

栝楼籽多糖的提取工艺、初级结构及降血糖活性

宋巧英, 张坤朋, 翁少亭, 李淑艳, 宿珍, 孔令琦

(安阳工学院 生物与食品工程学院, 河南 安阳 455000)

摘要: 为探究栝楼籽多糖的提取工艺、初级结构及降血糖活性, 采用热水浸提法对栝楼籽多糖进行提取, 经葡聚糖凝胶 G-150 纯化得到均质多糖 (WHP-I) 后进行了初步表征。通过体外和体内联合法测试了栝楼籽多糖的降血糖活性。得到栝楼籽多糖的最优提取条件为提取温度 80 °C、提取时间 100 min、料液比 1 : 25 (g : mL)、浸提 1 次, 在上述条件下, WHP-I 平均提取率为 19.01%。WHP-I 的重均相对分子质量为 4.765×10^4 , 并含有 5 种糖残基, WHP-I 表面较为平整, 有孔状结构, 且附着有细小的颗粒。WHP-I 对 α -葡萄糖苷酶的半抑制浓度 (IC_{50}) 为 15.837 g/L, WHP-I 具有减缓 II 型糖尿病 (T2DM) 引起脏器损伤的潜力, 给药 4 周后, 中剂量组 M-WHP-I [200 mg/(kg·bw)] 和高剂量组 H-WHP-I [300 mg/(kg·bw)] 小鼠的血糖值分别降低了 32.13% 和 42.27%, 且 WHP-I 对糖尿病小鼠的肾脏和肝脏具有修复作用。

关键词: 栝楼; 多糖; 工艺优化; 结构表征; 降血糖活性; 中药现代化技术

中图分类号: R284.2; TS201.4 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2024) 01-0137-10

Extraction process, primary structure and hypoglycemic activity of polysaccharide from *Trichosanthes kirilowii Maxim.* seed

SONG Qiaoying, ZHANG Kunpeng, WENG Shaoting, LI Shuyan, SU Zhen, KONG Lingqi

(School of Biology and Food Engineering, Anyang Institute of Technology, Anyang 455000, Henan, China)

Abstract: In order to optimize its extraction process and investigate its primary structure and hypoglycemic activity, the homogenous polysaccharide (WHP-I) was obtained from *Trichosanthes Kirilowii Maxim.* seed by hot water extraction, purified by glucan gel G-150, preliminarily characterized and analyzed for its hypoglycemic performance both *in vitro* and *in vivo*. Under the optimal extraction conditions of temperature 80 °C, extraction time 100 min, solid-liquid ratio 1 : 25 (g : mL), and one time extraction, the average extraction rate of polysaccharide was 19.01%. Results from characterization indicated WHP-I had a mass-average relative molecular mass of 4.765×10^4 , contained five sugar residues, and displayed a flat surface as well as a porous structure with fine particles attached. Hypoglycemic activity analysis showed that WHP-I, with a half-inhibitory concentration (IC_{50}) against α -glucosidase of 15.837 g/L, reduced the blood glucose level by 32.13% with a dose of 200 mg/(kg·bw) and by 42.27% with a dose of 300 mg/(kg·bw) after 4 weeks of administration, indicating its potential to slow the organ damage caused by diabetes mellitus type II (T2DM). Moreover, WHP-I also demonstrated capacity of repairing the kidney and liver of diabetic mice.

Key words: *Trichosanthes kirilowii Maxim.*; polysaccharides; process optimization; structural characterization; hypoglycemic activity; modernization technology of traditional Chinese medicines

栝楼 (*Trichosanthes kirilowii Maxim.*) 是一种多年生攀援草本植物, 具有祛痰、抗菌、抗肿瘤等显著的药用价值。它的果皮、籽和根茎都为珍贵的中药材, 其中栝楼籽含有多种活性物质, 如多糖等,

收稿日期: 2023-06-15; 定用日期: 2023-06-30; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230487

基金项目: 安阳工学院博士启动基金项目 (BSJ2021026); 安阳市重大科技专项 (2022A02NY002); 安阳工学院博士后启动基金项目 (BHJ2022010)

作者简介: 宋巧英 (1993—), 女, 博士, E-mail: 969354025@qq.com。

具有很高的经济和药用价值^[1-2], 并可作为休闲食品。

近年来, 随着对植物多糖的深入研究, 证实水溶性植物多糖具有多种生物活性功能, 如消炎、抗氧化、抗癌、降血糖和降血脂等, 是潜在的化学药物替代品^[3]。因此, 天然植物多糖的研究已成为药品和保健品研究开发的热点之一。多糖提取技术中, 热水浸提法、微波提取、超声波提取以及酶法提取等被广泛应用。其中, 热水浸提法具有操作简单、对多糖结构和活性破坏小等优点已被广泛采用, 是目前水溶性多糖最常用的提取方法之一。

目前, 关于多糖降血糖活性方面的研究日益增多。II 型糖尿病 (T2DM) 是一种以高血糖为特征的代谢性疾病, 具有复杂的代谢紊乱机制, 包括碳水化合物、脂质和蛋白质代谢紊乱等^[4-5]。糖尿病在其长期发展过程中可能会出现许多并发症, 如糖尿病肾病、肝炎、高血压等。如果糖尿病继续发展, 其引起的并发症将难以控制, 因此, 早期发现和预防往往对糖尿病的缓解乃至治疗具有重要意义^[6]。

目前, 对栝楼籽的研究主要集中在黄酮、蛋白质和精油等活性成分^[3,7]。而几乎没有关于栝楼籽多糖方面的研究。本研究拟以栝楼籽为原料, 采用热水浸提法对栝楼籽多糖的提取工艺进行优化, 随后通过水提醇沉、除蛋白和葡聚糖凝胶分离得到均质多糖 (WHP-I)。通过测定单糖组成、重均相对分子质量 (M_w , 简称重均分子量), 采用核磁共振波谱仪和甲基化等方法对 WHP-I 结构进行表征。最后, 采用体外和体内联合法评估 WHP-I 的降血糖活性, 以期为栝楼籽多糖在医药方面的应用奠定基础。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

饱满无发霉的栝楼籽, 安阳工学院生物与食品工程学院提供; 葡萄糖、无水乙醇、苯酚、浓硫酸, 分析纯, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 氯仿、正丁醇、三氟乙酸、甲醇、吡啶、乙酸酐, 色谱纯, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 单糖标品、盐酸羟胺、肌醇六乙酸酯, 天津市富宇精细化工有限公司; 二甲基亚砜、碘甲烷、二氯甲烷、硼氢化钠 (NaBH_4)、盐酸, 均为色谱纯, 天津市欧博凯化工产品销售有限公司; 蒸馏水, 安阳化玻生物科技有限公司; 阿卡波糖、磷酸盐缓冲液 (pH=6.8)、 α -葡萄糖苷酶、4-硝基苯基- β -D-吡喃半乳糖苷 (PNPG) 上海源叶生物科技有限公司; 实验中所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所有限公司。

健康的 C57BL/6J 小鼠 60 只 (2~3 周, (20±2) g),

斯贝福 (北京) 生物技术有限公司, 许可证号: SCXK (京) 2019-0010。实验小鼠适应性喂养 1 周, 给予足够的水和饲料。

FSH-2A 可调高速均质机, 常州市亿能实验仪器厂; UV1901pcs 双光束紫外-可见分光光度计, 青岛精诚仪器仪表有限公司; GC-9860 气相色谱仪, 山东鲁创分析仪器有限公司; Bruker ALPHA 傅里叶变换红外光谱仪, 广州晓分仪器有限公司; 布鲁克 400 MHz 核磁共振波谱仪, 上海善福电子科技有限公司; JEOL 扫描电子显微镜, 日本电子株式会社; ISQ 7000 GC-MS 气质联用仪, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; LC-20AT 高效液相色谱仪, 日本岛津科学仪器有限公司; Aglient 1200 型高效液相色谱仪, 安捷伦科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 栝楼籽的预处理

将栝楼籽置于 50 °C 的恒温干燥箱内干燥至恒重。用粉碎机粉碎, 过 40 目筛, 置于密封袋中保存待用。

1.2.2 多糖标准曲线的绘制

采用苯酚硫酸法进行测定: 称取 0.25 g 栝楼籽粉末置于 250 mL 蒸馏水中 80 °C 提取 2 h。由于提取过程中存在水分蒸发的现象, 提取结束后需用蒸馏水定容至 250 mL^[8]。

精确配制质量浓度为 1 g/L 的葡萄糖标准溶液于容量瓶中待用。分别吸取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 葡萄糖标准溶液于干燥洁净的试管中, 用蒸馏水补足至 1 mL, 再加入 1 mL 质量分数为 6% 的苯酚水溶液和 5 mL 浓硫酸混匀后, 沸水浴 15 min, 冷却至室温。以未加入葡萄糖标准溶液的样品作对照调零, 置于 490 nm 波长下进行测定。以葡萄糖质量浓度 (g/L) 为横坐标, 吸光度为纵坐标制作标准曲线。回归方程为: $y=0.6284x+0.0303$ ($R^2=0.9925$)。

1.2.3 多糖提取率的计算

精确吸取多糖提取液 0.2 mL 于具塞试管中, 用蒸馏水补足至 1 mL, 取样, 测定溶液在 490 nm 处的吸光度, 再根据 1.2.2 节标准曲线计算出各待测样品中多糖的质量浓度。多糖提取率按下式计算^[9]:

$$\text{多糖提取率} / \% = \frac{\rho \times V \times n}{m} \times 100 \quad (1)$$

式中: ρ 为待测样中多糖质量浓度, g/L; V 为定容体积, 250 mL; m 为栝楼籽粉末质量, mg; n 为稀释倍数。

1.2.4 单因素实验

固定提取时间 120 min、料液比 1 : 30 (g : mL)、提取次数 2 次, 考察不同浸提温度 (50、60、70、80、90 °C) 对栝楼籽多糖提取率的影响^[10]。

固定料液比 1 : 30 (g : mL)、提取次数 2 次、提

取温度 70 °C, 考察不同提取时间 (60、90、120、150 和 180 min) 对栝楼籽多糖提取率的影响。

固定提取时间 120 min、提取次数 2 次, 提取温度 70 °C, 考察不同料液比 [1:20、1:30、1:40、1:50 和 1:60 (g:mL)] 对栝楼籽多糖提取率的影响^[11-12]。

固定提取时间 120 min、料液比 1:30 (g:mL)、提取温度 70 °C, 考察不同提取次数 (1、2、3 次) 对多糖提取率的影响。

1.2.5 正交实验

针对单因素实验结果, 选取提取温度 (A)、提取时间 (B)、料液比 (C) 和提取次数 (D) 进行正交实验。正交实验因素与水平的选择见表 1, 以多糖提取率为指标进行筛选。

表 1 正交实验因素水平表
Table 1 Orthogonal test factor level table

水平	因素			
	提取温度/°C (A)	提取时间/ min (B)	料液比/ (g:mL)(C)	提取次数 (D)
1	75	100	1:25	1
2	80	120	1:30	2
3	85	140	1:35	3

1.2.6 栝楼籽多糖纯化

根据文献[13]并略作修改, 热水浸提后, 用 4 倍体积的无水乙醇醇沉过夜, 收集沉淀。将沉淀物用蒸馏水溶解后, 再通过 Sevag 法 (氯仿与正丁醇体积比为 4:1) 除蛋白。具体操作为: 将样品溶液和 Sevag 试剂按 4:1 的体积比混合于分液漏斗中, 剧烈振荡 20 min, 静置 7~8 h, 取上层溶液重复上述操作至分液漏斗下层溶液呈透明, 收集上层液体即得栝楼籽粗多糖溶液 (WHP); 利用葡聚糖凝胶 G-150 (4.6 cm×5.0 cm) 对 WHP 进行纯化得均质多糖溶液 (WHP-I)。

1.2.7 单糖乙酰化反应

根据文献[14]并略作修改, 分别称取 5 mg WHP-I 和 1 mL 浓度为 2 mol/L 的三氟乙酸 (TFA) 在 110 °C 油浴锅中水解 3 h, 反应结束后加入少量甲醇用 N₂ 吹干, 重复 3~4 次, 以完全除尽残留的 TFA, 得到水解产物。

称取上述水解样品和单糖标品各 2 mg、盐酸羟胺 10 mg 和内标物肌醇六乙酸酯 2 mg, 混匀后加入 0.5 mL 吡啶中, 于 90 °C 油浴 30 min, 加入 0.5 mL 乙酸酐, 于 90 °C 油浴 30 min 进行乙酰化。反应结束后, 用 N₂ 吹至 0.2~0.1 mL 后, 取样 0.2 μL 进行气相色谱分析。

1.2.8 甲基化反应

根据文献[15]并作修改, 取 10 mg 样品与 2 mL

二甲基亚砷混匀于 18~20 °C 下水浴超声 30 min, 随后避光加入 1 mL 碘甲烷水浴超声 30 min。再次避光加入 1 mL 碘甲烷, 水浴超声 1 h。反应结束后, 加入 3.5 mL 二氯甲烷进行萃取, 取下层溶液用 N₂ 吹干, 即可得到甲基化样品。随后在上述样品中加入 TFA (2 mL, 2 mol/L) 在 110 °C 下降解 3 h 后减压蒸干, 即可得到降解产物。再用 NaBH₄ (25 mg) 进行还原, 结束后用 1 mol/L 的 HCl 调节 pH 至 5.0, 减压浓缩至干燥。在上述样品中加入乙酸酐 (2 mL), 于 100 °C 油浴 1 h, 用甲醇洗涤 3 次后减压蒸干, 所得样品溶于二氯甲烷中过尼龙膜后, 取样在气质联用仪上进行分析。

1.3 WHP-I 降血糖活性

1.3.1 体外降血糖活性

根据文献[16]并作修改, 以 96 孔微板作为载体, 将 WHP-I 配成质量浓度分别为 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0 g/L 的待测样品。样品组: 40 μg/mL α-葡萄糖苷酶 40 μL 和待测样品 40 μL。对照组: 0.1 mol/L pH=6.8 的磷酸盐缓冲液 40 μL 和待测样品 40 μL。空白组: 40 μg/mL α-葡萄糖苷酶 40 μL 和 0.1 mol/L pH=6.8 的磷酸盐缓冲液 40 μL。各组 37 °C 恒温水浴 10 min, 再加入 7.5 mmol/L 的 PNPg 20 μL, 继续 37 °C 恒温水浴 30 min, 加入 0.1 mol/L 的 Na₂CO₃ 水溶液 100 μL 终止反应, 测定其在 405 nm 下的吸光度。阳性对照: 阿卡波糖。按下式计算抑制率:

$$\text{抑制率} / \% = \frac{A_1 - A_2}{A_1 - A_0} \times 100 \quad (2)$$

式中: A₀ 为空白组吸光度; A₁ 为对照组吸光度; A₂ 为样品组吸光度。

1.3.2 T2DM 小鼠模型的建立

根据文献[17-19]并作修改, C57BL/6J 小鼠在正常喂养 1 周后禁食过夜。随机选择 10 只小鼠作为正常组 (NG), 继续饲喂基础饲料。其余小鼠饲喂高脂高糖饲料 4 周后, 腹腔注射链脲佐菌素 (STZ) [30 mg/(kg·bw), 即每 1 kg 体重给药的毫克数, 下同] 3 d。NG 组小鼠注射等体积生理盐水。每只小鼠在注射后禁食 2 h, 以确保模型的成功构建。注射 3 d 后, 从尾尖采血检测空腹血糖 (≥11.1 表明造模成功)。若造模不成功, 次日禁食后再次注射 STZ, 剂量为 25~40 mg/(kg·bw), 直至造模成功。动物实验严格遵守实验动物福利伦理与保护相关规定, 随时接受实验动物伦理委员会的监督与检查。

造模成功后将小鼠随机分为模型组 (MG 组)、WHP-I 高剂量组 (H-WHP-I 组)、WHP-I 中剂量组 (M-WHP-I)、WHP-I 低剂量组 (L-WHP-I),

其中阿卡波糖作为阳性对照组(PG)。给药方法见表 2。

表 2 各组给药方法
Table 2 Administration methods of each group

组别	小鼠数量/只	灌胃样品	剂量/[mg/(kg·bw)]	给药量/(mL/10 g)
NG 组	10	生理盐水	0.5 mL	0.2
MG 组	10	生理盐水	0.5 mL	0.2
PG 组	10	阿卡波糖	100	0.2
L-WHP- I 组	10	WHP- I	100	0.2
M-WHP- I 组	10	WHP- I	200	0.2
H-WHP- I 组	10	WHP- I	300	0.2

在喂养期间,每 7 d 记录 1 次小鼠的体重。26 d 后,进行禁食(不禁水)12 h。各组小鼠给予 2.0 g/kg (以小鼠体重为基准)的葡萄糖,给药后在 0、0.5、1.0、1.5 和 2.0 h 测量血糖。给药后 28 d,摘除眼球收集血清;解剖后取肝、肾备用。

1.3.3 脏器指数的测定

将各组小鼠解剖后取出肝脏和肾脏,并用精密电子天平对各组小鼠的肝脏和肾脏进行称量并记录质量。同时小鼠处死之前进行体重的称量并记录。随后用下式进行脏器指数的计算。

$$A/\% = \frac{W_{\text{organ}}}{W_{\text{body}}} \times 100 \quad (3)$$

式中: A 为各组小鼠的脏器指数,%; W_{organ} 为各组小鼠肝脏或肾脏的质量, g; W_{body} 为各组小鼠的体重, g。

1.3.4 组织病理学分析

在小鼠被处死后,取出其肝脏和肾脏并迅速用质量分数为 10%的福尔马林溶液进行固定 24 h。再用不同体积分数(100%、95%、90%、80%、70%)的乙醇脱水,每个体积分数的乙醇脱水 1 h。脱水结束后将组织浸泡在二甲苯并包埋在石蜡中。将得到的蜡块用切片机切成薄片,待其在恒温水面上完全展平后,放到载玻片的中间,在 60 °C 的烘箱中烘烤 15~30 min,最后用苏木精和曙红(H&E)染色 5 μm 厚的标准切片用于组织学观察。

1.3.5 氧化应激分析

采用试剂盒测定各组小鼠肝脏和肾脏中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)的含量。

1.4 表征和测试

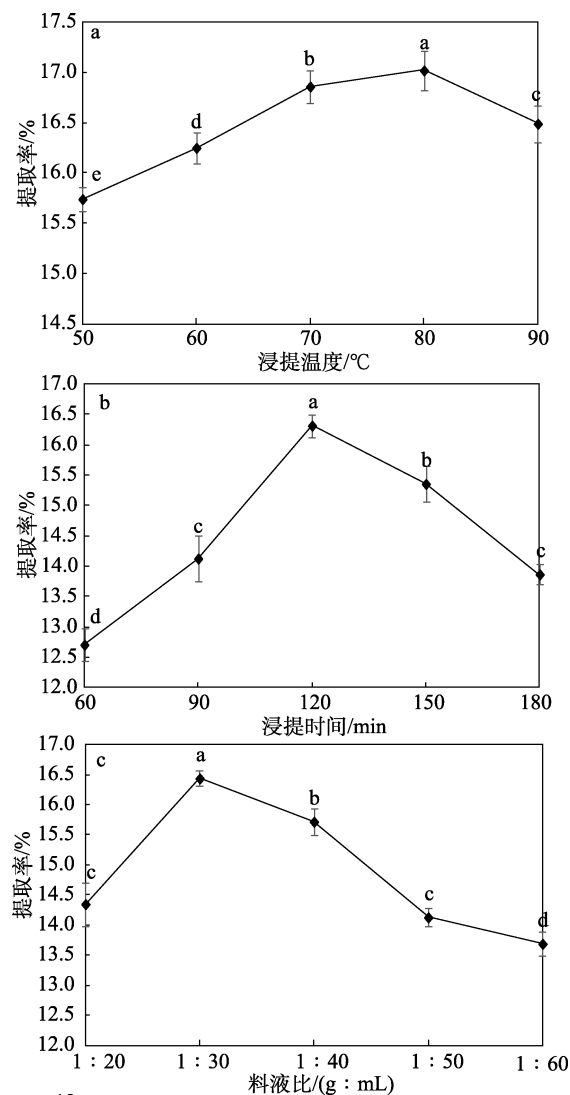
采用 LC-20AT 高效液相色谱仪测定均质多糖 WHP- I 的纯度。分子量测定:准确称取 1 mg 均质多糖 WHP- I 溶于 1.0 mL 三蒸水中,取 20 μL 注入 Agilent 1200 型高效液相色谱仪进行分析,测试条件如下:色谱柱为 TSK-GEL G4000PWxl;检测器为示差检测器(RID);流动相为去离子水;流速为 0.6 mL/min;

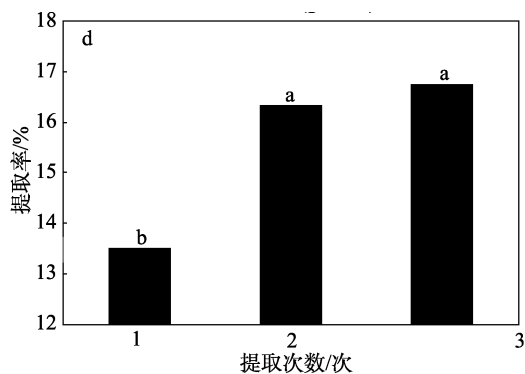
柱温为 30 °C;RID 温度为 35 °C。紫外全波长扫描测定:将均质多糖 WHP- I 配制成质量浓度为 1 g/L 的溶液,用蒸馏水作参比,在 190~400 nm 波长范围内进行紫外光谱扫描,观察在 280、260 nm 波长处是否有特征吸收峰。对 WHP- I 甲基化产物进行气相色谱分析,气相色谱条件:色谱柱:DB-17(30 cm×0.32 cm×0.5 cm);检测器为氢火焰离子化检测器(FID);流速 1 mL/min;进样温度 280 °C;柱 190 °C;载气 N₂。FTIR 测试根据文献[20]进行操作:扫描范围 4000~400 cm⁻¹,分辨率为 4 cm⁻¹,扫描次数 16。NMR 测试根据文献[21]并作修改:将 50 mg WHP- I 溶于 0.5 mL 重水中,对样品进行 ¹³CNMR、¹HNMR 分析。SEM 测试:将 2 mg 的 WHP- I 粘贴于扫描电子显微镜样品盘上,喷金,观察样品表面形貌。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验

不同提取温度、时间、料液比、次数对栝楼籽多糖提取率的影响,见图 1。





不同字母代表差异显著($P < 0.05$), 下同

图 1 不同提取温度 (a)、时间 (b)、料液比 (c)、提取次数 (d) 对栝楼籽多糖提取率的影响

Fig. 1 Effects of extraction temperature (a), time (b), solid-liquid ratio (c) and extraction times (d) on extraction rate of polysaccharide from *Trichosanthes kirilowii* Maxim. seed

2.1.1 浸提温度

从图 1a 可知, 当提取时间 120 min、料液比 1 : 30 (g : mL)、提取次数 2 次时, 多糖提取率随着提取温度的升高呈现先增加后减少的趋势。这可能是因为栝楼籽多糖对热敏感, 温度过高导致多糖发生变形降解, 从而降低了多糖的提取率^[17]。当提取温度为 80 °C 时, 多糖提取率达到最大, 因此, 选择提取温度为 80 °C。

2.1.2 浸提时间

从图 1b 可知, 当料液比 1 : 30 (g : mL)、提取次数 2 次、提取温度 70 °C 时, 多糖提取率随着提取时间的升高呈现先增加后减少的趋势。随着时间的延长, 部分水溶性杂质析出, 多糖被吸附^[18], 降低了多糖的提取率。当提取时间为 120 min 时, 多糖提取率达到最大, 因此, 选择提取时间为 120 min。

2.1.3 料液比

从图 1c 可知, 当提取时间 120 min、提取次数 2 次, 提取温度 70 °C, 多糖提取率随着料液比的升高呈现先增加后减少的趋势。随着料液比的增加, 溶液的黏度增大, 溶剂溶解能力已达到饱和, 限制了多糖的传递, 从而降低了多糖的提取率^[19]。当料液比为 1 : 30 (g : mL) 时, 多糖提取率达到最大, 因此, 选择料液比为 1 : 30 (g : mL)。

2.1.4 提取次数

从图 1d 可知, 提取时间 120 min、料液比 1 : 30 (g : mL)、提取温度 70 °C 时, 多糖提取率随着提取次数的增多而增加。当提取 2 次和 3 次时, 两者之间没有显著性差异。这是因为提取 2 次时, 大部分的多糖已经被溶出, 所以第 3 次提取时只能提取出少量的多糖^[8]。因此, 选择提取次数为 2 次。

2.2 正交实验

热水浸提栝楼籽多糖正交实验结果见表 3。由表 3 可知, 4 种因素对多糖提取率影响顺序依次为: 浸提温度 > 浸提时间 > 提取次数 > 料液比。4 个因素的最大组合为 $A_2B_1C_1D_1$, 即浸提温度 80 °C、浸提时间 100 min、料液比 1 : 25、提取 1 次。根据正交实验结果进行 3 次重复性验证实验, 多糖提取率分别为 18.94%、19.07% 和 19.02%, 多糖平均提取率为 19.01%。结果表明, 该工艺条件稳定性好。熊利芝等^[22]采用超声波辅助法提取栝楼籽多糖, 最终栝楼籽提取率为 3.60%, 远小于本研究结果, 这是因为超声波可破坏多糖结构及理化性质, 从而降低多糖提取率。

表 3 热水浸提法正交实验结果

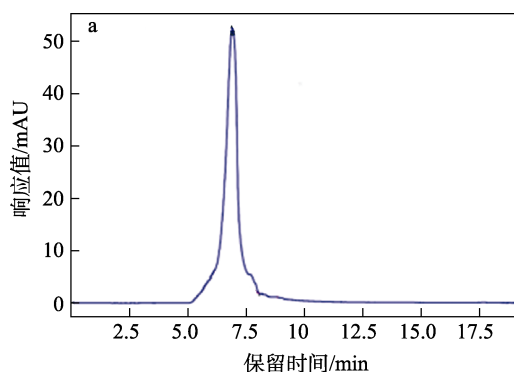
Table 3 Result of hot water extraction experiment

实验序号	A 浸提温度/°C	B 浸提时间/min	C 料液比/ (g : mL)	D 提取次数/次	多糖提取率/%
1	1	1	1	1	18.75±0.26 ^a
2	1	2	2	2	17.54±0.19 ^c
3	1	3	3	3	16.43±0.13 ^{de}
4	2	1	2	3	18.26±0.34 ^b
5	2	2	3	1	17.39±0.24 ^c
6	2	3	1	2	18.08±0.16 ^b
7	3	1	3	2	16.72±0.18 ^d
8	3	2	1	3	16.97±0.21 ^d
9	3	3	2	1	17.14±0.29 ^{od}
K_1	52.72	53.73	53.80	53.28	
K_2	53.73	51.90	52.94	52.34	
K_3	50.83	51.65	50.54	51.66	
k_1	17.57	17.91	17.93	17.76	
k_2	17.91	17.30	17.59	17.45	
k_3	16.94	17.22	17.65	17.22	
极差	0.97	0.68	0.28	0.54	
因素主次	$A > B > D > C$				
最佳方案	$A_2B_1C_1D_1$				

2.3 WHP- I 初级结构表征

2.3.1 栝楼籽多糖纯度鉴定

WHP- I 的高效液相色谱图和紫外吸收光谱见图 2。



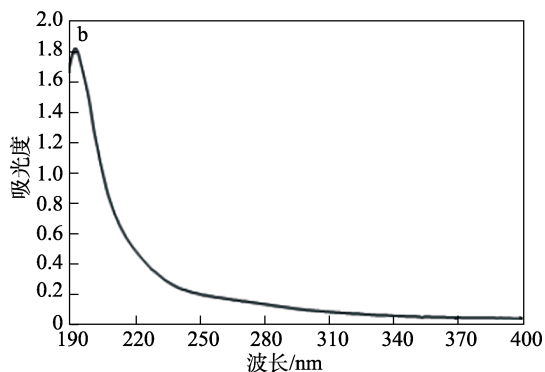


图 2 WHP- I 的高效液相色谱图 (a) 和 UV 吸收光谱图 (b)
Fig. 2 Liquid spectrum (a) and UV adsorption spectrum (b) of WHP- I

由图 2a 可知, WHP- I 的高效液相色谱图为单一峰, 出峰时间为 6.843 min, 说明 WHP- I 为一组分。分子量测定结果表明, WHP- I 重均分子量为 4.765×10^4 。由图 2b 可知, 在 260 和 280 nm 处都无吸收峰, 表明 WHP- I 中均无蛋白、多肽及核酸的存在。同时, 采用苯酚硫酸法测得 WHP- I 中糖含量为 94.14%, 可进行后续实验。

2.3.2 FTIR 分析

图 3 为 WHP- I 的 FTIR 谱图。

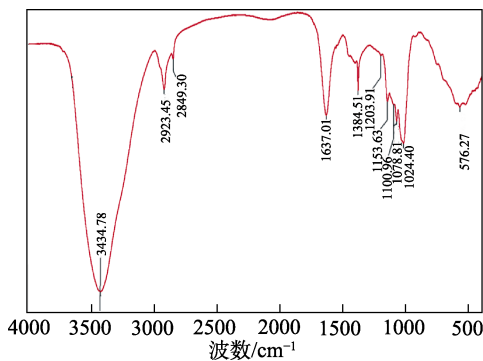


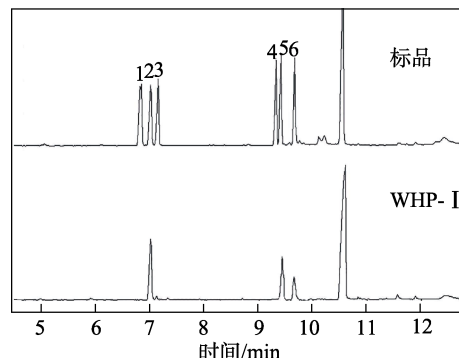
图 3 WHP- I 的 FTIR 谱图
Fig. 3 FTIR spectrum of WHP- I

可以看出, 3434.78 cm^{-1} 处有一个尖锐的吸收峰, 说明在 WHP- I 中存在 -OH ; 2923.45 cm^{-1} 处为 C-H 的伸缩振动峰^[23]; 1637.01 cm^{-1} 处峰是由

WHP- I 中的 C-O 和 C-H 弯曲振动引起的^[24]; 1100.96 、 1078.81 和 1024.40 cm^{-1} 处吸收峰表明 WHP- I 中存在吡喃糖^[25]。

2.3.3 单糖组成分析

图 4 为 WHP- I 单糖组成分析结果。



1—鼠李糖; 2—阿拉伯糖; 3—木糖; 4—甘露糖; 5—葡萄糖; 6—半乳糖

图 4 WHP- I 单糖组成分析结果

Fig. 4 Monosaccharide composition analysis results of WHP- I

6 种单糖标准品分别为鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖。通过与标准品的保留时间进行对比发现, WHP- I 主要由阿拉伯糖、葡萄糖和半乳糖组成, 且物质的量比为 $3.56 : 1.64 : 1$ 。

2.3.4 甲基化分析

WHP- I 甲基化分析结果见表 4。

由表 4 可以看出, WHP- I 甲基化后有 5 种不同糖醇的衍生物, 这 5 种糖醇衍生物分别是 2,3,4,6-四- $\text{O-Me}_4\text{-D-Glcp}$ 、2,3,6-三- $\text{O-Me}_3\text{-D-Glcp}$ 、2,3,4-三- $\text{O-Me}_3\text{-D-Galp}$ 、2,3-二- $\text{O-Me}_2\text{-D-Glcp}$ 和 2,5-二- $\text{O-Me}_2\text{-L-Araf}$ (其中, p 和 f 分别表示吡喃糖和呋喃糖), 说明 WHP- I 中存在 $\text{D-Glcp-(1} \rightarrow \text{、} \rightarrow \text{6)-D-Galp-(1} \rightarrow \text{、} \rightarrow \text{4)-D-Glcp-(1} \rightarrow \text{、} \rightarrow \text{4,6)-D-Glcp-(1} \rightarrow \text{和} \rightarrow \text{3)-Araf-(1} \rightarrow \text{)}$ 类型的糖苷键。

根据实验结果可推断出, WHP- I 中以 $\rightarrow \text{4)-D-Glcp-(1} \rightarrow$ 为主链, 且存在分支链, 分支链主要由 $\rightarrow \text{6)-D-Galp-(1} \rightarrow$ 和 $\rightarrow \text{3)-Araf-(1} \rightarrow$ 组成, 且以 $\text{D-Glcp-(1} \rightarrow$ 为支链和主链的末端。

表 4 WHP- I 甲基化结果

Table 4 Results of WHP- I methylation

序号	糖醇衍生物	连接方式	离子丰度, m/z
1	2,3,4,6-四- $\text{O-Me}_4\text{-D-Glc}$	$\text{D-Glcp-(1} \rightarrow$	43, 75, 101, 131, 145, 161, 205
2	2,5-二- $\text{O-Me}_2\text{-L-Ara}$	$\rightarrow \text{3)-Araf-(1} \rightarrow$	59, 87, 117, 159, 173, 233
3	2,3,4-三- $\text{O-Me}_3\text{-D-Glc}$	$\rightarrow \text{4)-D-Glcp-(1} \rightarrow$	43, 71, 101, 117, 129, 142, 173, 205
4	2,3,6-三- $\text{O-Me}_3\text{-D-Gal}$	$\rightarrow \text{6)-D-Galp-(1} \rightarrow$	43, 71, 103, 129, 161, 189, 233
5	2,3-二- $\text{O-Me}_2\text{-D-Glc}$	$\rightarrow \text{4,6)-D-Glcp-(1} \rightarrow$	43, 45, 117, 127, 201, 261

2.3.5 核磁共振波谱分析

WHP- I 的 ¹³CNMR 和 ¹HNMR 谱图分别如图 5a、b 所示。

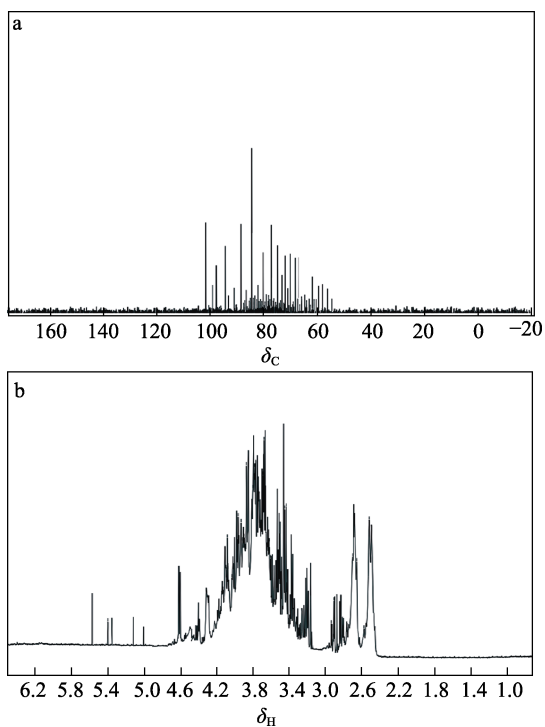


图 5 WHP- I 的 ¹³CNMR (a) 和 ¹HNMR (b) 谱图
Fig. 5 ¹³CNMR (a) and ¹HNMR (b) spectra of WHP- I

如图 5a 可知, WHP- I 中存在 5 种异头碳 (δ 103.97、101.77、100.94、93.99 和 92.26), 表明 WHP- I 中存在 5 种不同类型的糖苷键。此外, 在 δ 160~180 间没有吸收峰, 表明 WHP- I 是中性糖。如图 5b 所示, WHP- I 中存在 5 种异头氢 (δ 5.33、5.28、5.10、4.97 和 4.84), 表明 WHP- I 中存在 5 种不同类型的糖苷键, 此结果与 WHP- I 的 ¹³CNMR 结果一致。 δ 93.99/ δ 5.10 处的异头碳证实存在 \rightarrow 4)-D-Glcp-(1 \rightarrow 连接的单元^[26]; δ 103.97/ δ 5.28 的异头物信号可归因于 D-Glcp-(1 \rightarrow ^[27]; δ 101.77/ δ 4.97 处的异头物信号可归因于 \rightarrow 6)-D-Galp-(1 \rightarrow ^[28]; δ 92.26/ δ 5.33 处的异头物信号可归因于 \rightarrow 3)-Araf-(1 \rightarrow ^[29]; δ 100.94/ δ 4.84 处的异头物信号可归因于 \rightarrow 4,6)-D-Glcp-(1 \rightarrow ^[30]。

2.3.6 SEM 分析

图 6 为 WHP- I 不同位置的 SEM 图。

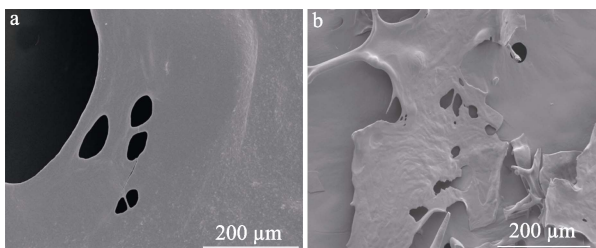


图 6 WHP- I 的 SEM 图
Fig. 6 SEM images of WHP- I

图 6a 显示, WHP- I 局部表面平整, 为片状结构, 且有大小不一的孔状结构; 图 6b 显示, WHP- I 表面呈层状交叠在一起, 并附着有细小的颗粒。综上所述, WHP- I 表面较为平整, 有孔状结构, 且附着有细小的颗粒。

2.4 WHP- I 降血糖活性研究

2.4.1 体外降血糖活性分析

图 7 为不同质量浓度 WHP- I 对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。由图 7 可知, 不同质量浓度的 WHP- I 对 α -葡萄糖苷酶都有一定的抑制活性, 且呈剂量效应关系。随着 WHP- I 质量浓度的增加, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性不断提高, 表明 WHP- I 对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用呈现剂量依赖性。从图中可知, WHP- I 抑制 α -葡萄糖苷酶的半抑制浓度 (IC_{50}) 为 15.837 g/L。

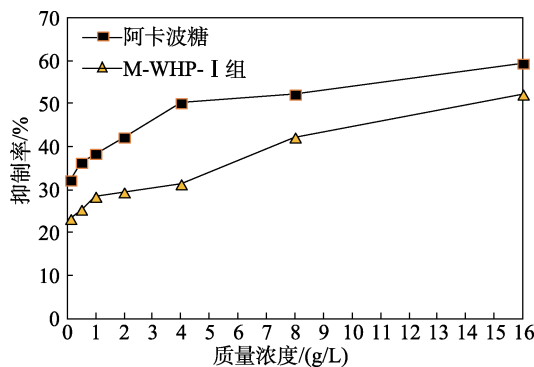
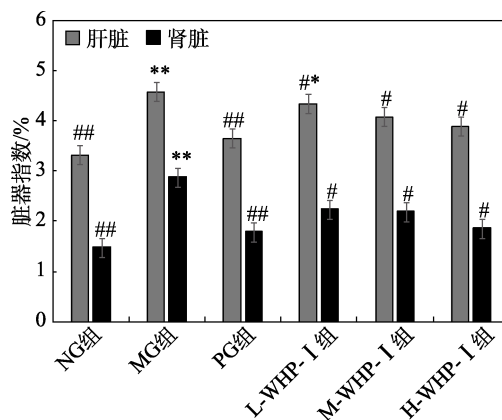


图 7 不同质量浓度 WHP- I 对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性
Fig. 7 Inhibitory activity of WHP- I with different concentration on α -glucosidase

2.4.2 小鼠脏器指数的比较

图 8 为各组小鼠脏器指数结果。



与模型组比较, “#”代表 $P < 0.05$, “##”代表 $P < 0.01$; 与对照组比较, “*”代表 $P < 0.05$, “**”代表 $P < 0.01$, 下同

图 8 各组小鼠脏器指数

Fig. 8 Organ index of kidney and liver in each group

由图 8 可知, MG 组小鼠的肝脏和肾脏脏器指数最大, 这是由于 T2DM 可引起小鼠肾脏肿大和肝

硬化的结果。同时, H-WHP- I 组小鼠的脏器指数与 MG 组有显著性差异, 但与 PG 组无显著性差异, 表明 WHP- I 具有减缓 T2DM 引起脏器损伤的潜力。李汾等^[31]研究表明, 百合多糖可缓解肝癌引起的肝肾肿大症状, 降低肝癌引起肝肾肾脏指数。王晴等^[32]研究表明, 甘草多糖可改善肾脏组织病理学状态, 与本实验结果一致。

2.4.3 小鼠血糖指数分析

表 5 为给药后每 7 d 测定小鼠的血糖值结果。由表 5 可知, 在整个给药期间, NG 组的血糖值处于正常且稳定的状态。而 MG 组小鼠的血糖值极显著高于 PG 组 ($P < 0.01$), 维持在 28 mmol/L 左右, 表明 STZ 成功诱导并模拟了小鼠糖尿病的高血糖模型。给药 4 周后与给药 1 周后相比, M-WHP- I 组和 H-WHP- I 组小鼠的血糖值分别降低了 32.13% 和 42.27%, 表明 WHP- I 可有效降低 T2DM 引起的小鼠高血糖值。杨宏莉等^[33]研究表明, 山药多糖通过被分解为低聚糖从而对不同类型糖尿病都具有一定的缓解作用, 与实验结果一致。这可能是因为, WHP- I 主链中含有半乳糖 1→6 糖苷键连接, 可促进 RIN-5F 细胞(胰腺组织/胰岛细胞瘤)胰岛素分泌相关基因的表达^[34]。

表 5 WHP- I 对 T2DM 小鼠空腹血糖 (FBG) 的影响
Table 5 Effect of WHP- I on fasting blood glucose (FBG) of T2DM mice

样品	FBG/(mmol/L)			
	7 d	14 d	21 d	28 d
NG 组	5.87±1.35***	5.43±0.27***	5.45±1.45***	5.78±0.58***
MG 组	29.74±1.65**	29.54±3.32**	29.54±4.25**	28.65±1.35**
PG 组	24.65±3.45##	20.46±4.68##	18.36±7.32##	15.68±4.44##
L-WHP- I 组	26.34±4.7#	25.75±2.78#	21.43±2.14#	20.43±2.23#
M-WHP- I 组	25.24±2.34#	23.68±5.22#	18.34±2.05#	17.13±2.35#
H-WHP- I 组	25.02±3.07#	22.67±5.45##	17.67±3.32##	14.33±5.67##

2.4.4 WHP- I 对小鼠体重的影响

图 9 为 WHP- I 对小鼠体重的影响。

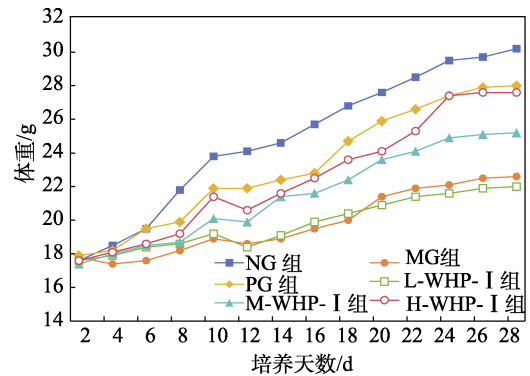


图 9 WHP- I 对小鼠体重的影响

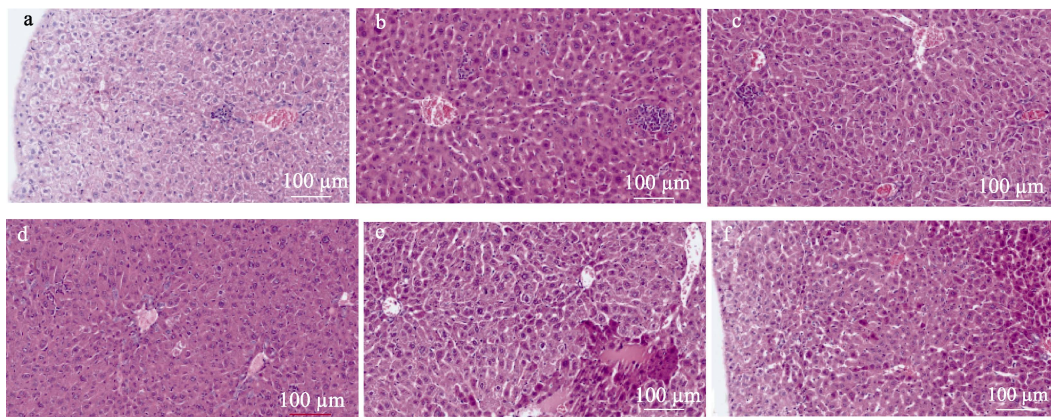
Fig. 9 Effect of WHP- I on body weight in mice

由图 9 可知, 相对于其他组别, NG 组小鼠体重最大, 这是因为 NG 组小鼠处于正常喂养条件。MG 组小鼠体重增长缓慢, 表明 T2DM 小鼠建模成功, 符合糖尿病病症“三高一低”中体重减轻的症状。L-WHP- I 组、M-WHP- I 组和 H-WHP- I 组中, 随着 WHP- I 剂量的增加小鼠体重持续增加, 呈现剂量依赖的趋势。同时, H-WHP- I 组和 PG 组之间无显著性差异 ($P > 0.05$), 表明 WHP- I 对糖尿病小鼠的体重降低具有缓解作用。

2.4.5 组织病理学分析

各组小鼠肝脏病理学分析如图 10 所示。

从图 10 可见, NG 组中肝组织整体结构基本正常, 肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列, 中央静脉淤血, 肝细胞饱满, 组织内可见少量的炎症细胞浸润 (图 10f)。MG 组中肝组织整体结构异常, 肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列, 中央静脉淤血, 肝细胞饱满, 少量肝细胞核固缩, 胞质嗜伊红染色, 组织内可见少量的炎症细胞浸润 (图 10a)。



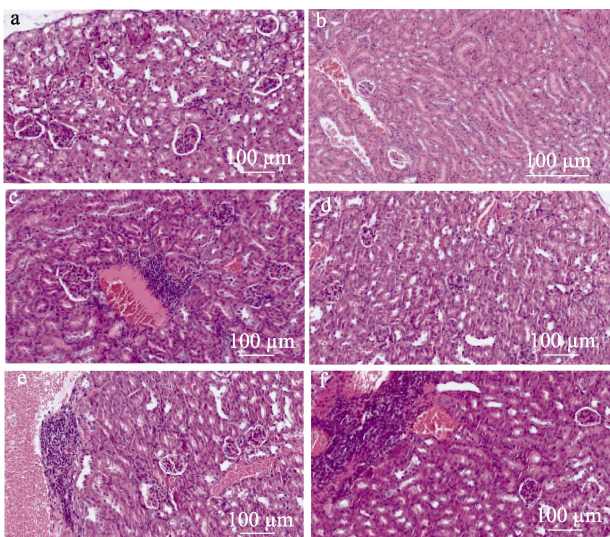
a—MG 组; b—PG 组; c—M-WHP- I 组; d—H-WHP- I 组; e—L-WHP- I 组; f—NG 组

图 10 各组小鼠肝脏组织病理学分析

Fig. 10 Histopathological analysis of livers of mice in each group

PG 组中肝组织整体结构轻度异常,肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列,中央静脉淤血,肝细胞饱满,组织内可见少量的炎症细胞浸润(图 10b)。M-WHP- I 组中肝组织整体结构轻度异常,肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列,中央静脉淤血,肝细胞饱满,组织内可见少量的炎症细胞浸润(图 10c)。H-WHP- I 组中肝组织整体结构基本正常,肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列,中央静脉淤血,肝细胞饱满,组织内可见炎症细胞浸润(图 10d)。L-WHP- I 组中肝组织整体结构异常,肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列,肝细胞饱满,中央静脉淤血,部分肝细胞液化性坏死,组织内可见少量的炎症细胞浸润(图 10e)。表明 WHP- I 对糖尿病小鼠的肝脏具有修复作用,且呈现剂量依赖性。

各组小鼠肾脏病理学分析如图 11 所示。从图 11 可知,H-WHP- I 组中肾组织整体结构基本正常,可见肾小球及肾小管,部分肾小管上皮脱落,组织内未见明显的炎症细胞浸润(图 11a)。NG 组中肾组织整体结构基本正常,可见肾小球及肾小管,组织内未见明显的炎症细胞浸润(图 11b)。MG 组肾组织整体结构异常,可见肾小球及肾小管,部分肾小管上皮脱落,组织内可见炎症细胞浸润(图 11c)。PG 组肾组织整体结构基本正常,可见肾小球及肾小管,部分肾小管上皮脱落,组织内未见明显的炎症细胞浸润(图 11d)。M-WHP- I 组中肾组织整体结构轻度异常,可见肾小球及肾小管,部分肾小管上皮脱落,组织内可见炎症细胞浸润(图 11e)。L-WHP- I 组中肾组织整体结构异常,可见肾小球及肾小管,部分肾小管上皮脱落,组织内可见大量的炎症细胞浸润(图 11f)。表明 WHP- I 对糖尿病小鼠的肾脏具有修复作用,且呈现剂量依赖性。



a—H-WHP- I 组; b—NG 组; c—MG 组; d—PG 组; e—M-WHP- I 组; f—L-WHP- I 组

图 11 各组小鼠肾脏组织病理学分析

Fig. 11 Histopathological analysis of kidneys of mice in each group

2.4.6 氧化应激分析

各组肝脏和肾脏 GSH-Px 和 SOD 活性见图 12a、b。与其他组相比, MG 组 GSH-Px 和 SOD 活性最低,与其他组均存在极显著性差异 ($P < 0.01$)。随着 WHP- I 质量浓度的增加,各指标逐渐增加,表明存在剂量依赖性。如图 12c 所示,各组小鼠肝脏和肾脏中 MDA 含量呈现相反的趋势,这表明 WHP- I 可通过减少氧化应激从而减轻 T2DM 引起的肝脏和肾脏损伤。

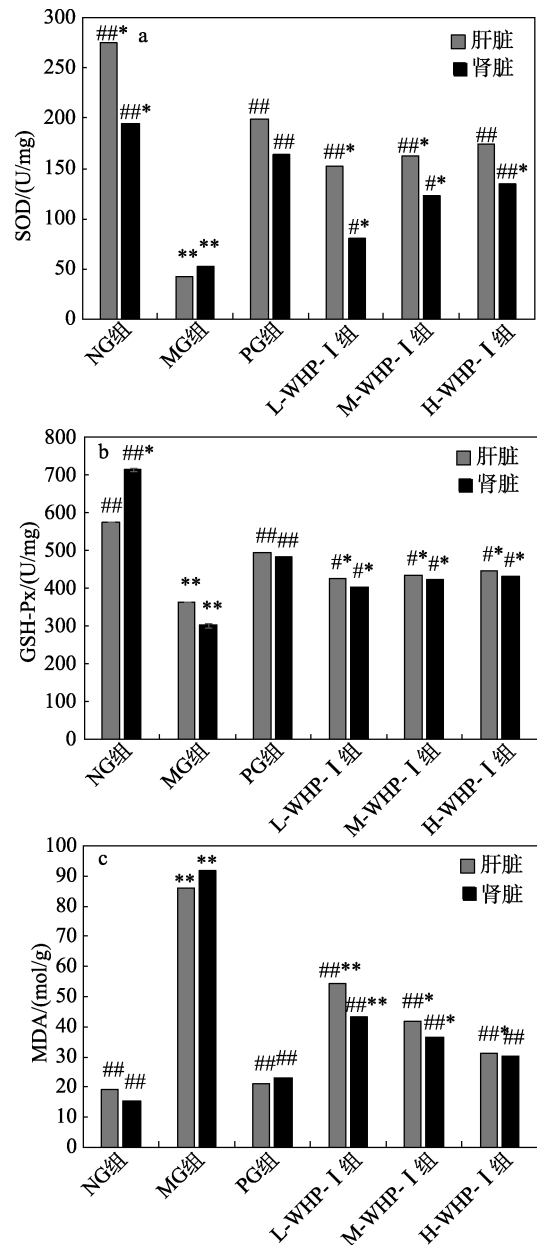


图 12 WHP- I 对肝脏和肾脏中 GSH-Px (a)、SOD (b) 活性及 MDA 含量 (c) 的影响

Fig. 12 Effects of WHP- I on activities of GSH-Px (a) and SOD (b) and content of MDA (c) in liver and kidney

3 结论

本文以栝楼籽为研究对象,采用热水浸提法提

取栝楼籽多糖, 并通过正交实验对提取工艺进行优化。得到的最佳提取条件为: 提取温度 80 °C、浸提时间 100 min、料液比 1 : 25、提取次数 1 次。在此条件下多糖平均提取率为 19.01%。多糖结构的初步分析结果表明, WHP- I 中含有 5 种糖残基, 分别是 D-Glcp-(1→、→4)-D-Glcp-(1→、→6)-D-Galp-(1→、→4,6)-D-Glcp-(1→和→3)-Araf-(1→, 且 WHP- I 重均分子量为 4.765×10^4 。体外降血糖实验结果表明, WHP- I 抑制 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 为 15.837 g/L。体内实验结果表明, WHP- I 具有减缓 T2DM 引起脏器损伤的潜力, 同时可有效降低 T2DM 引起的小鼠高血糖值。组织病理学分析结果表明, WHP- I 对糖尿病小鼠的肾脏和肝脏具有修复作用, 且呈现剂量依赖性。本文为栝楼籽多糖的开发利用提供了理论依据, 并对其医药方面的应用奠定了基础。

参考文献:

- [1] MCGOVERN P, CHRISTOFIDOU-SOLIMIDOU M, WANG W, *et al.* Anticancer activity of botanical compounds in ancient fermented beverages[J]. *Journal of Oncology*, 2010, 37(1): 5-14.
- [2] NAM Y, CHOI M, HWANG H, *et al.* Natural flavone jaceosidin is a neuroinflammation inhibitor[J]. *Phytotherapy Research*, 2013, 27(3): 404-411.
- [3] ZHANG X F (张喜峰), NAN Y (南艳), LI X R (李雪茹) *et al.* Physicochemical properties and physiological activities of *Borage* leaf polysaccharides extracted by two methods[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2021, 39(11): 2297-2304.
- [4] WANG H (王华), ZHOU X Q (周孝琼), ZHONG X X (钟雪香), *et al.* *In vitro* antibacterial test of aqueous extract of *Artemisia argyi* against three kinds of bacteria[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine (黑龙江畜牧兽医)*, 2016, 28(20): 168-169.
- [5] LI Z Z (李真真), LYU J L (吕洁丽), ZHANG L B (张来宾), *et al.* Advances in chemical constituents and pharmacological effects of *Artemisia argyi*[J]. *Journal of International Pharmaceutical Research (国际药学研究杂志)*, 2016, 3(6): 1059-1066.
- [6] ZHANG G N (张广楠), FAN G H (樊光辉). Current situation and prospect of exploitation and utilization of *Mugwort* resources[J]. *Science and Technology of Qinghai Agriculture and Forestry (青海农林科技)*, 2017, (1): 5.
- [7] SHANG Q H (尚庆辉), XIE Y H (解玉怀), ZHANG G G (张桂国), *et al.* Advances in immunoregulatory effects and mechanisms of plant polysaccharides[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition (动物营养学报)*, 2015, 27(1): 49-58.
- [8] LIU X Y, ZHAO P, LIN S Y. Review on the progress of plant immune polysaccharides[J]. *Enzyme*, 2016, 29: 14.
- [9] LI L (李丽), YUAN J Q (袁建琴), TANG Z W (唐中伟), *et al.* Optimization of flash extraction process of hawthorn polysaccharide by response surface method[J]. *The Food Industry (食品工业)*, 2020, 41(11): 42-45.
- [10] YANG Q (杨青), LI T T (李甜甜), YANG L Y (杨羚钰), *et al.* Optimization of extraction process of polysaccharide from leaves of *Paris var. yunnanensis*[J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture (热带农业科学)*, 2021, 41(1): 113-116.
- [11] WANG X F (王熊飞), HAN Q J (韩秋菊), GAO D X (高辉迅). Study on optimization of extracting hawthorn polysaccharide by microwave method[J]. *Hunan Agricultural Sciences (湖南农业科学)*, 2013, (8): 32-33.
- [12] ZHENG P P (郑朋朋), LI S (李珊), QI L R (戚丽蓉), *et al.* Extraction of hawthorn polysaccharides and their antioxidant effects[J]. *China Brewing (中国酿造)*, 2015, 34(6): 107-113.
- [13] DING W, WANG Y, ZHOU J, *et al.* Effect of structure features of polysaccharides on properties of dialdehyde polysaccharide tanning agent[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 201: 549-556.
- [14] WAND Y F, WEI X L, JIN Z Y. Structure analysis of a neutral polysaccharide isolated from green tea[J]. *Food Research International*, 2009, 42(5/6): 739-745.
- [15] GOSWAMI J, PANDEY R, TEWARI J, *et al.* Management of root knot nematode on tomato through application of fungal antagonists, *Acremonium strictum* and *Trichoderma harzianum*[J]. *Journal of Environmental Science & Health Part B*, 2008, 43: 237-240.
- [16] SONG Y, ZHU M, HAO H, *et al.* Structure characterization of a novel polysaccharide from Chinese wild fruits (*Passiflora foetida*) and its immune-enhancing activity[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 136: 324-331.
- [17] LUO Y (罗应), LI Y Q (李彦青), TU R C (涂睿程), *et al.* Optimization of extraction process of proanthocyanidins from passion fruit by response surface method[J]. *Applied Chemical Industry (应用化工)*, 2020, 49(12): 3026-3030.
- [18] CHEN S F (陈淑芳), LI Q T (黎庆涛), HUANG K (黄凯), *et al.* Optimization of extraction process of polysaccharide from *Merremia hederacea* and its antioxidant activity[J]. *Applied Chemical Industry (应用化工)*, 2021, 50(11): 3031-3035.
- [19] ZHANG F (张帆), LIU H B (刘宏炳), TIAN S G (田树革), *et al.* Ultrasonic extraction and determination of flavonoids and polysaccharides in mulberry[J]. *Northwest Journal of Pharmacy (西北药学杂志)*, 2008, 23(5): 282-283.
- [20] PETTOLINO F, WALSH C, FINCHER G, *et al.* Determining the polysaccharide composition of plant cell walls[J]. *Nature Protocols*, 2012, 7(9): 1590-1607.
- [21] LI N, YAN C, HUA D, *et al.* Isolation, purification, and structural characterization of a novel polysaccharide from *Ganoderma capense*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2013, 57: 285-290.
- [22] XIONG L Z (熊利芝), FU B T (付柏婷), WU Y X (吴玉先), *et al.* Optimization of extraction process and antioxidant property of polysaccharide from seed of *Trichosanthes kirilowii Maxim.*[J]. *Applied Chemical Industry (应用化工)*, 2015, 44(6): 1008-1011.
- [23] RIVERA-UTRILLA J, SANCHEZ-POLO M. Absorption of Cr(III) on ozonised activated carbon: Importance of π -cation interactions[J]. *Water Research*, 2003, 37: 3335-3340.
- [24] SWIATKOWSKI A, PAKULA M, BINIAK S, *et al.* Influence of the surface chemistry of modified activated carbon on its electrochemical behaviour in the presence of lead(II) ions[J]. *Carbon*, 2004, 42(15): 3057-3069.
- [25] SHEN Z, ZHANG Y, JIN F, *et al.* Qualitative and quantitative characterisation of adsorption mechanisms of lead on four biochars[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 609: 1401-1410.
- [26] CHEN X, WU G, HUANG Z. Structural analysis and antioxidant activities of polysaccharides from cultured *Cordyceps militaris*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2013, 58: 18-22.
- [27] CHEN R, JIN C, LI H, *et al.* Ultrahigh pressure extraction of polysaccharides from *Cordyceps militaris* and evaluation of antioxidant activity[J]. *Separation and Purification Technology*, 2014, 134: 90-99.
- [28] LEE S, YOON M, PARK H. Protective effects of *Paonia lactiflora* pall on hydrogen peroxide-induced apoptosis in PC12 cells[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2008, 72: 1272-1277.
- [29] CAO X, WANG A, JIAO R, *et al.* Surfactin induces apoptosis and G2/M arrest in human breast cancer MCF-7 cells through cell cycle factor regulation[J]. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 2009, 55: 163-171.
- [30] RAO M, PARWATE A, BHOLE A. Removal of Cr^{6+} and Ni^{2+} from aqueous solution using bagasse and fly ash[J]. *Waste Management*, 2002, 22(7): 821-830.
- [31] LI F (李汾), LI X H (李新华), ZENG J R (曾菊绒), *et al.* Effects of lily polysaccharide combined with allicin on tumor growth and serum cytokine levels in hepatoma H22 tumor-bearing mice[J]. *Modern Oncology (现代肿瘤医学)*, 2021, 29(23): 4114-4118.
- [32] WANG Q (王晴), HONG Y (洪叶), LIU Z Y (柳振宇), *et al.* Study on the antioxidation and hypoglycemic effect of *Glycyrrhiza polysaccharide*[J]. *Science and Technology of Food Industry (食品工业科技)*, 2023, 44(1): 398-404.
- [33] YANG H L (杨宏莉), ZHANG H X (张宏馨), LI L H (李兰会), *et al.* Study on the hypoglycemic mechanism of yam polysaccharide in type 2 diabetic rats[J]. *Journal of Hebei Agricultural University (河北农业大学学报)*, 2010, 33(3): 100-103.
- [34] WANG L, CHEN C, ZHANG B, *et al.* Structural characterization of a novel acidic polysaccharide from *Rosa roxburghii Tratt* fruit and its α -glucosidase inhibitory activity[J]. *Food & Function*, 2018, 9: 3974-3985.