

Очистка полисахаридов из *Cordyceps militaris* и их антигипоксический эффект

- Авторы:
 - Юань Донг
 - Шуанг Ху
 - Чунган Лю
 - Цинфань Мэн
 - Цзя Сон
 - Цзяхуэй Лу
 - Инкун Ченг
 - Чаохуэй Гао
 - Ян Лю
 - Ди Ван
 - Лиронг Тенг

Аннотация

Острая горная болезнь, одна из наиболее распространенных высотных болезней, вызывает травмы легких и головного мозга. Настоящее исследование было направлено на изучение антигипоксического действия очищенных полисахаридов, извлеченных из *Cordyceps militaris*. Водный экстракт *Cordyceps militaris* постепенно очищали на колонке с анионообменной целлюлозой DEAE - 52 и колонке с Sepharose G - 100. Фракция CMN1 с молекулярной массой 37842 Да была основной полученной фракцией, и ее химический состав и структурные характеристики были определены. Было обнаружено, что CMN1 имеет моносахаридный состав, состоящий из L-рамнозы, L-арабинозы, D-маннозы, D-галактозы. Основа CMN1 состояла из (1 → 2) и (1 → 3) связей с разветвленными (1 → 6) и (1 → 4) связями. Антигипоксические эффекты CMN1 определялись с помощью теста на токсикоз нитрита натрия, теста на острую церебральную ишемию / гипоксию и теста на нормобарическую гипоксию. CMN1 (0,5 г / кг) обладал таким же антигипоксическим действием, что и пероральный раствор родиолы. В целом полисахарид *Cordyceps militaris*, CMN1, был идентифицирован как эффективное средство против гипоксии.

Введение

Острая горная болезнь (ОГБ), являющаяся одним из наиболее распространенных высотных заболеваний, вызывает повреждение легких и головного мозга с такими симптомами, как головная боль, потеря аппетита, головокружение и бессонница ([1](#)). Снижение барометрического давления и последующее уменьшение доступного кислорода являются основными причинными факторами AMS ([2](#)). Длительная гипоксия вызывает необратимые повреждения и в конечном итоге приводит к органной недостаточности. В настоящее время обычные сосудорасширяющие средства, нифедипин и ацетазолamid, используются в качестве профилактических средств для снижения частоты и тяжести AMS на больших высотах ([3](#)). Однако во время клинического лечения наблюдались серьезные побочные эффекты, включая головную боль и сердечно-сосудистые заболевания ([4](#)), что порождает потребность в идентификации альтернативных препаратов.

Cordyceps militaris, который принадлежит к классу Ascomycetes и группе китайских трав Dong Chong Xia Cao, обладает потенциальными антиоксидантными ([5](#)), иммуномодулирующими ([6](#)), противоопухолевыми и противовоспалительными свойствами ([7](#)). В западных странах *Cordyceps militaris* считается китайской травой с антивозрастным и противоопухолевым действием ([8](#)). В нескольких исследованиях изучались полисахариды кордицепса, которые представляют собой богатую и важную группу активности. Одна фракция, обогащенная полисахаридом *Cordyceps militaris*, вызвала гипогликемическую активность ([9](#)) и снизила уровень глюкозы в плазме у нормальных крыс Wistar-Kyoto ([10](#)). В нашем предыдущем исследовании полисахариды *Cordyceps militaris* проявляли значительную антидиабетическую и антинефропатическую активность ([11](#)). Как сообщалось ранее, биоактивность полисахаридов связана с их химическим составом, гликозидными связями, конформацией, молекулярной массой и степенью разветвления ([12](#)). Предыдущие исследования изучали различные полисахариды, извлеченные из *Cordyceps Militaris sprogosagr* и они состоят в основном из маннозы, рамнозы, галактозы и глюкозы, и имеют среднюю молекулярную массу 30 кДа ([13](#) - [15](#)). Однако в нескольких исследованиях изучалась очистка и биоактивность полисахаридов, выделенных из мицелия *Cordyceps militaris*, который культивируется методом глубокой ферментации ([16](#), [17](#)). Глубокая ферментация дает преимущество одновременного снижения затрат на утилизацию и производства продуктов с добавленной стоимостью и, таким образом, широко используется.

В настоящем исследовании полисахариды, извлеченные из мицелия *Cordyceps militaris*, были очищены и охарактеризованы. Кроме того, антигипоксические эффекты очищенных полисахаридов кордицепса были обнаружены *in vivo*.

Полученные результаты

Обсуждение

АМС, продуцирующий большое количество кислородных радикалов, приводит к необратимому повреждению тканей ([29](#)). В предыдущих клинических испытаниях *Sipunculus nudus* L. ([27](#)), *Brassica rapa* L. ([28](#)), *Rhodobryum giganteum* Par. ([30](#)) и родиола использовались для облегчения симптомов АМС. В настоящем исследовании полисахариды кордицепса были очищены и охарактеризованы, и их антигипоксические эффекты были обнаружены *in vivo*.

В спектрах FTIR наблюдался широкий пик растяжения при ~ 3494 см⁻¹ и слабый пик при ~ 2900 см⁻¹. Это характерные пики поглощения сахаридов, которые были вызваны выраженным колебанием гидроксильной группы ([31](#)) и изгибным колебанием СН групп -СН₂ ([32](#)), соответственно. Полосы при 1627 и 1558 см⁻¹ указывают на существование связи С=О и связи NH, возможно, из-за амидогена в Gal. Слабый пик при 1458 см⁻¹ был отнесен к колебаниям СН₃, а пик поглощения при 1006 и 524 см⁻¹, возможно, был обусловлен простой эфирной связью (СОС) и гидроксиллом в пиранозном кольце.

Анализ результатов, полученных при периодатном окислении-деградации Смита, позволил предположить возможное связывание моносахаридов внутри CMN1. Потребление <1 моль периодата (0,82 моль) в настоящем исследовании указывает на существование связи 1 → 3, которая не расходует периодат во время окисления. После окисления периодатом присутствие Rha и Ala показало, что CMN1 содержит часть (1 → 3)-связанного-Rha и (1 → 3)-связанного-Ala. Соотношение моносахаридов позволяет предположить, что большая часть (1

→ 3) -связанного-Ala находится в основной цепи, а (1 → 3) -связанный-Rha может располагаться в основной цепи или в боковых цепях. Образование муравьиной кислоты во время окисления периодатом подтвердило существование связи 1 → 6. Низкий выход муравьиной кислоты (0,06 моль / остаток сахара, менее 0,1 моль / остаток сахара) предполагает, что связь 1 → 6 в CMN1 не имеет значения. Кроме того, связи 1 → 2 могли быть связью основной цепи CMN1, на что указывало образование глицерина с высоким выходом. Следовое количество эритрита показало низкое содержание 1 → 4 связей в основной цепи или разветвлении. В совокупности основа CMN1, как было обнаружено, состоит из (1 → 2) связей и (1 → 3) связей с разветвленными (1 → 6) связями и (1 → 4) связями.

Для выявления антигипоксической активности CMN1 использовались тесты нормобарной гипоксии, токсикоза нитрита натрия и острой церебральной ишемии-гипоксии ([24](#)). По сравнению с группой NC, CMN1 заметно улучшил выживаемость в тестах на токсикоз нитрита натрия и нормобарийную гипоксию. Усиленное постоянное дыхание также наблюдалось в моделях острой церебральной ишемии-гипоксии. Кроме того, было обнаружено , что водные экстракты из *Cordyceps sinensis* проявляют эффект улавливания активных форм кислорода, супероксид-анионов и гидроксильных радикалов, ингибируя образование малонового диальдегида ([33](#)). В целом полисахарид, извлеченный из *Cordyceps militaris*, также был эффективен против гипоксии.

Кроме того, антигипоксическая активность CMN1 может быть связана с его характерной структурой. CMN1 имел молекулярную массу 37 842 Да, а его моносахаридный состав состоял из Rha, Ara, Man и Gal. По сравнению с предыдущими исследованиями CMN1 демонстрирует аналогичную первичную структуру ([14](#)), однако требуются дополнительные исследования для определения фармакологической эффективности и характерных структур полисахаридов.

Настоящее исследование ограничивалось одной фракцией, обогащенной полисахаридами, выделенной из *Cordyceps militaris*. Остается выяснить, играют ли другие компоненты существенную роль в гипоксии. Следовательно, необходимы дальнейшие исследования, посвященные *Cordyceps militaris* .

Благодарности

Это исследование было поддержано Двенадцатой пятилетней Национальной программой НИОКР по ключевым технологиям (грант № 2012BAI29B00).

Ссылки

- 1 Куэто-Мартин Б., Де ла Крус-Маркес Дж. И Гарсия-Торрес Л.: Влияние высоты на систему регулирования артериального давления (ренин-ангиотензин-альдостерон) в командных видах спорта. Пример: женский волейбол. *Med Sport*. 52: 261–269. 1999. (на итальянском языке).
- 2 Фиоре Д., Холл С. и Шоджа П.: Высотная болезнь: факторы риска, профилактика, проявления и лечение. *Я семейный врач*. 82: 1103–1110. 2010. [PubMed / NCBI](#).
- 3 Ван Дж, Кэ Т., Чжан Х и др.: Влияние ацетазоламида на когнитивные способности во время высокогорного воздействия. *Neurotoxicol Teratol*. 35: 28–33. 2013. [Просмотр](#)

- статьи : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 4 Фагенхольц П.Дж., Гутман Дж. А., Мюррей А.Ф. и Харрис Н.С.: Лечение высокогорного отека легких на высоте 4240 м в Непале. *High Alt Med Biol.* 8: 139–146. 2007. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 5 Ли Х, Митчелл Дж., Вуд С., Коэн С., Лайтман С. и О'Бирн К.: Эффект эстрадиола и прогестерона на индуцированное гипогликемическим стрессом подавление пульсирующего высвобождения лютеинизирующего гормона и на экспрессию мРНК кортикотропин-релизинг-гормона у крыс. *J Neuroendocrinol.* 15: 468–476. 2003. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 6 Kim CS, Lee SY, Cho SH и др.: *Cordyceps militaris* индуцирует экспрессию IL-18 через активацию его промотора для продукции IFN-гамма. *J Ethnopharmacol.* 120: 366–371. 2008. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 7 Rao YK, Fang SH, Wu WS и Tzeng YM: компоненты, выделенные из *Cordyceps militaris*, подавляют усиленную продукцию медиатора воспаления и пролиферацию раковых клеток человека. *J Ethnopharmacol.* 131: 363–367. 2010. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 8 Патерсон Р.Р. : Кордицепс: традиционная китайская медицина и еще одна грибковая терапевтическая биофабрика? *Фитохимия.* 69: 1469–1495. 2008. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 9 Zhang G, Huang Y, Bian Y, Wong JH, Ng TB и Wang H: гипогликемическая активность грибов *Cordyceps militaris*, *Cordyceps sinensis*, *Tricholoma mongolicum* и *Omphalia lapidescens* у крыс с индуцированным стрептозотоцином диабетом. *Appl Microbiol Biotechnol.* 72: 1152–1156. 2006. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 10 Cheng YW, Chen YI, Tzeng CY и др.: Экстракты *Cordyceps militaris* снижают уровень глюкозы в крови за счет стимуляции холинергической активации и секреции инсулина у нормальных крыс. *Phytother Res.* 26: 1173–1177. 2012. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 11 Dong Y, Jing T, Meng Q, Liu C, Hu S, Ma Y, Liu Y, Lu J, Cheng Y, Wang D и Teng LR: исследования антидиабетической активности экстракта *Cordyceps militaris* при диете, вызванной стрептозотоцином. диабетические крысы Sprague-Dawley. *Biomed Res Int.* 2014.160980: 2104 (Epub перед печатью).
- 12 Метаканон П., Мадла С., Киртикара К. и Прасицил М.: структурное выяснение биоактивных полимеров, полученных из грибов. *Carbohydr Polym.* 60: 199–203. 2005. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#)
- 13 Ву Ф, Ян Х, Ма Х и др.: Сравнение структурных характеристик и биологической активности кислых полисахаридов из *Cordyceps militaris*, культивируемых в различных средах. *Мир J Microbiol Biotechnol.* 28: 2029–2038. 2012. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 14 Ю. Р., Ян В., Сон Л., Ян С. Ю., Чжан З. и Чжао Ю.: Структурная характеристика и антиоксидантная активность полисахарида из плодовых тел культивируемого *Cordyceps militaris*. *Carbohydr Polym.* 70: 430–436. 2007. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#)
- 15 Ли Дж. С., Квон Дж. С., Вон Д. П. и др.: Исследование активации макрофагов и структурных характеристик очищенного полисахарида из плодового тела *Cordyceps militaris*. *J Microbiol Biotechnol.* 20: 1053–1060. 2010. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 16 Castilho LR, Mirchel DA и Freire DM: Производство полигидроксиалканоатов (ПНА) из

- отходов и побочных продуктов путем глубокой ферментации и ферментации в твердом состоянии. Биоресур Технол. 100: 5996–6009. 2009. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 17 Ши ИЛ, Цай К.Л. и Се Се: Влияние условий культивирования на рост мицелия и производство биоактивных метаболитов в погруженной культуре *Cordyceps militaris*. *Biochem Eng J.* 33: 193–201. 2007. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#)
- 18 Du L, Song J, Wang H и др.: Оптимизация ферментационной среды для *Paecilomyces tenuipes* N45 с использованием статистического подхода. *Afr J Microbiol Res.* 6: 6130–6141. 2012. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#)
- 19 Дханабал С., Кокате С., Раманатан М., Кумар Э. и Суреш Б.: Гипогликемическая активность *Pterocarpus marsupium* Roxb. *Phytother Res.* 20: 4–8. 2006. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 20 Янь Х., Чжу Д., Сюй Д., Ву Дж. И Бянь Х: исследование очистки, состава и анализа активности полисахарида *Cordyceps militaris*. *Afr J Biotechnol.* 7: 4004–4009. 2008 г.
- 21 Чжан Ал, Лу Дж. Х., Чжан Н., Чжэн Д., Чжан Г. Р. и Тэн Л. Р.: Извлечение, очистка и противоопухолевая активность полисахарида из мицелия мутантного *Cordyceps militaris*. *Chem Res Chin Univ.* 26: 798–802. 2010. (на китайском языке).
- год
- 22 Чжан Н., Лю Ю., Лу Дж и др.: Выделение, очистка и биоактивность полисахаридов из *Irex lacteus*. *Chem Res Chin Univ.* 28: 249–254. 2012. (на китайском языке).
- 23 Цуй Х., Чен Й., Ван С., Кай Дж. И Фанг Й.: Выделение, частичная характеристика и иммуномодулирующая активность полисахарида из *Morchella esculenta*. *J Sci Food Agric.* 91: 2180–2185. 2011. [PubMed / NCBI](#).
- 24 Chambers RE и Clamp JR: оценка метанолиза и других факторов, используемых при анализе углеводосодержащих материалов. *Biochem J.* 125: 1009–1018. 1971. [PubMed / NCBI](#).
- 25 Xie J, Xie M, Nie S, Shen M, Wang Y и Li C: Изоляция, химический состав и антиоксидантная активность водорастворимого полисахарида из *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Hjiinskaja. *Food Chem.* 119: 1626–1632. 2010. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#)
- 26 Линкер А., Эванс Л. и Импалломени Г.: Структура полисахарида из инфекционных штаммов *Burkholderia cepacia*. *Carbohydr Res.* 335: 45–54. 2001. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 27 Zhang CX и Dai ZR: Антигипоксическая активность полисахарида, экстрагированного из *Sipunculus nudus* L. *Int J Biol Macromol.* 49: 523–526. 2011. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 28 Xie Y, Jiang SP, Su DH, Pi NN, Ma C и Gao P: Анализ состава и антигипоксическая активность полисахарида из *Brassica rapa* L. *Int J Biol Macromol.* 47: 528–533. 2010. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 29 Hu D, Chen F, Guan C, Yang F и Qu Y: Антигипоксический эффект опосредованной аденовирусом экспрессии белка теплового шока 70 (HSP70) на первичных культивируемых нейронах. *J Neurosci Res.* 91: 1174–1182. 2013. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- 30 Cai Y, Lu Y, Chen R, Wei Q и Lu X: антигипоксическая активность и родственные компоненты *Rhodobryum giganteum* Par. *Фитомедицина.* 18: 224–229. 2011. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#)
- 31 Фанг Х, Цзян Б. и Ван Х: Очистка и частичная характеристика кислого полисахарида со способностью связывания комплемента из стеблей *Avicennia marina*. *J Biochem Mol Biol.* 39: 546–555. 2006. [Просмотр статьи](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed / NCBI](#)
- год

- 32 Сантья Д., Субраманиан С. и Натараджан К.: Химические исследования поверхности сфалерита и галенита с использованием внеклеточных полисахаридов, выделенных из *Bacillus polymyxa*. *J Colloid Interface Sci.* 256: 237–248. 2002. [Просмотр статьи : Google Scholar](#)
- 33 Duh PD: Опровержение сравнения защитных эффектов культивированного *Cordyceps militaris* и натурального *Cordyceps sinensis* против окислительного повреждения. *J. Agric Food Chem.* 55: 7215–7216. 2007. [Просмотр статьи : Google Scholar](#)