

中药现代化技术

梯度醇沉兰州百合多糖结构及降血糖活性分析

张心驰¹, 惠和平^{2*}, 郭栋费¹, 魏赛雪¹, 郭敏^{1,3,4}, 李晓东^{1,3,4*}

(1. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃兰州 730010; 2. 商洛学院生物医药与食品工程学院, 陕西商洛 726000; 3. 甘肃省中医院, 甘肃兰州 730050; 4. 甘肃省中医药研究院陇药大品种二次开发及临床疗效评价行业技术中心, 甘肃兰州 730050)

摘要: 对兰州百合采用热水提取和不同体积分数乙醇(30%、50%、70%、80%)醇沉得到4种多糖, 分别记为BLP-30、BLP-50、BLP-70和BLP-80。对上述4种多糖性能进行了测试, 比较了多糖对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制能力, 分析了多糖基本组成与降血糖活性的相关性。结果表明, 4种多糖均不含或含有极少量糖醛酸和蛋白, BLP-80可溶性总糖质量分数最高, 为30.96%。4种多糖为混合多糖, 均由甘露糖、葡萄糖和少量半乳糖组成, 重均相对分子质量从BLP-30-1的625 kDa逐渐减至BLP-70-4的2.45 kDa。其中, BLP-30和BLP-50为葡聚糖, BLP-70为半乳甘露糖, BLP-80为甘露糖, BLP-30中甘露糖、葡萄糖、半乳糖摩尔分数分别为10.18%、88.67%、1.15%; BLP-50中上述3种多糖摩尔分数分别为2.49%、97.02%、0.49%; BLP-70中上述3种多糖摩尔分数分别为26.94%、68.21%、4.85%; BLP-80中甘露糖和葡萄糖摩尔分数分别为41.56%和58.44%。4种多糖对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制能力强弱顺序分别为BLP-70>BLP-80>BLP-30>BLP-50和BLP-50>BLP-70>BLP-80>BLP-30。4种多糖对 α -淀粉酶的抑制能力与甘露糖和半乳糖的摩尔分数呈正相关, 对 α -淀粉酶的抑制能力与葡萄糖的摩尔分数呈负相关; 对 α -葡萄糖苷酶的抑制能力与可溶性总糖质量分数、糖醛酸质量分数、甘露糖摩尔分数呈负相关; 对 α -葡萄糖苷酶的抑制能力与葡萄糖摩尔分数呈正相关。

关键词: 梯度醇沉; 兰州百合多糖; 结构表征; 降血糖活性; 相关性分析; 中药现代化技术

中图分类号: TS255.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214(2023)10-2231-10

Analysis on structure and hypoglycemic activity of Lanzhou lily polysaccharides from gradient alcoholic precipitation

ZHANG Xinch¹, HUI Heping^{2*}, GUO Dongfei¹, WEI Saixue¹, GUO Min^{1,3,4}, LI Xiaodong^{1,3,4*}

(1. College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730010, Gansu, China; 2. School of Biomedicine and Food Engineering, Shangluo University, Shangluo 726000, Shaanxi, China; 3. Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, Gansu, China; 4. Professional Technical Center for Secondary Exploitation and Clinical Evaluation of Longyao Large Varieties, Gansu Academy of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, Gansu, China)

Abstract: Four polysaccharides, named BLP-30, BLP-50, BLP-70 and BLP-80, respectively, were obtained from hot water extraction and alcohol precipitation with different volume fractions of ethanol (30%, 50%, 70% and 80%). The properties of the four polysaccharides were then tested, with their inhibitory ability on α -amylase and α -glucosidase compared and the correlation between the basic composition and their hypoglycemic activity analyzed. The results showed that all the four polysaccharides contained little or no uronic acid and protein, and BLP-80 had the highest amount of total soluble sugar (30.96%). All the four polysaccharides were mixed polysaccharides, with BLP-30 and BLP-50 glucans, BLP-70 galactomannan glucans and BLP-80 mannoglucan glucans, consisting of mannose, glucose and a small amount of galactose, while the mass average relative molecular mass gradually decreased from 625 kDa for BLP-30-1 to 2.45 kDa for BLP-70-4. The molar fractions of mannose, glucose and galactose in BLP-30 were 10.18%, 88.67% and 1.15%, respectively, in BLP-50 were 2.49%, 97.02% and 0.49%, respectively, and in BLP-70 were 26.94%,

收稿日期: 2022-10-19; 定用日期: 2023-05-08; DOI: 10.13550/j.jxhg.20220961

基金项目: 国家自然科学基金(82160818); 甘肃省高等学校创新基金(2021A-260)

作者简介: 张心驰(1997—), 男, 硕士生, E-mail: 517354206@qq.com. 联系人: 惠和平(1982—), 男, 博士, 副教授, E-mail: lzdxhui@163.com; 李晓东(1979—), 男, 博士, 副研究员, E-mail: li_xd2005@126.com.

68.21% and 4.85%, respectively. The mole fractions of mannose and glucose in BLP-80 were 41.56% and 58.44%, respectively. The inhibitory effects of the four polysaccharides on α -amylase and α -glucosidase gradually decreased in the following order: BLP-70>BLP-80>BLP-30>BLP-50 and BLP-50>BLP-70>BLP-80>BLP-30, respectively. The inhibitory ability of the four polysaccharides on α -amylase was positively correlated with the molar fraction of mannose and galactose, that of the polysaccharides on α -amylase was negatively correlated with the molar fraction of glucose, that of the polysaccharides on α -glucosidase was negatively correlated with the mass fraction of total soluble sugars and uronic acid, and the molar fraction of mannose, and that of polysaccharides on α -glucosidase was positively correlated with the molar fraction of glucose.

Key words: gradient alcohol precipitation; Lanzhou lily polysaccharides; structural characterization; hypoglycemic activity; correlation analysis; modernization technology of traditional Chinese medicines

兰州百合 (*Lilium davidii* var. *unicolor* Salisb.) 为百合科 (*Liliaceae*) 百合属 (*Lilium*) 多年生球根植物^[1], 主要分布在甘肃省兰州市七里河地区。作为中国西部地区大面积种植的食用百合, 其鳞茎硕大, 口感甘甜, 富含 19 种游离氨基酸和多种人体必需的微量元素, 具有极高的营养价值和药用价值^[2-3]。现代药理学研究表明, 兰州百合中多糖具有明显的增强免疫、抗疲劳、提高耐缺氧、降血糖等作用^[4]。兰州百合多糖的提取主要为水提醇沉法^[5]。该方法成本低、耗时短、收率高, 且不同乙醇浓度醇沉得到的多糖具有不同的结构特征和生物活性^[6]。

近年来, 关于兰州百合多糖的研究主要集中在提取和生物活性方面, 如, 李刚刚等^[7]通过超声提取、80% (体积分数) 乙醇醇沉兰州百合鳞茎多糖, 发现兰州百合鳞茎多糖具有良好的抗还原性。王昭珺等^[3]采用 Box-Behnken 实验设计、76% (体积分数) 乙醇沉淀提取兰州百合芯多糖获得最佳提取条件的同时, 研究了百合芯多糖的抗氧化活性。郭忠等^[8]用 80% (体积分数) 乙醇醇沉兰州百合多糖, 发现该多糖片段对放射性急损伤小鼠骨髓有核细胞具有一定的保护作用, 且呈明显的浓度依赖性。然而关于兰州百合多糖的结构表征的研究报道较少, 如黄玉龙等^[2]分别考察了微波辅助、超声波辅助及超声波复合酶法对百合多糖结构组成的影响, 发现 3 种不同提取方法、75% (体积分数) 乙醇醇沉获得的多糖均由甘露糖和葡萄糖组成, 但甘露糖和葡萄糖的物质的量比不同。高义霞^[9]采用超声波提取、80% (体积分数) 乙醇醇沉兰州百合多糖, 并对其理化特征进行测试, 结果表明, 兰州百合多糖是一种无毒无味, 具有光、热稳定性和吸湿性的白色粉末。惠和平等^[10]用 70% (体积分数) 乙醇醇沉法从兰州百合鳞茎中分离和纯化得到一种纯多糖为 1,4 连接的 α -D-吡喃葡萄糖和 1,4 连接的 β -D-吡喃甘露糖组成的甘露糖聚糖, 同时在该多糖结构片段中发现含有少量的 *O*-乙酰基。有研究表明, 不同体积分数乙醇醇沉所得的多糖结构不同且活性也不尽相

同。如, 李顺峰等^[11]以香菇柄为原料, 采用不同体积分数乙醇 (30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%) 对香菇柄多糖进行分级醇沉, 并对香菇多糖抗氧化活性进行评价, 结果表明, 不同醇沉组分获得的多糖均有一定的抗氧化能力, 随着乙醇体积分数的增加, 香菇多糖的抗氧化能力逐渐降低, 在乙醇体积分数为 30% 时, 香菇多糖的抗氧化能力最强, 且所得香菇柄多糖和蛋白质质量分数最高。截至目前, 文献中只报道了体积分数 70%~80% 乙醇醇沉的兰州百合多糖的结构表征与生物活性之间的关系^[9,12-13], 但鲜见 70% (体积分数) 以下醇沉兰州百合多糖的结构表征及相关活性研究, 尤其是分级醇沉兰州百合多糖的系统研究。

因此, 本文以兰州百合为原料, 通过梯度乙醇分级醇沉获得 4 种多糖 (BLP-30、BLP-50、BLP-70 和 BLP-80), 对其可溶性总糖质量分数、蛋白质质量分数、糖醛酸质量分数、紫外吸收光谱、单糖组成、相对分子质量等结构特征及多糖的降血糖活性进行比较, 并做相关性分析, 以初步探究兰州百合多糖的构效关系, 为兰州百合多糖的深入研究和综合开发利用提供理论依据。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

兰州百合, 购买自甘肃省兰州市七里河区上西园种植户, 经兰州大学药学院马志刚教授鉴定为兰州百合 (*Lilium davidii* var. *unicolor* Salisb.)。 α -淀粉酶 (猪胰腺, 14 U/mg)、阿卡波糖、对硝基苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷 (PNPG), BR, 上海源叶生物科技有限公司; α -葡萄糖苷酶 (7×10^5 U/mL), 考马斯亮蓝 G-250, 分析纯, 北京 Solarbio 生物科技有限公司; 葡萄糖标准品, 分析纯, 美国 Sigma 公司; 3,5-二硝基水杨酸 (DNS, 质量分数 98%), 分析纯, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 浓硫酸 (质量分数 95%~98%), 成都市科隆化学品有限公司; 右旋糖酐标准品, 分析纯, 中国食品药品检定研究院; 磷

酸氢二钠(质量分数 99%)、磷酸二氢钠(质量分数 99%)、盐酸羟胺(质量分数 98.5%), 分析纯, 西安化学试剂厂; 无水碳酸钠(Na_2CO_3 , 质量分数 99.8%), 分析纯, 天津市北辰方正试剂厂; 吡啶(质量分数 99.5%)、十水合四硼酸钠(质量分数 99.5%), 分析纯, 西陇化工股份有限公司; 乙酸酐(质量分数 97%)、咪唑, 分析纯, 天津市化学试剂三厂; 苯酚、无水乙醇(体积分数 99.7%), 分析纯, 烟台市双双化工有限公司; 三氟乙酸, 分析纯, 上海科丰实业有限公司; 牛血清蛋白, 生物试剂, 博飞美科公司。

DF-101S 集热式磁力加热搅拌器、DZF-6050 电热真空干燥箱、RE-2000A 型旋转蒸发仪、DF-101S 恒温水浴锅, 上海耀特仪器设备有限公司; SCIENTZ-10N 冷冻干燥机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; AnkeGL-16G-II 高速冷冻离心机, 上海安亭科学仪器有限公司; UV-2800A 型紫外-可见分光光度计, 尤尼柯(上海)仪器有限公司; H1650-W 医用离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; 6890N 气相色谱仪、1260 高效液相色谱仪, 安捷伦科技(中国)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 兰州百合多糖 BLP-30、BLP-50、BLP-70、BLP-80 的制备

称取兰州百合用清水洗净, 置于托盘中, 放入恒温干燥箱 50 °C 烘干, 干燥后兰州百合粉碎过筛(40 目)。将过筛后的兰州百合干粉用体积分数 80% 乙醇进行回流脱脂, 过滤后收集残留物, 在 50 °C 下风干 48 h。将残留物在料液比 1:20 (g:mL)、90 °C 的条件下加入蒸馏水提取 2 次(2 h/次), 用纱布过滤, 收集滤液置入 80 °C 恒温干燥箱中浓缩至原体积的 1/3, 在浓缩液中加入无水乙醇至浓缩液中乙醇体积分数为 30%, 于 4 °C 冰箱中醇沉 24 h, 离心(3000 r/min, 5 min) 将上清液与沉淀分开, 收集沉淀获得兰州百合多糖 30% (乙醇体积分数) 醇沉组分, 记为 BLP-30。在上述上清液中继续加入无水乙醇至上清液乙醇体积分数为 50%, 于 4 °C 冰箱中醇沉 24 h, 离心(3000 r/min, 5 min) 分离上清液和沉淀, 收集沉淀获得兰州百合多糖 50% (乙醇体积分数) 醇沉组分, 记为 BLP-50。按照上述方法, 依次得到乙醇体积分数为 70% (记为 BLP-70)、80% (记为 BLP-80) 醇沉组分, 所得沉淀冷冻干燥(-80 °C, 1 Pa, 48 h) 备用。

1.2.2 可溶性总糖质量分数的测定

1.2.2.1 葡萄糖标准曲线的制作

精密称取葡萄糖标准品 25 mg 于 25 mL 容量瓶中加入蒸馏水定容至刻度, 配制成质量浓度为 1 g/L 的标准溶液, 从标准液中分别吸取 0、1.0、2.0、3.0、

4.0、5.0、6.0 mL 于 10 mL 容量瓶中并用胶头滴管加蒸馏水定容至刻度, 配制成质量浓度为 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 g/L 的溶液。再移取上述溶液各 1 mL, 分别加入苯酚溶液(质量分数为 5%) 1 mL, 摇匀、迅速加入硫酸(质量分数 95%~98%) 5 mL, 混合均匀后, 50 °C 水浴 10 min, 取出后迅速放入 25 °C 冷水中冷却至室温, 在波长 490 nm 处用紫外-可见分光光度计检测吸光度。以吸光度(Y)为纵坐标, 标准品质量浓度(X)为横坐标绘制葡萄糖标准曲线, 得出回归方程为 $Y=11.165X+0.1082$, 相关系数 $R^2=0.9906$ 。

1.2.2.2 兰州百合多糖 BLP-30、BLP-50、BLP-70、BLP-80 中多糖质量分数测定

精密称取兰州百合多糖 BLP-30、BLP-50、BLP-70、BLP-80 各 10 mg, 分别用蒸馏水定容于 10 mL 容量瓶中, 配制成质量浓度为 1 g/L 的溶液, 备用。吸取 0.1 mL 各样品溶液于具塞试管中, 加蒸馏水稀释至 1 mL, 按照 1.2.2.1 节方法在波长 490 nm 处用紫外-可见分光光度计检测吸光度。根据葡萄糖标准曲线计算样品中多糖质量分数。

1.2.3 蛋白质量分数的测定

1.2.3.1 牛血清蛋白标准曲线的制作

精密称取牛血清蛋白标准品 25 mg 于 25 mL 容量瓶中加入蒸馏水定容至刻度, 配制成质量浓度为 1 g/L 的标准溶液, 从标准液中分别吸取 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 于 10 mL 容量瓶中并加蒸馏水定容至刻度, 配制成质量浓度为 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 g/L 的溶液。再移取上述溶液各 1 mL, 分别加入考马斯亮蓝 G-250(质量分数为 0.01%) 溶液 5 mL, 混合均匀室温放置 5 min, 在波长 595 nm 处用紫外-分光光度计检测吸光度。以吸光度(Y_1)为纵坐标, 标准品质量浓度(X_1)为横坐标绘制牛血清蛋白标准曲线, 得出回归方程为 $Y_1=6.6619X_1+0.0016$, 相关系数 $R^2=0.9949$ 。

1.2.3.2 兰州百合多糖 BLP-30、BLP-50、BLP-70、BLP-80 中蛋白质量分数测定

吸取 0.1 mL 1.2.2.2 节配制好各样品溶液于具塞试管中, 加蒸馏水稀释至 1 mL, 按照 1.2.3.1 节方法在波长 595 nm 处用紫外-分光光度计检测吸光度。根据标准曲线计算样品中蛋白质量分数。

1.2.4 糖醛酸质量分数的测定

1.2.4.1 糖醛酸标准曲线的制作

精密称取乳糖醛酸标准品 25 mg 于 25 mL 容量瓶中加入蒸馏水定容, 配制成 1 g/L 的标准溶液。从标准液中分别吸取 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 于 10 mL 容量瓶中加入蒸馏水定容至刻度, 配制成质量浓度为 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 g/L

的溶液。再移取上述溶液各 1 mL, 在冰水浴中加入十水合四硼酸钠硫酸溶液 (质量分数为 0.478%) 6 mL, 混合均匀后, 放入沸水浴 20 min, 取出后迅速放入 25 °C 水中冷却至室温后加入 0.2 mL 咪唑乙醇溶液 (质量分数为 1.25%), 混合均匀后放置 2 h, 用紫外-分光光度计在波长 530 nm 处检测吸光度。以吸光度 (Y_2) 为纵坐标, 标准品质量浓度 (X_2) 为横坐标绘制标准曲线, 得出回归方程为 $Y_2=13.874X_2-0.0015$, 相关系数 $R_2^2=0.996$ 。

1.2.4.2 兰州百合多糖 BLP-30、BLP-50、BLP-70、BLP-80 中糖醛酸质量分数测定

吸取 0.2 mL 1.2.2.2 节配制好的各样品溶液于具塞试管中, 加蒸馏水稀释至 1 mL, 按照 1.2.4.1 节方法用紫外-分光光度计在波长 530 nm 处检测吸光度。根据标准曲线计算样品中糖醛酸质量分数。

1.2.5 紫外光谱分析

用蒸馏水配制质量浓度为 1 g/L 的兰州百合多糖溶液, 用紫外-可见分光光度计在 190~900 nm 范围内对兰州百合多糖各醇沉组分进行扫描分析。

1.2.6 单糖组成分析

自然界中存在的多糖大部分为杂多糖, 由多种单糖聚合而成。单糖组成对多糖生物活性具有重要影响, 单糖组成是评价多糖理化性质的第一步, 也是糖类结构研究中必不可少的一环^[14]。由于单糖具有非挥发性、热稳定性, 因此气相色谱法检测前需要衍生化, 常通过衍生化来提高糖类物质的挥发性以及挥发后的稳定性, 减少糖异构化造成的多峰现象, 有利于对单糖进行准确分析^[15]。称取各组分多糖样品 10 mg, 分别溶于 4 mL 三氟乙酸水溶液 (2 mol/L) 中, 在 110 °C 下水解 8 h 后转移至蒸发皿中加入甲醇 (质量分数 99.5%) 2 mL, 将蒸发皿置于 80 °C 水浴锅上蒸发 (重复加入甲醇至蒸发步骤 3 次, 以除尽三氟乙酸), 残渣中各加入 20 mg 盐酸羟胺 (质量分数 98.5%)、2 mL 吡啶 (质量分数 99.5%), 90 °C 反应 0.5 h, 放入 25 °C 水中冷却至室温后各加入 2 mL 乙酸酐 (质量分数 97%) 于 90 °C 继续反应 0.5 h, 放入 25 °C 水中冷却至室温后同时加入蒸馏水和氯仿各 1 mL 萃取 5 次, 取氯仿层转移至蒸发皿, 在恒温水浴锅中 80 °C 蒸干除去水分, 用氯仿定容至 500 μ L 后进行 GC 检测。各标准品衍生化方法同上。

GC 条件: 气相色谱仪, 火焰离子化检测器 (FID), 石英毛细管柱 DB-1 (30 m \times 0.32 mm \times 0.3 μ m), 进样口温度: 250 °C, 检测器温度: 260 °C, 程序升温以 3 °C/min 的速率从 100 °C (2 min) 升温至 220 °C (5 min)。分流比为 50 : 1 (单位为 μ L)。载气为 N₂, 流速为 2 mL/min。

1.2.7 相对分子质量测定

右旋糖酐对照品溶液的制备: 称取不同相对分子质量 (180、2700、5250、9750、13050、36800、64650、135350) 的右旋糖酐对照品, 用蒸馏水配制成质量浓度为 1 g/L 对照品溶液, 经 0.45 μ m 水相微孔滤膜过滤后进样, 记录各对照品的保留时间, 以保留时间为横坐标, 相对分子质量对数为纵坐标, 绘制右旋糖酐标准曲线, 得出回归方程为 $Y_3=-0.3967X_3+11.134$, 相关系数 $R_3^2=0.9901$ 。

兰州百合多糖 BLP-30、BLP-50、BLP-70、BLP-80 中相对分子质量的测定: 将多糖样品用蒸馏水各配制成质量浓度为 1 g/L 的溶液, 0.45 μ m 滤膜过滤后进样, 分别记录各样品的图谱及保留时间, 根据右旋糖酐标准曲线计算样品中多糖相对分子质量。

色谱条件: 仪器为 HPLC-RID 检测器; 色谱柱为 TSKgel G2500 (7.8 mm \times 30 cm \times 10 μ m) 与 3000 PWXL (7.8 mm \times 30 cm \times 10 μ m) 串联; 同型保护柱 TSKgel guardcolumn PWXL (6.0 mm \times 4 cm); 流动相: 超纯水, 等度洗脱; 流速: 0.8 mL/min; 示差检测器温度: 40 °C, 进样量: 10 μ L。

1.2.8 体外降血糖活性测定

磷酸盐缓冲液 (PBS) 配制: 将 45 mL 磷酸二氢钠水溶液 (0.1 mol/L) 和 55 mL 磷酸氢二钠水溶液 (0.1 mol/L) 充分混匀, 转移至 200 mL 定容瓶中, 加入蒸馏水定容至刻度, 即得 PBS (pH 6.8, 0.1 mol/L)。

1.2.8.1 兰州百合多糖 BLP-30、BLP-50、BLP-70、BLP-80 对 α -淀粉酶活性抑制实验

将 BLP-30、BLP-50、BLP-70、BLP-80 溶解在蒸馏水中, 分别制备成质量浓度为 4、2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625 g/L 的溶液。将 0.3 mL 不同质量浓度的多糖溶液移至试管中, 加入 0.3 mL α -淀粉酶溶液 (10 U/mL) 充分混匀, 37 °C 水浴 5 min, 然后加入预热的 0.3 mL 质量分数 1% 的淀粉溶液 (PBS 配制, pH 6.8, 0.1 mol/L), 37 °C 水浴 15 min, 最后加入 0.5 mL 3,5-二硝基水杨酸溶液 (DNS, 质量分数 0.63%), 沸水浴孵育 5 min。放入 25 °C 冷水中冷却后, 用蒸馏水将混合物稀释至 10 mL, 用紫外-可见分光光度计在波长 540 nm 处检测吸光度, 以阿卡波糖作为阳性对照。按公式 (1) 计算 α -淀粉酶抑制率:

$$\alpha\text{-淀粉酶抑制率}/\% = 1 - \frac{A_3 - A_4}{A_1 - A_2} \times 100 \quad (1)$$

式中: A_1 为蒸馏水 (0.3 mL) + α -淀粉酶溶液 (0.3 mL) + 淀粉溶液 (0.3 mL) + DNS 溶液 (0.5 mL) + 蒸馏水稀释至 10 mL 于 540 nm 处所测得的吸光度; A_2 为蒸馏水 (0.3 mL) + PBS 溶液 (0.3 mL) + 淀粉溶液 (0.3 mL) + DNS 溶液 (0.5 mL) + 蒸馏水稀释至

10 mL 于 540 nm 处所测得的吸光度; A_3 为多糖溶液 (0.3 mL) + α -淀粉酶溶液 (0.3 mL) + 淀粉溶液 (0.3 mL) + DNS 溶液 (0.5 mL) + 蒸馏水稀释至 10 mL 于 540 nm 处所测得的吸光度; A_4 为多糖溶液 (0.3 mL) + PBS 溶液 (0.3 mL) + 淀粉溶液 (0.3 mL) + DNS 溶液 (0.5 mL) + 蒸馏水稀释至 10 mL 于 540 nm 处所测得的吸光度。

1.2.8.2 兰州百合多糖 BLP-30、BLP-50、BLP-70、BLP-80 对 α -葡萄糖苷酶活性抑制实验

分别用 PBS 溶液 (pH 6.8, 0.1 mol/L) 配制对硝基苯基- β -D-吡喃葡萄糖苷 (0.5 mmol/L, PNPG) 溶液、 α -葡萄糖苷酶溶液 (1 U/mL) 和碳酸钠溶液 (0.1 mol/L, Na_2CO_3)。将 BLP-30、BLP-50、BLP-70、BLP-80 溶解于蒸馏水中, 分别制备成质量浓度 4、2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625 g/L 的溶液。在试管中将不同质量浓度的 0.4 mL 多糖溶液和 0.4 mL 的 α -葡萄糖苷酶溶液 (1 U/mL) 充分混合, 然后在 37 °C 下避光孵育 10 min。随后, 加入 0.2 mL 的 PNPG 溶液 (0.5 mmol/L) 并在 37 °C 的黑暗中孵育 20 min。最后, 向混合物中加入 4 mL 的 Na_2CO_3 溶液 (0.1 mol/L) 终止反应, 用紫外-可见分光光度计在波长 400 nm 处检测吸光度, 以阿卡波糖为阳性对照。按公式 (2) 计算 α -葡萄糖苷酶抑制率。

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制率}/\% = \frac{1-(A'_1 - A'_2)}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

式中: A_0 为 PBS 溶液于 400 nm 处所测得的吸光度; A'_1 为多糖溶液 (0.4 mL) + α -葡萄糖苷酶溶液 (0.4 mL) + PNPG 溶液 (0.2 mL) + Na_2CO_3 溶液 (4 mL) 于 400 nm 处所测得的吸光度; A'_2 为多糖溶液 (0.4 mL) + PBS 溶液 (0.4 mL) + PNPG 溶液 (0.2 mL) + Na_2CO_3 溶液 (4 mL) 于 400 nm 处所测得的吸光度。

2 结果与讨论

2.1 化学成分分析

经不同浓度乙醇分级醇沉得到 4 种兰州百合多糖 BLP-30、BLP-50、BLP-70 和 BLP-80, 分别测定各多糖中的可溶性总糖、蛋白、糖醛酸质量分数, 结果如表 1 所示。由表 1 可知, BLP-80 和 BLP-30 可溶性总糖质量分数较高, 且 BLP-80 最高, 为 30.96%, 而 BLP-50 可溶性总糖质量分数最低, 为 15.77%, 说明一定条件的梯度醇沉能够起到进一步纯化多糖, 提高可溶性总糖质量分数的作用。4 种多糖的蛋白质量分数随乙醇体积分数的增加而逐渐增加, 但无显著性差异, 蛋白质量分数范围在 1%~7% 之间, 糖醛酸质量分数范围在 0.30%~2.10% 之间, 差异不显著。这可能是由于当乙醇体积分数较低时,

相对分子质量较大的多糖先被沉淀出来, 随着乙醇体积分数的增加, 相对分子质量较小的多糖逐渐被沉淀出来, 因此 BLP-80 中多糖种类可能更多, 多糖质量分数更高^[16-17], 这与刘贵阁等^[18]研究结果基本一致。

表 1 4 种多糖中可溶性总糖、蛋白、糖醛酸的质量分数
Table 1 Mass fractions of total soluble sugars, proteins and glyoxylates in four polysaccharides

样品	可溶性总糖质量分数/%	蛋白质量分数/%	糖醛酸质量分数/%
BLP-30	30.31±6.01 ^a	1.77±0.61 ^a	2.09±0.49 ^a
BLP-50	15.77±2.35 ^b	3.49±0.49 ^{ac}	0.30±1.11 ^b
BLP-70	24.25±1.21 ^a	4.54±0.83 ^{bc}	1.91±0.07 ^a
BLP-80	30.96±3.62 ^a	6.41±2.12 ^b	0.92±0.53 ^b

注: 不同小写字母表示不同多糖组分间质量分数具有显著差异 ($P < 0.05$)。

2.2 紫外-可见吸收光谱分析

4 种多糖紫外-可见吸收光谱见图 1。由图 1 可知, 4 种多糖在 200 nm 处均具有多糖的典型特征吸收^[16], 且在 260 nm 糖醛酸特征峰和 280 nm 蛋白特征峰处均无吸收峰, 表明 4 种多糖均不含或含有极少量糖醛酸和蛋白质^[19], 这与表 1 的结果基本一致。可见 4 种多糖中杂质较少, 有利于下一步结构的鉴定分析。

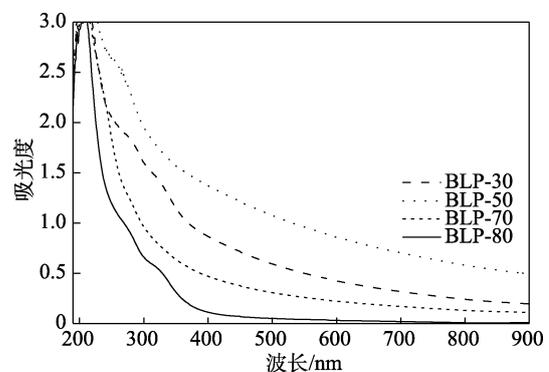


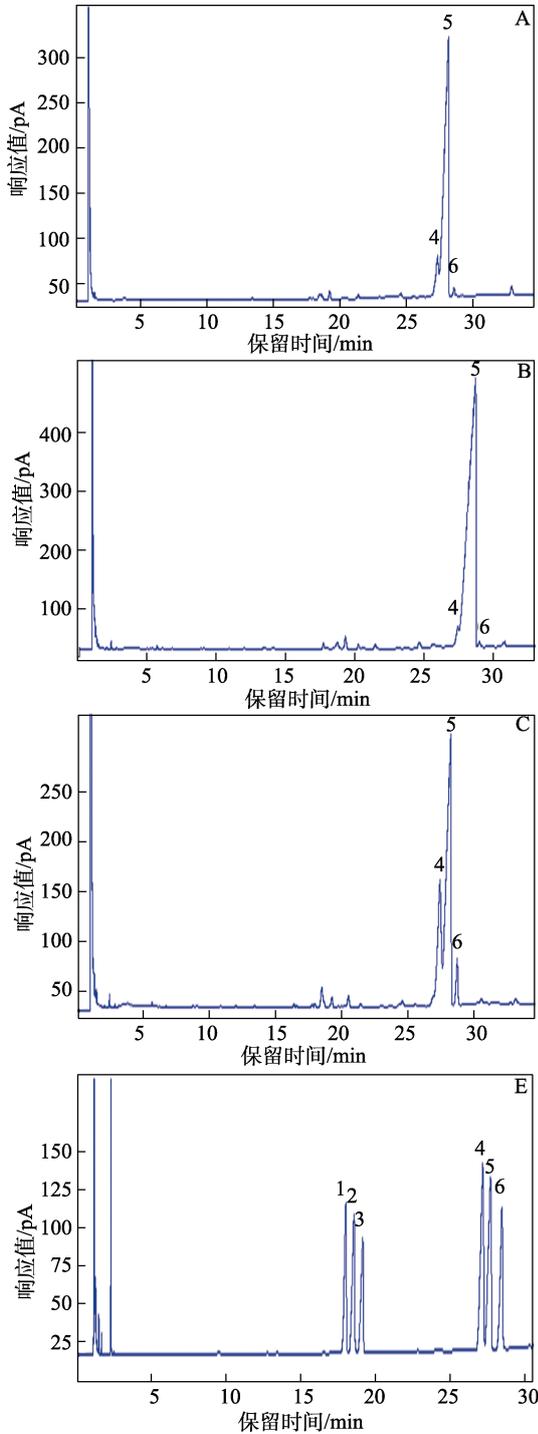
图 1 4 种多糖 UV-Vis 谱图

Fig. 1 UV-Vis adsorption spectra of four polysaccharides

2.3 单糖组成分析

4 种多糖的气相色谱图见图 2, 4 种多糖摩尔分数见表 2。由图 2 和表 2 可知, 兰州百合多糖主要由甘露糖、葡萄糖和少量半乳糖组成, BLP-30 和 BLP-50 为葡聚糖, BLP-30 中甘露糖、葡萄糖、半乳糖摩尔分数分别为 10.18%、88.67%、1.15%; BLP-50 中甘露糖、葡萄糖、半乳糖摩尔分数分别为 2.49%、97.02%、0.49%; BLP-70 为半乳甘露葡聚糖, BLP-70 中甘露糖、葡萄糖、半乳糖摩尔分数分别为 26.94%、68.21%、4.85%; BLP-80 为甘露葡聚糖, BLP-80 中甘露糖和葡萄糖摩尔分数分别为 41.56% 和 58.44%,

不含半乳糖。不同组分之间多糖的单糖种类类似，但摩尔分数存在一定的差异。随着乙醇体积分数的增加，甘露糖摩尔分数先减少后增加，葡萄糖摩尔分数先增加后减少，BLP-30、BLP-50、BLP-70 和 BLP-80 均富含甘露糖和葡萄糖，表明甘露糖和葡萄糖是构成兰州百合多糖骨架的主要单糖。



A—BLP-30; B—BLP-50; C—BLP-70; D—BLP-80; E—混合标准品; 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 2 4 种多糖的气相色谱图

Fig. 2 Gas chromatograms of four polysaccharides

表 2 4 种多糖单糖摩尔分数

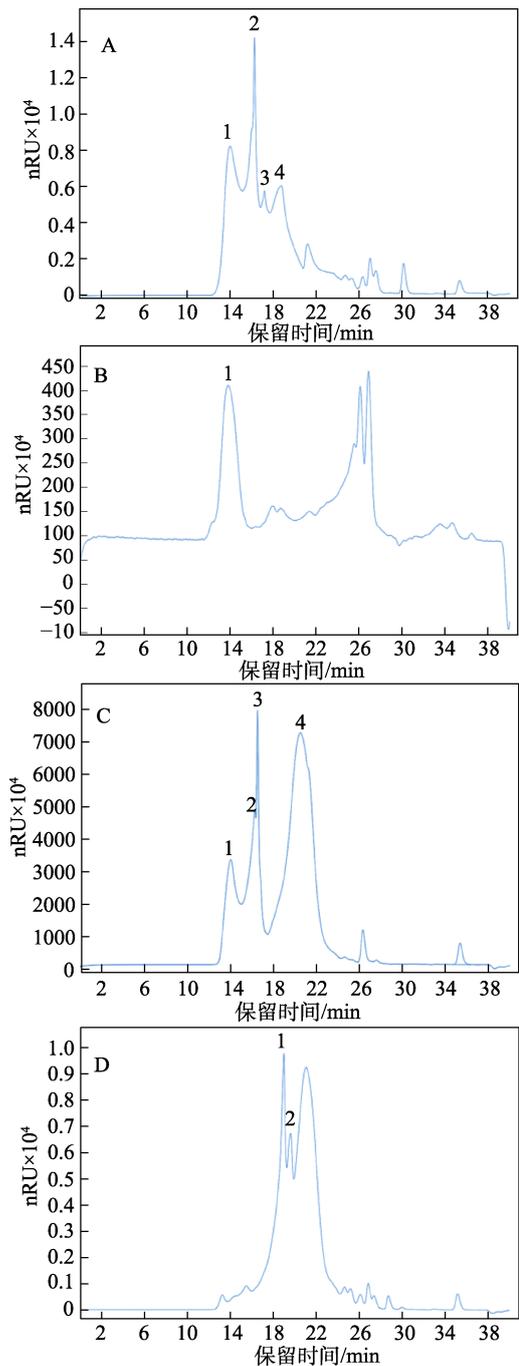
Table 2 Molar fraction of 4 polysaccharide monosaccharides

单糖组成	鼠李糖/ %	阿拉伯 糖/%	木糖/ %	甘露糖/ %	葡萄糖/ %	半乳糖/ %
BLP-30	—	—	—	10.18	88.67	1.15
BLP-50	—	—	—	2.49	97.02	0.49
BLP-70	—	—	—	26.94	68.21	4.85
BLP-80	—	—	—	41.56	58.44	—

注：—表示未检出。

2.4 相对分子质量测定

4 种多糖相对分子质量分布见图 3 和表 3。



A—BLP-30; B—BLP-50; C—BLP-70; D—BLP-80

图 3 4 种多糖相对分子质量分布

Fig. 3 Relative molecular mass distribution of four polysaccharides

表 3 4 种多糖相对分子质量分布
Table 3 Relative molecular mass distribution of four polysaccharides

样品	保留时间/min	重均相对分子质量(M_w)/Da	数均相对分子质量(M_n)/Da	分散系数 M_w/M_n	峰面积占比/%
BLP-30-1	12.205~15.062	625443	491954	1.27	30.59
BLP-30-2	15.062~16.757	110251	94404	1.17	29.21
BLP-30-3	16.757~17.627	33542	31960	1.05	9.04
BLP-30-4	17.627~20.750	9719	6784	1.43	20.97
BLP-50-1	12.440~15.918	745023	549184	1.36	44.58
BLP-70-1	12.900~15.024	666708	590048	1.13	9.76
BLP-70-2	15.024~16.371	99143	93119	1.06	8.09
BLP-70-3	16.371~17.342	56500	55420	1.01	7.88
BLP-70-4	17.440~24.247	2449	1053	2.33	70.85
BLP-80-1	15.975~19.271	6340	8613	1.36	25.79
BLP-80-2	19.271~19.917	3699	3605	1.03	11.20

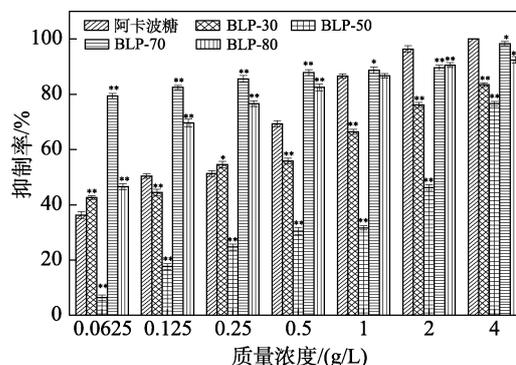
如图 3 和表 3 所示, 由于未分离纯化, 4 种多糖均为混合多糖, 多糖是由至少 10 个单糖所组成的高分子聚合物, 将相对分子质量小于 1.8 kDa 的峰忽略不计, BLP-30 由 4 种多糖峰组成, 分别记为 BLP-30-1、BLP-30-2、BLP-30-3、BLP-30-4; BLP-50 由 1 种多糖峰组成, 记为 BLP-50-1; BLP-70 由 4 种多糖峰组成, 分别记为 BLP-70-1、BLP-70-2、BLP-70-3、BLP-70-4; BLP-80 由 2 种多糖峰组成, 分别记为 BLP-80-1、BLP-80-2。BLP-30 中主要以相对分子质量为 625 kDa 的 BLP-30-1 为主, 峰面积占比为 30.59%, 多分散系数为 1.27。BLP-50、BLP-70、BLP-80 中则主要以相对分子质量为 745 kDa 的 BLP-50-1、相对分子质量为 2.45 kDa 的 BLP-70-4、相对分子质量为 6.34 kDa 的 BLP-80-1 为主, 峰面积占比分别为 44.58%、70.85%、25.79%, 多分散系数分别为 1.36、2.33、1.36。可以看出, 4 种多糖中 BLP-30 和 BLP-50 中相对分子质量大的多糖较多, 而 BLP-70 和 BLP-80 中相对分子质量小的多糖较多。随着乙醇体积分数的不断增大, 4 种多糖的相对分子质量由 BLP-30-1 的 625 kDa 逐渐减小至 BLP-70-4 的 2.45 kDa, 相对分子质量小的多糖不断增加。这可能是由于高体积分数的乙醇更有利于相对分子质量小的多糖沉淀^[20]。BLP-70-4 的分散系数相对较大, 原因可能是这部分多糖与蛋白的结合较为紧密, 受到蛋白残基的影响相对分子质量分布较宽^[21]。由上述结果可知, 乙醇体积分数对兰州百合多糖的相对分子质量分布有重要影响。

2.5 体外降血糖活性测定

4 种兰州百合多糖对 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶的抑制率和半抑制质量浓度 (IC_{50}) 如图 4、图 5 和表 4 所示。

由图 4 可知, 在 0.0625~4 g/L 质量浓度范围内,

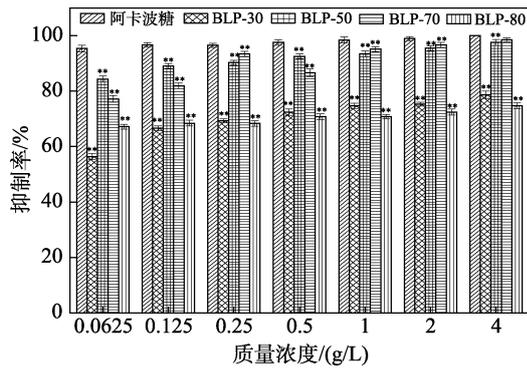
BLP-30 对 α -淀粉酶的抑制率从 42.63% (0.0625 g/L) 上升至 83.49% (4 g/L); BLP-50 对 α -淀粉酶的抑制率从 6.38% (0.0625 g/L) 上升至 76.62% (4 g/L); BLP-70 对 α -淀粉酶的抑制率从 79.41% (0.0625 g/L) 上升至 98.35% (4 g/L); BLP-80 对 α -淀粉酶的抑制率从 46.61% (0.0625 g/L) 上升至 92.40% (4 g/L), 4 种多糖在实验质量浓度范围内均对 α -淀粉酶具有一定的抑制能力, 且随着多糖质量浓度的增加, 抑制能力逐渐增强, 其中 BLP-70 和 BLP-80 对 α -淀粉酶的抑制能力较强, BLP-70 对 α -淀粉酶的抑制能力均强于 BLP-30、BLP-50、BLP-80。从表 4 可以看出, 4 种多糖中 BLP-30 和 BLP-50 对 α -淀粉酶的抑制能力均显著弱于阿卡波糖 ($P<0.05$), BLP-70 和 BLP-80 对 α -葡萄糖苷酶的抑制能力均强于阿卡波糖, 且 BLP-70 对 α -淀粉酶的抑制能力最强, 显著强于阿卡波糖 ($P<0.05$)。结合表 3 多糖的相对分子质量分析, 说明相对分子质量小的兰州百合多糖对 α -淀粉酶的抑制能力更强, 即多糖对 α -淀粉酶的抑制能力强弱顺序为 BLP-70>BLP-80>阿卡波糖>BLP-30>BLP-50。



注: **表示与阿卡波糖之间有极显著差异 ($P<0.01$); *表示与阿卡波糖之间有显著差异 ($P<0.05$)。

图 4 4 种多糖对 α -淀粉酶的抑制率

Fig. 4 Inhibition rate of 4 polysaccharides for α -amylase



注: **表示与阿卡波糖之间有极显著差异 ($P < 0.01$); *表示与阿卡波糖之间有显著差异 ($P < 0.05$)。

图 5 4 种多糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制率

Fig. 5 Inhibition rate of 4 polysaccharides for α -glucosidase

表 4 4 种多糖对 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶的半抑制浓度 (IC_{50} , $n=3$)

Table 4 Half-inhibitory concentration (IC_{50} , $n=3$) of four polysaccharides on α -amylase and α -glucosidase

多糖组分	$IC_{50}/(g/L)$	
	α -淀粉酶	α -葡萄糖苷酶
阿卡波糖	0.12±0.01	0.005±0.0002
BLP-30	0.18±0.01*	0.043±0.0007**
BLP-50	2.12±0.12*	0.014±0.01*
BLP-70	0.03±0.004*	0.027±0.002**
BLP-80	0.07±0.004	0.04±0.004**

注: **表示与阿卡波糖之间有极显著差异 ($P < 0.01$); *表示与阿卡波糖之间有显著差异 ($P < 0.05$)。

由图 5 和表 4 可知, 多糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制能力强弱顺序为阿卡波糖>BLP-50>BLP-70>BLP-80>BLP-30, 其中 BLP-50 和 BLP-70 对 α -葡萄糖苷酶的抑制能力最强。在质量浓度为 4 g/L 时, BLP-50 和 BLP-70 对 α -葡萄糖苷酶的抑制率分别达到 97.43%和 98.36%, 趋近于此质量浓度下阿卡波糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制率 (100%)。在质量浓度

为 4 g/L 时, BLP-30 和 BLP-80 对 α -葡萄糖苷酶的抑制率只有 78.87%和 74.68%, 且随着多糖质量浓度的增加, 4 种多糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制率均呈现一定的量效关系。综合分析, BLP-70 的体外降血糖活性更强, 百合多糖作为一种天然多糖, 为开发新型天然降糖资源提供了一种新选择。

2.6 兰州百合多糖的结构表征与体外降血糖活性的相关性分析

为进一步研究兰州百合多糖的结构特征与体外降血糖活性的相关性, 使用 IBM SPSS Statistics 25 统计学软件对兰州百合多糖的可溶性总糖质量分数、蛋白质质量分数、糖醛酸质量分数、单糖组成、相对分子质量等结构特性与体外降血糖活性进行相关性分析, 相关性分析见表 5。由表 5 可知, 影响多糖对 α -淀粉酶抑制能力的主要因素为半乳糖、甘露糖及葡萄糖摩尔分数, 其中多糖对 α -淀粉酶的抑制能力与半乳糖摩尔分数 ($P < 0.01$) 和甘露糖摩尔分数 ($P < 0.05$) 呈正相关, 多糖对 α -淀粉酶的抑制能力与葡萄糖摩尔分数呈负相关 ($P < 0.05$)。结合图 2 和表 2 可知, 甘露糖摩尔分数较高的为 BLP-70 和 BLP-80, 分别为 26.94%和 41.56%; 葡萄糖摩尔分数较低的为 BLP-70 和 BLP-80, 分别为 68.21%和 58.44%; 半乳糖摩尔分数最高为 BLP-70, 为 4.85%。由此可知, 对 α -淀粉酶的抑制能力较强的为 BLP-70 和 BLP-80, 其中 BLP-70 最强。此外, 蛋白质质量分数与甘露糖摩尔分数呈正相关 ($P < 0.01$), 与葡萄糖摩尔分数呈负相关 ($P < 0.01$), 虽然蛋白质质量分数与多糖对 α -淀粉酶的抑制能力并无相关性, 但其质量分数的高低直接影响着甘露糖摩尔分数与葡萄糖摩尔分数的高低。由表 1 可知, 蛋白质质量分数最高的为 BLP-70 和 BLP-80, 分别为 4.54%和 6.41%, 根据上述结果综合分析, BLP-70 对 α -淀粉酶的抑制能力最强, 其次为 BLP-80, 这与 2.5 节实验结果一致。

表 5 多糖基本组成与降血糖活性的相关性分析

Table 5 Correlation analysis between basic composition of polysaccharides and hypoglycemic activity

	多糖基本组成							$1/IC_{50}$	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	1.000	0.083	0.417	0.562	-0.541	-0.080	0.144	0.199	-0.880**
2	0.083	1.000	-0.154	0.734**	-0.715**	-0.035	-0.443	0.380	-0.109
3	0.417	-0.154	1.000	0.120	-0.186	0.554	0.820**	0.468	-0.666*
4	0.562	0.734**	0.120	1.000	-0.992**	0.103	-0.165	0.608*	-0.622*
5	-0.541	-0.715**	-0.186	-0.992**	1.000	-0.224	0.061	-0.701*	0.620*
6	-0.080	-0.035	0.554	0.103	-0.224	1.000	0.818**	0.851**	-0.087
7	0.144	-0.443	0.820**	-0.165	0.061	0.818**	1.000	0.538	-0.322
8	0.199	0.380	0.468	0.608*	-0.701*	0.851**	0.538	1.000	-0.358
9	-0.880**	-0.109	-0.666*	-0.622*	0.620*	-0.087	-0.322	-0.358	1.000

注: 1—可溶性总糖质量分数; 2—蛋白质质量分数; 3—糖醛酸质量分数; 4—甘露糖摩尔分数; 5—葡萄糖摩尔分数; 6—半乳糖摩尔分数; 7—相对分子质量; 8— α -淀粉酶抑制率; 9— α -葡萄糖苷酶抑制率; ** ($P < 0.01$); * ($P < 0.05$)。

影响 α -葡萄糖苷酶抑制能力的主要因素为可溶性总糖质量分数、糖醛酸质量分数、甘露糖摩尔分数及葡萄糖摩尔分数。其中, 多糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制能力与可溶性总糖质量分数 ($P < 0.01$)、糖醛酸质量分数 ($P < 0.05$)、甘露糖摩尔分数 ($P < 0.05$) 呈负相关, 多糖对 α -葡萄糖苷酶的抑制能力与葡萄糖摩尔分数呈正相关 ($P < 0.05$)。根据表 1、图 2 和表 2 可知, 可溶性总糖质量分数较低的为 BLP-50 和 BLP-70, 分别为 15.77% 和 24.25%; 糖醛酸质量分数较低的为 BLP-50 和 BLP-80, 分别为 0.30% 和 0.92%; 甘露糖摩尔分数较低的为 BLP-30 和 BLP-50, 分别为 10.18% 和 2.49%; 葡萄糖摩尔分数较高的为 BLP-30 和 BLP-50, 分别为 88.67% 和 97.02%, 上述结果表明, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制能力较强的为 BLP-50 和 BLP-70。结合图 5 和表 4 可知, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制能力最强的为 BLP-50, 其次为 BLP-70, 其中 BLP-30 最弱。可见, 多糖的结构表征对多糖生物活性的发挥有着重要影响。

4 种多糖中, 优势糖均为葡萄糖和甘露糖, 表明多糖的体外降血糖活性很大程度上取决于葡萄糖和甘露糖的摩尔分数, 甘露糖摩尔分数的增加和葡萄糖摩尔分数的减少有助于兰州百合多糖发挥抑制 α -淀粉酶的能力, 而甘露糖摩尔分数的减少和葡萄糖摩尔分数的增加更有助于兰州百合多糖发挥抑制 α -葡萄糖苷酶的能力。因此推测甘露糖和葡萄糖是兰州百合多糖发挥体外降血糖活性的关键因子。

综合 4 种兰州百合多糖对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制能力分析, BLP-70 的体外降血糖活性最强, 其可溶性总糖质量分数为 24.25%, 糖醛酸质量分数为 1.91%, 甘露糖与葡萄糖物质的量比约为 1 : 2.5, 由此推测在 $n(\text{甘露糖}) : n(\text{葡萄糖}) = 1 : 2.5$ 附近时, 更有利于兰州百合多糖发挥其降血糖活性。乙醇分级醇沉法作为一种成本低廉, 适用范围广的纯化方法, 在多糖的首次获得和大量累积中起着重要的作用。乙醇体积分数不但影响多糖的结构特征如单糖的种类和摩尔分数、相对分子质量大小等理化特征, 而且还会影响多糖的生物活性^[6,22]。关于兰州百合多糖体外降血糖活性的报道很少, 但其他多糖的类似报道较多。严尚隆等^[23]对长松藻多糖的体外降血糖活性进行了研究, 长松藻多糖由甘露糖 (摩尔分数 40.59%)、半乳糖 (摩尔分数 38.74%)、阿拉伯糖 (摩尔分数 11.60%) 以及葡萄糖 (摩尔分数 8.08%) 组成, 相对分子质量为 50.75 kDa, 长松藻多糖对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制率与样品浓度呈量效关系, 长松藻多糖质量浓度为 10 g/L 时, 长松藻多糖对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制率分别为 17.42% 和 47.74%。兰州百合多糖 BLP-70 由甘

露糖 (摩尔分数 26.94%)、葡萄糖 (摩尔分数 68.21%)、半乳糖 (摩尔分数 4.85%) 组成, 重均相对分子质量为 2.45 kDa, BLP-70 在质量浓度为 4 g/L 时, 其对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制率均在 98% 以上, 明显强于长松藻多糖。通过对比发现, 长松藻多糖中 $n(\text{甘露糖}) : n(\text{葡萄糖}) = 5 : 1$ 左右且主要单糖为甘露糖, 本实验 BLP-70 中约为 $n(\text{甘露糖}) : n(\text{葡萄糖}) = 1 : 2.5$ 且主要单糖为葡萄糖, BLP-70 (2.45 kDa) 重均相对分子质量相比长松藻多糖 (50.75 kDa) 更小, 推测这可能是由于不同植物的多糖中单糖的组成类型不同, 具有不同的结构表征, 因此活性也有一定差异^[24-29]。

多糖活性的发挥还依赖于其相对分子质量的大小, 通常相对分子质量在 100~200 kDa 之间的多糖有较高的生物活性, 而相同来源的多糖片段其相对分子质量在 5~10 kDa 之间则一般无生物活性^[30]。本实验中 BLP-70 重均相对分子质量仅为 2.45 kDa, 却有较强的体外降血糖活性。这与陈向东等^[31]报道的一种更小的相对分子质量 (2.6 kDa) 的灰树花多糖却有较强的抗肿瘤活性一致。因此, 结合本实验推测, 相对分子质量在 2~3 kDa 之间为兰州百合多糖发挥体外降血糖活性的最适相对分子质量范围。

3 结论

(1) 采用梯度乙醇醇沉获得 4 种兰州百合多糖, 通过相关性分析探究其结构表征及其体外降血糖活性。结果表明, 4 种多糖主要由甘露糖和葡萄糖组成, 但其摩尔分数不同, 且随着乙醇体积分数的升高, 甘露糖的摩尔分数先减少后增加, 葡萄糖的摩尔分数先增加后减小, 相对分子质量从 BLP-30-1 的 625 kDa 逐渐减小至 BLP-70-4 的 2.45 kDa, 紫外-可见吸收光谱显示, 4 种多糖均不含或含有极少量糖醛酸和蛋白。

(2) 体外降血糖活性研究显示, 4 种多糖均具有良好的体外降血糖活性。其中, BLP-70 的体外降血糖活性最强, 在质量浓度为 4 g/L 时, 其对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制率均在 98% 以上。百合多糖作为一种天然多糖, 为开发新型天然降糖资源提供一种新选择。

(3) 综合相关性分析, 推测兰州百合多糖的相对分子质量在 2~3 kDa 之间, 甘露糖与葡萄糖物质的量比在 1 : 2.5 左右更有利于兰州百合多糖发挥体外降血糖活性。

本研究为兰州百合多糖构效关系的阐明及其进一步的研究提供了科学依据, 为天然药物的开发和利用奠定了基础。但是影响多糖活性的因素较为复杂, 可能会受到纯化方法、多糖相对分子质量、蛋

白质量分数、糖醛酸质量分数、单糖组成、糖苷键类型及连接方式等各方面的综合影响,无法通过某一种或几种因素的分析来进行准确的判断,关于兰州百合多糖构效关系的分析还需进一步研究。

参考文献:

- [1] CHEN J (陈杰), ZHOU F (周芳). Study on the optimization of ultrasonic extracting technique of polysaccharide from *Lilium brownii*[J]. Modern Food (现代食品), 2019(22): 79-82.
- [2] HUANG Y L (黄玉龙), GAO Q Y (高清雅), QUAN T (全婷), et al. Effects of different extraction methods on the composition and antioxidant activity of the polysaccharides in *Lilium davidii* var. *unicolor salisb*[J]. Modern Food Science and Technology (现代食品科技), 2018, 34(11): 126-131, 94.
- [3] WANG Z J (王昭靖), LIU X F (刘晓凤), XU Y (徐也). Extraction process of polysaccharides from lanzhou lily cores and evaluation of their antioxidant activity *in vitro*[J]. Modern Food Science and Technology (现代食品科技), 2020, 36(9): 219-227, 201.
- [4] HAN X X (韩晓霞), LI J (李洁), QIU G Y (邱国玉), et al. Content determination of polysaccharides in *Lilium davidii* *duchartre* var. *unicolor* cotton from different areas[J]. Gansu Science and Technology (甘肃科技), 2020, 36(2): 55-57.
- [5] CAI M, XING H Y, TIAN B M, et al. Characteristics and antifatigue activity of graded polysaccharides from *Ganoderma lucidum* separated by cascade membrane technology[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 269: 118329.
- [6] JING Y S (景永帅), JIN S (金姗), ZHANG D S (张丹参), et al. Ethanol fractional purification, physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharides from *Glehnia Radix*[J]. Food & Machinery (食品与机械), 2020, 36(7): 175-180, 226.
- [7] LI G G (李刚刚), SUN J (孙静), FU H Y (伏衡一), et al. Research on ultrasonic-assisted extraction process and stability of polysaccharides from *Lilium davidii* var. *bulb*[J]. Food & Machinery (食品与机械), 2020, 36(3): 190-193.
- [8] GUO Z (郭忠), MA J X (马建秀), MA Y Q (马艳艳), et al. Protective effect of Lanzhou lily polysaccharide fragment on X-ray-induced injury of bone marrow nucleated cells in mice[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing (辐射研究与辐射工艺学报), 2022, 40(1): 59-65.
- [9] GAO Y X (高义霞). Studies on preparation, physicochemical physicochemical characterization as well as bio-activities of polysaccharide from *Lilium davidii* var. *unicolor Salisb*[D]. Lanzhou: Northwest Normal University (西北师范大学), 2008.
- [10] HUI H P (惠和平), JIN H (金辉), YANG X Y (杨晓燕), et al. Chemical structure and morphological features of a polysaccharide BHP-1 purified from bulbs of *Lilium davidii* var. *unicolor*[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae (中国实验方剂学杂志), 2020, 26(8): 170-175.
- [11] LI S F (李顺峰), LIU L N (刘丽娜), WANG A J (王安建), et al. Study on gradient ethanol precipitation of lentinula edodes stipe polysaccharide and their antioxidant activities[J]. Packaging and Food Machinery (包装与食品机械), 2020, 38(4): 10-15.
- [12] HUI H P, LI X Z, JIN H, et al. Structural characterization, antioxidant and antibacterial activities of two heteropolysaccharides purified from the bulbs of *Lilium davidii* var. *unicolor* cotton[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 133: 306-315.
- [13] HUI H P, JIN H, LI X Z, et al. Purification, characterization and antioxidant activities of a polysaccharide from the roots of *Lilium davidii* var. *unicolor* cotton[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 135: 1208-1216.
- [14] ZOU Y X (邹越霄), WANG Q X (王庆仙), QI D M (齐冬梅), et al. Research progress on qualitative and quantitative methods of carbohydrate extracts from traditional Chinese medicine[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy (中华中医药杂志), 2023, 38(2): 710-718.
- [15] YIN D F (尹大芳), SUN X J (孙晓杰), GUO Y Y (郭莹莹), et al. Development of qualitative and quantitative chromatographic analysis of Monosaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry (食品工业科技), 2020, 41(24): 321-329.
- [16] HAN W (韩伟), BU Y L (卜原玲), YAO Z Y (姚泽远), et al. Comparison of structural and antioxidant activity of dictyophora indusiata polysaccharides precipitated by gradient ethanol[J]. Journal of Xuzhou Institute of Technology (Natural Sciences Edition) (徐州工程学院学报: 自然科学版), 2023, 38(1): 61-70.
- [17] ZHOU J P (周金平), WANG Z F (王自凡), LU Y Z (卢永仲), et al. Fractionated preparation and physicochemical properties of dendrobium officinale polysaccharide[J]. Detergent & Cosmetics (日用化学科学), 2022, 45(8): 17-21.
- [18] LIU G G (刘贵阁), ZHONG Y G (钟耀广), CHEN B J (陈冰洁), et al. Antioxidant and hypoglycemic activities *in vitro* of rice bran polysaccharides with different ethanol precipitation treatment[J]. Storage and Process (保鲜与加工), 2023, 23(3): 29-36.
- [19] LIN J (林军), LI G Y (李高阳), HUANG F (黄帆), et al. Antioxidant and stability of polysaccharides from purple sweet potato by fractional alcohol precipitation[J]. Food & Machinery (食品与机械), 2022, 38(3): 189-196.
- [20] LI Z Y (李正一), LIAN C J (连成杰), SUN J (孙杰), et al. Study on physicochemical characteristics and antioxidant activities of polysaccharides from different parts of lotus root[J]. Journal of Food Science and Technology (食品科学技术学报), 2016, 34(4): 18-25.
- [21] TAKEUCHI H, MOOI L Y, INAGAKI Y K, et al. Hypoglycemic effect of a hot-water extract from defatted sesame (*Sesamum indicum* L.) seed on the blood glucose level in genetically diabetic KK-Ay mice[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2001, 65(10): 2318-2321.
- [22] WEI Y F (卫阳飞), SONG H (宋海), ZONG Y X (宗盈晓), et al. Study on the content, monosaccharide composition and antioxidant activity of the *Sibiraea angustata* polysaccharides precipitated by gradient ethanol[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences (华西药学杂志), 2018, 33(6): 489-493.
- [23] YAN S L (严尚隆), PAN C (潘创), YANG X Q (杨贤庆), et al. Degradation, structural characterization and hypoglycemic activity of polysaccharides from *Codium cylindricum*[J]. Food and Fermentation Industries (食品与发酵工业), 2021, 47(18): 119-126.
- [24] ZHANG Z (张政). Study on structure and immune activity of water soluble polysaccharide from *Anoectochilus roxburghii*[D]. Nanchang: Nanchang University (南昌大学), 2021.
- [25] YANG Y J (杨玉洁), LIU J Y (刘静宜), TAN Y (谭艳), et al. Progress in understanding the structure-activity relationship and hypoglycemic mechanism of polysaccharides[J]. Food Science (食品科学), 2021, 42(23): 355-363.
- [26] LI W, WU D T, LI F, et al. Structural and biological properties of water soluble polysaccharides from lotus leaves: Effects of drying techniques[J]. Molecules, 2021, 26(15): 4395.
- [27] SONG Y R, HAN A R, LIM T G, et al. Isolation, purification, and characterization of novel polysaccharides from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaves and their immunostimulatory effects[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 128: 546-555.
- [28] XIONG G Y, MA L S, ZHANG H, et al. Physicochemical properties, antioxidant activities and α -glucosidase inhibitory effects of polysaccharides from *Evodiae fructus* extracted by different solvents[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 194: 484-498.
- [29] CHENG S (程爽), HE F (贺斐), FU L Y (付龙洋), et al. Preparation of selenium polysaccharide from *Rabdosia rubescens* and analysis of its antioxidant activity[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2021, 38(10): 2064-2071.
- [30] WANG S S (王珊珊), SUN M (孙敏), WANG Y X (王永霞), et al. Correlation between the dynamic changes of morphological structure and molecular weight of coprinus comatus extracellular polysaccharides and their antioxidant activity[J]. Biotechnology Bulletin (生物技术通报), 2021, 37(2): 129-137.
- [31] CHEN X D (陈向东), LIU X W (刘晓雯), WU W T (吴梧桐). Isolation, purification and antitumor activity of low molecular weight grifola frondosa polysaccharides[J]. Chinese Journal of Natural Medicines (中国天然药物), 2006, (1): 77-80.