

沙棘叶多糖结构表征及体内抗氧化活性分析

宋年年, 易宇欣, 张小平, 杨波, 赛那瓦尔·芒思尔, 阿衣吐逊·阿布都外力

Structural Characterization and Antioxidant Activity *in Vivo* of Polysaccharides from the Leaves of *Hippophae rhamnoides* L.

SONG Niannian, YI Yuxin, ZHANG Xiaoping, YANG Bo, SAINAWAER Mangsier, and AYITUXUN Abuduwaili

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024030085>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

铁皮石斛多糖的结构表征与抗氧化活性研究

Structural Characterization and Antioxidant Activity of *Dendrobium officinale* Polysaccharides

食品工业科技. 2024, 45(19): 32-39 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023090300>

蕨菜多糖的提取、纯化、结构表征与抗氧化活性研究

Extraction, Purification, Structural Characterization and Antioxidant Activity of Polysaccharides from Bracken

食品工业科技. 2023, 44(17): 51-58 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022090327>

沙棘多糖抗运动性疲劳及抗氧化作用的研究

Anti Exercise Fatigue and Antioxidant of Polysaccharide from *Hippophae rhamnoides*

食品工业科技. 2021, 42(10): 321-326 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020080192>

碱提砂仁多糖的结构表征及其抗氧化活性研究

Structure Characterization and Antioxidant Activity of Polysaccharides from *Amomum villosum* Extracted with Alkaline Solution

食品工业科技. 2021, 42(24): 87-93 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021040255>

硒化天麻多糖的制备、结构表征及其抗氧化活性评价

Preparation, Structure Characterization and Antioxidant Activity Evaluation of Selenized *Gastrodia elata* Polysaccharides

食品工业科技. 2024, 45(3): 18-30 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023060290>

金花葵多糖提取工艺优化及结构表征和抗氧化性研究

Optimization of Extraction Technology, Structure Characterization and Antioxidant Activity of Polysaccharide from *Hibiscus manihot* L.

食品工业科技. 2023, 44(8): 236-243 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022070030>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

宋年年, 易宇欣, 张小平, 等. 沙棘叶多糖结构表征及体内抗氧化活性分析 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(4): 59–68. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024030085

SONG Niannian, YI Yuxin, ZHANG Xiaoping, et al. Structural Characterization and Antioxidant Activity *in Vivo* of Polysaccharides from the Leaves of *Hippophae rhamnoides* L.[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(4): 59–68. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024030085

· 研究与探讨 ·

沙棘叶多糖结构表征及体内抗氧化活性分析

宋年年, 易宇欣, 张小平, 杨 波, 赛那瓦尔·芒思尔, 阿衣吐逊·阿布都外力*
(新疆农业大学化学化工学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

摘 要: 本文以新疆大果沙棘叶为研究对象, 对沙棘叶多糖 (*Hippophae rhamnoides* leaf polysaccharide, HRLP) 成分进行分离纯化、结构鉴定及体内抗氧化活性研究。通过水提醇沉法提取 HRLP, 采用 DEAE-650M 阴离子交换柱层析法制备均一多糖 (HRLP-2), 通过液相色谱、气相色谱、紫外、红外光谱、圆二色谱、刚果红实验以及部分酸水解、高碘酸氧化和 Smith 降解等方法对 HRLP-2 进行了结构鉴定, 并评价了 HRLP 的体内抗氧化活性。结果表明 HRLP-2 是由摩尔比为 10.26:49.37:3.09:2.24:4.50:30.53 的鼠李糖 (Rha)、阿拉伯糖 (Ara)、木糖 (Xyl)、甘露糖 (Man)、葡萄糖 (Glc) 及半乳糖 (Gal) 组成的均一多糖, 其中, HRLP-2 的主链可能主要由 Gal 及 Ara 组成, 末端或支链主要由 Rha、Ara 及 Glc 组成。刚果红试验结果表明 HRLP-2 具有三螺旋结构。与模型组相比, 中剂量组 HRLP 的总超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶及过氧化氢酶活力显著上升 ($P<0.05$), 丙二醛含量显著降低 ($P<0.05$)。苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色表明 HRLP 对小鼠肝及肾组织细胞及结构损伤具有保护作用。中剂量组的 HRLP 能够提高小鼠肠道菌群物种数, 促进机体短链脂肪酸合成。综上所述, HRLP 可能通过改善 D-半乳糖诱导小鼠的氧化应激水平及肠道微生物菌群而起抗氧化活性。此研究将为沙棘叶资源的综合利用及沙棘叶多糖构效关系的研究提供参考。

关键词: 沙棘多糖, 结构表征, 抗氧化活性

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)04-0059-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024030085



本文网刊:

Structural Characterization and Antioxidant Activity *in Vivo* of Polysaccharides from the Leaves of *Hippophae rhamnoides* L.

SONG Niannian, YI Yuxin, ZHANG Xiaoping, YANG Bo, SAINAWAER Mangsier, AYITUXUN Abuduwalli*

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: This paper as the leaves of Xinjiang *Hippophae rhamnoides* L. was the research object, and the isolation, structure elucidation, and antioxidant activity *in vivo* of the polysaccharides from the leaves of *Hippophae rhamnoides* L. (*Hippophae rhamnoides* leaf polysaccharide, HRLP) were performed. HRLP were extracted by water extraction and alcohol precipitation method, and homogeneous polysaccharide (HRLP-2) was obtained through DEAE-650M anion exchange column chromatography. The structure of HRLP-2 was identified based on the analysis of liquid chromatography, gas chromatography, UV, infrared spectroscopy, circular dichroism, Congo red experiment, as well as partial acid hydrolysis, periodate oxidation, and Smith degradation methods. Meanwhile, the antioxidant activity *in vivo* of HRLP was evaluated. The results showed that HRLP-2 was a homogenous polysaccharide composed of rhamnose, arabinose, xylose, mannose, glucose, and galactose with a molar ratio of 10.26:49.37:3.09:2.24:4.50:30.53. Among them, the backbone of HRLP-2 was probably composed of galactose and arabinose, while rhamnose, arabinose, and glucose were for terminals or branched chains. Congo red test results showed that HRLP-2 had a triple helix structure. Compared with the model group, the total

收稿日期: 2024-03-07

基金项目: 新疆维吾尔自治区人才发展基金“天池英才”引进计划项目; 新疆农业大学高层次人才科研培育项目 (2522GCCRC)。

作者简介: 宋年年 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能多糖的制备及其活性, E-mail: 3537809943@qq.com。

* 通信作者: 阿衣吐逊·阿布都外力 (1991-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 糖化学及生物学, E-mail: Aytursun11@126.com。

superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase activities of HRLP in the medium dose group were significantly increased ($P < 0.05$), while the content of malondialdehyde was significantly decreased ($P < 0.05$). The HE staining results indicated that HRLP had protective effect on liver and kidney tissue cells and structure damage in mice. The medium dose group of HRLP could increase the number of gut microbiota species in mice and promote the synthesis of short-chain fatty acids in the body. In a word, HRLP may exhibit antioxidant activity by improving oxidative stress and gut microbiota in D-galactose-induced mice. This study provides a reference for the comprehensive utilization of *Hippophae rhamnoides* L. resources and the structure-activity relationship of *Hippophae rhamnoides* L. polysaccharides.

Key words: *Hippophae rhamnoides* L. polysaccharide; structural characterization; antioxidant activity

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)为胡颓子科植物的干燥成熟果实,在我国有 5 个亚种,分布于我国华北、西北及四川、云南、西藏等地,主产于内蒙古及新疆^[1]。沙棘记载于中国药典 2020 年第一部,主要用于脾虚食少、食积腹痛、咳嗽痰多、跌扑淤肿等的治疗^[2]。沙棘中富含黄酮、油脂、多糖、萜类、维生素及鞣质等成分^[3-6],具有免疫调节、抗炎、抗氧化、保肝、抗衰老、抗肿瘤、改善肠道菌群等活性^[7-11]。多糖为沙棘果实及叶子的主要生物活性成分之一,李芳亮等^[12]通过分级沉淀法制备的沙棘叶多糖显出较好的自由基清除能力。Wei 等^[13]研究表明沙棘果实多糖能够降低小鼠血清中 MDA 含量、增加 SOD 及 GSH-Px 活性。氧化过程中一般会产生自由基,从而引起连锁反应,当连锁反应发生在细胞内时,其会侵蚀细胞膜,导致细胞完整性的丧失,从而成为各种疾病和衰老的根源。活性氧是机体正常氧代谢的副产物,在细胞信号转导和维持机体正常功能中起着重要作用^[14-15]。目前,来源于植物、动物和微生物的天然多糖已显示出潜在的抗氧化活性。多糖在自然界广泛存在于动物、植物及藻类等,天然的动植物多糖具有多种生物活性,已在食品、药品及化妆品行业具有广阔的应用前景。植物果实及叶中富含多糖类成分,且显出抗氧化、抗炎、免疫及肠道菌群调节等生物活性^[16-19]。

多糖的生物活性与其结构密切相关,化学结构是其生物活性的基础。多糖结构的复杂使其能够更好的传递生物信息,研究多糖构效关系,寻找其活性片段受到研究者们广泛的关注。多糖的结构与其生物活性密切相关,多糖的含量、分子量及单糖组成等均对多糖的生物活性影响较大。除此,糖苷键的链接方式、支链的链接位置、糖环的构型等也对多糖的生物活性起重要作用。有关于沙棘植物多糖的研究主要集中于其果实多糖的分离分析及活性筛选,有关副产物资源沙棘叶多糖的研究尚处于初始阶段。

目前有关于沙棘多糖的研究主要集中于其果实,除了药用部位沙棘果实外,沙棘皮渣、沙棘籽粕及叶子等副产物利用率较低,被当做废弃物丢弃,从而导致资源的浪费。关于沙棘叶多糖的研究主要集中于多糖提取工艺优化及粗提物生物活性筛选,有关其体内生物活性,尤其是抗氧化活性研究报道鲜见。基于沙棘叶多糖抗氧化活性,解析其化学结构、有望

从中发现新的抗氧化活性片段为沙棘叶多糖的推广应用具有重要意义。因此,本文基于多种经典化学方法,包括完全酸水解、部分酸水解、高碘酸氧化和 Smith 降解等结合气相色谱(GC)、高效液相色谱(HPLC)、红外吸收光谱(FT-IR)及圆二色谱(CD)等现代仪器分析方法对沙棘叶酸性均一多糖进行结构鉴定。同时,以 D-半乳糖诱导的氧化损伤小鼠为模型,评价沙棘叶多糖的抗氧化作用。文章旨在为沙棘叶多糖构效关系及药效物质基础的研究提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

SPF 级昆明小鼠 60 只,雄性,体重 18~22 g,由新疆医科大学医学动物实验中心提供,动物生产许可证号: SCXK(新)2018-0002。所有动物都被喂养在无病原体的环境中,并遵守所有适用的有关动物伦理使用的机构和政府法规;沙棘叶 购买于药材市场;DEAE-650M 购买于日本 TOSHO 公司;透析袋(3500 Da)、赤藓醇、中性树胶 购买于北京索莱宝公司;三氟乙酸 购买于上海麦克林生化科技有限公司;标准单糖 购买于上海蓝季公司;石油醚、无水乙醇、甲醇、乙二醇、乙酸酐、吡啶、氢氧化钠、盐酸羟胺等 均为分析纯,购买于天津市鑫铂特化工有限公司;刚果红、高碘酸钠、溴酚甲紫 均为分析纯,购买于天津市致远化学试剂有限公司厂;多聚甲醛、二甲苯、氯化钠、二水合磷酸二氯钠、盐酸、碘化钠、十二水合硫酸铝钾、一水合柠檬酸、冰醋酸、氨水等 均为分析纯,购买于国药集团化学试剂有限公司;伊红 γ (醇溶) 分析纯,购买于西亚试剂;苏木素 分析纯,购买于 Sigma 公司;三氟乙醛(水合) 购买于阿拉丁生化科技股份有限公司。

UV2550 型紫外分光光度计、LC-20 高效液相色谱仪、GC-2014C 型气相色谱仪、IR-Affinity1 型红外光谱仪 日本 SHIMADZU 公司;Chirascan 型圆二色谱仪 英国 Applied photophysics 公司;Multiskan FC 酶标仪 赛默飞世尔(上海)仪器有限公司;CX21 普通光学显微镜、倒置白光/荧光拍照显微镜、正置白光拍照显微镜 日本 OLYMPUS 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 预处理 沙棘叶经晒干、粉碎、过筛(100 目)

备用。按料液比为 1:5(g/mL)加入石油醚进行脱脂至石油醚层无色,抽滤,将粉末自然风干。脱脂后的粉末按料液比为 1:5(g/mL)使用 85% 的乙醇进行脱色至乙醇层颜色较淡,抽滤,将粉末自然风干,备用。

1.2.2 多糖的提取 预处理后的沙棘叶粉末在料液比 1:20 g/mL、提取温度 90 ℃、提取时间 2 h 条件下进行提取。待提取完毕,提取液冷却至室温,过滤,将上清液浓缩至原体积的 1/3,用四倍体积的无水乙醇沉淀,于 4 ℃ 放置 12 h,室温离心(5000 r/min, 10 min),沉淀复溶,冷冻干燥,得沙棘叶子多糖,命名为 HRLP。

1.2.3 多糖的分离纯化 称取 300 mg HRLP 粗多糖,溶解在 30 mL 蒸馏水中,室温离心(5000 r/min, 10 min)、过 0.45 μm 水系过滤膜,经 DEAE-650M 阴离子交换柱(36.6×207 mm)层析法进行分离纯化,分别以蒸馏水、0.2、0.4、0.6 mol/L 的 NaCl 溶液为洗脱剂进行洗脱,流速 2 mg/mL,用自动收集器收集,并用蒽酮-硫酸法检测,绘制洗脱曲线。按洗脱峰的位置收集样品,浓缩,NaCl 溶液洗脱部位经透析(截留量 3500 Da)48 h 再冻干。

1.2.4 多糖的结构鉴定

1.2.4.1 单糖组成的测定 按照本课题组前期研究报道测定 HRLP-2 的单糖组成方法进行测定^[20]。分别称取 5 mg 鼠李糖(Rha)、阿拉伯糖(Ara)、木糖(Xyl)、甘露糖(Man)、葡萄糖(Glc)及半乳糖(Gal)标准品,分别加入 8 mg 盐酸羟胺及 0.5 mL 吡啶,于 90 ℃ 水浴反应 30 min。取出,冷却至室温,分别加入 0.5 mL 乙酸酐,于 90 ℃ 水浴反应 30 min。待反应完毕,将反应液吹干,加入 1 mL 三氯甲烷,过 0.22 μm 有机系滤膜,供气相色谱检测。称取 5 mg HRLP-2,加入 3 mL 三氟乙酸(2 mol/L),于 120 ℃ 水解 6 h。待水解完毕,加入 3~4 mL 甲醇将溶液旋干,重复三次。按照单糖标准品衍生化方法进行衍生化,供气相色谱检测。气相色谱条件:进样口温度 270 ℃、检测器温度 250 ℃、进样量 2 μL、程序升温条件如下:160 ℃ 保持 3 min,以 3 ℃/min 的速率加热到 190 ℃,保留 3 min,最后以 2 ℃/min 的速率加热到 230 ℃,保留 10 min。

1.2.4.2 纯度测定 配制浓度为 2 mg/mL 的 HRLP-2 水溶液,过 0.22 μm 水系滤膜,备用。通过配备 TSK-GEL G4000 PWxL(300 mm×7.8 mm, i.d.)色谱柱及 RID-10A 示差检测器的 HPLC 进行测定。流动相为超纯水,用流动相平衡柱子,流速 0.6 mL/min,柱温 25 ℃,进样体积 20 μL。

1.2.4.3 紫外及红外吸收光谱 配制浓度为 1 mg/mL 的 HRLP-2 水溶液,通过紫外分光光度计进行其在 200~400 nm 范围内的全波长扫描。取少许 HRLP-2,加入适量溴化钾进行压片,通过红外吸收光谱仪测定 4000~500 cm⁻¹ 范围内的红外谱图。

1.2.4.4 圆二色谱 配制浓度为 2 mg/mL 的 HRLP-2 的 PBS(磷酸缓冲溶液, pH5.4, 0.2 mmol/L)溶液,离心,取上清,通过圆二色谱仪测定样品溶液在 180~260 nm 范围内的吸收情况。

1.2.4.5 刚果红试验 配制浓度为 2 mg/mL 的 HRLP-2 水溶液,准确量取 6 份 1 mL 的溶液于离心管中,加入 1 mL 刚果红试剂(0.2 mmol/L)和不同体积的 NaOH 溶液(1 mol/L),使溶液中 NaOH 的最终浓度分别为 0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、0.05 mol/L,室温反应 5 min。用紫外分光光度计测定反应液在 400~700 nm 范围内的最大吸收波长(λ_{\max})。以 NaOH 浓度为横坐标, λ_{\max} 为纵坐标绘制 HRLP-2 刚果红络合物的 λ_{\max} 随着 NaOH 浓度变化的曲线^[21]。

1.2.4.6 部分酸水解 20 mg HRLP-2 溶解在 4 mL 三氟乙酸(0.2 mol/L)中,于 110 ℃ 水解 2 h。待水解完毕,加入 3~4 mL 甲醇将溶液旋干,重复三次。加水复溶,透析 24 h(截留量 3500 Da),分别收集透析袋内外溶液,浓缩,冻干,按照 1.2.4.1 单糖衍生化方法进行衍生化,供气相色谱检测^[22]。

1.2.4.7 高碘酸氧化及 Smith 降解 配制浓度为 30 mmol/L 的高碘酸钠溶液(现配现用),取 100 μL 定容至 25 mL,测定其在 223 nm 处的吸光度,吸光度大于 0.6 即可使用。准确量取 0.5、1、1.5、2、4 mL 的高碘酸钠标准溶液于离心管中并加水至 4 mL,分别取 100 μL 定容至 25 mL,测定 223 nm 处的吸光度,以高碘酸钠浓度为横坐标,溶液吸光度为纵坐标绘制标准曲线($Y=7.6269X-0.0091$, $R^2=0.9994$)。25 mg HRLP-2 溶解在 12.5 mL 30 mmol/L 的高碘酸钠标准溶液中,用蒸馏水定容至 25 mL 的棕色容量瓶中。每隔 6 或 12 h 取 100 μL 溶液定容至 25 mL 测定吸光度,至达到平衡,按照高碘酸钠标准曲线测定高碘酸的消耗量。待吸光度稳定,加 2 mL 乙二醇终止反应。取 2 mL 上述溶液,加 100 μL 溴酚甲紫,用已标定浓度的 NaOH 溶液(0.00495 mol/L)进行滴定,计算甲酸生成量。将高碘酸氧化产物透析 24 h(截留量 3500 Da),取出后加入 30 mg 硼氢化钠室温反应 12 h,待反应结束将 pH 调至 5.5,透析 48 h(3500 Da),冻干,衍生化后供气相色谱检测^[23]。

1.2.5 动物实验

1.2.5.1 动物分组及样品采集 将 60 只健康昆明雄性小鼠随机分为 6 组,每组 10 只,分别为空白组、模型组、V_C 阳性对照组、沙棘多糖低剂量组(100 mg/kg·BW)、沙棘多糖中剂量组(200 mg/kg·BW)以及沙棘多糖高剂量组(400 mg/kg·BW)(本实验建模参考文献[24])。适应性喂养 5 d 后,空白组每天腹腔注射生理盐水(0.1 mL/10 g),给药组和模型组每天腹腔注射 D-半乳糖(1000 mg/kg·BW)。空白组和模型组小鼠每天灌胃生理盐水(0.1 mL/10 g),阳性对照组

每天灌胃 V_C (100 mg/kg·BW), 沙棘多糖低、中、高剂量组每天灌胃沙棘多糖溶液, 连续 30 d, 每 3~5 d 称一次体重。末次给药, 禁食不禁水 16 h, 利用摘眼球采血法收集血清, 室温静置 3 h, 5000 r/min 离心 20 min 分离血清, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.2.5.2 脏器指数的测定 30 d 后, 对小鼠称重记为终末体重, 收集完血清处死解剖。摘除肝、肾、心、脑、脾, 并用生理盐水冲洗, 吸干水分后称重, 按下式(1)计算各脏器指数。

$$\text{脏器指数}(\%) = \frac{\text{脏器质量}}{\text{小鼠体重}} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

1.2.5.3 沙棘多糖对血清抗氧化指标的影响 取小鼠血清, 按 ELISA 试剂盒操作说明书测定小鼠血清中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)活力及丙二醛(MDA)含量。

1.2.5.4 组织病理切片 处死小鼠后, 取部分肝脏和肾脏, 用甲醛进行固定。经过乙醇梯度脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、切片机切片等步骤后, 使用常规的苏木精-伊红(HE)染色进行处理。最终, 将切片放在中性树脂中封存, 并在显微镜下观察并拍照记录。观察沙棘叶粗多糖对小鼠肝脏和肾脏组织形态的影响。

1.2.5.5 沙棘多糖对小鼠肠道菌群的影响 肠粪便放于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待后续检测肠道微生物及短链脂肪酸(SCFAs)。将准备好的空白组(Control)、低、中、高药物组和阳性对照的样品进行 DNA 提取, 根据保守区设计得到引物, 在引物末端加上测序接头, 进行 PCR 扩增并对其产物进行纯化、定量和均一化形成测序文库, 建好的文库先进行文库质检, 质检合格的文库用 Illumina NovaSeq 6000 进行测序, 由北京百迈客生物科技有限公司进行肠道微生物及 SCFAs 相关指标的检测。

1.3 数据处理

通过 Origin 2021 对数据进行绘图和处理。每次试验设置三组平行实验, 数据以平均值 \pm 标准偏差表示。采用 One-Way ANOVA 进行显著性分析, 显著性水平(P)设为 0.05, $P<0.05$ 为显著, $P<0.01$ 为极显著。

2 结果与分析

2.1 沙棘多糖的分离纯化及组成分析

沙棘叶多糖经分离纯化后得到了一种中性多糖和一种酸性多糖(图 1A), 命名为 HRLP-1 和 HRLP-2, 按产率选择 HRLP-2 对其进行结构初探。经 HPGPC 法检测得出一个对称吸收峰(图 1B), 说明 HRLP-2 为均一多糖, 其由摩尔比为 10.26:49.37:3.09:2.24:4.50:30.53 的 Rha、Ara、Xyl、Man、Glc 及 Gal 组成。

Liu 等^[25]报道经水提醇沉(料液比 1:60 g/mL、

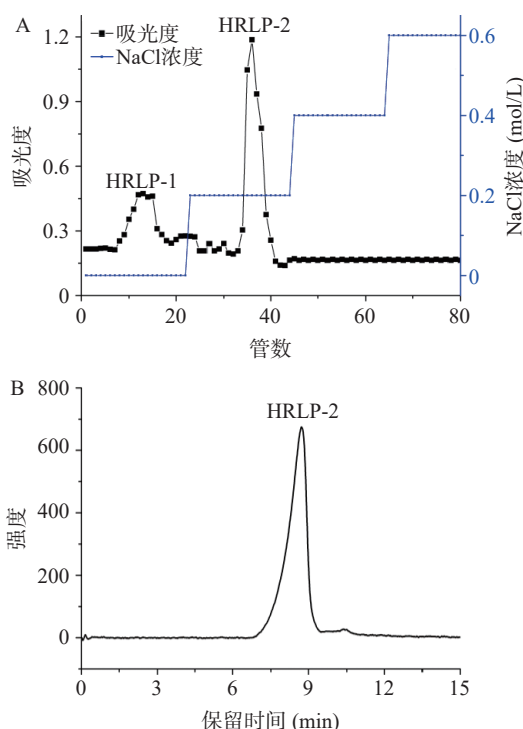


图1 HRLP 的 DEAE-650M 洗脱曲线(A)及 HRLP-2 的 HPGPC 图(B)

Fig.1 DEAE-650M elution curve of HRLP (A) and HPGPC spectrum of HRLP-2

提取时间 4 h、温度 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$) 及 DEAE 纤维素阴离子交换柱层析法从沙棘叶粗多糖中分离得到了 6 种组分, 主要由 Man、Rha、Gal、Ara 及 Glc 组成, 含有少量的 Xyl、氨基葡萄糖、核糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸及岩藻糖等组成, 其中主要组成为 Glc、Gal 及 Ara。与本文相比, HRLP-2 的主要单糖为 Ara、Gal 及 Rha。虽然经不同方法制备的沙棘多糖的主要单糖种类一致, 但各单糖摩尔比差距较大, 其可能是因不同的提取分离条件引起的。魏晨业等^[26]通过超声辅助提取法及 DEAE-52 阴离子交换柱层析法对沙棘果实多糖进行分离纯化得到了三种均一多糖; 经 GC-MS 分析得出三种纯化后的沙棘多糖组分由不同摩尔比的 Ara、Xyl、Man、Glc 及 Gal 组成, 由于单糖组成的不同三者显出不同强弱的抗氧化活性。田晓艳等^[27]通过醇沉及 DEAE-Sephadex A-50 柱层析法对沙棘果实多糖进行分离纯化得到了一种均一多糖组分, 其由摩尔比为 1:1.06:1.13 的 Xyl、Man 及 Glc 组成。结果表明沙棘植物的不同部位之间单糖组成差距较大, 可知同种药材不同部位及提取分离方法等均对多糖结构有较大的影响。同时, 单糖组成直接影响多糖的结构, 从而导致显出不同的生物活性。研究报道显示单糖种类与多糖的抗氧化活性紧密相关^[28-29], Tang 等^[30]发现多糖的抗氧化活性与 Ara、Glc 及 Xyl 的相关, 沙棘果实多糖得到了同样的结果。

2.2 沙棘多糖的结构表征

2.2.1 紫外及红外吸收光谱结果 经紫外全波长扫

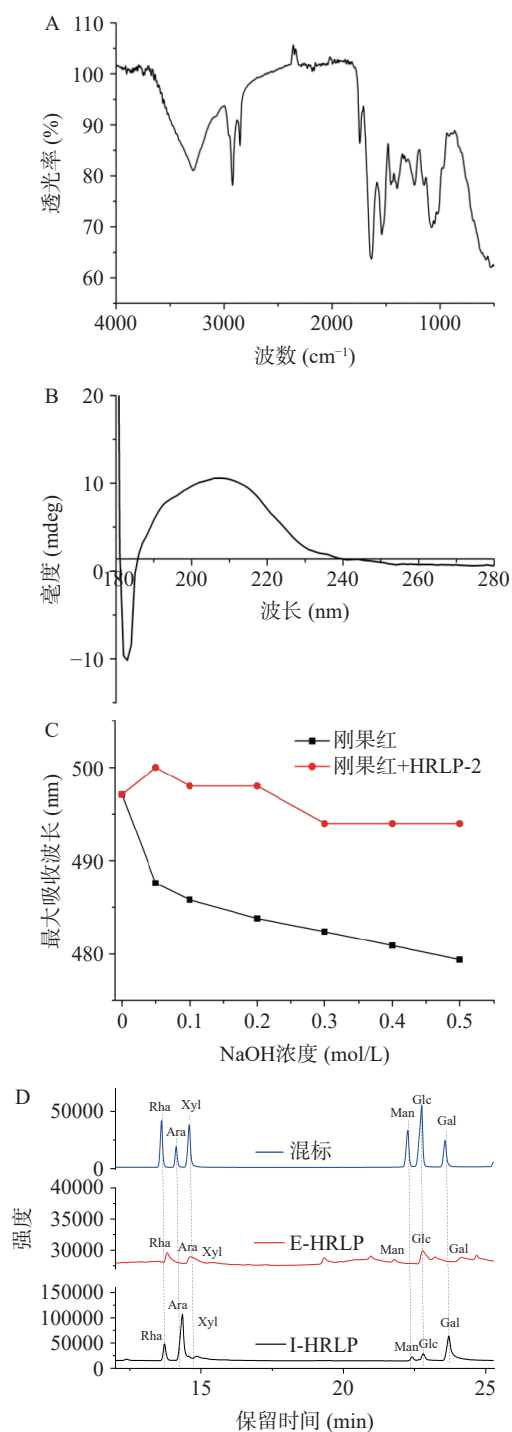


图 2 HRLP-2 结构表征图

Fig.2 Structural characterization spectra of HRLP-2

注: A: FT-IR 图; B: CD 图; C: 刚果红试验; D: 部分酸水解 GC 图。

描可知, HRLP-2 在 280、220 nm 处无吸收峰, 表明不含蛋白质及肽或含量较低。HRLP-2 在 4500~500 cm^{-1} 范围内显出典型的红外吸收峰(图 2A)。其中, 3280 cm^{-1} 附近的峰因羟基 O-H 伸缩振动而引起, 2900 cm^{-1} 附近的吸收峰为 $-\text{CH}_3$ 的 C-H 伸缩振动峰^[31]。1745 cm^{-1} 处的吸收峰为 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动峰, 表明 HRLP-2 糖醛酸的存在^[32], 1630 cm^{-1} 附近的吸收峰为糖类水合振动峰, 1200~1000 cm^{-1} 范围内的 3 个弱吸收峰表明 HRLP-2 是吡喃多糖, 830 及 920 cm^{-1} 处的吸收峰表明 HRLP-2 中均存在 α

及 β 型糖苷键^[33-34]。

2.2.2 圆二色谱结果 圆二色谱(CD)可用于检测具有光学活性基团的生物大分子的二级结构^[35]。一般, 糖类物质对紫外光没有吸收特性, 在 CD 谱谱图上没有明显的 Cotton 效应。然而, 多糖在远紫外光区, 尤其是 190 nm 附近有较强的吸收峰, 同时由于多糖在水溶液中分子间的相互作用而呈现折叠、翻转、缠绕和无规则形态, 因此也会产生不对称性, 从而导致 Cotton 效应^[36]。HRLP-2 的 CD 图如图 2B 所示, 其在 206 及 182 nm 附近各有一个强度较大的正负 Cotton 效应, 说明其具有光学活性。

2.2.3 刚果红试验结果 在不同 NaOH 浓度下, HRLP-2 刚果红络合物的 λ_{max} 变化如下图 2C 所示。分子结构中含有三螺旋结构的多糖在碱性条件下与刚果红试剂反应形成络合物, 且该络合物的 λ_{max} 会发生红移^[37]。如图所示, 与刚果红相比, HRLP-2 的 λ_{max} 均往长波方向移动, 出现了红移, 且随着氢氧化钠浓度的升高, λ_{max} 逐渐降低, 表明其含有三螺旋结构, 并随着氢氧化钠浓度的升高三螺旋结构被破坏。研究表明, 具有三螺旋结构的多糖具有较为显著的生物活性^[38], 沙棘叶多糖的三螺旋结构可能说明其具有潜在的生物活性。

2.2.4 部分酸水解结果 通过部分酸水解可初步判断糖链中位于支链、末端及主链的单糖种类。HRLP-2 的透析袋内部分别进行单糖组成分析, 结果如图 2D 所示, HRLP-2 的透析袋内部(I-HRLP-2)由摩尔比为 16.02:42.67:1.37:3.07:4.31:32.56 的 Rha、Ara、Xyl、Man、Glc 及 Gal 组成, 主要是 Ara 及 Gal。透析袋外部(E-HRLP-2)由摩尔比为 27.95:33.11:33.59:5.35 的 Rha、Ara、Glc 及 Gal 组成, 主要组成单糖为 Rha、Ara 及 Glc, 且袋外部分未发现 Xyl 及 Man。通过以上的结论可初步推出 HRLP-2 的主链主要由 Gal 及 Ara 组成, 末端或支链主要由 Rha、Ara 及 Glc 组成。

2.2.5 高碘酸氧化及 Smith 降解结果 当 HRLP-2 与高碘酸反应 60 h 后吸光度基本稳定($\text{OD}_{223}=0.360$), 进一步使用已标定好的 NaOH 溶液进行滴定, 得到 HRLP-2 被高碘酸氧化过程中所消耗的高碘酸量与甲酸的生成量 0.075 mmol 与 0.021 mmol。甲酸的生成表明 HRLP-2 中存在 1 \rightarrow 或 1 \rightarrow 6 等既能消耗高碘酸又能生成甲酸的糖苷键。同时, HRLP-2 中高碘酸的消耗量与甲酸的生成量比例远远大于 2, 说明可能含有 1 \rightarrow 2、1 \rightarrow 2,6、1 \rightarrow 4、1 \rightarrow 4,6 等大量消耗高碘酸而不生成甲酸的糖苷键。HRLP-2 的 Smith 降解产物单糖组成结果显示其中含有甘油、赤藓醇、Ara、Gal 等, 甘油及赤藓醇的生成说明 HRLP-2 中可能含有 1 \rightarrow 、1 \rightarrow 6、1 \rightarrow 2、1 \rightarrow 2,6、1 \rightarrow 4、1 \rightarrow 4,6 等糖苷键; Ara 及 Gal 等中性糖的存在表明 HRLP-2 中有一部分糖残基可能以不被高碘酸氧化的糖苷键

形式存在的,如 1→3、1→3,6 等^[39]。

2.3 沙棘叶多糖的抗氧化活性

2.3.1 HRLP 对小鼠体重变化的影响 体重能够在一定程度上反映出生物体的健康状况,样品饲喂期间各组小鼠的体重变化如图 3 所示。经测定小鼠体

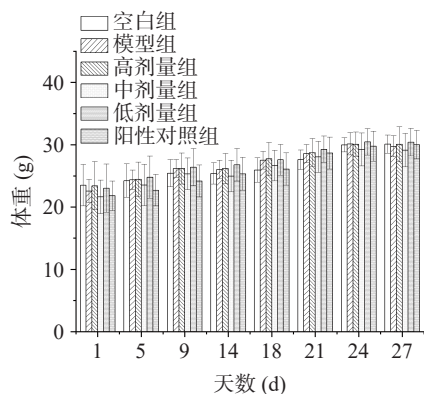


图 3 HRLP 对小鼠体重的影响

Fig.3 Effects of HRLP on mice body weight

重,发现其体重持续增加,各组试验小鼠体重的变化保持接近状态,无显著性差异($P>0.05$)。结果表明 HRLP 能够有效改善 D-半乳糖诱导的氧化损伤小鼠体重下降的情况。

2.3.2 HRLP 对小鼠脏器指数的影响 脏器指数可用以评估动物的功能状态,反映实验动物的环境适应度、生理状况和生长发育阶段等,为实验动物重要的生物学特性。各组小鼠给药后对脏器指数的影响如表 1 所示。与空白组相比,模型组小鼠的各脏器指数均下降,说明 D-半乳糖导致小鼠肝、肾、心、脾和脑等脏器的萎缩,造模成功。给药处理后,阳性对照组及高、中剂量 HRLP 组小鼠各脏器指数均有不同程度的上升,尤其是对脾脏及脑的影响较为显著($P<0.05$)。结果表明 HRLP 能够改善 D-半乳糖诱导的氧化损伤小鼠器官损伤的情况。

2.3.3 HRLP 对血清抗氧化指标的影响 HRLP 对 D-半乳糖诱导的氧化损伤小鼠的影响如图 4 所示。与空白组相比,模型组小鼠血清中 SOD、GSH-Px 活

表 1 HRLP 对小鼠脏器指数的影响

Table 1 Effects of HRLP on mice organ index

组别	肾脏	脾脏	心脏	脑	肝脏
空白组	1.60±0.23 ^a	0.15±0.02 ^b	0.49±0.04 ^a	1.49±0.16 ^a	4.39±0.45 ^a
模型组	1.49±0.16 ^a	0.14±0.02 ^b	0.47±0.02 ^a	1.23±0.20 ^b	3.86±0.17 ^a
高剂量组	1.59±0.09 ^a	0.22±0.04 ^a	0.52±0.11 ^a	1.31±0.16 ^a	3.98±0.28 ^a
中剂量组	1.57±0.13 ^a	0.22±0.04 ^a	0.56±0.10 ^a	1.37±0.22 ^a	3.87±0.26 ^a
低剂量组	1.42±0.06 ^b	0.21±0.05 ^a	0.52±0.09 ^a	1.21±0.19 ^b	3.78±0.18 ^a
阳性对照组	1.53±0.11 ^a	0.24±0.03 ^a	0.58±0.08 ^a	1.27±0.08 ^{ab}	3.93±0.29 ^a

注: 同一列不同字母表示有显著差异($P<0.05$)。

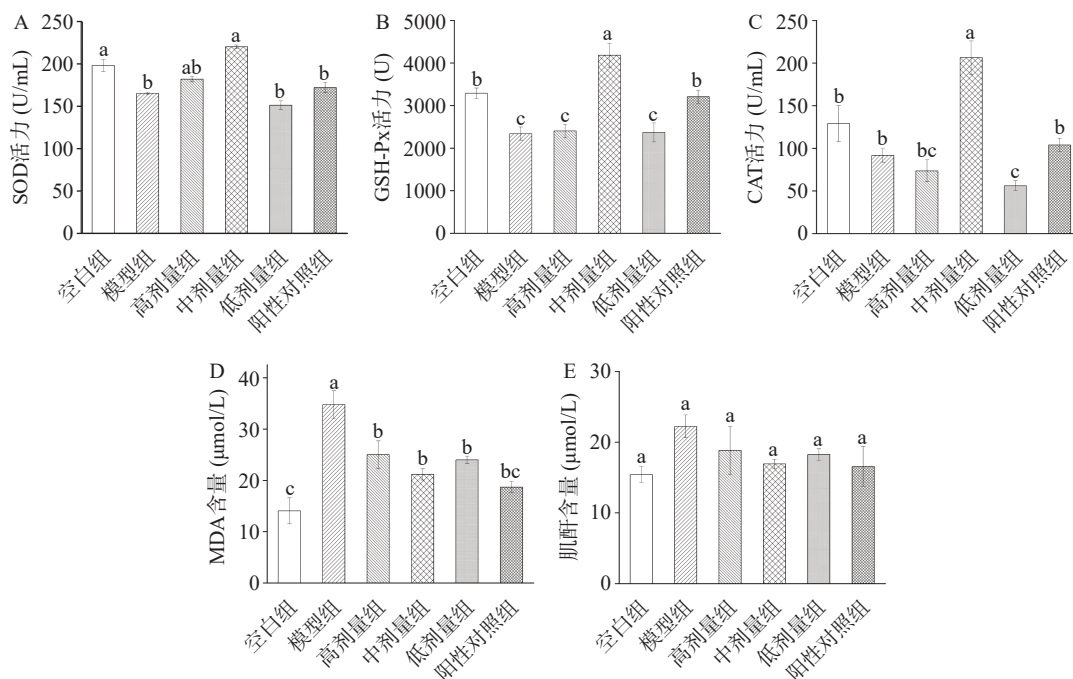


图 4 HRLP 对血清抗氧化指标的影响

Fig.4 Effects of HRLP on the serum antioxidant indicators

注: A: SOD 活力; B: GSH-Px 活力; C: CAT 活力; D: MDA 含量; E: 肌酐含量; 不同字母表示有显著差异($P<0.05$), 图 8 同。

力及 CAT 含量均显著降低($P<0.05$),MDA 含量显著上升($P<0.05$),说明氧化损伤模型建模成功。经给药处理后阳性对照组及中剂量的 HRLP 组均能升高小鼠血清中 SOD、GSH-Px 活力和 CAT 含量,降低 MDA 含量。本实验结果表明,HRLP 作用于 D-半乳糖诱导的氧化损伤小鼠模型动物后,小鼠血清中 SOD、GSH-Px、CAT 及 MDA 水平的变化说明 HRLP 通过改善酶活性增强细胞稳定性,表现出对衰老动物的抗氧化作用。包晓玮等^[40] 研究报道显示沙棘果实多糖能够改善 D-半乳糖致衰老小鼠血清中 SOD、GSH-Px 及 MDA 含量,从而显出较好的抗氧化作用。本实验结果同样表明作为沙棘植物副产物的沙棘叶多糖也表现出较好的抗氧化活性,为沙棘资源的充分利用和科学应用提供技术支撑。

2.3.4 HRLP 对小鼠肾脏功能的影响 肌酐(Cr)是肌肉代谢产物,主要通过肾脏排泄,当肾功能不全或功能异常时 Cr 含量将升高。因此,可通过血清 Cr 值反映肾脏的功能状态。HRLP 对小鼠血清肾脏功能的影响如图 4E 所示。建模后,与空白组小鼠血清 Cr 含量相比,模型组小鼠血清 Cr 含量小幅度上升,说明 D-半乳糖诱导后小鼠的肾脏功能受到一定的影响。经给药处理后,虽然并未达到空白组血清中 Cr 含量,但阳性对照组及不同剂量的 HRLP 组均能不同程度地降低小鼠血清 Cr 含量,相互之间无统计学意义($P>0.05$)。

2.3.5 HRLP 对小鼠小鼠肝、肾脏组织形态的影响 小鼠肝脏组织 HE 染色结果如图 5 所示,空白组小鼠(图 5a)肝细胞核大而圆,并位于细胞中央,肝细胞形态完整,中央静脉无明显异常,肝索有规律的整齐排列,肝血窦无扩张^[41];模型组小鼠(图 5b)肝细胞形态出现异常,肝细胞变大,胞核增大,染色增强,且出现

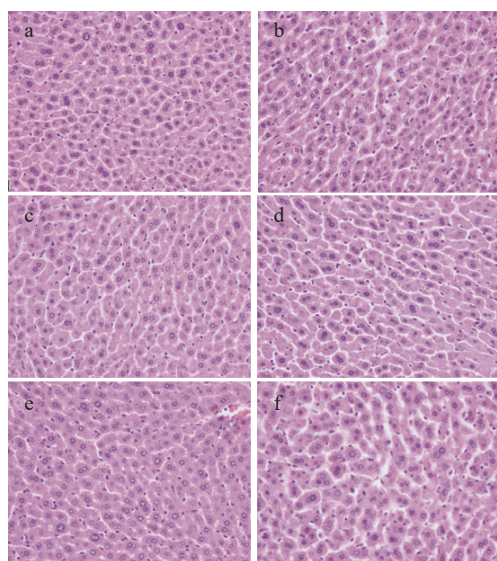


图 5 D-半乳糖损伤小鼠肝脏的 HE 染色图(400×)

Fig.5 HE staining of liver in D-galactose damaged mice (400×)

注: a: 空白组; b: 模型组; c: 阳性对照组; d: 高剂量组; e: 中剂量组; f: 低剂量组, 图 6 同。

明显的双核肝细胞,肝细胞之间连接松散,肝血窦扩张明显;而经过 V_C 处理的小鼠(图 5c)和高剂量组小鼠(图 5d)肝索排列整齐紧密,少量肝细胞可见双核,肝血窦扩张明显缩小;中剂量组小鼠(图 5e)和低剂量组小鼠(图 5f)对比模型组小鼠肝细胞肿胀也有轻微缓解,胞核染色恢复正常,核结构较清晰。结果表明,沙棘叶粗多糖能够缓 D-半乳糖诱导的衰老模型小鼠的肝脏组织病变现象^[42]。

小鼠肾脏组织 HE 染色结果如图 6 所示,空白组小鼠(图 6a)肾小球大小、形态正常,肾小管未见异常,球囊间隙适中,未发现炎细胞浸润;模型组小鼠(图 6b)部分肾小球肿胀,部分肾小球缩小,但球囊间隙都基本消失,管腔狭窄,核密度增高,结构不清晰,出现明显病变现象;而经过 V_C 处理的小鼠(图 6c)和高剂量组小鼠(图 6d)肾小管上皮细胞未见明显肿胀,管腔正常,肾小球大小、形态未见异常,病变现象明显改善;中剂量组小鼠(图 6e)和低剂量组小鼠(图 6f)对比模型组小鼠管腔缩小明显,肾小管肿胀程度缓解,病变现象得到改善^[43]。结果表明,沙棘叶粗多糖能够缓 D-半乳糖诱导的衰老模型小鼠的肾脏组织病变现象。

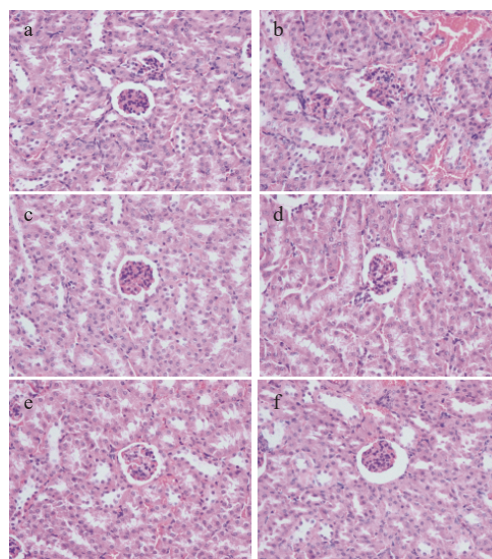


图 6 D-半乳糖损伤小鼠肾脏的 HE 染色图(400×)

Fig.6 HE staining of kidney in D-galactose damaged mice (400×)

2.3.6 HRLP 对小鼠肠道菌群多样性及丰富度的影响

2.3.6.1 ASV/OUT 花瓣图分析 花瓣图中的每一个椭圆代表一组的样本,中间重叠区域为所有组共有的 ASV/OUT。如图 7 所示,空白组、模型组、高、中、低剂量组及阳性对照组的 ASV/OUT 数目分别为 277、139、256、486、394 及 320,所有组共有的 ASV/OUT 数目为 77。与空白组相比,模型组的 ASV/OUT 的数量下降,表明 D-半乳糖诱导造成了小鼠机体内肠道菌群发生了显著的变化;经 HRLP

及阳性对照干预后使各组 ASV/OUT 数目均上升,其中,中剂量组的 ASV/OUT 数目最高,说明该组中肠道菌群丰富度最高。

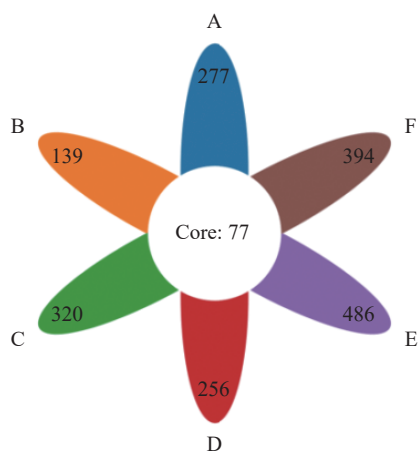


图 7 OUT Venn 图

Fig.7 OUT Venn diagram

注: A: 空白组; B: 模型组; C: 阳性对照组; D: 高剂量组; E: 中剂量组; F: 低剂量组。

2.3.6.2 HRLP 对小鼠肠道菌群 α -多样性分析 α -多样性反映的是单个样品物种丰富度及物种多样性,有多种衡量指标: Chao1、ACE、Shannon、Simpson、Coverage、PD whole tree 等。Chao1 和 ACE 指数衡量物种丰富度即物种数量的多少。Shannon 和 Simpson 指数用于衡量物种多样性,受样品群落中物种丰富度和物种均匀度的影响。如图 8 所示,与空白组相比,模型组的物种丰富度(Chao1 和 ACE)及物种多样性(Simpson)均降低,但无统计学意义($P>0.05$),而物种多样性(Shannon)呈显著下降趋势($P<0.05$),表明 D-半乳糖的诱导降低了小鼠肠道微生物群落的 α -多样性。经 HRLP 及阳性对照干预后,均发生不同程度的变化。其中,中剂量组小鼠的丰富度及多样性均高于模型组;然而,高剂量组小鼠的 Chao1 和 ACE 显著低于模型组,Shannon 指数显著高于模型组($P<0.05$)。同时,统计了覆盖率(Coverage),均为 0.9999,其数值越高,则样本中物种被测出的概率越高,而没有被测出的概率越低,该指数反映本次测序结果是否代表了样本中微生物的真实情况。以上结

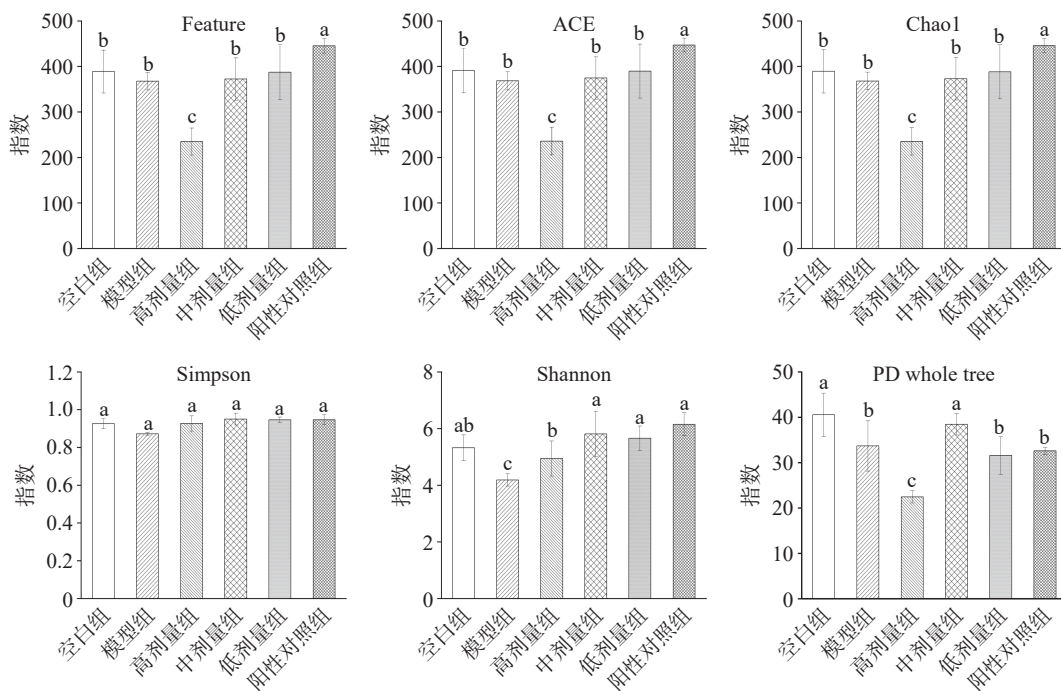


图 8 小鼠肠道菌群 α -多样性分析

Fig.8 Analysis of α -diversity of intestinal microflora in mice

表 2 HRLP 对 SCFAs 的影响

Table 2 Effect of HRLP on SCFAs

种类	空白组	模型组	高剂量组	中剂量组	低剂量组	阳性对照组
乙酸	1327.46±40.56 ^a	610.36±140.72 ^{bc}	733.64±39.22 ^b	1230.13±79.15 ^a	839.99±15.97 ^b	744.19±108.68 ^b
丙酸	381.77±38.86 ^a	331.14±38.50 ^a	249.98±54.06 ^a	437.08±25.22 ^a	363.45±145.27 ^a	288.64±141.94 ^a
异丁酸	66.81±11.46 ^a	46.23±6.44 ^a	25.74±3.27 ^a	81.13±9.99 ^a	61.28±33.61 ^a	46.75±17.29 ^a
丁酸	740.37±103.05 ^a	213.39±93.11 ^b	412.47±91.30 ^a	836.41±0.65 ^a	632.98±95.34 ^a	232.97±145.50 ^b
异戊酸	69.34±9.27 ^a	38.21±7.98 ^b	35.92±12.06 ^b	93.91±5.03 ^a	38.39±21.03 ^b	54.67±21.58 ^c
戊酸	95.76±6.34 ^a	49.45±17.33 ^b	54.18±5.71 ^b	136.99±13.79 ^a	45.35±19.89 ^b	40.57±14.05 ^b

注: 同一行内不同字母表示有显著差异($P<0.05$)。

果说明不同剂量组的 HRLP 对小鼠肠道菌群的丰富度及多样性有不同的影响, 中剂量组的 HRLP 可提高小鼠肠道菌群丰富度($P>0.05$)及多样性($P<0.05$)。

2.3.7 HRLP 对小鼠粪便中 SCFAs 的影响 SCFAs 是肠道微生物的主要产物, 对维持肠道健康至关重要。HRLP 对 D-半乳糖诱导的氧化损伤小鼠粪便中 SCFAs 的影响结果如表 2 所示。各组小鼠粪便中乙酸、丁酸及丙酸的含量较高, 且显著高于异丁酸、异戊酸和戊酸($P<0.05$)。研究表明乙酸能够通过激活 G 蛋白偶联受体调节肠道菌群环境, 并能够作为周围组织的能量来源^[44], 丁酸与结肠细胞的抗炎和抗肿瘤作用相关^[45]。如表 2 所示, 与空白组相比, 模型组的乙酸、丙酸、丁酸、异戊酸及戊酸含量显著降低($P<0.05$)。经阳性对照及不同剂量组 HRLP 给药处理后, 中剂量组小鼠粪便中各 SCFAs 均有不同程度的上升, 都高于模型组。实验结果表明 HRLP 能够促进短链脂肪酸的合成。

3 结论

本文通过 HPLC、GC、UV、FT-IR、CD 等现代仪器分析方法结合刚果红染色法、部分酸水解、高碘酸氧化及 Smith 降解等经典化学方法对沙棘叶均一多糖 HRLP-2 进行了结构鉴定, 并从氧化应激及肠道微生物角度探讨了沙棘叶多糖对 D-半乳糖诱导的氧化损伤小鼠的改善作用。HRLP-2 是一种主要由 Ara、Gal 及 Rha 组成的杂多糖, 其主链主要由 Gal 及 Ara 组成, 末端或支链主要由 Rha、Ara 及 Glc 组成。HRLP 能够明显升高小鼠血清中 SOD、GSH-Px 及 CAT 活力, 显著降低 MDA 含量($P<0.05$), 在一定剂量范围内能够有效缓解脏器组织的病理症状。同时, 能够提高小鼠肠道菌群物种数, 促进机体短链脂肪酸合成。由于多糖结构的复杂性, 其显出多种生物活性。目前, 有关于沙棘多糖的研究报道较少, 构效关系研究尚处于初始阶段, 本文将为沙棘叶多糖的构效关系研究提供一定的物质基础参考。进一步研究中将制备沙棘叶多糖活性片段, 结合多糖活性结构片段与空间结构进而为全面阐明多糖的构效关系, 同时能够为新药筛选提供更为全面参考依据。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1983: 64. [Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora of China[M]. Beijing: Science Press, 1983: 64.]
- [2] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 191–192. [Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia[M]. Beijing: China Medical Technology Press, 2020: 191–192.]
- [3] NI W H, GAO T T, WANG H L, et al. Anti-fatigue activity of

- polysaccharides from the fruits of four Tibetan plateau indigenous medicinal plants[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2013, 150: 529–535.
- [4] ZHANG W, ZHANG X H, ZOU K, et al. Seabuckthorn berry polysaccharide protects against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice via anti-oxidative and anti-inflammatory activities[J]. *Food & Function*, 2017, 8: 3130–3138.
- [5] REN R, LI N, SU C, et al. The bioactive components as well as the nutritional and health effects of sea buckthorn[J]. *RSC Advances*, 2020, 10: 44654–44671.
- [6] 李晓华, 宋绪磊. 沙棘黄酮类物质的提取及纯化工艺[J]. 食品工业, 2021, 42(5): 67–70. [LI X H, SONG X L. Extraction and purification of flavonoids from *Hippophae rhamnoides*[J]. *Food Industry*, 2021, 42(5): 67–70.]
- [7] ZHAO L, GENG T T, SUN K C, et al. Proteomic analysis reveals the molecular mechanism of *Hippophae rhamnoides* polysaccharide intervention in LPS-induced inflammation of IPEC-J2 cells in piglets[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 164: 3294–3304.
- [8] ZHAO L, LI M Y, SUN K C, et al. *Hippophae rhamnoides* polysaccharides protect IPEC-J2 cells from LPS-induced inflammation, apoptosis and barrier dysfunction *in vitro* via inhibiting TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 155: 1202–1215.
- [9] 王蓉, 李胜男, 陈春, 等. 沙棘多糖对巨噬细胞和免疫抑制小鼠的免疫调节作用研究[J]. *中南药学*, 2020, 18(3): 384–388. [WANG R, LI S N, CHEN C, et al. Immunomodulatory effect of *Hippophae rhamnoides* polysaccharide on the macrophages and cyclophosphamide-induced immunocompromised mice[J]. *Central South Pharmacy*, 2020, 18(3): 384–388.]
- [10] WANG X, LIU J, ZHANG X, et al. Seabuckthorn berry polysaccharide extracts protect against acetaminophen induced hepatotoxicity in mice via activating the Nrf-2/HO-1-SOD-2 signaling pathway[J]. *Phytomedicine*, 2018, 38: 90–97.
- [11] ROZI P, ABUDUWAILI A, MUTAILIFU P, et al. Sequential extraction, characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Fritillaria pallidiflora* Schrenk[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 131: 97–106.
- [12] 李芳亮, 王锐, 高杨, 等. 沙棘叶水溶性多糖分级组分抗氧化活性的研究[J]. *黑龙江农业科学*, 2011(6): 63–66. [LI F L, WANG R, GAO Y, et al. Study on the antioxidation activities of ratiing water soluble polysaccharides by alcohol from foliage of *Hippophae Rhamnoides* L.[J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2011(6): 63–66.]
- [13] WEI E, YANG R, ZHAO H, et al. Microwave-assisted extraction releases the antioxidant polysaccharides from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 123: 280–290.
- [14] ZOU Z, XI W P, HU Y, et al. Antioxidant activity of Citrus fruits[J]. *Food Chemistry*, 2016, 196: 885–896.
- [15] YUAN S W, WANG J H, LI X, et al. Study on the structure, antioxidant activity and degradation pattern of polysaccharides isolated from lotus seedpod[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2023, 316: 121065.
- [16] HUANG Y G, YE Y L, XU D P, et al. Structural characterization and anti-inflammatory activity of a novel neutral polysaccharide isolated from *Smilax glabra* Roxb[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 234: 123559.
- [17] SU S Y, DING X, HOU Y L, et al. Structure elucidation, immunomodulatory activity, antitumor activity and its molecular mechanism of a novel polysaccharide from *Boletus reticulatus* Schaeff[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2023, 12: 647–661.
- [18] XIA Q, ZHAO Q, ZHU H, et al. Physicochemical characteristics of *Ganoderma lucidum* oligosaccharide and its regulatory ef-

- fect on intestinal flora *in vitro* fermentation[J]. Food Chemistry, 2022, 15: 100421.
- [19] 刘荣瑜, 王昊, 张子依, 等. 多糖与肠道菌群相互作用的研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(5): 363–373. [LUI R Y, WANG H, ZHANG Z Y, et al. Research progress on the interaction between polysaccharides and intestinal microbiota[J]. Food Science, 2022, 43(5): 363–373.]
- [20] 阿衣吐逊·阿布都外力, 帕尔哈提·柔孜, 高彦华, 等. 伊贝母多糖的提取工艺优化及结构表征[J]. 中国药房, 2020, 31(3): 276–281. [ADUWAILI A, ROZI P, GAO Y H, et al. Study on extraction technology optimization and structural characterization of *Fritillaria pallidiflora* polysaccharides[J]. China Pharmacy, 2020, 31(3): 276–281.]
- [21] ROZI P, ABUDUWAILI A, MA S J, et al. Isolations, characterizations and bioactivities of polysaccharides from the seeds of three species *Glycyrrhiza*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 145: 364–371.
- [22] ABUDUWAILI A, MUTAILIFU P, NUERXIATI R, et al. Structure and biological activity of polysaccharides from *Nitraria sibirica* pall fruit[J]. Food Bioscience, 2021, 40: 100903.
- [23] CHEN Z Y, ZHAO Y, ZHANG M K, et al. Structural characterization and antioxidant activity of a new polysaccharide from *Bletilla striata* fibrous roots[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 227.
- [24] 李晓丽, 苏建青, 李莹, 等. 硒化刺五加多糖对D-半乳糖诱导小鼠氧化损伤的保护作用[J]. 食品工业科技, 2024, 45(16): 368–375. [LI X L, SU J Q, LI Y, et al. Protective effect of selenated *Acanthopanax senticosus* polysaccharide against D-galactose-induced oxidative damage in mice[J]. Food Industry Technology, 2024, 45(16): 368–375.]
- [25] LIU Y, RAN L M, WANG Y H, et al. Basic characterization, antioxidant and immunomodulatory activities of polysaccharides from sea buckthorn leaves[J]. Fitoterapia, 2023, 169: 105592.
- [26] 魏晨业, 包晓玮, 王娟, 等. 沙棘多糖分离纯化及抗氧化活性[J]. 食品科学, 2021, 42(4): 227–232. [WEI C Y, BAO X W, WANG J, et al. Isolation, purification and antioxidant activity of polysaccharides from the fruit of *Hippophae rhamnoides*[J]. Food Science, 2021, 42(4): 227–232.]
- [27] 田晓艳, 刘延吉, 祝寰宇, 等. 沙棘多糖 HRP I a 纯化及鉴定[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(1): 23–26. [TIAN X Y, LIU Y J, ZHU H Y, et al. Purification, identification of polysaccharide HRP I a of *Hippophae rhamnoides* L.[J]. Journal of Food and Biotechnology, 2010, 29(1): 23–26.]
- [28] MUTAILIFU P, NUERXIATI R, LU C F, et al. Extraction, purification, and characterization of polysaccharides from *Alhagi pseudoalhagi* with antioxidant and hypoglycemic activities[J]. Process Biochemistry, 2022, 121: 339–348.
- [29] HUO J Y, WU Z Y, ZHAO H, et al. Structure-activity relationship of antioxidant polysaccharides from *Huangshui* based on the HPLC fingerprint combined with chemometrics methods[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 159: 113201.
- [30] TANG Y Y, HE X M, LIU G M, et al. Effects of different extraction methods on the structural, antioxidant and hypoglycemic properties of red pitaya stem polysaccharide[J]. Food Chemistry, 2023, 405: 134804.
- [31] ZHANG X, CAI Z Y, MAO H Y, et al. Isolation and structure elucidation of polysaccharides from fruiting bodies of mushroom *Coriolus versicolor* and evaluation of their immunomodulatory effects[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 166: 1387–1395.
- [32] LI H P, FENG Y B, SUN W X, et al. Antioxidation, anti-inflammation and anti-fibrosis effect of phosphorylated polysaccharides from *Pleurotus djamor* mycelia on adenine-induced chronic renal failure mice[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 170: 652–663.
- [33] HU T G, ZOU Y X, LI E N, et al. Effects of enzymatic hydrolysis on the structural, rheological, and functional properties of mulberry leaf polysaccharide[J]. Food Chemistry, 2021, 355.
- [34] ZHAN Q P, WANG Q, LIN R G, et al. Structural characterization and immunomodulatory activity of a novel acid polysaccharide isolated from the pulp of *Rosa laevigata* Michx fruit[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 145: 1080–1090.
- [35] ZHANG W J, HUANG J, WANG W, et al. Extraction, purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Cistanche tubulosa*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 93: 448–458.
- [36] FORGET A, PIQUE RA, AHMADI V, et al. Mechanically tailored agarose hydrogels through molecular alloying with β - Sheet polysaccharides[J]. Macromolecular Rapid Communications, 2014, 36: 196–203.
- [37] CHEN H Y, ZENG J S, WANG B, et al. Structural characterization and antioxidant activities of *Bletilla striata* polysaccharide extracted by different methods[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 266: 118149.
- [38] PAN L C, ZHU Y M, ZHU Z Y, et al. Chemical structure and effects of antioxidation and against α -glucosidase of natural polysaccharide from *Glycyrrhiza inflata* Batalin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 155: 560–571.
- [39] LI C, LI X S, YOU L J, et al. Fractionation, preliminary structural characterization and bioactivities of polysaccharides from *Sargassum pallidum*[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 155: 261–270.
- [40] 包晓玮, 李建琰, 任薇, 等. 沙棘多糖对D-半乳糖致衰老小鼠的抗氧化作用[J]. 食品工业科技, 2020, 41(4): 293–297, 306. [BAO X W, LI J Y, REN W, et al. Antioxidant effects of *Hippophae rhamnoides* polysaccharide on aging mouse induced by D-galactose[J]. Food Industry Technology, 2020, 41(4): 293–297, 306.]
- [41] CHEN Z, ZHU Y P, LU M T, et al. Effects of *Rosa roxburghii* Tratt glycosides and quercetin on D-galactose-induced aging mice model[J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46.
- [42] 张润祥, 白玉婷, 张颖蕾, 等. 绞股蓝多糖对D-半乳糖致衰老小鼠肝脏抗氧化能力的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2022, 49(2): 462–47. [ZHANG R X, BAI Y T, ZHANG Y L, et al. The effect of polysaccharides from *Gynostemma pentaphyllum* on the antioxidant capacity of the liver in D-galactose-induced aging mice[J]. Chinese Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2022, 49(2): 462–47.]
- [43] 杨同攀. 大豆皂苷对D-半乳糖诱导衰老小鼠肾脏抗氧化作用的影响[D]. 延吉: 延边大学, 2017. [YANG T P. The effect of soy saponins on the antioxidant effect of D-galactose-induced aging mice kidneys[D]. Yanji: Yanbian University. 2017.]
- [44] 赵越, 程艳芬, 郝晨阳, 等. 绣球菌多糖对免疫低下小鼠盲肠短链脂肪酸、G蛋白偶联受体及免疫因子的调节[J]. 食品科技, 2022, 47(4): 231–238. [ZHAO Y, CHEN Y F, HAO C Y, et al. Regulation of *Sparassis latifolia* polysaccharide on short chains fatty acids, G protein-coupled receptors and immune factors in cecum of immunocompromised mice[J]. Food Technology, 2022, 47(4): 231–238.]
- [45] ENCARNAO J C, ANA S P, AMARAL R A, et al. Butyrate, a dietary fiber derivative that improves irinotecan effect in colon cancer cells[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2018, 56: 183.