

甜玉米芯多糖铁配合物的工艺优化及体外活性

王鑫, 杨梦媛, 修伟业, 遇世友, 王景阳, 马永强*

(哈尔滨商业大学 食品工程学院 黑龙江省谷物食品与谷物资源综合加工重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150028)

摘要: 甜玉米芯多糖 (SCP80) 与三氯化铁共热合成了甜玉米芯多糖铁配合物 (SCP), 在单因素实验基础上, 采用响应面法优化了 SCP 制备工艺。通过 SEM、XRD、TG、纳米粒度及 Zeta 电位分析仪、UV-Vis 和 FTIR 对 SCP 进行了形貌和结构表征, 并测定了其体外抗氧化及降糖活性。结果表明, 50 mL 质量浓度为 1 g/L 的 SCP80 水溶液合成 SCP 的最佳合成工艺为: 反应温度 75 °C、反应时间 64.6 min、pH=8.5、 $m(\text{SCP80}) : m(\text{柠檬酸三钠})=3.64 : 1$ 。在该条件下制备的 SCP 中铁质量分数为 $27.89\% \pm 0.35\%$ 。与 SCP80 相比, SCP 表面更光滑, 粒径从 43.8 nm (SCP80) 增至 164.0 nm, 具有更好的热稳定性, 更好的清除羟基自由基能力和还原能力, 质量浓度为 4.0 g/L 的 SCP 对羟基自由基的清除率为 57.51%; SCP 对 α -淀粉酶半抑制浓度 (IC_{50}) 为 (1.20 ± 0.11) g/L, 对 α -葡萄糖苷酶的 IC_{50} 为 (0.92 ± 0.07) g/L, 其体外降糖活性明显优于 SCP80。

关键词: 甜玉米芯多糖铁配合物; 工艺优化; 结构表征; 体外抗氧化性; 体外降糖; 食品化学品

中图分类号: O641.4; TS201.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2024) 10-2280-10

Process optimization and *in vitro* activity of sweet corn core polysaccharide iron complexes

WANG Xin, YANG Mengyuan, XIU Weiye, YU Shiyu, WANG Jingyang, MA Yongqiang*

(Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Cereal and Comprehensive Processing of Cereal Resources, College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, Heilongjiang, China)

Abstract: Sweet corn core polysaccharide iron complex (SCP) was synthesized by co-heating sweet corn core polysaccharide (SCP80) with ferric chloride, and the preparation process was optimized by response surface method on the basis of single-factor experiments. The SCP obtained was then characterized by SEM, XRD, TG, nano particle size and Zeta potential analyzer, UV-Vis, and FTIR for analyses on morphology and structure, and further evaluated for its antioxidant and hypoglycemic activities. The results showed that the optimal synthesis process of SCP from 50 mL SCP80 aqueous solution with a mass concentration of 1 g/L was as follows: reaction temperature 75 °C, reaction time 64.6 min, pH=8.5, $m(\text{SCP80}) : m(\text{trisodium citrate})=3.64 : 1$. Under these conditions, the mass fraction of iron in SCP was $27.89\% \pm 0.35\%$. Compared with SCP80, SCP exhibited a much smoother surface, an increment in particle size from 43.8 nm (SCP80) to 164.0 nm, better thermal stability, better hydroxyl radical scavenging ability and reduction ability, with the scavenging rate of hydroxyl radical of 57.51% when the mass concentration of SCP was 4.0 g/L. The semi-inhibitory concentration (IC_{50}) of SCP for α -amylase was (1.20 ± 0.11) g/L, and that for α -glucosidase was (0.92 ± 0.07) g/L, indicating significantly superior hypoglycemic activity of SCP in comparison with that of SCP80.

Key words: sweet corn core polysaccharide iron complex; process optimization; structural characterization; *in vitro* antioxidant activities; *in vitro* hypoglycemia activities; food chemicals

收稿日期: 2023-09-19; 定用日期: 2023-11-06; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230787

基金项目: 中国烹饪协会全国餐饮职业教育教学指导委员会一般课题 (CYHZW-YB2023021); 哈尔滨商业大学“青年创新人才”支持计划项目 (2019CX31); 哈尔滨商业大学产业化项目 (22CZ16)

作者简介: 王鑫 (1984—), 女, 副教授, E-mail: wangxinfood@163.com. 联系人: 马永强 (1963—), 男, 教授, E-mail: qym126@163.com.

多糖是聚合程度不同的天然混合物^[1], 也被称为生物聚合物, 通常情况下具有特殊的免疫生物活性^[2], 在治疗剂中起关键作用。从植物和动物中分离出的各种多糖副作用较少, 且具有广泛的生物学功能, 如抗肿瘤、降血糖、免疫调节和抗氧化等特性^[3]。

甜玉米棒芯富含粗纤维、蛋白、脂肪、多糖等营养物质, 具有清热解毒、利胆、利尿、降血压、降血脂等功效。目前, 中国对甜玉米芯资源开发利用的情况不容乐观, 闲置浪费等现象十分严重^[4]。甜玉米芯中相对含量较高的甜玉米芯多糖 (SCP80) 是一种天然多组分多糖, 主要包含一种半水溶性多糖和少量游离的酸性糖。其还具有许多对正常人体功能有益的潜在生物活性, 如抗氧化、抑菌、降血糖^[5-7]等活性。因此, SCP80 同样可以作为功能性药物进行开发利用。多糖铁复合物是由 Fe^{3+} 和多糖络合形成, 用作补铁剂时, 不仅结构稳定、溶解性好、对胃肠道刺激性小, 还具有铁螯合能力强、生物利用度广等优点^[8-10]。补铁的同时, 还能起到促进血液循环、降血糖、调节血压等作用^[11-12]。另外, 多糖铁复合物具有较好的抗氧化性能, 其清除 1,1-二苯基-2-苦基肼 (DPPH) 及羟基自由基、铁还原等能力都是目前公认较好的^[13-14]。

本文拟采用 Fe^{3+} 修饰 SCP80 来制备甜玉米芯多糖铁配合物 (SCP), 采取单因素、响应面法对 SCP 的制备工艺进行优化, 对其进行结构表征和体外抗氧化及降糖活性评价。旨在为 SCP80 的深度研究及相关功能食品的开发利用提供理论参考。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

无水三氯化铁, 天津市天力化学试剂有限公司; 柠檬酸三钠, 天津市福晨化学试剂厂; 邻菲罗啉, 天津市致远化学试剂有限公司; 抗坏血酸 (V_C), 天津市天新精细化工开发中心; 铁氰化钾、三氯乙酸, 天津市科密欧化学试剂有限公司; α -淀粉酶 (50 U/mg)、阿卡波糖、 α -葡萄糖苷酶 (50 U/mg)、硝基苯- α -D-半乳糖吡喃糖苷 (pNPG), 上海源叶生物科技有限公司; 3,5-二硝基水杨酸 (DNS), 上海麦克林生化科技股份有限公司, 以上试剂均为分析纯。蒸馏水, 自制。

D8 Advance X 射线衍射仪 (XRD), 德国 Bruker 公司; SU8100 扫描电子显微镜 (SEM), 日本 Hitachi 公司; Nano-ZS90 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪, 英国 Malvern 仪器有限公司; Spectrum II 傅里叶变换红外光谱仪 (FTIR)、STA-8000 热重分析仪、Lambda 950 型紫外-可见分光光度计 (UV-Vis), 美国 Perkin Elmer 公司。

1.2 方法

1.2.1 SCP 的制备

参照 MA 等^[15]的研究, 采用水提醇沉的方法, 经脱脂、脱色、脱蛋白、水提、醇沉、真空冷冻干燥等步骤制备了 SCP80 (质量分数 $95.27\% \pm 1.48\%$)。在 $75\text{ }^\circ\text{C}$ 下将 0.1000 g SCP80、0.0275 g 柠檬酸三钠加入到 50 mL 蒸馏水中。将 2 mol/L FeCl_3 溶液和 0.5 mol/L NaOH 溶液依次以 1 滴/2s 的速率滴加到反应体系中并充分搅拌, 控制反应液 pH 为 8.5。当出现不能溶解的棕红色沉淀时, 终止 NaOH 和 FeCl_3 溶液的添加, 反应 64.6 min 后冷却至室温, 在 4000 r/min 下离心 15 min, 取上层液体, 用 4 倍体积的无水乙醇醇沉, 过夜, 离心, 收集沉淀, $-50\text{ }^\circ\text{C}$ 下冷冻干燥 48 h, 最终获得 0.0273 g 铁质量分数 ($27.89\% \pm 0.35\%$) 的红棕色粉末 SCP。

1.2.2 单因素实验

准确称取 0.05 g SCP80 于 50 mL 容量瓶中定容, 得到质量浓度为 1 g/L 的 SCP80 水溶液, 固定 4 个实验条件: 反应时间 60 min、 $m(\text{SCP80}) : m(\text{柠檬酸三钠}) = 4 : 1$ 、pH=9.0、反应温度 $70\text{ }^\circ\text{C}$ 中的 3 个条件, 参照刁欢等^[16]、刘冲英等^[17]、钟普鹏等^[18]的方法, 改变反应温度 (50 、 60 、 70 、 80 、 $90\text{ }^\circ\text{C}$)、pH (7.5 、 8.0 、 8.5 、 9.0 、 9.5)、反应时间 (40 、 50 、 60 、 70 、 80 min)、 $m(\text{SCP80}) : m(\text{柠檬酸三钠})$ ($1 : 1$ 、 $2 : 1$ 、 $3 : 1$ 、 $4 : 1$ 、 $5 : 1$), 以铁质量分数为评价指标, 进行单因素实验。

1.2.3 星点设计-响应面优化实验

根据单因素实验结果, 以温度 (A)、时间 (B)、pH (C)、质量配比 [即 $m(\text{SCP80}) : m(\text{柠檬酸三钠})$, 下同] (D) 为自变量, 以铁质量分数 (R , %) 为评价指标, 根据星点设计原理, 对 4 个因素分别设置 5 个水平, 用 “-2、-1、0、+1、+2” 表示, 温度、时间、pH、质量配比根据单因素研究结果中心点取值。

1.2.4 总糖、糖醛酸及铁质量分数的测定

参照潘玲等^[19]实验方法, 对 SCP 中总糖、糖醛酸质量分数进行测定, 分别依据苯酚-硫酸法和硫酸-吡嗪法绘制标准曲线, 进行计算。

铁质量分数的测定参照景永帅等^[20]的方法并稍作改动。首先, 采用邻菲罗啉分光光度法绘制标准曲线, 得到回归方程 $y=0.0402x+0.0587$ ($R^2=0.9935$); 然后, 将 5 mg SCP 溶于少量蒸馏水, 随后转入到 5 mL 容量瓶中定容, 得到质量浓度为 1 g/L 的 SCP 样品溶液; 再在 10 mL 容量瓶中加入 1.0 mL 样品溶液, 2.5 mL 质量分数为 0.1% 邻菲罗啉显色液和 2.0 mL 质量分数为 10% 抗坏血酸溶液, 摇匀并用蒸馏水定容; 最后, 在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 下静置反应 10 min, 使用紫外-可见分光光度计在 510 nm 处测其吸光度, 平行实验 3 次, 根据回归方程得出样品溶液中铁的质量浓度,

并根据式 (1) 计算 SCP 中铁质量分数:

$$w(\text{Fe})/\% = \rho / 0.1 \times 100 \quad (1)$$

式中: $w(\text{Fe})$ 为 SCP 中铁质量分数, %; ρ 为溶液中铁的质量浓度, g/L; 0.1 为测定时 SCP 溶液质量浓度, g/L。

1.3 表征方法和性能测试

1.3.1 SEM 测试

分别将 10 mg SCP80 和 SCP 粉末放置在样品台上, 喷涂金粉, 在 20 kV 电压下放大观察。

1.3.2 XRD 测试

以 Cu 为靶, 在 40 kV、40 mA 的条件下对 SCP80 和 SCP 进行 XRD 测试, 扫描范围 $2\theta=10^\circ\sim 80^\circ$, 扫描速率 $5^\circ/\text{min}$ 。

1.3.3 TG 测试

将 5 mg SCP80 和 SCP 分别放在热重分析仪的铝样品板上。以流速为 30 mL/min 的氮气 (体积分数 99.99%) 为载气。在升温速率 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 的条件下, 检测温度 $10\sim 800^\circ\text{C}$, 得到 SCP80 和 SCP 的 TG 及 DTG 曲线。

1.3.4 粒度分布测定

将 SCP80 和 SCP 分别溶解在蒸馏水中, 制成质量浓度为 0.02 g/mL 溶液。用纳米粒度及 Zeta 电位分析仪测定样品的粒径分布。

1.3.5 UV-Vis 吸收光谱测定

SCP80 和 SCP 分别配成质量浓度为 0.1 g/L 的溶液, 参比溶液为蒸馏水。用紫外-可见分光光度计测其 UV-Vis 吸收光谱, 波长范围 $200\sim 800\text{ nm}$ 。

1.3.6 FTIR 测试

SCP80 (20 mg) 和 SCP (20 mg) 分别与 KBr (200 mg) 混合, 压片, 在波数 $4000\sim 500\text{ cm}^{-1}$ 范围内进行 FTIR 测试。

1.4 SCP 的体外抗氧化活性测定

1.4.1 羟基自由基清除率测定

参照蒋文明等^[21]在芦荟多糖相关研究中的方法并适当改动, 在 2 mL 质量浓度为 0、0.125、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0 g/L 的 SCP 溶液中均依次加入 6 mmol/L 的 FeSO_4 溶液、6 mmol/L 水杨酸/乙醇溶液、质量分数 30% 的 H_2O_2 溶液各 2 mL, 充分混合, 37°C 下避光 0.5 h, 测定溶液在 510 nm 处的吸光度。以等质量浓度的 V_C 溶液作为阳性对照, 实验平行 3 次, 按照式 (2) 计算羟基自由基清除率:

$$R/\% = [1 - (A_1 - A_2)/A_3] \times 100 \quad (2)$$

式中: R 为羟基自由基清除率, %; A_1 为样品吸光度; A_2 为水杨酸/乙醇溶液被蒸馏水代替后的吸光度; A_3 为样品被蒸馏水代替后的吸光度。

1.4.2 还原能力测定

在 2 mL 质量浓度分别为 0、0.125、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0 g/L 的 SCP 溶液中均加入质量浓度为 0.01 g/mL 铁氰化钾溶液和 pH 为 6.8 的 0.1 mol/L 磷酸缓冲盐 (PBS) 溶液各 2 mL 混匀。50 $^\circ\text{C}$ 水浴反应 20 min, 冷却至室温, 加入质量浓度为 0.1 g/mL 三氯乙酸溶液 2.5 mL 后, 避光 10 min。取 2 mL 上述溶液, 向其中加入 2.5 mL 蒸馏水, 0.5 mL 质量浓度为 0.1 g/mL 的 FeCl_3 溶液, 混匀, 避光 10 min, 随后测定其在 700 nm 处的吸光度, 实验以等量质量浓度相同的 V_C 溶液作为对照, 平行实验 3 次, 以测得的吸光度大小来评价 SCP 还原能力的大小。

1.5 SCP 的体外降糖活性测定

1.5.1 α -淀粉酶抑制率的测定

3,5-二硝基水杨酸溶液的制备: 将 1.0 g 3,5-二硝基水杨酸溶于 20 mL 浓度为 2 mol/L NaOH 溶液中, 再依次加入 50 mL 蒸馏水、30 g 酒石酸钠, 溶解后用蒸馏水稀释至 100 mL, 盖紧瓶塞密封, 贮存于棕色瓶中, 室温放置 7 d 后使用, 其质量浓度为 10 g/L。

用 pH 为 6.8 的 PBS 溶液 (0.1 mol/L) 配制 0.6 U/mg 的 α -淀粉酶溶液和质量浓度为 2.0 g/L 的淀粉溶液。在 0.1 mL 不同质量浓度 (0、0.5、1、2、4、8 g/L) 的 SCP 样品溶液中加入 α -淀粉酶溶液和淀粉溶液各 0.1 mL, 37°C 下孵育 15 min, 用 1 mL 3,5-二硝基水杨酸溶液 (质量浓度为 10 g/L) 停止反应, 沸水浴 5 min, 冷却至室温。以阿卡波糖为阳性对照, 在 540 nm 处测定样品吸光度。由式 (3) 计算 α -淀粉酶抑制率:

$$I_s/\% = (A_{i0} - A_i)/(A_{j0} - A_j) \times 100 \quad (3)$$

式中: I_s 为 α -淀粉酶抑制率, %; A_i 为样品吸光度; A_{i0} 为 A_i 不加淀粉溶液时的吸光度; A_j 为 PBS 代替样品的吸光度; A_{j0} 为 A_j 不加淀粉溶液时的吸光度。

1.5.2 α -葡萄糖苷酶抑制率的测定

用 pH 为 6.8 的 PBS 溶液 (0.1 mol/L) 配制 α -葡萄糖苷酶溶液 (0.2 U/mg)、 Na_2CO_3 溶液 (0.1 mol/L) 和 pNPG 溶液 (2.5 mmol/L)。取 0.5 mL 不同质量浓度 (0、0.5、1、2、4、8 g/L) 的 SCP 溶液加入 0.5 mL α -葡萄糖苷酶溶液, 保持 37°C , 孵育 15 min。加入 0.5 mL pNPG 溶液 (2.5 mmol/L), 同样在 37°C 下孵育 15 min 后用 2 mL Na_2CO_3 溶液 (0.1 mol/L) 停止反应。以阿卡波糖为阳性对照, 在 405 nm 处测定样品吸光度。根据式 (4) 计算 α -葡萄糖苷酶抑制率:

$$I_g/\% = [1 - (A'_i - A'_{i0})/A'_j] \times 100 \quad (4)$$

式中: I_g 为 α -葡萄糖苷酶抑制率, %; A'_i 为样品吸光

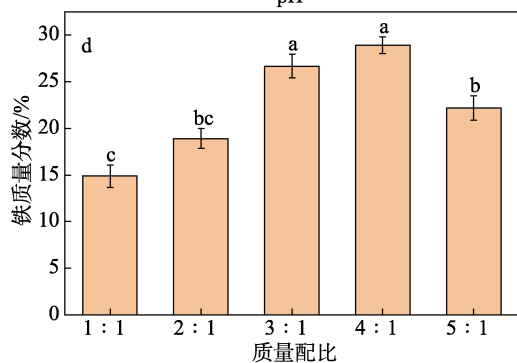
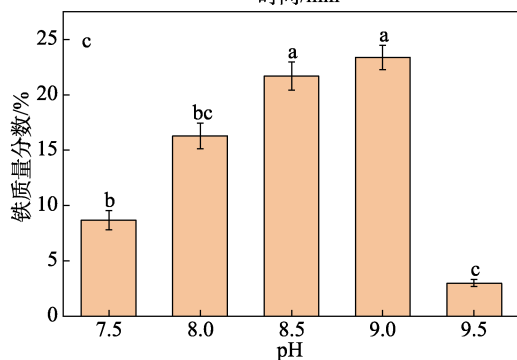
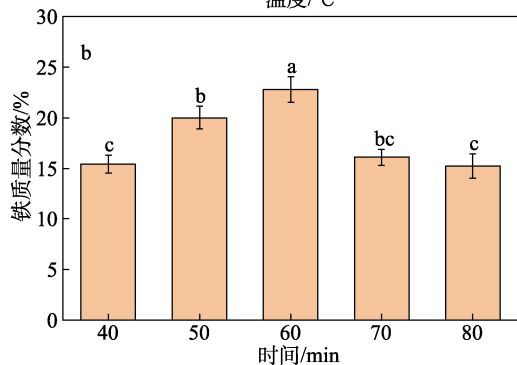
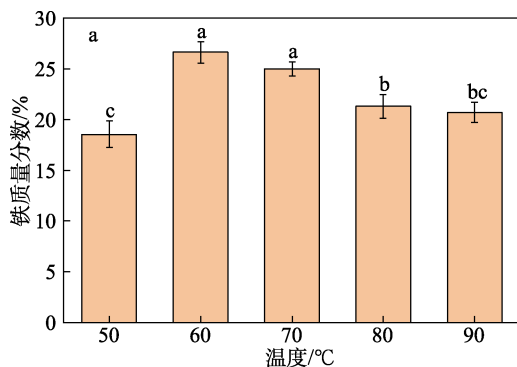
度; A'_{10} 为样品被 PBS 代替的吸光度; A'_j 为 PBS 代替 α -葡萄糖苷酶溶液的吸光度。

2 结果与讨论

2.1 工艺条件优化

2.1.1 反应温度对铁质量分数的影响

按照 1.2.2 节实验条件, 考察反应温度对铁质量分数的影响, 结果见图 1a。



图中不同小写字母表示组间差异显著, $P < 0.05$

图 1 不同反应因素对铁质量分数的影响

Fig. 1 Effects of different reaction factors on mass fraction of iron

从图 1a 可以看出, 反应温度从 50 °C 上升到 60 °C 时, 铁质量分数达到最高, 为 26.60%; 随着反应温度的继续上升, 在 60~90 °C 之间, 铁质量分数逐渐下降并趋于平缓。此结果与任广明等^[22]香菇多糖铁配合物以及何瑞雪等^[23]水溶性大豆多糖铁配合物实验结论相似。原因可能是, 反应温度过高, 分子运动和离子振动加剧, 对 SCP80 配体与 SCP 的铁核间的接触不利, 使其难以配合, 导致 SCP 中铁质量分数减少。因此, 选择反应温度 60~80 °C 进行响应面实验。

2.1.2 反应时间对铁质量分数的影响

按 1.2.2 节实验条件, 考察反应时间对铁质量分数的影响, 结果见图 1b。

从图 1b 可以看出, 铁质量分数随着反应时间的延长呈先增加后减少的趋势, 当反应时间为 60 min 时, 铁质量分数达到最高, 这与刘冲英等^[17]地黄多糖铁以及王峰等^[24]绞股蓝多糖铁复合物的实验结论相似。原因可能是, SCP80 与 Fe^{3+} 完成配合反应后, 在一定温度加热并搅拌的状态下, 过长时间的反应会使 SCP 部分解离, 引起 SCP 中铁质量分数降低。因此, 选择反应时间 50~70 min 进行响应面实验。

2.1.3 反应 pH 对铁质量分数的影响

按 1.2.2 节实验条件, 考察反应 pH 对铁质量分数的影响, 结果见图 1c。

从图 1c 可以看出, pH 为 7.5~9.0 时, 铁质量分数随着 pH 的升高而增大 (8.66%~23.37%)。当 pH 为 9.5 时, 铁质量分数骤然降至 2.98%, 这与 JING 等^[25]关于葛根多糖铁复合物以及崔洁芬等^[26]浒苔多糖铁实验结论相似。原因可能是, 随着反应体系 pH 的增加, 碱性过强破坏了 SCP80 的结构, 从而阻碍 SCP 的合成。因此, 选择反应 pH 8.0~9.0 进行响应面实验。

2.1.4 质量比对铁质量分数的影响

按 1.2.2 节实验条件, 考察质量比对铁质量分数的影响, 结果见图 1d。

从图 1d 可以看出, 随着质量配比的增大, 铁质量分数先升高后下降, 当质量配比为 4:1 时, 铁质量分数达到最高, 为 28.92%; 此后, 铁质量分数持续下降, 这与 LI 等^[27]关于火棘多糖铁配合物以及 FENG 等^[28]关于蝴蝶兰多糖铁复合物实验结论相似。原因可能是, SCP80 分子内部含有一些亲核能力较强的极性供电子基团, 易与金属离子配合, 在柠檬酸三钠的催化下, 这些基团与金属离子的结合位点逐渐饱和。当质量配比 4:1 后, 基团与金属离子的结合位点不再增加, 铁质量分数相应降低。因此, 选择质量配比为 3:1~5:1 进行响应面实验。

2.2 星点设计-响应面实验结果

2.2.1 回归模型的建立及数据分析

表 1 为星点设计-响应面 (CCD) 设计的因素水平。表 2 为设计的 30 个星点设计编码值与实际值对照实验点的结果。

表 1 CCD-因素与水平设计表
Table 1 CCD-factor and level design table

因素	水平				
	-2	-1	0	1	2
A 温度/°C	60	65	70	75	80
B 时间/min	50	55	60	65	70
C pH	8.00	8.25	8.50	8.75	9.00
D 质量配比	3.0 : 1	3.5 : 1	4.0 : 1	4.5 : 1	5.0 : 1

表 2 CCD 实验设计和响应值
Table 2 CCD experimental design and response values

序号	编码值				实际值				w(Fe)/%
	A	B	C	D	温度/°C	时间/min	pH	质量配比	
1	-1	-1	-1	1	65	55	8.25	4.5 : 1	15.61
2	0	0	0	0	70	60	8.50	4.0 : 1	23.10
3	1	-1	-1	1	75	55	8.25	4.5 : 1	18.03
4	1	1	1	1	75	65	8.75	4.5 : 1	16.63
5	1	-1	1	-1	75	55	8.75	3.5 : 1	15.61
6	-1	-1	-1	-1	65	55	8.25	3.5 : 1	9.50
7	-1	1	-1	1	65	65	8.25	4.5 : 1	16.16
8	0	0	0	0	70	60	8.50	4.0 : 1	23.60
9	0	0	0	2	70	60	8.50	5.0 : 1	7.09
10	-1	-1	1	1	65	55	8.75	4.5 : 1	17.21
11	0	0	-2	0	70	60	8.00	4.0 : 1	8.79
12	-1	1	-1	-1	65	65	8.25	3.5 : 1	16.83
13	1	-1	1	1	75	55	8.75	4.5 : 1	17.41
14	1	1	-1	-1	75	65	8.25	3.5 : 1	26.19
15	0	0	0	-2	70	60	8.50	3.0 : 1	9.97
16	0	0	2	0	70	60	9.00	4.0 : 1	8.60
17	1	-1	-1	-1	75	55	8.25	3.5 : 1	17.31
18	0	0	0	0	70	60	8.50	4.0 : 1	21.19
19	0	0	0	0	70	60	8.50	4.0 : 1	23.90
20	2	0	0	0	80	60	8.50	4.0 : 1	25.32
21	-2	0	0	0	60	60	8.50	4.0 : 1	15.19
22	1	1	1	-1	75	65	8.75	3.5 : 1	24.30
23	-1	1	1	1	65	65	8.75	4.5 : 1	10.18
24	-1	1	1	-1	65	65	8.75	3.5 : 1	16.76
25	1	1	-1	1	75	65	8.25	4.5 : 1	17.28
26	0	0	0	0	70	60	8.50	4.0 : 1	22.21
27	0	-2	0	0	70	50	8.50	4.0 : 1	22.70
28	0	0	0	0	70	60	8.50	4.0 : 1	19.17
29	-1	-1	1	-1	65	55	8.75	3.5 : 1	11.35
30	0	2	0	0	70	70	8.50	4.0 : 1	24.69

利用 Design-Expert 8 软件对表 2 中实验数据进行多元

回归拟合, 得到多项回归方程为 $w = -4456.77 + 3.31297A + 3.58095B + 899.92933C + 207.52783D + 0.024450AB - 0.11220AC - 0.46945AD - 0.48610BC - 0.95740BD - 1.92600CD - 0.010383A^2 + 0.024067B^2 - 50.383000C^2 - 12.763750D^2$ 。该模型的相关系数 (R^2) 为 0.9502, $P < 0.0001$, 调整 $R^2 = 0.9038$, 说明该模型拟合程度较好, 可用于分析和预测 SCP 的合成工艺。

表 3 为方差分析结果。从表 3 可以看出, 数据分析后所建立的模型回归极显著 ($P < 0.01$), 该方程的一次项 A 和 B、交互项 BD、二次项 C^2 和 D^2 极显著 ($P < 0.01$), 交互项 AD 显著 ($0.01 < P < 0.05$), 说明反应温度和反应时间是优化实验中对铁质量分数影响最显著的因素。

表 3 多元方程方差分析表
Table 3 ANOVA for the quadratic equation

变异来源	平方和	自由度	均方值	F 值	P 值	显著性
模型	856.42	14	61.17	20.46	<0.0001	**
A	146.97	1	146.97	49.16	<0.0001	**
B	28.80	1	28.80	9.64	0.0073	**
C	2.56	1	2.56	0.86	0.3697	***
D	9.51	1	9.51	3.18	0.0948	***
AB	5.98	1	5.98	2.00	0.1777	***
AC	0.31	1	0.31	0.11	0.7501	***
AD	22.04	1	22.04	7.37	0.0160	*
BC	5.91	1	5.91	1.98	0.1802	***
BD	91.66	1	91.66	30.66	<0.0001	**
CD	0.93	1	0.93	0.31	0.5858	***
A^2	1.85	1	1.85	0.62	0.4440	***
B^2	9.93	1	9.93	3.32	0.0884	***
C^2	271.98	1	271.98	90.98	<0.0001	**
D^2	279.28	1	279.28	93.43	<0.0001	**
残差	44.84	15	2.99	—	—	***
失拟项	28.99	10	2.90	0.91	0.5792	***
误差项	15.85	5	3.17	—	—	***
总和	901.26	29	—	—	—	***

注: “**” 代表差异性极显著 ($P < 0.01$); “*” 代表差异性显著 ($0.01 < P < 0.05$); “***” 代表差异性不显著 ($P > 0.05$); “—” 代表无此项数据, 下同。

2.2.2 星点设计-响应曲面分析

图 2 为采用 Design-Expert 8 软件绘制铁质量分数、时间、温度、pH 以及质量配比之间的三维曲面图。

从图 2 结合表 3 的方差分析可以看出, 质量配比与时间之间交互影响最大, 温度与质量配比之间交互影响较大, 等高线图均为椭圆形。可见 4 种因素对铁质量分数的影响均不是简单的线性关系, 因素之间的交互作用也起到重要影响。另外, 4 种因素对应的曲线中, 变化最大的是温度的曲线, 最为密集陡峭, 说明温度改变会导致铁质量分数显著变化, 其他因素对铁质量分数的影响由大到小顺序为时间>质量配比>pH。

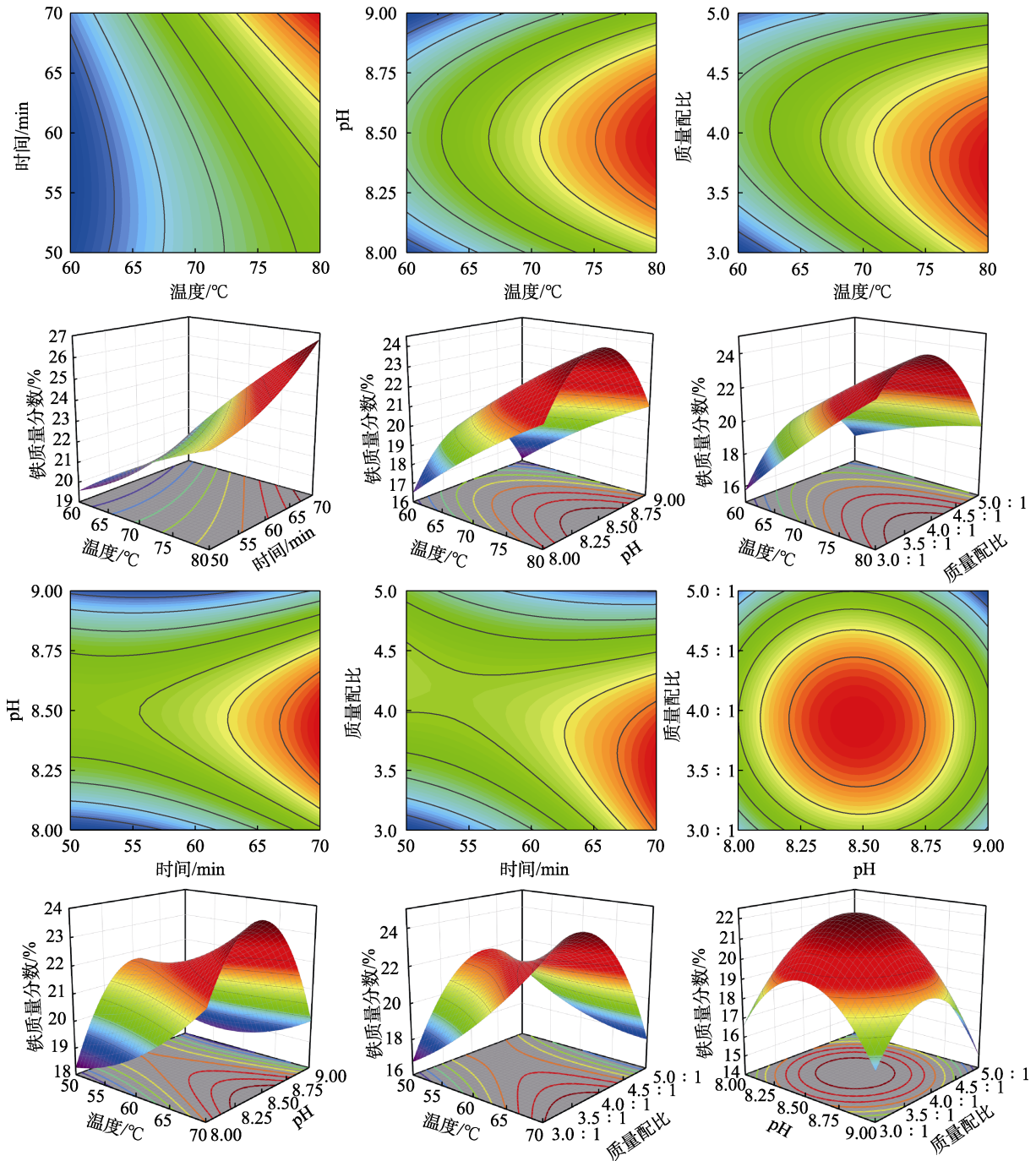


图 2 两因素交互作用对铁质量分数影响的等高线与曲面图

Fig. 2 Contour and surface plots of effect of two-factor interactions on iron mass fraction

通过对数据的处理分析,在质量配比为 3.64 : 1、时间为 64.63 min、温度为 74.95 °C、pH 为 8.53 的条件下,铁质量分数的最大预测值为 27.54%。结合实际情况,以反应温度为 75 °C、反应时间为 64.6 min、pH 为 8.5 及质量配比为 3.64 : 1 条件下进行了 3 次平行验证实验,铁质量分数为 27.89%±0.35%。预测值与实际值接近,说明该回归模型优化制备的 SCP 工艺是合适有效的。因此,应用此种工艺条件进行后续研究。

2.2.3 总糖、糖醛酸和铁质量分数分析

经计算,总糖和糖醛酸的标准曲线分别为

$y=58.4x-0.06$ ($R^2=0.9980$) 和 $y=10.17x+0.10$ ($R^2=0.9966$)。经测定,SCP 总糖和糖醛酸质量分数分别为 52.35%±0.13%和 4.93%±0.32%。

2.3 SCP 的表征

2.3.1 SEM 分析

图 3 为 SCP80 和 SCP 的 SEM 图及 SCP 的 EDS 谱图。

从图 3 可以看出,SCP80 颗粒呈不规则块状,表面粗糙,具有类似蜂窝的网状结构,粒径大小不一(图 3a、b)。SCP 呈片状结构,表面较为光滑,当 SCP80 与 Fe^{3+} 形成配合物时,颗粒变得更为密集(图 3c、d)。这些形态变化可能是由于多糖与铁的

相互作用，改变了多糖的内部结构，进而改变了多糖的形态。图 3e 展示了 SCP 的元素映射分布图像 (EDS)，其中 Fe 分布均匀，此结果说明铁元素已成功连接在多糖结构上，而其与多糖的具体结合方式仍需进一步分析。

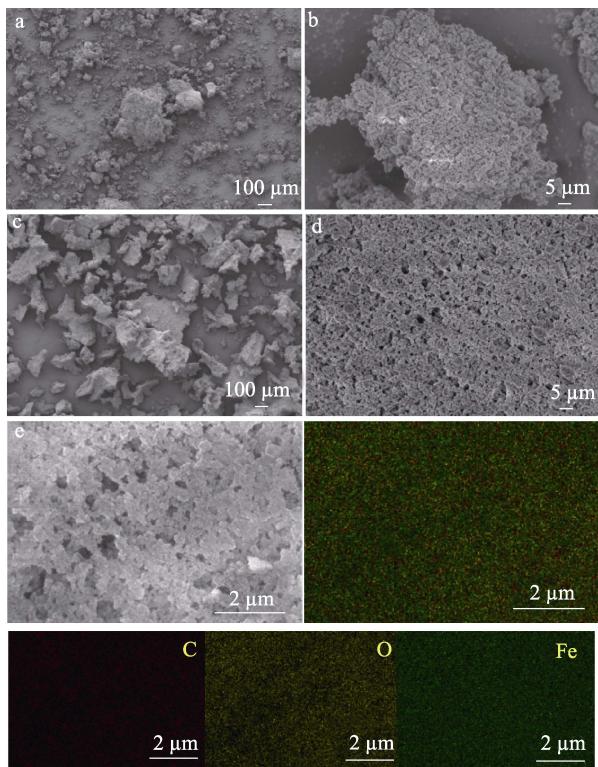


图 3 SCP80 (a、b) 和 SCP (c、d) 不同放大倍数的 SEM 图及 SCP 的 EDS 谱图 (e)

Fig. 3 SEM images of SCP80 (a, b) and SCP (c, d) at different magnifications, and EDS spectra of SCP (e)

2.3.2 XRD 分析

图 4 为 SCP80 和 SCP 的 XRD 谱图。

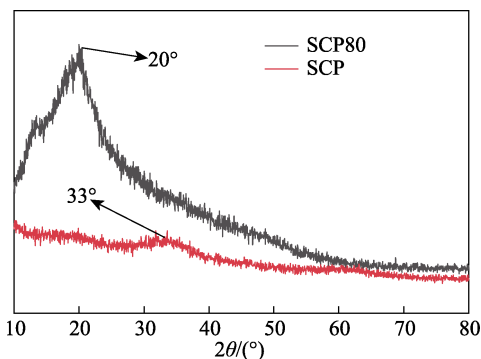


图 4 SCP80 和 SCP 的 XRD 谱图

Fig. 4 XRD patterns of SCP 80 and SCP

从图 4 可以看出，与 SCP 相比，SCP80 在 $2\theta=20^\circ$ 附近有一个明显的糖链特征峰，而 SCP 的特征衍射峰没有出现。这与 PENG 等^[29]关于金针菇多糖铁相

关实验的结论相似，主要是由于 Fe^{3+} 与 SCP80 形成配合物后， Fe^{3+} 的引入削弱了氢键相互作用，使 SCP80 的 $2\theta=20^\circ$ 峰消失。而 $2\theta=33^\circ$ 的衍射峰则进一步表明，SCP 中含有 Fe^{3+} 。

2.3.3 TG 分析

图 5 为 SCP80 和 SCP 的 TG 及 DTG 曲线。

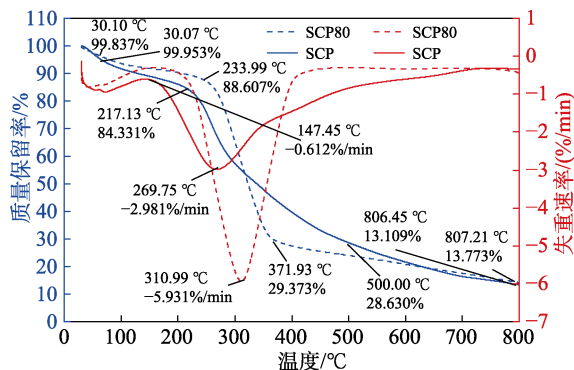


图 5 SCP80 和 SCP 的 TG 和 DTG 曲线

Fig. 5 TG and DTG curves of SCP80 and SCP

从图 5 可以看出，SCP80 和 SCP 的 TG 及 DTG 曲线存在一定的差异性，进一步说明 Fe^{3+} 的加入引起 SCP80 结构改变，进而导致热稳定性变化。SCP 的热失重曲线主要由 3 个阶段组成，第一段为 $30.07\sim 217.13^\circ C$ ，此阶段质量损失的主要是游离水，质量损失率为 15.622%，失重速率峰值温度为 $147.45^\circ C$ 。与 SCP80 相比，SCP 第一阶段的失重峰值温度前移 $16.86^\circ C$ ，质量损失率增加 4.276%；第二阶段为 $217.13\sim 500.00^\circ C$ ，质量损失率 55.701%，主要是由 SCP 中碳长链断裂造成的^[30]。相较于 SCP80，SCP 在第二阶段占据的温度范围更大，质量损失率更低。同时，第二阶段也是 SCP 失重速率最高的阶段；第三阶段为 $500.00\sim 806.45^\circ C$ ，质量损失率是 15.521%。在达到 $806.45^\circ C$ 后，SCP 质量保留率为 13.109%。可以看出，SCP 在第二阶段的温度范围 ($217.13\sim 500.00^\circ C$) 内有较好的热稳定性。以上结果说明， Fe^{3+} 通过对 SCP80 的结构和晶型的影响可以提高其热稳定性，相较于 SCP80，SCP 的热稳定性更好。

2.3.4 粒径分布分析

图 6 为 SCP80 和 SCP 的粒径分布曲线。

从图 6 可以看出，SCP80 和 SCP 的粒径主要分布在 43.8 和 164.0 nm 处。结合 SEM 分析，SCP 的粒径比 SCP80 显著增大，推测是多糖链上的羟基与 Fe^{3+} 形成了配位键，使多糖链在形成的铁核周围打开并重新结合，导致配合物粒径增大。

2.3.5 UV-Vis 吸收光谱分析

图 7 为 SCP80 和 SCP 的 UV-Vis 吸收光谱。从图 7 可以看出，SCP80 和 SCP 在波长 260 与 280 nm 处均未观测到吸收峰，说明它们的蛋白质、核酸等

物质的含量较低^[29]。SCP 在 300~400 nm 处的 UV-Vis 吸收光谱是由于 SCP80 与 Fe^{3+} 的结合增加了自身的 UV-Vis 吸收光谱强度, 表明其构建成功。并且在紫外区 (200~400 nm), 相较于 SCP80, SCP 的吸收强度明显更高, 进一步表明该配合物是由 SCP80 和 Fe^{3+} 组成的。

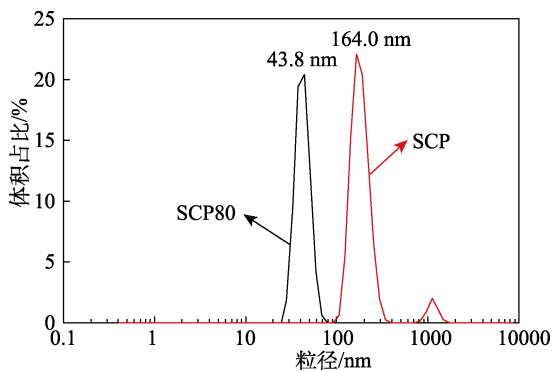


图 6 SCP80 和 SCP 的粒径分布

Fig. 6 Particle size distribution curves of SCP80 and SCP

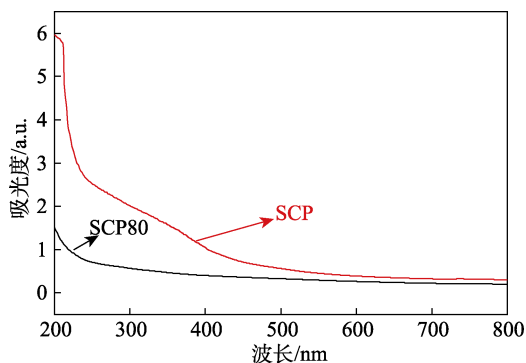


图 7 SCP80 和 SCP 的 UV-Vis 吸收光谱

Fig. 7 UV-Vis adsorption spectra of SCP80 and SCP

2.3.6 FTIR 分析

图 8 为 SCP80 和 SCP 的 FTIR 谱图。

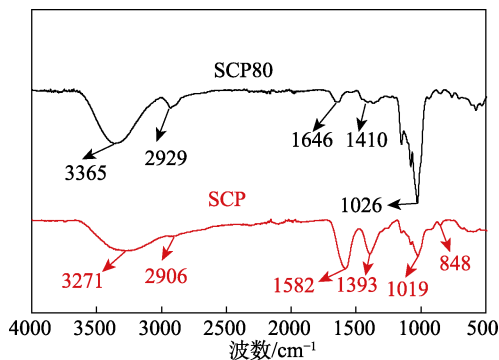


图 8 SCP80 和 SCP 的 FTIR 谱图

Fig. 8 FTIR spectra of SCP80 and SCP

从图 8 可以看出, SCP80 在 3365 cm^{-1} 处的宽特征吸收峰归属于 —OH 的伸缩振动。SCP80 分子中存在的很多羟基造成其分子内及分子间形成氢键,

SCP 中此峰红移至 3271 cm^{-1} 处, 峰强减弱, 峰宽增加。SCP 此峰的红移现象说明, SCP 中分子间氢键的结合力可能减小。SCP80 在 2929 cm^{-1} 处的吸收峰是由 C—H 的伸缩振动引起的, 而 SCP 中此峰红移至 2906 cm^{-1} 处, 且峰强减弱; SCP80 在 1646 、 1410 cm^{-1} 处分别存在由 C=O 键的伸缩振动和 —OH 的弯曲振动引发的吸收峰, 而 SCP80 的这两吸收峰分别红移至 1582 、 1393 cm^{-1} , 说明 SCP80 结构中 —OH 与 C=O 参与了络合反应; SCP80 在 1026 cm^{-1} 处的吸收峰对应吡喃环结构中 C—O 的伸缩振动, 在 SCP 中, 此峰红移至 1019 cm^{-1} 处; SCP 在 848 cm^{-1} 处的特征吸收峰是 $\beta\text{-FeOOH}$ 所特有的, 表明 SCP 中的铁以 $\beta\text{-FeOOH}$ 铁核的形式存在, 表面被 SCP80 包裹^[23]。以上结果表明, SCP80 可以通过羟基和羰基与 Fe^{3+} 发生反应, SCP 的铁核以 $\beta\text{-FeOOH}$ 的形式存在^[31]。SCP80 结构修饰前后, FTIR 谱图中特殊吸收峰未发生明显变化, 说明形成配合物后, SCP80 的基本骨架结构未被破坏。

2.4 SCP 体外抗氧化性分析

2.4.1 羟基自由基清除率分析

图 9a 为 SCP 的羟基自由基清除率测定结果。从图 9a 可以看出, 羟基自由基清除率均随着 SCP80、SCP 和 V_C 质量浓度的增加而提高。清除羟基自由基能力的次序为: $\text{V}_\text{C} > \text{SCP} > \text{SCP80}$ 。与 SCP80 相比, SCP 由于具有一定抗氧化能力 Fe^{3+} 的加入, 所以其对羟基自由基具有更好的清除能力。以质量浓度为 4.0 g/L 的 SCP 和 SCP80 为例, SCP 的羟基自由基清除率 (57.51%) 明显高于 SCP80 (33.06%)。

2.4.2 还原能力分析

图 9b 为 SCP 的还原能力测定结果。从图 9b 可以看出, SCP、 V_C 和 SCP80 都具有一定的还原能力, 三者的还原能力均随着溶液质量浓度的提高而逐渐增大, 在 $1.0\sim 4.0\text{ g/L}$ 质量浓度范围内, V_C 的还原能力明显强于 SCP 和 SCP80。SCP 和 SCP80 的曲线趋势相同且位置也较为接近, SCP 的还原能力虽然强于 SCP80, 但相差较小。

羟基自由基清除率和还原能力测试结果说明, SCP 比 SCP80 具有更好的体外抗氧化活性。

2.5 SCP 的体外降糖性能分析

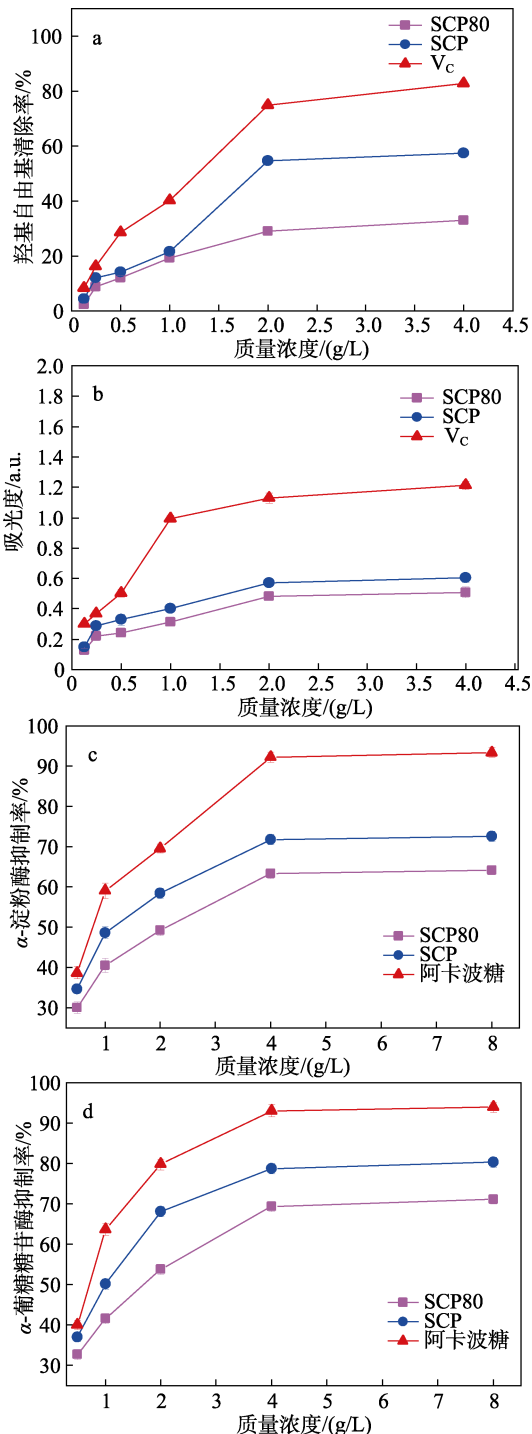
2.5.1 α -淀粉酶抑制活性分析

图 9c 为 SCP 的 α -淀粉酶抑制率。从图 9c 可以看出, α -淀粉酶抑制率均随 SCP80、SCP 和阿卡波糖质量浓度的增加逐渐升高。作为阳性对照的阿卡波糖, 其对 α -淀粉酶的抑制率最高, 其次是 SCP、SCP80。从 SCP、SCP80 的对比可以看出, 当质量浓度为 8 g/L 时, SCP 对 α -淀粉酶的抑制率为 $72.60\% \pm$

1.26%，半抑制浓度（ IC_{50} ）为 (1.20 ± 0.11) g/L，而 SCP80 对 α -淀粉酶的抑制率为 $64.10\% \pm 1.11\%$ ， IC_{50} 为 (2.08 ± 0.17) g/L。结果说明， Fe^{3+} 与 SCP80 的络合提高了 SCP80 对 α -淀粉酶的抑制率。

2.5.2 α -葡萄糖苷酶抑制活性分析

图 9d 为 SCP 的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。



a—羟基自由基清除率；b—还原能力；c— α -淀粉酶抑制率；d— α -葡萄糖苷酶抑制率

图 9 SCP 的体外抗氧化性和降糖性能

Fig. 9 *In vitro* antioxidant and hypoglycemic properties of SCP

从图 9d 可以看出， α -葡萄糖苷酶抑制率随着 SCP80、SCP 和阿卡波糖的质量浓度的增加而逐渐升高。作为阳性对照的阿卡波糖，其对 α -葡萄糖苷酶的抑制率最高，其次是 SCP、SCP80。这与 α -淀粉酶抑制测定结果（图 9c）趋势相似，当质量浓度为 8 g/L 时，SCP 和 SCP80 对 α -葡萄糖苷酶的最大抑制率和 IC_{50} 分别为 $80.30\% \pm 1.30\%$ 、 (0.92 ± 0.07) g/L 和 $71.20\% \pm 1.21\%$ 、 (1.56 ± 0.12) g/L。结果表明，SCP 对 α -葡萄糖苷酶的抑制率显著高于 SCP80 ($P < 0.05$)， Fe^{3+} 与 SCP80 的络合同样提高了 SCP80 对 α -葡萄糖苷酶的抑制率。

α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶抑制率测定结果表明，SCP 比 SCP80 具有更好的体外降糖活性。

3 结论

SCP80 与 $FeCl_3$ 共热反应生成了 SCP，通过单因素和响应面法优化了 SCP 的制备工艺，结合实际，确定了 SCP 的最佳合成工艺为反应温度 75 °C、反应时间 64.6 min、pH=8.5、SCP80 与柠檬酸三钠的质量比为 3.64 : 1。此工艺条件下得到的 SCP 为红棕色粉末，铁质量分数高达 $27.89\% \pm 0.35\%$ ，热稳定性好，几乎不含核酸、蛋白质等物质，表现出较好的体外抗氧化和降糖活性。SCP 在开发铁补充剂、抗氧化和降血糖功能食品中的利用率有望提高。此外，多糖铁络合物结构复杂，以后将采用更先进的技术和方法获得更清晰的分子结构。同时，其副作用及临床应用也有待进一步研究。

参考文献：

- [1] LI L F, ZHANG Q W, HAN Q B. Recent advances in qualitative and quantitative analysis of polysaccharides in natural medicines: A critical review[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2022, 220: 115016.
- [2] LIU G Y, YE J, LI W, *et al.* Extraction, structural characterization, and immunobiological activity of ABP Ia polysaccharide from *Agaricus bisporus*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 162: 975-984.
- [3] MAITY P, SEN I K, CHAKRABORTY I, *et al.* Biologically active polysaccharide from edible mushrooms: A review[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 172: 408-417.
- [4] MA Y Q, XIU W Y, WANG X, *et al.* Structural characterization and *in vitro* antioxidant and hypoglycemic activities of degraded polysaccharides from sweet corn cob[J]. *Journal of Cereal Science*, 2022, 108: 103579.
- [5] MA Y Q, WANG X, GAO S. Hypoglycemic activity of polysaccharides from sweet corn cob on streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Journal of Food Science*, 2017, 82(1): 208-213.
- [6] WANG Z L (王峙力), WANG X (王鑫), HAN Y (韩烨), *et al.* Preparation of selenium polysaccharide from sweet corn cob and its inhibitory effect on amylase[J]. *Packaging Engineering (包装工程)*, 2021, 42(21): 33-41.
- [7] WANG X (王鑫), WANG Z L (王峙力), XIE J N (谢静南), *et al.* Study on the inhibitory effect of sweet corn cob polysaccharides on α -amylase[J]. *Science and Technology of Food Industry (食品工业科技)*, 2021, 42(10): 48-54.

- [8] GAO X, QU H, GAO Z L, *et al.* Protective effects of *Ulva pertusa* polysaccharide and polysaccharide-iron(III) complex on cyclophosphamide induced immunosuppression in mice[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 133: 911-919.
- [9] HE H, TENG H, HUANG Q, *et al.* Beneficial effects of AOS-iron supplementation on intestinal structure and microbiota in IDA rats[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2021, 10(1): 23-31.
- [10] SHI C Y, CHENG C, LIN X T, *et al.* *Flammulina velutipes* polysaccharide-iron(III) complex used to treat iron deficiency anemia after being absorbed via GLUT2 and SGLT1 transporters[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2023, 12(5): 1828-1840.
- [11] JING Y S, ZHANG S L, LI M S, *et al.* Structural characterization and biological activities of polysaccharide iron complex synthesized by plant polysaccharides: A review[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 1013067.
- [12] JIA N, QIAO H R, ZHU W, *et al.* Antioxidant, immunomodulatory, oxidative stress inhibitory and iron supplementation effect of *Astragalus membranaceus* polysaccharide-iron(III) complex on iron-deficiency anemia mouse model[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 132: 213-221.
- [13] FENG G, ZHANG X F. Production of a codonopsis polysaccharide iron complex and evaluation of its properties[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 162: 1227-1240.
- [14] LIU T, LIU T T, LIU H C, *et al.* Preparation and characterization of a novel polysaccharide-iron(III) complex in *Auricularia auricula* potentially used as an iron supplement[J]. *BioMed Research International*, 2019, 5: 1-14.
- [15] MA Y Q, WANG X, GAO S. Hypoglycemic activity of polysaccharides from sweet corn cob on streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Journal of Food Science*, 2017, 82(1): 208-213.
- [16] DIAO H (刁欢), ZHANG J J (张娟娟), ZHAO H (赵红), *et al.* Study on chelating of microbial polysaccharides with Fe ions[J]. *Food Research and Development (食品研究与开发)*, 2020, 41(20): 115-118, 136.
- [17] LIU C Y (刘冲英), LI J (李瑾), ZHOU N (周宁), *et al.* Optimization of synthesis of *Rehmannia glutinosa* libosch polysaccharide-iron(III) by response surface method[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal (中国药学杂志)*, 2020, 55(20): 1703-1710.
- [18] ZHONG P P (钟普鹏), HU J N (胡嘉宁), HU D B (胡德宝), *et al.* Study on synthesis method of *Agaricus blazei* polysaccharide iron(III) complex[J]. *Food Science and Technology (食品科技)*, 2021, 46(3): 232-237.
- [19] PAN L (潘玲), ZHANG M (张敏), TIAN Y (田野). The effect and mechanism of *willow tea* polysaccharides on *C. elegans* motility in a hyperthermic environment[J]. *The Journal of Food Safety and Quality Testing (食品安全质量检测学报)*, 2023, 14(16): 179-186.
- [20] JING Y S (景永帅), ZHANG R J (张瑞娟), WU L F (吴兰芳), *et al.* Preparation, structural characteristics and bioactivity of polysaccharide-iron complex from *Radix Glehniae*[J]. *Food Science (食品科学)*, 2018, 39(24): 65-70.
- [21] JIANG W M (蒋文明), ZHOU S Y (周石洋). Preparation and antioxidant activity of *Aloe* polysaccharides and their derivatives[J]. *Preservation and Processing (保鲜与加工)*, 2022, 22(11): 61-68, 75.
- [22] REN G M (任广明), GUO X (郭兴), CHEN Z X (陈志新). Study on optimization of iron(III) coordination process of lentinan by response surface analysis method[J]. *Science and Technology of Food Industry (食品工业科技)*, 2014, 35(4): 251-255.
- [23] HE R X (何瑞雪), GAO W H (高文宏), ZENG X A (曾新安), *et al.* Optimization of synthesis of soluble soybean polysaccharide-iron(II) complex by response surface methodology[J]. *Food Science (食品科学)*, 2012, 33(10): 98-102.
- [24] WANG F (王峰), MA W L (马万良), HU Z X (胡振兴), *et al.* Optimization of *Gynostemma* polysaccharide-Fe complex of preparation with response surface methodology[J]. *The Food Industry (食品工业)*, 2014, 35(5): 81-86.
- [25] JING Y S, ZHANG R J, WU L F, *et al.* Structural characteristics and antioxidant activity of polysaccharide-iron complex from *Glehnia Radix*[J]. *International Journal of Food Properties*, 2020, 23(1): 894-907.
- [26] CUI J F (崔洁芬), DU C Y (杜春影), CHI Y Z (迟永洲), *et al.* Optimization of preparation process of *Enteromorpha prolifera* polysaccharide-iron and its structure characterization[J]. *Science and Technology of Food Industry (食品工业科技)*, 2018, 39(5): 161-165.
- [27] LI W F, MA H H, YUAN S, *et al.* Production of pyracantha polysaccharide-iron(III) complex and its biologic activity[J]. *Molecules*, 2021, 26(7): 1949.
- [28] FENG G, ZHANG X F. Production of a codonopsis polysaccharide iron complex and evaluation of its properties[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 162: 1227-1240.
- [29] PENG Y Y, JIANG H, WU Y F, *et al.* Preparation, characterization and antioxidant activity of a novel polysaccharide-iron(III) from *Flammulina velutipes* scraps[J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2022, 15(10): 104190.
- [30] ZHANG X F (张喜峰), CUI J (崔晶), WANG W Q (王文琴), *et al.* Preparation, antioxidant and lymphocyte proliferation activities of *Spirulina* polysaccharide iron(III) complex[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2019, 36(6): 1097-1103.
- [31] ZHANG Y, HUANG J J, SUN M J, *et al.* Preparation, characterization, antioxidant and antianemia activities of *Poria cocos* polysaccharide iron(III) complex[J]. *Heliyon*, 2023, 9(1): e12819.

(上接第 2279 页)

- [8] WANG S B, CHEN J X, SHI J, *et al.* Novel cinnamic acid derivatives containing the 1,3,4-oxadiazole moiety: Design, synthesis, antibacterial activities, and mechanisms[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(40): 11804-11815.
- [9] PARSALOVA A V, PASCHEVSKAYA N V, NIKOLAEV A A, *et al.* Coordination compounds of certain of lanthanoides with 2-furancarboxylic and 2-furylacrylic acids. Synthesis, structure, and photoluminescent properties[J]. *Russian Journal of General Chemistry*, 2022, 92(11): 2478-2485.
- [10] NARASIMHAN B, BELSARE D, PHARANDE D, *et al.* Esters, amides and substituted derivatives of cinnamic acid: Synthesis, antimicrobial activity and QSAR investigations[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2004, 39(10): 827-834.
- [11] CHENNA B C, KING J R, SHINKRE B A, *et al.* Synthesis and structure activity relationship studies of novel *Staphylococcus aureus* sortase A inhibitors[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, 45(9): 3752-3761.
- [12] JIA L, WANG Y H, WANG Y X, *et al.* Synthesis and antibacterial evaluation of novel 11-O-aralkylcarbamoyl-3-O-descladinosyl-clarithromycin derivatives[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2018, 28(14): 2471-2476.
- [13] MAHMOUD M R, EL-SHAHAWI M M, EL-AZM F S A, *et al.* Synthesis and antimicrobial activity of polyfunctionally substituted heterocyclic compounds derived from 5-cinnamoylamino-2-cyanomethyl-1,3,4-thiadiazole[J]. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2017, 54(4): 2352-2359.
- [14] KARUNA C, REDDY C V R, SYED R, *et al.* One-pot green synthesis of novel thiazolepyridine conjugated benzamides as anti-bacterial agents and their molecular modelling studies[J]. *Letters in Drug Design & Discovery*, 2022, 19(5): 440-448.
- [15] SHEN G X (沈关心). *Microbiology and Immunology*[M]. Beijing: People's Medical Publishing House (人民卫生出版社), 2007: 326-328.