. *Food Sci* (食品科学), 2010, 31(1): 240-242.
- 41 Asada M, et al. Glycoprotein derived from the hot water extract of mint plant, *Perilla frutescens* Britton [J]. *J Agr Food Chem*, 1999, 47: 468-472.
- 42 Zhang B, et al. Isolation purification and quality research of glycoprotein from *Panax ginseng* [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2006, 26: 172-176.
- 43 Shi JP, et al. Extraction, purification, characterisation, and rheological properties of a glycoprotein from *Cynomorium songaricum* Rupr [J]. *Biotechnol Appl Bioc*, 2021, 68(1): 41-51.
- 44 Ding HQ, et al. Determination of molecular weight and its distribution of hyaluronic acid by combination of multi-angle laser light scattering instrument and size exclusion chromatography [J]. *Food Drug* (食品与药品), 2009, 11(3): 24-26.
- 45 Zhang JJ. Studies on the extraction, isolation, purification of *Radix Polygalae* glycoprotein and its anti-aging activity *in vivo* and *in vitro* [D]. Taiyuan; Shanxi University of Chinese Medicine (山西中医药大学), 2017.
- 46 Hu XL. Studies on the extraction, and purification of *Astragalus* glycoprotein and analysis on its structure and immune inhibition activity [D]. Taiyuan; Shanxi University (山西大学), 2013.
- 47 Du XX. Studies on the isolation, purification, structure and antioxidant activity of glycoprotein from *Coix seed* [D]. Xi'an; Shaanxi Normal University (陕西师范大学), 2013.
- 48 Li M, et al. Isolation and purification of *Astragali Radix* glycoprotein and analysis of its physicochemical properties and composition [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2014, 20(13): 48-51.
- 49 Wang CB. Structural characterization and immunoregulatory activity of glycoprotein from *Lilium davidii* var. *unicolor* Salish. [D]. Lanzhou; Northwest Normal University (西北师范大学), 2019.
- 50 Lian YN, et al. Study on the composition analysis and inhibition of ·OH of glycoprotein from *Platycodon grandiflorum* [J]. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2016, 37(3): 83-87.
- 51 Shan BE, et al. Stimulating activity of Chinese medicinal herbs on human lymphocytes *in vitro* [J]. *Int J Immunopharmacol*, 1999, 21(3): 149-159.
- 52 Niu XF, et al. Immunomodulatory activity of the glycoprotein isolated from the Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb) [J]. *Phyther Res*, 2017, 31: 1557-1563.
- 53 Duan YF, et al. Studies on immune activity of glycoprotein from *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2008, 30: 1213-1215.
- 54 Yang XZ, et al. Effects of Huangqi glycoprotein on proliferation of T lymphocytes [J]. *Acta Univ Tradit Med Sin Pharm Shanghai* (上海中医药大学学报), 2009, 23(5): 66-68.
- 55 Zhao JY, et al. Study on inducing of apoptosis in adjuvant arthritis rats with glycoproteins from *Astragalus membranaceus* [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm* (中华中医药杂志), 2011, 26: 1204-1207.
- 56 Zhao JY, et al. Effects of glycoproteins from *Astragalus membranaceus* on proliferation and apoptosis of splenocytes in adjuvant arthritis rats [J]. *Acta Chin Med Pharm* (中医学报), 2014, 42(1): 61-64.
- 57 Zhao JY, et al. Impacts of *Astragalus* glycoprotein on T cell proliferation and activation in the rats of adjuvant arthritis [J]. *World J Integr Tradit West Med* (世界中西医结合杂

- 志), 2015, 10:323-325.
- 58 Zhang PJ, et al. Effect of Huangqi glycoprotein on murine experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. J Shanxi Datong Univ; Nat Sci (山西大同大学学报: 自科版), 2012, 28(5):42-44.
- 59 Zhang PJ, et al. Immunomodulatory effect of Huangqi glycoprotein on mice with experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. Chin J Cell Mol Immunol (细胞与分子免疫学杂志), 2016, 32(1):54-58.
- 60 Xing YX, et al. Immunomodulatory and neuroprotective mechanisms of Huangqi glycoprotein treatment in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. Folia neuropathol, 2019, 57(2):117-128.
- 61 Zhang HY, et al. Anti-inflammatory effect and mechanisms of Huangqi glycoprotein in treating experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. Folia Neuropathol, 2017, 55:308-316.
- 62 Zhang XY, et al. Research progress on immunosuppressive effect of traditional Chinese medicine [J]. Pharm Clin Chin Mater Med (中药与临床), 2016, 7(1):59-61.
- 63 Sun J. The clinical efficacy of insulin combined with alpha glucosidase inhibitor in the treatment of elderly patients with diagnosed type 2 diabetes [J]. J North Pharm (北方药学), 2020, 17(5):100-101.
- 64 Chen WR, et al. New progress in application of oral hypoglycemic agents [J]. China Health Ind (中国卫生产业), 2012, 9(22):73.
- 65 Yang LY, et al. Research progress on type 2 diabetes treatment with traditional Chinese medicine [J]. Chin J Integr Tradit West Med (中国中西医结合杂志), 2020, 40:1007-1011.
- 66 Sharma KK, et al. Natural plant enzyme inhibitors. purification and properties of an amylase inhibitor from yam (*Dioscorea alata*) [J]. J Sci Food Agr, 1982, 33:255-262.
- 67 Yang R, et al. Inhibitory effects of Chinese yam glycoprotein on α -glucosidase *in vitro* [J]. J Chin Inst Food Sci Technol (中国食品学报), 2012, 12(2):30-34.
- 68 Qiao CL. Studies on extraction, purification, characterization, antioxidation activity and hypoglycemic activity of polysaccharide and glycoprotein from *Epimedium brevicornu* [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University (陕西师范大学), 2018.
- 69 Tang CK, et al. Purification and properties of a glycoprotein from fruits of *Fructus Corni* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2005, 17:147-151.
- 70 Zhao SN, et al. Study on the optimum conditions of the extraction and inhibition of α -glucosidase of glycoprotein from *Platycodon grandiflorum* with supercritical CO₂ and ultrasonic [J]. Sci Technol Food Ind (食品工业科技), 2016, 37(3):187-190.
- 71 Song W, et al. Effects of glycoprotein from *Panax ginseng* on behavior changes and hippocampal monoamine neurotransmitters of despair model mice [J]. J Jilin Agr Univ (吉林农业大学学报), 2017, 39:575-578.
- 72 Lv JN, et al. Screening of the active ingredient and structural analysis in the non-saponins from *Ginseng* which showed the effect of treatment of Alzheimer's disease [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2015, 26:2561-2563.
- 73 Luo HM, et al. Influence of glycoprotein from *Panax ginseng* in study and memory abilities in mice [J]. J Jilin Univ: Med (吉林大学学报: 医学版), 2016, 42:439-445.
- 74 Luo HM, et al. *In vivo* and *in vitro* neuroprotective effects of *Panax ginseng* glycoproteins [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 113:607-615.
- 75 Zhu DF, et al. Structure-activity relationship analysis of *Panax ginseng* glycoproteins with cytoprotective effects using LC-MS/MS and bioinformatics [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 158:1352-1361.
- 76 Wang Y, et al. Study on the structure and sedative hypnotic effects of *Panax ginseng* glycoprotein [J]. Spec Wild Econ Anim Plant Res (特产研究), 2017, 39(2):1-4.
- 77 Wang Y, et al. Analgesic effects of glycoproteins from *Panax ginseng* root in mice [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 148:946-950.
- 78 Ding CS, et al. Study of a glycoprotein from *Gastrodia elata*: its effects of anticoagulation and antithrombosis [J]. Chin J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2007, 32:1060-1064.
- 79 Ding CS. Isolation, purification and hemorrhheological effect of glycoprotein from *Gastrodia elata* (GGE2b) in blood stasis rats [J]. Food Sci (食品科学), 2010, 31(1):240-242.
- 80 Wei Z, et al. Protective effect of *Gastrodia elata* glycoprotein on experimental gastric ulcer in mice [J]. Pharm Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2007, 23(6):34-35.
- 81 Li SJ, et al. Studies on the purification, infrared spectroscopic analysis and antiangiogenesis effects of fibrinolytic protein (EFP) from *Eupolyphage sinensis* Walker [J]. Chem J Chin Univ (高等学校化学学报), 2009, 30:1998-2002.
- 82 Sun HB. Study on *Solanum nigrum* glycoprotein induces MCF-7 apoptosis [D]. Harbin: Harbin University of Commerce (哈尔滨商业大学), 2012.
- 83 Oh PS, et al. HeLa cells treated with phyto glycoprotein (150 kDa) were killed by activation of caspase 3 via inhibitory activities of NF- κ B and AP-1 [J]. J Biomed Sci, 2007, 14:223-232.
- 84 Lee SJ, et al. Glycine- and proline-rich glycoprotein regulates

- the balance between cell proliferation and apoptosis for ACF formation in 1, 2-dimethylhydrazine-treated A/J mice [J]. *Mol Cell Biochem*, 2009, 325(1-2):187-197.
- 85 Fang YZ, et al. Free radicals, antioxidants and nutrients in relation to health [J]. *Acta Nutr Sin* (营养学报), 2003(4):337-343.
- 86 Fan Y, et al. Preparation and antioxidant activity analysis of low molecular weight glycoprotein for giant dandelion [J]. *J South Agr* (南方农业学报), 2015, 46:486-491.
- 87 Zhong J, et al. Study on antioxidant properties of *Taraxacum mongolicum* glycoprotein *in vitro* [J]. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2009, 30(9):152-153.
- 88 Jia LF, et al. Antioxidant effect of glycoprotein from *Taraxacum mongolicum* *in vitro* and *in vivo* [J]. *Acta Bot Bor-Occid Sin* (西北植物学报), 2012, 32:2486-2491.
- 89 Chen S, et al. Study on antioxidation of glycoprotein from extract of *Polygonati Odorati Rhizoma* *in vivo* [J]. *Food Drug* (食品与药品), 2012, 14(7):250-253.
- 90 Sun YJ, et al. Antioxidant activity *in vitro* of glycoprotein from Chinese yam [J]. *Acta Horti Sin* (园艺学报), 2010, 37:1009-1014.
- 91 Xu YJ, et al. Purification and characterization of antioxidant glycoproteins from the yellow seahorse *Hippocampus kuda* Bleeker [J]. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物), 2017, 36(6):39-46.
- 92 Duan YF, et al. Study on antioxidant of glycoprotein extraction (CSGP) of *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2009, 30(1):139-141.
- 93 Wang LH, et al. Study on free radical scavenging activity of glycoproteins from *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Food Drug* (食品与药品), 2007, 9(8):11-13.
- 94 Sha AL, et al. Effects of *Coreopsis tinctoria* flavonoids on cerebral index and viscera index in the aging model mice [J]. *Prog Vet Med* (动物医学进展), 2013, 34(7):66-68.
- 95 Wang QH, et al. Effect of saffron on antioxidant capacity of *D*-galactose-induced aging rat model [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中华中医药学刊), 2020, 38(11):18-21.
- 96 Qi TT. Extraction, separation, purification and anti-aging activity research about raspberry glycoprotein [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University (郑州大学), 2016.
- 97 Wang YP. Studies on the anti-aging activity of a glycoprotein (GP3) isolated from Fupenzi (*Rubus chingii* Hu.) and its regulation of Klotho gene expression [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University (郑州大学), 2018.
- 98 Lee J, et al. Inhibitory effect of plant-originated glycoprotein (27 kDa) on expression of matrix metalloproteinase-9 in cadmium chloride-induced BNL CL. 2 cells [J]. *J Trace Elem Med Bio*, 2011, 25:239-246.
- 99 Lee J, et al. Preventive effect of phytyglycoprotein (27 kDa) on inflammatory factors at liver injury in cadmium chloride-exposed ICR mice [J]. *J Cell Biochem*, 2011, 112:694-703.
- 100 Xia Y, et al. Inhibitory effect of *Taraxacum* glycoprotein on lipopolysaccharide-induced inflammation via regulating NF- κ B pathway [J]. *Food Sci* (食品科学), 2017, 38(19):182-188.
- 101 Song WJ, et al. Research progress in pharmacology of *Solanum nigrum* L. [J]. *Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol* (世界科学技术-中医药现代化), 2018, 20:304-308.