

附子多糖的药理作用研究进展*

熊海霞, 杨颖, 孙文燕**

(北京中医药大学中药学院 北京 100102)

摘要: 附子是临床常用的有毒中药, 具有回阳救逆、补火助阳、散寒止痛功效, 用于亡阳虚脱及阳虚诸证, 被誉为“百药之长”。附子多糖是其有效成分之一, 研究发现附子多糖具有调节免疫、抗肿瘤、保护心肌细胞、降血脂等作用。

关键词: 附子多糖 药理作用 免疫调节 抗肿瘤 心肌细胞保护

doi: 10.11842/wst.2013.09.016 中图分类号: R285.5 文献标识码: A

附子为毛茛科乌头属植物乌头(*Aconitum carmichaeli* Debx.)子根的加工品。味辛、甘, 性大热, 有毒, 具有回阳救逆、补火助阳、散寒止痛功效, 主要用于亡阳虚脱, 脉微肢冷, 阳痿, 宫冷, 心腹冷痛, 虚寒吐泻, 阴寒水肿, 阳虚外感, 寒湿痹痛等。现代常用于慢性心功能不全、缓慢性心律失常、休克、风湿性关节炎等的治疗^[1]。附子中的主要化学成分有生物碱、多糖、苷类、甾醇、无机盐等^[2]。附子多糖(Fuzi Polysaccharide, FPS)是附子的有效成分之一, 具有调节免疫、抗肿瘤、保护心肌细胞、降血脂等作用。附子多糖无明显毒性^[3], 其高效低毒的特性已逐渐受到人们的关注, 现就其药理研究概况综述如下。

1 附子多糖化学成分研究

附子多糖主要来源于黄附子、白附片、生附子、黑顺片。阮期平等^[4]采取5倍量蒸馏水75℃热水浴抽提黄附子3h, 离心, 上清液加入95%乙醇醇析, 去除游离蛋白质, 再相继以95%乙醇、丙酮洗涤, 真空干燥, 得粗多糖。再经DEAE-C32和Sephadex G75柱层析分离得到含量为3%和1%的附子中性

多糖和酸性蛋白多糖。阮期平等^[5]采用相似方法对白附片进行提取分离, 最后得到含量为1.6%, 平均分子量为 216×10^5 的附子多糖FI。吕永磊等^[6]采用80%乙醇回流提取2次, 过滤, 沸水提取2次, 离心, 加乙醇使醇含量达到80%, 过滤干燥, 得粗多糖。用Sevage试剂除去蛋白质, 水洗, 过滤, 依次用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤, 真空干燥得到含量为18.56%的生附子多糖。吕永磊等^[6]通过PMP柱前衍生化法、HPLC检测法发现附子多糖主要成分是葡萄糖, 另含半乳糖、甘露糖、鼠李糖等单糖。Zhao等^[7]通过对FT-IR、GC-MS、HPLC、NMR等图谱的综合分析, 确定附子多糖-1是一种 α -(1→6)-D-葡聚糖。

2 附子多糖药理毒理研究

2.1 调节免疫

李发胜等^[8]以颗粒性抗原(绵羊红细胞)和可溶性抗原(卵清蛋白)分别激发小鼠的免疫系统为基础免疫, 然后用附子多糖灌服小鼠, 再用相同抗原激发机体免疫系统。发现以 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 附子多糖灌胃可使小鼠免疫应答水平明显提高。赵霞^[9]通过观察附子多糖注射液对佐剂性关节炎大鼠足肿胀、

收稿日期: 2013-11-04

修回日期: 2013-11-18

* 科学技术部国家重点基础研究发展计划(“973计划”)项目(2009CB522800-03) 确有疗效的有毒中药科学应用关键问题的基础研究——有毒中药的毒性与功效、证候关系的临床研究 总课题负责人 叶祖光, 子课题负责人 朱跃兰 北京中医药大学自主选题项目(2013-JYBZZ-JS-036) 基于病/证模型的附子毒性初步研究 负责人 孙文燕 北京中医药大学创新团队项目(2011-CXTD-13) 复方中药制药研究 负责人 杜守颖。

** 通讯作者: 孙文燕, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向: 中药药理学研究。

免疫脏器系数、踝关节病理及血清中细胞因子 IL-2 和 TNF- α 的影响,发现附子多糖注射液以 80 mg·kg⁻¹ 腹腔注射治疗类风湿性关节炎效果最明显,且其效应机制可能与诱导关节炎大鼠 T 淋巴细胞活化后凋亡有关。苗智慧等^[10]研究发现附子酸性多糖可提高正常小鼠和免疫功能低下小鼠脾脏和胸腺指数,促进抗体生成,提高淋巴细胞转化能力,增强自然杀伤细胞活性,具有明显的免疫调节作用。

2.2 抗肿瘤

2.2.1 诱导肿瘤细胞分化

彭文珍等^[11]通过附子多糖诱导人早幼粒白血病细胞分化研究,发现附子多糖作用后的 HL-60 细胞分叶核与杆状核细胞及晚幼粒细胞增多,硝基四唑氮蓝(Nitrotetrazolium Blue Chloride, NBT)还原能力增强,细胞内鼠抗人髓过氧化物酶(Myeloperoxidase, MPO)增加,细胞膜分化抗原 CD_{11b} 上升而 CD₃₃ 下降。提示附子多糖对 HL-60 细胞有诱导分化作用,为临床应用附子治疗恶性肿瘤积累了研究资料。高林林等^[12]通过附子多糖诱导肝癌患者树突状细胞分化成熟的实验研究,提示适当浓度附子多糖能够在体外有效诱导肝癌患者外周血单核细胞分化为树突状细胞并表达成熟表型,从而作为第二信号活化 T 淋巴细胞,激发肿瘤免疫。

2.2.2 诱导肿瘤细胞凋亡

董兰凤等^[13]通过附子多糖对 H22 和 S180 荷瘤小鼠抗肿瘤作用研究,发现附子多糖可以延长荷瘤小鼠的存活时间,提高淋巴细胞转化率和 NK 细胞活性,上调抑癌基因 p53 和 Fas 的表达,提高肿瘤细胞凋亡率。且以腹腔注射 100 mg·kg⁻¹ 附子酸性多糖效果更为突出。实验表明,附子多糖增强机体的细胞免疫功能,诱导肿瘤细胞凋亡和上调抑癌基因的表达是其抑瘤作用的主要环节。

2.2.3 协同增效

董兰凤等^[14,15]通过附子多糖与阿霉素蛋白磁微球靶向治疗的抗肿瘤协同作用研究,发现以 200 mg·kg⁻¹ 附子多糖灌胃小鼠联合阿霉素磁靶向治疗与单纯阿霉素磁靶向治疗相比,抑瘤效果显著提高。说明附子多糖在增强化疗药对肿瘤组织杀伤作用的同时,还因其提高免疫功能而起到了“祛邪扶正”的作用。

2.3 保护心肌细胞

2.3.1 激活心肌保护信号传导通路

线粒体通路:刘颖等^[16,17]通过建立乳鼠心肌细

胞缺氧/复氧模型,观察附子多糖后处理对此模型的影响,发现附子多糖后处理可促进抑凋亡基因 Bcl-2 的表达,增加锰超氧化物歧化酶(Mn Superoxide Dismutase, MnSOD)的活性及基因的表达,阻止线粒体膜电位的下降,抑制凋亡诱导因子(Apoptosis-inducing Factor, AIF)自线粒体向胞浆释放,减少心肌细胞凋亡。表明附子多糖心肌保护机制与其抗氧化损伤、抑制细胞凋亡的线粒体信号途径有关。另外,附子多糖可增加缺氧/复氧模型心肌细胞的存活率,抑制促凋亡基因第 2 个线粒体衍生的半胱氨酸蛋白酶激活剂/低等电点的凋亡抑制蛋白直接结合蛋白(Second Mitochondria-derived Activator of Caspase/Direct IAP-binding Protein with Low pI, Smac/Diablo)的释放,促进磷酸化-信号转导子与转录激活子 3(Phosphorylated Signal Transducer and Activator of Transcription-3, P-STAT3)的表达,表明其抗心肌细胞凋亡与阻碍细胞凋亡的线粒体信号转导通路有关^[18,19]。

内质网通路:刘颖等^[20]研究发现附子多糖预处理可有效抑制缺氧/复氧模型心肌细胞的葡萄糖调节蛋白(Glucose Regulated Protein 78kD, GRP78)、内质网相关促凋亡蛋白(C/EBP Homologous Protein, CHOP)和 Caspase-12 的表达上调。其作用机制与抑制内质网应激反应,维持内质网稳态,阻碍内质网应激诱导的细胞凋亡有关。

2.3.2 减少氧自由基生成

刘颖等^[21]通过研究证实,附子多糖可减少缺氧/复氧心肌细胞丙二醛(Malondialdehyde, MDA)的生成和乳酸脱氢酶(Lactate Dehydrogenase, LDH)的释放,促进金属硫蛋白(Metallothionein, MT)的合成,清除活性氧,从而对氧化应激损伤的心肌细胞起到保护作用。

2.3.3 抑制细胞钙超载

刘颖等^[22]研究发现,与缺氧/复氧组比较,附子多糖处理可增加心肌细胞存活率,减少肌酸激酶(Creatine Kinase, CK)的释放,降低细胞内钙离子浓度,抑制心肌细胞凋亡。表明附子多糖对缺氧/复氧心肌细胞保护作用机制与抑制钙超载、减轻线粒体损伤有关。

2.3.4 抑制细胞自噬

Liao 等^[23]通过附子多糖对饥饿环境下 H9c2 心肌细胞自噬能力的研究,发现附子多糖可增加自噬

相关蛋白-微管相关蛋白 1 轻链 3-II (Light chain 3, LC3) 与轻链 3-I (LC3-I) 比值及 GFP-LC3, 促进抑制磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (Phosphorylated Mammalian Target of Rapamycin, p-mTOR) 的表达。表明附子多糖能削弱饥饿引发的细胞生存力的下降, 并通过激活 AMPK/mTOR 通路发挥心肌保护作用。

2.4 其他药理作用

2.4.1 降血脂

周芹等^[24-26]用高胆固醇饲料喂养大鼠, 结果发现附子多糖能显著抑制高胆固醇血症大鼠血清中总胆固醇 (Total Cholesterol, TC) 和低密度脂蛋白胆固醇 (Low-density Lipoprotein Cholesterol, LDL-C) 水平, 抑制肝脏羟甲基戊二酰辅酶 A (Hepatic Hydroxymethyl Glutaryl Coenzyme A, HMG-CoA) 的表达, 促进肝脏 LDL-R 和 CYP7 α -1 的表达。

2.4.2 保肝

Lin 等^[27]研究附子多糖对大鼠肝缺血再灌注损伤模型的影响, 发现附子多糖组能明显降低血清 AST、ALT, 升高肝脏组织中 SOD、CAT, 降低 MDA, 并能增强 Na⁺-K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶活性。说明附子多糖可以通过其抗氧化效应以及减少肝细胞的坏死来减轻肝缺血再灌注时的损伤。

2.4.3 抗疲劳

刘古锋等^[28, 29]通过附子多糖对小鼠力竭性游泳运动疲劳模型的干预, 发现附子多糖可明显提高小鼠游泳耐力, 提高力竭小鼠心肌 SOD、GSH-Px、CAT 的活性, 降低 MDA, 降低心肌细胞凋亡指数, 增强 Bcl-2 的表达, 抑制 Caspase-3 的表达等。提示附子多糖是通过清除运动过程中产生的自由基, 抑制脂质过氧化反应, 影响相关凋亡基因的表达实现其抗运动性疲劳的目的。

2.4.4 抗抑郁

Yan 等^[30]通过附子多糖对去卵巢小鼠的抗抑郁研究, 发现附子多糖治疗组明显缩短强迫游泳不动时间及应激小鼠摄食潜伏期, 反转慢性应激导致的回避行为; 增加海马区脑源性神经营养因子 (Brain Derived Neurotrophic Factor, BDNF) 产生, 并可被 K252a (一种酪氨酸激酶受体抑制剂) 所阻断, 提示附子多糖的抗抑郁作用可能与增加海马齿状回神经元发生及 BDNF 信号传导通路有关。

2.4.5 抗菌

Lin 等^[31]研究发现随着附子粗多糖浓度的增

加, 大肠杆菌和葡萄球菌的生长速率常数减小, 达峰时间延长, 抑菌率增大, 且对葡萄球菌抑制效果更明显。

2.6 毒理学研究

周子渝等^[3]通过比较附子四种炮制品及其活性成分的 LD₅₀ 或最大耐受量, 发现生附片多糖无明显毒性反应, 最大耐受量为 533 g。

3 小结与讨论

近年来, 糖生物学成为继蛋白质组学、基因组学后的另一研究热点。随着对植物多糖, 特别是中药多糖研究的深入, 发现多糖在抗肿瘤、调节免疫、抗炎、抗病毒、降血糖、降血脂、抗氧化、抗衰老和促进骨折愈合等方面呈现出较强的生物活性^[32]。附子多糖作为附子中提取的大分子物质, 在免疫调节、抗肿瘤、心肌保护方面作用较为明显, 在降血脂、保肝、抗疲劳及抗抑郁方面也获得了初步结果。免疫调节作用是其抗肿瘤作用环节之一。心肌保护作用主要是通过抗氧化、抑制心肌细胞凋亡实现的。心肌保护、保肝、抗疲劳作用都与其抗氧化活性有关。相对附子而言, 附子多糖安全性较高, 且具有免疫调节、抗肿瘤、心肌保护、降血脂等作用, 在肿瘤、风湿免疫性疾病、心血管疾病治疗方面具有较好的应用前景。

然而, 目前对附子多糖的研究还存在如下问题: ①提取分离工艺尚属起步阶段, 缺乏统一的标准。②研究所用附子多糖多为粗制剂, 且多未交代从何种饮片或生药提取, 具体的化学组成和结构不明确, 构效关系更不清楚。③药理作用及机制研究主要集中在对免疫功能的影响、抗肿瘤及心肌细胞保护方面, 其他药理作用研究尚属探索阶段。需要注意的是, 心肌细胞保护作用多为体外实验的结果, 缺乏系统的整体实验研究。④缺乏附子多糖与附子、附子生物碱类成分药理作用、安全性的对比研究。因此, 今后有必要加强附子多糖的分离纯化及鉴定, 规范其提取工艺, 深入研究其药理作用、作用机制及作用靶标, 并开展结合附子功效主治特点、多糖结构与药理作用关系的研究, 以期为进一步开发利用奠定基础。

参考文献

- 1 彭成. 中药药理学. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 202.
- 2 雷崎方, 斯建勇, 等. 附子化学成分含量测定方法研究进展. 天然产

- 物研究与开发,2012,24(10):1462,1480~1485.
- 3 周子渝,熊永爱,黄勤挽,等.附子不同炮制品及其部位急性毒性研究.成都中医药大学学报,2012,35(3):63~65.
 - 4 阮期平,周立,赵莉.黄附子中性多糖和酸性蛋白多糖的分离、纯化与鉴定.中国生化药物杂志,2000,21(1):21~22.
 - 5 阮期平,高长健,李华隆,等.附子多糖 FI 的分离纯化及部分理化性质研究.天然产物研究与开发,2000,12(5):46~49.
 - 6 吕永磊,王丹,李向日,等.附子多糖的含量测定.药物分析杂志,2011,31(5):835~838.
 - 7 Zhao C, Li M, Luo Y, *et al.* Isolation and structural characterization of an immunostimulating polysaccharide from fuzi, *Aconitum carmichaeli*. *Carbohydr Res*, 2006, 341(4): 485~491.
 - 8 李发胜,徐恒瑰,李明阳,等.附子多糖的提取及免疫活性研究.现代预防医学,2008,35(12):2290~2295.
 - 9 赵霞.附子多糖注射液治疗类风湿关节炎的实验研究.成都中医药大学硕士学位论文,2004.
 - 10 苗智慧,刘京生,王燕凌,等.附子酸性多糖提高免疫低下小鼠免疫功能的实验研究.河北中医,2007,29(12):1130~1132.
 - 11 彭文珍,吴雄志,曾升平,等.附子多糖诱导人早幼粒白血病细胞分化研究.职业卫生与病伤,2003,18(2):123~124.
 - 12 高林林,曾升平,潘力弢.附子多糖诱导肝癌患者外周血树突状细胞分化成熟的实验研究.中国肿瘤临床,2012,39(13):882~885,894.
 - 13 董兰凤,刘京生,苗智慧,等.附子多糖对 H22 和 S180 荷瘤小鼠的抗肿瘤作用研究.中国中医基础医学杂志,2003,9(9):14~17.
 - 14 董兰凤,张英俊,刘京生,等.附子多糖与阿霉素长循环热敏脂质体的抗肿瘤作用及其机制探讨.细胞与分子免疫学杂志,2006,22(4):458~462.
 - 15 董兰凤,刘京生,宋淑霞,等.附子多糖与阿霉素蛋白磁微球靶向治疗的抗肿瘤协同作用.中国药科大学学报,2003,34(6):549~553.
 - 16 刘颖,纪超.附子多糖后处理对缺氧/复氧乳鼠心肌细胞锰超氧化物歧化酶表达的影响.中药药理与临床,2011,27(5):53~56.
 - 17 刘颖,纪超,吴伟康.附子多糖对缺氧/复氧乳鼠心肌细胞的保护机制.中国现代应用药学,2012,29(4):281~284.
 - 18 纪超,刘颖.附子多糖抗心肌细胞凋亡的 Smac/Diablo 机制研究.中药材杂志,2012,35(8):1314~1318.
 - 19 刘颖,纪超,吴伟康. STAT3 在附子多糖后处理保护缺氧/复氧乳鼠心肌细胞机制中的作用.北京中医药大学学报,2012,35(3):169~173.
 - 20 刘颖,纪超,吴伟康.附子多糖保护缺氧/复氧乳鼠心肌细胞及其抗内质网应激的机制研究.中国病理生理杂志,2012,28(3):459~463.
 - 21 刘颖,纪超,吴伟康.金属硫蛋白介导附子多糖对缺氧复氧心肌细胞的保护.中国实验方剂学杂志,2012,18(4):172~175.
 - 22 刘颖,纪超.附子多糖对 SD 乳鼠缺氧/复氧心肌细胞的保护作用及其机制研究.中药新药与临床药理,2012,23(5):504~507.
 - 23 Liao L Z, Chen Y L, Lu L H, *et al.* Polysaccharide from Fuzi likely protects against starvation-induced cytotoxicity in H9c2 cells by increasing autophagy through activation of the AMPK/mTOR pathway. *Am J Chin Med*, 2013, 41(2):353~367.
 - 24 周芹,段晓云,陆立鹤,等.附子多糖预防高胆固醇血症的作用及其对肝脏 CYP7 α -1 表达的影响.中国病理生理杂志,2011,27(5):991~995.
 - 25 Huang X, Tang J, Zhou Q, *et al.* Polysaccharide from Fuzi (FPS) prevents hypercholesterolemia in rats. *Lipids Health Dis*, 2010, 9:9.
 - 26 周芹,段晓云,武林鑫,等.附子多糖对大鼠食诱性高胆固醇血症的预防作用及机制研究.中国药理学通报,2011,27(4):492~496.
 - 27 Lin S, Liu K, Wu W, *et al.* Study on pretreatment of FPS-1 in rats with hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Chin Med*, 2009, 37(2):323~337.
 - 28 刘古锋,吴伟康,段新芬,等.附子多糖对力竭运动小鼠自由基代谢的影响.陕西医学杂志,2008,37(5):529~531.
 - 29 刘古锋,吴伟康,段新芬,等.附子多糖对力竭运动小鼠心肌过氧化损伤的保护作用.海南医学,2008,19(7):67~69.
 - 30 Yan H C, Qu H D, Sun L R, *et al.* Fuzi polysaccharide-1 produces antidepressant-like effects in mice. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2010, 13(5):623~633.
 - 31 Lin G M, Liu L, Shao W, *et al.* Microcalorimetry studies on the antibacterial effect of crude monkshood polysaccharide. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2011, 12(7):563~567.
 - 32 韦巍,李雪华.多糖的研究进展.国外医学药学分册,2005,32(3):179~184.

Advances on Pharmacological Effects of Monkshood Polysaccharide

Xiong Haixia, Yang Ying, Sun Wenyan

(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract: Aconite roots are a common clinical poisonous herb in Chinese herb. It has the effect of restoring *yang* and rescuing collapse, supplementing fire and assisting *yang*, eliminating cold and relieving pain. It is used in the treatment of *yang* collapse and *yang* deficiency syndromes. It is called "principle medicine of all medicines". Monkshood polysaccharide is one of effective components in Aconite roots. The study found that monkshood polysaccharide has effects of immune regulation, antitumor, myocardial preservation, lipid lowering, etc.

Keywords: Monkshood polysaccharide, pharmacological effect, immune regulation, antitumor, myocardial preservation

(责任编辑 张丰丰 张志华, 责任译审 汪 晶)