

马齿苋多糖的研究进展

李玉萍¹, 叶军², 苏虎¹, 王得解¹, 周春丽¹

(1. 江西科技师范学院生命科学学院, 江西 南昌 330013 ;

2. 厦门大学生命科学学院生命医学系, 福建 厦门 361005)

摘要 : 本文就近年来国内外有关马齿苋多糖的提取、化学结构、含量测定及药理作用等方面的研究现状进行了概述, 并指出马齿苋多糖是一种极具开发潜力和开发价值的天然功能食品, 在预防多种疾病的发生及延缓并发症的发展方面有着广阔的应用前景。

关键词 : 马齿苋 ; 多糖 ; 研究进展

Research Progress of Polysaccharides of *Portulaca oleracea*

LI Yu-ping¹, YE Jun², SU Hu¹, WANG De-jie¹, ZHOU Chun-li¹

(1. School of Life Science, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China ;

2. Department of Biomedical Science, School of Life Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract : This paper briefly introduced the extraction, constitution, determination and pharmacology of the polysaccharides of *Portulaca oleracea* L. in the last decade. The polysaccharides of *Portulaca oleracea* L. is a natural functional food with high development potentials and values and will be widely used to prevent various diseases.

Key words : *Portulaca oleracea* L. ; polysaccharides ; research development

中图分类号 : R284.1 ; R284.2 ; R285.5

文献标识码 : A

文章编号 : 1002-6630(2007)07-0538-04

马齿苋(*Portulaca oleracea* L.) 为药食两用马齿苋科植物(*Portulaca*), 含有多种化学成分, 包括蛋白质、脂肪 - 脂肪酸、- 亚麻酸等)、粗纤维、维生素(VE、VC、胡萝卜素、核黄素等)、氨基酸(谷氨酸、天冬氨酸、丙氨酸、苏氨酸、丝氨酸、亮氨酸、色氨酸、精氨酸、赖氨酸、胱氨酸等18种氨基酸)、矿物质(钾、钙、镁、锌、铁、磷等)、多糖、生物碱、香豆精类、黄酮类、去甲肾上腺素、强心苷和葱醌苷等^[1-2]。其中马齿苋多糖是马齿苋的主要有效成分之一, 近年来引起越来越多的关注, 本文就马齿苋多糖的研究近况, 包括其提取纯化、结构分析、药理作用及存在问题等作一综述。

1 马齿苋多糖的提取

多糖的生物活性倍受关注, 其提取方法及工艺已成为目前研究焦点之一。在植物多糖提取的研究中采用了许多不同的方法, 包括溶剂提取法、酸提法、碱提法、酶解法、超滤法、超声波强化法、微波法等^[3]。马齿苋多糖的提取工艺也有不少研究, 基本过程如下: 新鲜

马齿苋或马齿苋干品 破碎 热水提取 蒸留水或稀碱液或稀酸液) 或酶法提取或酶加水提取或超声提取或微波提取 浓缩 乙醇沉淀 除蛋白质(碱水法) 乙醇沉淀、丙酮、乙醚洗涤得粗多糖。

在上述工艺流程中, 影响马齿苋多糖提取率的因素较多, 包括温度、料液比、提取时间、提取次数、以及提取方法等。高莉等用热水浸提法提取马齿苋多糖, 并对提取工艺进行优化, 发现提取马齿苋多糖的最佳工艺为: 温度100℃, 时间9h, 醇沉比4:1, 浸提次数3次, 多糖提取率可达26.8%^[4]。刘志勇等运用微波技术加水提醇沉法提取马齿苋多糖, 平均回收率为97.6%, 加快了反应速度, 回收率得到提高, 但马齿苋多糖含量为8.94%^[5]。刘存芳等针对上述因素对马齿苋设计正交实验进行浸提, 将温度、料液比、提取时间这三个影响较显著的因素设计成三因素四水平正交实验方案, 确定提取的优选条件^[6]。结果表明, 温度是影响多糖提取率最显著的因素, 其次是提取时间和料液比, 以温度95℃, 料液比1:8, 提取时间40min为提取马齿苋多糖的最佳条件, 马齿苋多糖的含量达9.23%。

收稿日期 : 2007-05-30

基金项目 : 江西省教育厅科学技术研究项目(赣教技字[2007]285号)

作者简介 : 李玉萍(1964-), 女, 教授, 博士, 主要从事为天然产物功能因子的生物活性研究。

朱丹等在对浸提时间、温度、料水比等进行单因素试验的基础上,结合微波法辅助提取30min以上,浸提时间5h,浸提温度100℃,料水比1:40,醇沉比4:1时,浸提次数两次,马齿苋多糖得率可以从10.71%提高到13.94%。李海燕等还进行了水提、酶提、酶水提和超声提取马齿苋多糖的方法比较,发现不同的提取方法对马齿苋得率及多糖含量的影响为:酶水提取(32.9%、46.43%)>酶提取(23.45%、40.29%)>超声提取(19.23%、38.11%)>热水提取(16.52%、34.97%)。酶水提取是最佳工艺,该法多糖得率高,杂质少且条件温和,提取时间短⁸¹。另据报道,因为稀碱或稀酸条件下易使多糖发生糖苷键的断裂,部分多糖发生水解而使多糖的提取率减少。

2 马齿苋多糖的理化特性和含量测定

马齿苋多糖没有明显的熔点,在295℃时变黑,为无定形粉末,溶于水,易溶于热水,不溶于高浓度的乙醇、乙醚和丙酮等有机溶剂。费林氏试验为阴性Molish反应和蒽酮-硫酸反应呈阳性。马齿苋多糖含量的测定方法有分光光度法、薄层扫描法、高效液相色谱法等¹¹。曲晓兰等用苯酚-硫酸法对不同采收期马齿苋多糖含量进行比较⁹¹。结果表明9月上旬收获的马齿苋中多糖含量最高,说明采收期是影响马齿苋中多糖含量的重要因素。

3 马齿苋多糖的纯化和结构分析

天然植物中多糖与蛋白质两种高分子成分共同存在,脱除多糖中的蛋白是多糖精制过程中比较重要的一步,对多糖的得率和生物活性有重要影响。马齿苋多糖水提取物中蛋白质含量高达80%,且二者常形成糖蛋白复合物,给马齿苋多糖的纯化带来很大困难,所以在层析纯化之前必须进行除蛋白处理。文献报道的除蛋白方法以Sevag法最为常用,即采用氯仿、正丁醇处理多糖水溶液,使蛋白质成分变性沉淀,离心分离,但该方法费时,沉淀过程中易造成多糖的损失,且与糖紧密结合的蛋白不易除去。鉴于此,有研究者对马齿苋多糖的除蛋白方法进行了优化,采用Sevag法与三氯三氟乙烷或与酶法联用,简化操作,减少多糖损失,使蛋白去除率明显提高,从而得到较纯的多糖。牛广财等探讨了五种方法对马齿苋多糖中蛋白质的脱除效果,结果表明酶法和三氯乙酸-正丁醇法结合使用效果最好,即酶用量为2%,pH为5.0,在60℃水浴中酶解2h,再用等体积的三氯乙酸-正丁醇溶液重复处理4次,蛋白质的脱除效率最高¹⁰¹。目前采用的纯化策略主要是DEAE-纤维素层析或凝胶过滤层析,前者根据多糖的荷电特性不同,后者根据其相对分子质量的差异,

将提取所得的粗多糖进一步纯化为重均相对分子质量一致的单一多糖。在纯化过程中,一般用水、盐或碱洗脱,硫酸-蒽酮法检测,收集主峰多糖,即得到不同的多糖纯品。

多糖的结构描述包括相对分子质量范围、单糖的组成、连接点类型、单糖和糖苷键的构型以及重复单元等。目前已被纯化的四种马齿苋多糖均进行了初步的结构分析。刘存芳等对马齿苋多糖进行分离纯化,获得一种相对分子质量为411kD的多糖,并利用纸层析和气相色谱对此马齿苋多糖中的单糖组成作了分析,其单糖组成为葡萄糖和半乳糖,其他单糖没有检出⁶¹。段玉峰等对马齿苋总多糖进行了纯化分离,得到了POL Ib、POL IIa、POL III三种单一的多糖组分,分子量分别为18、56和410kD;均是非单一组分多糖,POL Ib、POL III主要由葡萄糖、半乳糖组成,含有β-糖苷键;POL III含有六种单糖,分别是阿拉伯糖、木糖、果糖、甘露糖、半乳糖和葡萄糖,含有β-糖苷键¹¹¹。朱丹等经提取、分离和纯化等一系列步骤得到马齿苋多糖POP IIIa,并用醋酸纤维薄膜电泳和Sephadex G-200葡聚糖凝胶过滤法鉴定,POP IIIa为均一性组分¹²¹。薄层色谱和核磁共振分析确定其单糖组成为阿拉伯糖和半乳糖醛酸,红外光谱分析表明POP IIIa具有典型的多糖吸收峰,结构中存在β-型糖苷键,同时根据NMR结果推断POP IIIa属果胶类多糖。但进一步的结构信息,如单糖之间的连接方式等,仍有待进一步研究。

4 药理作用

多糖是由单糖基通过糖苷键连接而成的化合物。越来越多的研究证明,多糖不但能治疗使机体的免疫系统受到严重损伤的癌症,还能治疗多种免疫缺损疾病,如慢性病毒性肝炎和某些细菌和病毒引起的慢性病,还能治疗风湿病之类的疾病,有的多糖还能诱导干扰素的产生。总之,多糖具有调节免疫功能、抗肿瘤、抗病毒病菌、降血糖血脂、抗溃疡等作用¹³¹。与其它植物多糖一样,马齿苋多糖的粗提取物及纯化物也具有广泛的药理作用,主要包括抗肿瘤、抗氧化、防治糖尿病与调节免疫功能等作用。

4.1 提高免疫功能

单核-巨噬细胞系统是机体免疫系统中的重要组成部分,它担负着重要的免疫防御功能。为了研究马齿苋多糖对免疫功能的影响,卢新华等用马齿苋多糖灌胃正常昆明小鼠观察马齿苋多糖对免疫功能的影响¹⁴¹。结果显示,马齿苋多糖可显著提高小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬百分率和吞噬指数,促进溶血素及溶血空斑的形成,促进淋巴细胞的转化,表明了马齿苋多糖有提高免疫功能的作用。王晓波等¹⁵¹观察了马齿苋多糖对体外小鼠腹

腔巨噬细胞免疫功能的影响,结果显示马齿苋多糖可以明显促进体外腹腔巨噬细胞的吞噬功能和NO及细胞因子IL-1的产生。巨噬细胞表面存在有多糖受体,马齿苋多糖可能通过与受体结合激活巨噬细胞,促进巨噬细胞分泌NO和释放效应因子IL-1,表明马齿苋多糖可通过活化巨噬细胞,增强机体的免疫反应作用。

4.2 抗肿瘤作用

崔旻等研究了马齿苋多糖的抗肿瘤活性。结果表明马齿苋多糖可使小鼠T淋巴细胞数量增加,体外对肝癌细胞SMMC7721的增殖具有一定的抑制作用,体内可使小鼠S₁₈₀腹水瘤分裂指数显著下降,并能明显抑制小鼠S₁₈₀移植性实体瘤生长^[15]。为了探讨马齿苋多糖抗肿瘤作用的机制,王晓波等采用水提醇沉法获得马齿苋多糖分低、中、高三个浓度处理S₁₈₀荷瘤小鼠,观察马齿苋多糖的抑制肿瘤作用和对免疫功能的影响^[16]。结果显示,马齿苋多糖对S₁₈₀荷瘤小鼠有明显的抑瘤作用,抑瘤率分别为16.92%、51.45%和64.96%。不同剂量的马齿苋多糖与对照组相比可明显促进淋巴细胞的转化,小鼠腹腔巨噬细胞吞噬能力,可有效的增加荷瘤小鼠脾淋巴细胞的转化和腹腔巨噬细胞的吞噬能力以及白介素-1(IL-1)和白介素-2(IL-2)的分泌。表明马齿苋多糖具有明显的抗肿瘤作用,其作用机制与增强小鼠免疫作用有关。同时,王晓波等还研究了马齿苋多糖对人肝癌细胞株(BEL-7402)和小鼠结肠癌细胞株(CoCon-26)的体外抑制作用,研究表明马齿苋多糖对人肝癌细胞的生长繁殖有明显的抑制作用,以中等剂量的抑制效果较好,但对小鼠结肠癌细胞无明显的抑制作用^[17],这个结果提示了马齿苋多糖对体外肿瘤细胞的直接抑制作用可能与对瘤株具有选择性有关。以上结果表明,马齿苋多糖具有较好的体内外抗肿瘤作用,其作用机制可能是提高体内的细胞免疫功能而发挥抗肿瘤作用。

4.3 抗氧化作用

现代化生活方式所带来的精神紧张、高脂肪和高蛋白饮食的摄入、肥胖、以及老龄化等因素,加速了体内活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)的产生,加剧了自由基对人体生物膜脂质的攻击,从而产生大量的过氧化脂质及其次级代谢产物。这些具有高活性及高反应性的活性氧和脂质过氧化物,进而与蛋白质、氨基酸、DNA等形成复合物,使蛋白变性、机体内信号传导受阻而诱发多种慢性疾病^[18]。段玉峰等将分离纯化得到的POL Ib、POL IIa、POL III三种马齿苋多糖进行体外抗氧化作用研究,实验证明三种马齿苋多糖均有一定的抗氧化功能,POL III对于·OH有较高的灭活作用^[11]。过氧化脂质是自由基攻击细胞膜脂质双层中的不饱和脂肪酸,使之过氧化的产物。牛广财等以猪油、芝麻油为底物,采用碘量法对马齿苋多糖的抗氧化性能及

与抗坏血酸的协同增效作用做了初步研究^[19]。实验结果表明,马齿苋多糖对油脂具有一定的抗氧化性能,其抗氧化效果随其用量的增加而加强,抗坏血酸对马齿苋多糖具有协同抗氧化作用。

4.4 抗衰老作用

随着人体的衰老,体内组织中自由基的代谢逐渐紊乱,过多的自由基可诱发组织老化和一些老年性疾病。牛广财等用D-半乳糖制备衰老小鼠模型,同时经灌胃100、200、400mg/kg·d马齿苋多糖观察其对血清中超氧化物歧化酶(SOD)活性、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性、丙二醛(MDA)含量和对动物缺氧存活时间及游泳时间的影响^[20]。结果表明,马齿苋多糖能不同程度增加血清中SOD及GSH-Px活力,极显著降低MDA含量。此外,马齿苋多糖还能极显著延长小鼠在缺氧条件下的存活时间和常温游泳时间。说明马齿苋多糖具有明显的抗衰老作用。

4.5 降糖作用及改善糖尿病症状

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一组由遗传和环境因素相互作用而引起的体内糖、蛋白质及脂肪代谢紊乱,以持续高血糖为基本生化特征,伴有失明、心脑血管疾病、肾功能衰竭、神经病变等多种并发症的一种临床综合征。糖尿病主要分为由胰岛细胞自身免疫性破坏、不能合成和分泌胰岛素所致的I型胰岛素依赖型糖尿病(IDDM)和由胰岛素分泌相对不足或肌肉、脂肪等外周组织的胰岛素抵抗所致II型胰岛素非依赖型糖尿病(NIDDM),其中约90%以上为II型糖尿病。近年来的研究表明:紧张繁忙的生活、心理和工作压力、抽烟、酗酒、运动不足、肥胖及伴发的高血脂和高血压等引起体内产生的ROS增加,而氧化自由基(O₂⁻·、H₂O₂、·OH、NO等)的攻击是诱发II型糖尿病的主要原因。因此抗氧化、降低血脂和血压、减肥等被认为是预防糖尿病及其慢性并发症发生的有效措施^[8]。上述的研究成果显示马齿苋多糖为一种天然抗氧化剂,具有消除活性氧自由基和脂质过氧化、降低血清中MDA含量、提高SOD含量、增加SOD活性的作用。由此可以推断,马齿苋多糖可以增强胰岛细胞对ROS损伤的防御能力,减轻诱发糖尿病因子对胰岛细胞的损害的作用,从而降低血糖浓度。但相关降糖机理,尤其是在细胞和分子水平上的研究尚未见报道,有待进一步研究。

5 存在的问题与展望

马齿苋在我国民间已有几千年的应用历史,是国家卫生部批准的药食两用食品类原料。因其具有独特营养价值和食疗保健功能,加上安全性好、无副作用,愈来愈引起人们的关注,被营养专家誉为21世纪最有前途

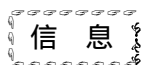
的、值得开发的绿色食品。

马齿苋粗加工的产业化发展已经具备了一定的规模,但有关单一功能因子—马齿苋多糖的研究在近年才逐渐开展起来,对其化学结构的研究非常有限,大多数已经报道的马齿苋多糖都缺乏详细的结构信息,测定方法也尚未达到象核酸和蛋白质结构测定那样自动化,高级结构的研究是空白;其药理作用的研究也处于刚起步阶段,需要进一步的实验来补充验证,尤其是将体内和体外实验结合起来综合评价,并从整体、细胞和分子生物学水平上的研究马齿苋多糖作用机制的报道,目前仍是空白,有待开展更深入的研究工作。

从应用研究的角度来看,马齿苋多糖来源较稳定、质量可控、高效低毒,是一种极具开发潜力的生物活性成分,利用马齿苋多糖这种活性单体开发而成的药品或功能食品将具有广阔应用前景。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会 中国药典 一部[M]. 北京 化学工业出版社 2000: 27-31.
- [2] 王晓玲, 王红霞 马齿苋的传统应用和现代研究概况[J]. 首都医药 2004(4): 45-48.
- [3] 许燕燕 植物多糖的提取方法和工艺[J]. 福建水产, 2006(3): 32-36.
- [4] 高莉 刘捷 田义静 等 马齿苋多糖提取、纯化工艺的初步研究[J]. 食品研究与开发 2006, 27(4): 59-62.
- [5] 刘志勇 王莉 鲁建红 等 马齿苋多糖的微波提取及含量测定[J]. 中国药师 2002, 5(11): 667-668.
- [6] 刘存芳, 王晓波 田光辉 等 马齿苋多糖的提取与其单糖组成研究
- [7] 陕西理工学院学报 自然科学版 2006, 22(3): 29-31.
- [7] 朱丹 牛广财 孟宪军 马齿苋多糖提取工艺的研究[J]. 中国农学通报 2006, 22(8): 119-122.
- [8] 李海燕 王旭深 马齿苋多糖提取方法的比较[J]. 第一军医大学分校学报 2005, 28(2): 186-187.
- [9] 曲晓兰 苏延友 高红莉 等 马齿苋不同采收期多糖含量的测定[J]. 时珍国医国药 2006, 17(10): 1960-1961.
- [10] 牛广财 朱丹 马齿苋多糖脱蛋白方法的研究[J]. 食品研究与开发 2005, 26(5): 51-53.
- [11] DUAN Y F, HAN G P. Study on separating and antioxidative activity of polysaccharides extrated from *Portulaca oleracea* L[J]. Food Sci, 2005, 26(3): 225-228.
- [12] 朱丹 牛广财 孙希云 等 马齿苋多糖POP a 的分离纯化及其结构特征[J]. 激光生物学报 2006, 15(6): 624-627.
- [13] 周世文 徐梓辉 植物多糖及其降血糖作用的研究进展[J]. 华西药理学杂志 2001(5): 365-366.
- [14] LU X H, HE J S, ZHU X Z. Immune effects of polysaccharide from *Portulaca oleracea* on mice[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2006, 22(3,4): 89-90.
- [15] 崔曼 尹苗 安利国 马齿苋多糖的抗肿瘤活性[J]. 山东师范大学学报 自然科学版 2002, 17(1): 72-76.
- [16] 王晓波 刘殿武 丁月新 等 马齿苋多糖对小鼠腹腔巨噬细胞免疫功能作用[J]. 中国公共卫生 2005, 21(4): 462-463.
- [17] 王晓波 姜红 王本华 等 马齿苋多糖对肿瘤细胞的体内外抑制作用[J]. 中国公共卫生 2005, 21(12): 1485-1486.
- [18] ZIMMET P, ALBERTI KG, SHAW J. Global and societal implications of the diabetes epidemic[J]. Nature, 2001, 414(13): 782-787.
- [19] 牛广财 张燕雅 孟宪军 等 马齿苋多糖对油脂抗氧化作用的研究[J]. 粮油加工与食品机械 2005(7): 58-59.
- [20] 牛广财 朱丹 金英子 等 马齿苋多糖对小鼠抗衰老作用[J]. 中国农学通报 2006, 22(10): 35-37.



从脂肪组织培养出造血干细胞

匹兹堡大学医学院研究人员最近在脂肪组织中分离、培养出人类造血干细胞,为接受放疗的血癌患者提供了另一个重要的细胞源。

脂肪组织根据营养制约因素快速扩张和膨胀的机制离不开血供的快速调节和结缔组织 基质 的支撑。根据之前的报道,脂肪组织的基质血管层(stromal vascular fraction, SVF)含有干细胞,能够形成支持小血管的周边细胞。匹兹堡大学医学院Albert D. Donnenberg 带领的研究小组,从人类脂肪组织中分离出基质血管层,并将这些细胞培养在特制血培养基(blood-culturing medium)中21~42d。

研究人员利用流式细胞计数法定时探测培养基中造血干细胞,发现了早期和成熟的红细胞,而且发现CD34+ 细胞与新分离骨髓中的CD34+ 细胞出现频率几乎相同。骨髓中有CD34+ 表达,意味着出现了能够形成各种类型血细胞的祖细胞。

这些数据说明,造血干细胞或生成这些造血干细胞的细胞,是脂肪组织的组要部分。从普通脂肪组织的基质血管层分离细胞,然后添加培养骨髓所需成分,能够培养出各种造血干细胞,包括血液祖细胞。

Donnenberg 博士说,利用患者自身骨髓或者血液来源的干细胞进行骨髓重建有些风险,因为这些细胞污染了患者自身的肿瘤细胞。一些研究发现被肿瘤细胞污染的骨髓移植是自体移植后恶性肿瘤再次发生的根源。脂肪组织也许是除骨髓外,患者自身造血干细胞的另一大来源。