

芜菁多糖的提取分离及降糖活性分析

候梦雨^{1,2}, 许瑞娜², 李清宋^{1,2}, 李勺玄², 马鑫莹², 叶耀辉^{1,2*}

(1. 南昌医学院江西省教育厅“炎症疾病-痰证”药物筛选关键技术应用重点实验室, 南昌 330052;
2. 江西中医药大学, 南昌 330004)

[摘要] 目的:优化芜菁多糖成分提取方法,对分离、纯化出的芜菁多糖组分(BP-1)的初级结构和对糖尿病斑马鱼的降糖作用进行分析与评价。方法:以芜菁多糖得率为评价指标,采用半仿生提取法,通过单因素和Box-Behnken响应面法对料液比、提取时间和提取温度3个因素进行考察,优化提取工艺。采用Sevage法和DEAE-52纤维素柱进行分离纯化得到BP-1。采用紫外可见分光光度法(UV)、气相色谱-质谱法(GC-MS)、刚果红实验、傅里叶变换红外光谱法(FT-IR)对芜菁多糖的纯度、单糖组成、三螺旋结构与官能团进行结构鉴定;扫描电镜(SEM)和原子力电镜(AFM)对芜菁多糖微观结构进行观察。将斑马鱼分为空白组、BP-1-1、BP-1-10、BP-1-50、BP-1-200、BP-1-1 000组,分别加入E3培养基、1、10、50、200、1 000 mg·L⁻¹的BP-1溶液,对斑马鱼胚胎进行96 h暴露实验,通过对斑马鱼表型、存活率、畸形率和心率的影响评估斑马鱼对BP-1的最大耐受浓度。将实验动物随机分为空白组、模型组、BP-1-10组(10 mg·L⁻¹)、BP-1-50组(50 mg·L⁻¹)、BP-1-200组(200 mg·L⁻¹),空白组使用E3培养液培养,模型组和各给药组通过10 g·L⁻¹葡萄糖联合500 μmol·L⁻¹四氧嘧啶诱导4 dpf斑马鱼胚胎建立糖尿病模型,给药组分别加入相应剂量的BP-1溶液,空白组及模型组给予等量生理盐水。运用酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒检测葡萄糖和胰岛素(INS)含量,通过苏木素-伊红(HE)组织病理切片观察对肝脏的影响,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测胰高血糖素基因(Glucagon)、胰岛素基因(Insa)、磷酸烯醇丙酮酸羧激酶1(PCK1) mRNA的表达水平。结果:经工艺优化确定最佳提取工艺为料液比1:40(g·mL⁻¹)、提取时间66 min、提取温度79 °C,芜菁多糖提取率为(10.34±0.96)%。通过UV分析BP-1不含蛋白质和核酸;经GC-MS分析BP-1由阿拉伯糖、鼠李糖、核糖、甘露糖、半乳糖、葡萄糖6种单糖组成;刚果红实验表明分子构象不具有三螺旋结构;经FT-IR分析显示含有α-糖苷键和糖醛酸;SEM分析显示呈不规则片状结构,表面平坦光滑;AFM分析显示聚集结构可能是由分子链的相互缠绕及分子内氢键的相互作用形成的。芜菁多糖组分BP-1对斑马鱼96 h最大耐受质量浓度可确定为200 mg·L⁻¹。药效结果显示,与空白组比较,模型组斑马鱼体内葡萄糖含量显著增高,INS含量显著降低($P<0.01$);与模型组比较,芜菁多糖BP-1-50组可明显降低葡萄糖含量,明显升高INS含量($P<0.05$)。通过对肝组织的病理形态学观察发现,各剂量的BP-1对受损的肝脏组织具有一定的修复作用,BP-1-200组肝脏组织结构接近正常,肝细胞形态饱满。Real-time PCR结果显示,与空白组比较,模型组Glucagon、PCK1的mRNA显著上调,Insa的mRNA显著下调($P<0.01$);与模型组比较,BP-1-50、BP-1-200组的Glucagon、PCK1的mRNA显著下调,Insa的mRNA显著上调($P<0.01$)。结论:半仿生提取法提取芜菁多糖得率较高,且操作简单,成本较低,适宜工业化大规模生产。芜菁多糖组分BP-1由6种单糖组成,含α-糖苷键和糖醛酸,具有降糖活性,且对四氧嘧啶诱导的糖尿病模型斑马鱼肝脏具有一定的保护作用。

[关键词] 芜菁多糖; 半仿生提取法; 结构表征; 降糖活性; 工艺优化; 糖尿病

[中图分类号] R242;R284;R587.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)10-0219-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20260162

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260127.1451.004>

[网络出版日期] 2026-01-27 16:25:37 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>



Extraction, Separation and Hypoglycemic Activity Analysis of Polysaccharides from *Brassica rapa*

HOU Mengyu^{1,2}, XU Ruina², LI Qingsong^{1,2}, LI Shaoxuan², MA Xinying², YE Yaohui^{1,2*}

(1. Jiangxi Provincial Education Department Key Laboratory for Application of Key Technologies in Drug Screening for Inflammatory Diseases and Phlegm Syndrome, Nanchang Medical College, Nanchang 330052, China;

[收稿日期] 2025-10-21

[基金项目] 新疆维吾尔自治区重点研发计划项目(2022B02058);江西省卫生健康委科技创新重点项目(2025ZD001)

[第一作者] 候梦雨, 硕士, 从事中药炮制机制研究, E-mail: 1174838267@qq.com

[通信作者] * 叶耀辉, 博士, 教授, 从事中药资源与开发、中药炮制机制研究, Tel: 0791-85772115, E-mail: 55925368@qq.com

2. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] Objective: To optimize the extraction method for polysaccharides from turnip (*Brassica rapa*), and analyze and evaluate the primary structure of the isolated and purified turnip polysaccharide fraction (BP-1) and its hypoglycemic effects in diabetic zebrafish. **Methods:** Taking polysaccharide yield as the evaluation index, a semi-bionic extraction method was employed. Single-factor experiments and Box-Behnken response surface methodology were used to investigate three factors of solid-to-liquid ratio, extraction time and extraction temperature, in order to optimize the extraction process. BP-1 was isolated and purified using the Sevage method and DEAE-52 cellulose column chromatography. Structural characterization of the turnip polysaccharides was performed using ultraviolet-visible spectrophotometry (UV), gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), Congo red assay, and Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR) to determine purity, monosaccharide composition, triple-helix structure, and functional groups. The microstructure of the polysaccharides was observed using scanning electron microscopy (SEM) and atomic force microscopy (AFM). Zebrafish were divided into the blank group (adding E3 medium), and BP-1-1, BP-1-10, BP-1-50, BP-1-200, BP-1-1 000 groups (adding BP-1 solutions at concentrations of 1, 10, 50, 200, 1 000 mg·L⁻¹, respectively), and zebrafish embryos were subjected to a 96-hour exposure experiment. The maximum tolerated concentration of BP-1 in zebrafish was determined by evaluating its effects on phenotype, survival rate, malformation rate, and heart rate. Experimental animals were randomly divided into the blank group, model group, BP-1-10 group (10 mg·L⁻¹), BP-1-50 group (50 mg·L⁻¹), and BP-1-200 group (200 mg·L⁻¹). The blank group was cultured in E3 medium, the model and treatment groups were induced to establish a diabetic model in 4 day-post-fertilization (dpf) zebrafish embryos using 10 g·L⁻¹ of glucose combined with 500 μmol·L⁻¹ of alloxan. The treatment groups received corresponding doses of BP-1 solution, while the blank and model groups received an equal volume of saline. Glucose and insulin (INS) levels were measured using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits, the effects on the liver were observed by hematoxylin-eosin (HE) histopathological sections. The mRNA expression levels of glucagon (Glucagon), insulin (Insa), and phosphoenolpyruvate carboxykinase 1 (PCK1) were detected with real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR). **Results:** The optimized extraction conditions were determined as follows: solid-to-liquid ratio of 1:40 (g·mL⁻¹), extraction time of 66 min, and extraction temperature of 79 °C. Under these conditions, the yield of turnip polysaccharides was (10.34±0.96)%. UV analysis indicated that BP-1 contained no proteins or nucleic acids, GC-MS analysis revealed that BP-1 consisted of six monosaccharides (arabinose, rhamnose, ribose, mannose, galactose and glucose). Congo red assay indicated that the molecular conformation did not exhibit a triple-helix structure, FT-IR analysis showed the presence of α-glycosidic bonds and uronic acids, SEM analysis revealed an irregular flaky structure with a flat and smooth surface, AFM analysis suggested that the aggregated structure might be formed by the entanglement of molecular chains and intramolecular hydrogen bonding. The maximum tolerated concentration of BP-1 in zebrafish over 96 h was determined to be 200 mg·L⁻¹. Pharmacodynamic results showed that, compared with the blank group, the model group exhibited significantly increased glucose levels and significantly decreased INS levels ($P<0.01$). Compared with the model group, the BP-1-50 group significantly reduced glucose levels and increased INS levels ($P<0.05$). Histopathological examination of liver tissue revealed that various doses of BP-1 had a certain reparative effect on damaged liver tissue. The liver tissue structure in the BP-1-200 group was nearly normal, with hepatocytes appearing plump. Real-time PCR results showed that, compared with the blank group, the model group exhibited significantly upregulated mRNA expressions of Glucagon and PCK1, and significantly downregulated mRNA expression of Insa ($P<0.01$). Compared with the model group, the BP-1-50 and BP-1-200 groups showed significantly downregulated mRNA expressions of Glucagon and PCK1, and significantly upregulated mRNA expression of Insa ($P<0.01$). **Conclusion:** The semi-bionic extraction method for turnip polysaccharides yields a high extraction rate, is simple to operate, has low costs, making it suitable for large-scale industrial production. BP-1 consists of six monosaccharides, contains α-glycosidic bonds and uronic acids, exhibits hypoglycemic activity, and provides a certain protective effect on the liver of alloxan-induced diabetic model zebrafish.

[Keywords] *Brassica rapa* polysaccharides; semi-bionic extraction method; structural characterization; hypoglycemic activity; process optimization; diabetes mellitus

十字花科芸薹属植物芜菁 *Brassica rapa* 的球状根^[1], 新疆维吾尔族称为“恰玛古”, 既是主要的传统膳食也是重要药用部位, 其肉质多汁微甜, 略带辣味, 富含硫代葡萄糖苷、异硫氰酸酯、酚类、多糖和有机酸等成分, 具有开胃消食、下气宽中、止咳化痰、利湿解毒、温和脾胃的作用^[2-3]。现代药理研究表明, 芜菁多糖具有降血糖、抗疲劳、抑制肿瘤生长和抗氧化等功效^[4-6], 在营养保健方面具有较大研究

价值及健康产品开发潜能。

因不同 pH 的溶剂对多糖的溶解度影响不同^[7], 半仿生提取法利用多糖的这种特性, 通过模拟胃肠道吸收的过程, 能加大对物料细胞壁的破坏, 使多糖成分快速、高效溶出^[8]。芜菁在新疆有药食两用的特性及其在体内的作用途径, 半仿生提取法理论上能够更高效地释放并保留其天然活性成分, 真实反映其营养与功效的转化关系^[9]。目前, 半仿生提

取法已在黄芪、苜蓿等药用植物的多糖提取中展现出优势^[10-11],但在芜菁多糖提取中工艺参数尚未系统研究。

糖尿病是一种以慢性高血糖为特征的代谢性疾病,其核心病理机制为胰岛素分泌绝对不足或胰岛素作用抵抗^[12]。胰岛素基因(Insa)可以直接反映胰岛素合成能力;胰高血糖素基因(Glugagon)是其拮抗激素,两者动态平衡决定血糖水平;磷酸烯醇丙酮酸羧激酶1(PCK1)是糖异生限速酶,其表达上调是糖尿病肝糖过度输出的关键环节^[13]。检测Glugagon、Insa、PCK1的mRNA表达变化,可全面评估药物对血糖核心调控通路的影响。基于此,本研究采用半仿生法提取芜菁多糖,并探讨纯化后分离出的芜菁多糖组分BP-1的理化结构,进一步借助糖尿病斑马鱼模型,探讨BP-1组分对糖尿病斑马鱼的降糖作用,为芜菁多糖作为功能性食品成分或营养保健品在降血糖中的应用提供数据支撑。

1 材料

1.1 仪器 JW-3021HR型冷冻离心机(安徽嘉文仪器装备有限公司),FA2104N型万分之一分析天平(上海精密仪器有限公司),SCIENTZ-12N型真空冷冻干燥机(宁波新芝生物科技有限公司),SpectraMaxM2 Epoch型酶标检测仪(美谷分子仪器有限公司),Dimension ICON型原子力显微镜(德国布鲁克公司),JSM-IT800型扫描电镜(日本电子株式会社),Sprucm two型傅里叶红外光谱仪(天津博天胜达科技发展有限公司),UV-8000S型紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司),8860 5977b型气相色谱-质谱联用仪(美国Agilent公司),MTN-5800A-12型氮吹仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司),RGX-70ES型人工气候培养箱(杭州艾普仪器设备有限公司),SZM745B2型普通光学显微镜(鄂州市贝朗科技有限公司),GENIUS 16K-R型台式高速冷冻离心机(长沙市鑫奥仪器仪表有限公司),US850型超微量分光光度计(北京诺禾致源科技股份有限公司),SCI1000-G型梯度基因扩增仪(杭州沃森生物技术有限公司),Archimed-X4型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(鲲鹏基因北京科学仪器有限公司)。

1.2 药物与试剂 芜菁冻干片(新疆艾力努尔农业科技开发有限公司,批号20230711)经江西中医药大学药学院叶耀辉教授鉴定为十字花科芸薹属植物芜菁 *Brassica rapa* 的干燥块茎冻干片。木糖、核糖、鼠李糖、甘露糖、岩藻糖、半乳糖、阿拉伯糖、果

糖、葡萄糖醛酸对照品,DEAE-52纤维素(北京索莱宝科技有限公司,批号分别为SX8080、SR8450、SR8080、SD8420、F8140、SG8830、SA8380、SF8140、SG8820、C8930,纯度均>98%);斑马鱼胰岛素(INS)、葡萄糖酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(泉州乐达启博生物科技有限公司,批号分别为LDQB-A-95748、LDQB-E-1247);超纯RNA提取试剂盒、反转录试剂盒、SYBR染料法PCR混合溶液(康为世纪生物科技有限公司,批号分别为CW0581M、CW2020M、CW3008H);Super Red核酸染料、6×DNA上样缓冲液(北京兰柯科技有限公司,批号分别为BS354B、BL532B);TRIzol裂解液、苏木素-伊红(HE)染液(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号分别为G3013-100ML、GP1333)。

1.3 动物 野生型斑马鱼AB品系购自苏州木芮生物科技有限公司,饲养在成年斑马鱼饲养在循环水系统中,使用E3培养液,温度为(28±0.5)℃,自动计时器控制14 h/10 h的光/暗交替循环,每天喂食3次。按照雌雄比1:2随机捞选成熟斑马鱼,使其自然交配产卵。将健康胚胎保存在培养皿中,置于28℃恒温培养箱,培养至受精后5 dpf,每隔24 h更换1次培养水并及时吸出死卵和卵膜。

1.4 伦理 研究所涉及动物实验动物均经过江西中医药大学实验动物伦理委员会严格审查并获得批准,批准文号20220809001。

2 方法

2.1 芜菁多糖的提取 将芜菁冻干片粉碎,过四号筛,于石油醚中浸泡12 h,弃去上层石油醚液,挥干石油醚得脱脂芜菁粉末。根据半仿生法的原理^[14],用盐酸和氢氧化钠分别配制模拟胃液(pH 1.5)和模拟肠液(pH 8),芜菁粉末按料液比1:30加入模拟胃液,在90℃下提取1 h后,4 000 r·min⁻¹离心10 min(离心半径7 cm,下同),保留上清液,残渣溶于料液比1:30的模拟肠液,重复上述步骤,保留上清液。合并2次所得上清液,加入4倍体积的95%乙醇,醇沉24 h,收集多糖沉淀,8 000 r·min⁻¹离心10 min,沉淀物-20℃冷冻干燥后得芜菁多糖。

2.2 芜菁多糖的含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备及标准曲线绘制 精密称取D-葡萄糖对照品25 mg,于250 mL棕色量瓶中,加入蒸馏水溶解后定容,得到0.1 g·L⁻¹的对照品溶液。向1 mL量瓶中分别加入0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL的0.1 g·L⁻¹葡萄糖标准液,去离子水补足总体积至1 mL,再转移至试管中加入5%苯酚溶液

1 mL, 混匀后加入浓硫酸 5 mL, 将试管于冰水中混合均匀, 于沸水反应 10 min, 取出冰水中冷却至室温, 490 nm 处测定吸光度 A 。以葡萄糖质量浓度 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 为横坐标 (X), A_{490} 为纵坐标 (Y), 绘制回归方程。在 $0\sim 14.29 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 内, 葡萄糖的标准曲线呈良好线性, 线性方程为 $Y=4.2914X+0.0044$, $R^2=0.9922$ 。

2.2.2 供试品的制备及含量检测 向试管中加入 1.0 mL 芜菁多糖溶液和 5% 苯酚溶液 1 mL, 混匀后加入浓硫酸 5 mL, 将试管于冰水中混合均匀, 于沸水反应 10 min, 取出冰水中冷却至室温, 测定 A_{490} , 代入标准曲线计算芜菁多糖含量。

2.3 芜菁多糖半仿生提取的单因素考察 采用单因素试验考察料液比 (1:10、1:20、1:30、1:40、1:50)、提取时间 (45、55、65、75、85 min) 和提取温度 (55、65、75、85、95 $^{\circ}\text{C}$) 对半仿生提取芜菁多糖提取率的影响。

2.4 Box-Behnken 响应面法优化半仿生提取工艺
在单因素试验基础上, 根据 Box-Behnken 响应面法试验原理, 选出单因素实验中料液比、提取时间、提取温度为影响因素, 以 -1、0、1 编码各因素的低、中、高水平。基于二次多项式回归模型, 以芜菁粗多糖得率为评价指标, 采用 Design-Expert 8.0.5 软件设计三因素三水平的响应面优化实验。因素水平见表 1。

表 1 芜菁多糖提取工艺的 Box-Behnken 响应面设计

Table 1 Box-Behnken response surface factors and levels for extraction process of *Brassica rapa* polysaccharides

水平	料液比 $A/\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	提取时间 B/min	提取温度 $C/^{\circ}\text{C}$
-1	1:50	75	85
0	1:40	65	75
1	1:30	55	65

2.5 芜菁多糖的分离纯化 利用 Sevage 法去除蛋白质, 配置适当浓度芜菁粗多糖溶液, 加入 1/3 体积的 Sevage 试剂 (三氯甲烷-正丁醇 4:1), 以 $200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的转速振摇 20 min 后, $8000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 收集上清液, 去除白色絮状沉淀, 静置后收集上层溶液, 重复操作直至交界处无白色沉淀。减压浓缩后备用。向除蛋白后的多糖溶液中加入 6% (w/v) 的活性炭, 磁力搅拌器充分混匀, 置于 70°C 恒温水浴中加热 60 min (期间保持匀速搅拌), 减压抽滤进行脱色处理。

取上述多糖溶液, 缓慢上样到预先平衡后的 DEAE-52 纤维柱 (规格 $2 \text{ cm}\times 30 \text{ cm}$) 中。进行阶段

洗脱, 依次采用 0 、 0.1 、 0.3 、 $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氯化钠溶液梯度洗脱, 流速 $1 \text{ min}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。5 mL/管收集, 每个浓度梯度各连续收集 150 mL 洗脱液, 通过苯酚-硫酸法对洗脱液中的多糖含量进行测定。当检测不到糖类物质洗脱时, 即可切换至下一梯度进行洗脱, 确保各组分完全收集无残留。将收集的洗脱液减压浓缩后, 装入 3 500 Da 截留分子量的透析袋中, 在持续搅拌下透析 48 h (每隔 8 h 更换 1 次超纯水)。将透析液真空冷冻干燥, 得到絮状纯化芜菁多糖组分, 命名为 BP-1。

2.6 芜菁多糖组分 BP-1 初级结构表征^[15-16]

2.6.1 BP-1 纯度检测 取 BP-1 冻干粉 5 mg, 加入超纯水 5 mL 涡旋溶解, 配制质量浓度为 $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的多糖溶液, 纯水为空白, 使用紫外可见分光光度仪在 $200\sim 400 \text{ nm}$ 波长范围进行全波长扫描, 扫描间隔 1 nm。

2.6.2 气相色谱-质谱法 (GC-MS) 分析 BP-1 的单糖组分
2.6.2.1 对照品溶液的制备 取单糖对照品各 5 mg, 加入三氟乙酸 3 mL 在 100°C 下水解 6 h, 氮气吹干, 加入无水吡啶 3 mL 和含 1% TMCS 的 BSTFA 100 μL , 80°C 衍生化反应 40 min, 0.22 μm 滤膜立即过滤, 即得单糖对照品溶液。

2.6.2.2 检测条件 色谱条件为 Agilent HP-5MS SQC 色谱柱 ($0.25 \text{ mm}\times 30 \text{ mm}$, $0.25 \mu\text{m}$), 载气为氦气, 流速 $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 分流比 1:20, 进样口温度 250°C , 传输线温度 280°C , 升温程序 (50°C 保持 2 min, 以 $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 150°C , $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 250°C , 保持 2 min, 再以 $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 280°C , 保持 2 min), 进样量 $0.1 \mu\text{L}$ 。质谱条件为电子轰击离子源 (EI), 电离能量 70 eV, 四极杆温度 150°C , 离子源温度 230°C , 扫描范围 m/z 35~550, 检测器电压 1.3 kV, 分辨率 2 500。

2.6.2.3 供试品溶液的制备及检测 取 BP-1 冻干粉 5 mg, 按 2.6.2.1 项下方法制备供试品溶液, 按 2.6.2.2 项下检测条件进样检测, 参照对照品的碎片信息对单糖组分进行指认。

2.6.3 刚果红实验检测三螺旋结构 取 BP-1 冻干粉 20 mg 溶于蒸馏水 10 mL 中涡旋溶解, 配置成 $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液。取氢氧化钠固体 0.8 g 于 10 mL 蒸馏水中涡旋溶解, 配置成浓度为 $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液, 逐级稀释成 0.1 、 0.2 、 0.3 、 0.4 、 $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液。取刚果红粉末 1.6 mg 于 10 mL 棕色瓶, 加入蒸馏水 10 mL 中充分混匀, 得到 $160 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 刚果红溶液。取多糖溶液 50 μL 加入 96 孔板中后,

分别加入不同浓度氢氧化钠溶液 50 μL , 最后加入刚果红溶液 100 μL 混合混匀, 室温下静置 10 min, 在 400~600 nm 波长范围内测定 A , 并绘制 BP-1 在不同浓度氢氧化钠溶液中的最大吸收波长变化曲线。具有三螺旋构型的多糖在碱性溶液中能与刚果红形成络合物, 与刚果红试液比较, 络合物紫外吸收会发生红移, 从而使得最大吸收波长增大。

2.6.4 原子力电镜(AFM)观察 BP-1 纳米结构 称取冻干粉 1.0 mg 溶于蒸馏水 10 mL 中, 放置于磁力搅拌器上室温搅拌 4~6 h (转速 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$), 期间每隔 1 h 超声处理 5 min (功率 100 W, 频率 40 kHz), 配制成 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 溶液, 吸取 BP-1 溶液 5 μL 滴加在云母片上晾干, 置于原子力电镜上观察表面纳米结构。

2.6.5 傅里叶变换红外光谱法(FT-IR)检测 BP-1 官能团和糖苷键结构 称取干燥的溴化钾粉末 200.0 mg 与 BP-1 冻干粉 2.0 mg (100:1) 混合后在玛瑙研钵中充分研磨至均匀细粉后, 压片机制备透明薄片, 在 4 000~400 cm^{-1} 波数范围内进行扫描。

2.6.6 扫描电镜(SEM)观察多糖微观形貌 将适量 BP-1 冻干粉均匀分散于样品台上, 通入氮气去除多余粉末, 经离子溅射仪镀金处理 20 s 后, 将样品置于扫描电镜样品室中, 分别在 300、1 000、2 000、5 000 倍下, 通过扫描电镜观察其微观形貌特征。

2.7 斑马鱼对 BP-1 的最大耐受浓度检测^[17] 称取 BP-1 冻干粉 1 g 于 1 L 量瓶中, 用蒸馏水溶解并定容, 配制成质量浓度为 1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液。随机选取 5 dpf 斑马鱼置于 6 孔培养板中, 每孔随机放入 10 尾, 设置 3 个复孔, 分为空白组、BP-1-1 组、BP-1-10 组、BP-1-50 组、BP-1-200 组、BP-1-1 000 组, 小心吸走 E3 培养液, 按以上分组分别加入 BP-1 终质量浓度分别为 1、10、50、200、1 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 E3 培养液 5 mL, 在 (28.5 \pm 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中持续培养 96 h。使用体视显微镜对加样培养后的斑马鱼进行表型拍照, 记录每组斑马鱼存活数、畸形数及心率。

2.8 BP-1 对糖尿病斑马鱼的降糖活性评价

2.8.1 分组造模及给药 随机选取 500 尾体态健康的 4 dpf 斑马鱼幼鱼置于 6 孔板中, 分为空白组、模型组、BP-1-10 组、BP-1-50 组、BP-1-200 组, 每组 100 尾。除空白组外, 采用 10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖联合 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 四氧嘧啶诱导 24 h 建立 2 型糖尿病模型^[18], 各给药组在模型组基础上分别水溶给予 10、50、200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 BP-1 溶液 5 mL, 同时空白组和模型组给予同体积生理盐水, 浸泡 48 h。

2.8.2 葡萄糖和 INS 的含量检测 每组随机挑选 30 尾斑马鱼匀浆后离心, 取上清液, 按 ELISA 试剂盒操作说明检测其中葡萄糖和 INS 的水平。

2.9 BP-1 对斑马鱼肝组织的影响 每组斑马鱼各取 3 条, 用 4% 的多聚甲醛固定整个鱼体组织样本, 石蜡包埋切片, 进行 HE 染色, 在光学显微镜下观察肝组织病理变化。

2.10 BP-1 对斑马鱼糖代谢 Glugagon、Insa、PCK1 mRNA 水平的影响 每组斑马鱼中各随机挑选 30 尾斑马鱼充分研磨后滴加 TRIzol 试剂, 匀浆后 4 $^{\circ}\text{C}$ 、1 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取沉淀物, 提取总 RNA, 进行 RNA 浓度和纯度测定, 逆转录后进行扩增。扩增条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火延伸 60 s, 扩增 40 个循环。以 β -肌动蛋白 (β -actin) 为内参采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算目的 mRNA 的相对表达量, 引物序列由四维加生物科技有限公司合成, 引物序列见表 2。

表 2 引物序列

Table 2 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
β -actin	上游 CATCAGGGTGTCTATGGTTGGT	69
	下游 TCTCTTGCTCTGAGCCTCATCA	
Glugagon	上游 AAGCGAGGAGACGATCCAAA	66
	下游 TCCAACACACACCAGCAAATG	
Insa	上游 GAGCCCCCTTCTGGGTTTCC	59
	下游 AAGTCAGCCACCTCAGTTTCCT	
PCK1	上游 AGAGCCATCAACCCAGAGAA	112
	下游 CCACGTTGGTGAAGAGTGTG	

2.11 数据分析 数据分析采用 GraphPad prism 9.5 统计软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 若符合正态且方差齐用单因素方差分析, 两组间比较采用两独立样本 t 检验, 若不符合正态分布的采用 Kruskal-Wallis 秩和检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 芫菁多糖分离纯化

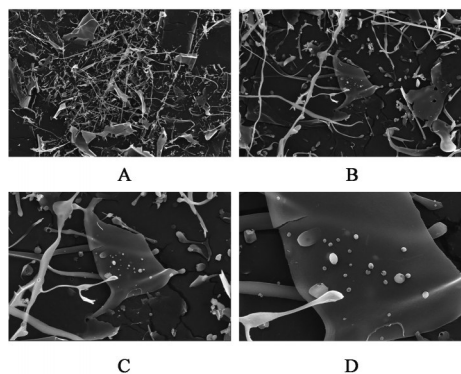
3.1.1 单因素实验分析 3 种因素对多糖得率的影响均呈先升高后降低的趋势, 分别于料液比 1:40 ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 提取时间 65 min 提取温度 75 $^{\circ}\text{C}$ 时多糖得率达峰值。故初步确定以料液比 1:40 ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 提取时间 65 min 提取温度 75 $^{\circ}\text{C}$ 时为最佳工艺条件用于后续工艺优化。见增强出版附加材料。

3.1.2 Box-Behnken 响应面法工艺优化 综合单因素试验结果, 根据 Box-Behnken 设计, 以芫菁多糖提取率为响应值 Y , 料液比 (A , 1:30、1:40、1:50)、提取

时间($B, 55、65、75 \text{ min}$)、提取温度($C, 65、75、85 \text{ }^\circ\text{C}$)为3个自变量。利用 Design-Expert 8.06 软件对数据进行二次多元回归拟合,建立二次多元回归方程 $Y=10.64+0.077 \ 3A+0.094 \ 7B-0.372 \ 4C-0.258 \ 5AB-0.285 \ 9AC-0.006 \ 5BC-0.599 \ 7A^2-0.553 \ 3B^2-1.07C^2$ ($R^2=0.842 \ 0, R_{\text{Adj}}^2=0.929 \ 0$)。对其进行方差分析,从拟合方程的相关系数可知,该模型充分代表了所选参数之间的实际关系。校正系数 $R_{\text{Adj}}^2=0.929 \ 0$ 证明该模型具有高度显著性,拟合效果较好。该模型失拟向 $F=0.430 \ 2, P=0.742 \ 9$, 差异无统计学意义。由 F 可知,3个因素对提取率显著性影响的顺序为 $C>B>A$ 。由 P 可知,模型一次项因素 C 及交互项因素 $AB、AC$ 对芫菁多糖得率的影响明显 ($P<0.05$),而模型的一次项因素 $A、B$ 及交互项因素 BC 对芫菁多糖得率影响无统计学意义。通过 Design-Expert.13 软件对回归方程求解,得料液比为 $1:39.431 \ 7(\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ 、提取时间为 $65.958 \ 8 \text{ min}$ 、提取温度为 $79.221 \ 7 \text{ }^\circ\text{C}$,模型预测在此条件下多糖提取率可达 $10.298 \ 5\%$ 。验证模型的可靠性并兼顾实际操作的可行性,调整料液比为 $1:40(\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ 、提取时间为 66 min 、提取温度为 $79 \text{ }^\circ\text{C}$,进行3次重复实验验证,测得芫菁多糖提取率为 $(10.34\pm 0.96)\%$,与预测理论值相似。见增强出版附加材料。采用苯酚-硫酸法测定芫菁总多糖含量,经3次平行实验测得芫菁总多糖含量为 85.36% 。

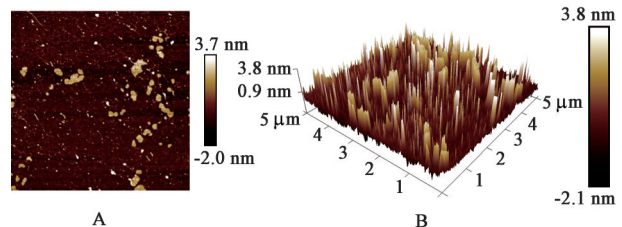
3.2 BP-1 初级结构鉴定 经分离纯化得到 BP-1 后,紫外可见分光光度法(UV)检测显示,在 $260、280 \text{ nm}$ 波长处均无明显吸收峰,说明 BP-1 不含蛋白质及核酸。GC-MS 分析 BP-1 单糖组分,检测到 BP-1 含有阿拉伯糖、鼠李糖、核糖、甘露糖、半乳糖、葡萄糖 6 种单糖,摩尔比为 $10.75:3.14:32.12:7.39:23.49:6.02$,表明 6 种单糖是其主要组成,构成其骨架结构。刚果红实验检测显示,与对照组刚果红溶液比较,随着氢氧化钠溶液浓度的增加,刚果红-BPR-1 配合物的吸收波长均表现出相似的蓝移趋势,表明 BP-1 中不具有三螺旋构象^[19]。FT-IR 检测显示, BP-1 样品展现出典型的多糖特征吸收谱带,其中 $3 \ 384 \text{ cm}^{-1}$ 处出现的宽而强的吸收峰对应于分子内和分子间 O-H 键的伸缩振动; $2 \ 939 \text{ cm}^{-1}$ 处的特征吸收峰为 C-H 键的对称和不对称伸缩振动,是糖环上亚甲基和次甲基的特征振动模式; $1 \ 033 \text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰为 C-O-C 键和 C-OH 键的伸缩振动; $1 \ 414 \text{ cm}^{-1}$ 处出现的吸收峰为 C-H 键的变角振动; 822 cm^{-1} 处的显著特征峰是 α -糖苷键的特征吸收;

$1 \ 609 \text{ cm}^{-1}$ 处出现的吸收峰为 C=O 键的伸缩振动,是糖醛酸单元的特征吸收^[11、20]。SEM 观察到 BP-1 颗粒呈片状折叠,表面形貌为不规则的碎片状聚集体,在 $\times 2 \ 000、\times 5 \ 000$ 倍下,可以看到表面相对平坦光滑,结合紧密^[21]。AFM 观察到 BP-1 的 2D 平面图出现大量斑点,其微观结构中存在多个岛状结构,多糖分子最高为 3.8 nm ,有研究表明,多糖中的单链高度一般在 $0.1\sim 1.0 \text{ nm}$ 内,所以推断 BP-1 的聚集结构可能是由分子链的相互缠绕及分子内氢键的相互作用形成,进而呈现不规则的形状^[22-23]。见增强出版附加材料及图 1、图 2。



注:A-D放大倍数分别为 $\times 300、\times 1 \ 000、\times 2 \ 000、\times 5 \ 000$
图1 BP-1的微观形貌观察(SEM)

Fig. 1 Scanning electron microscope of BP-1(SEM)



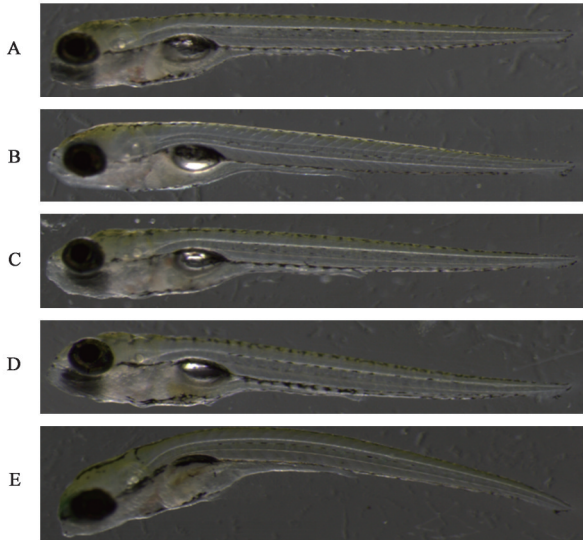
注:A. 表面2D平面图;B. 表面微观结构

图2 BP-1的纳米结构观察(AFM, $\times 5 \ 000$)

Fig. 2 Nanostructure observation of BP-1(AFM, $\times 5 \ 000$)

3.3 斑马鱼对 BP-1 的最大耐受浓度检测 空白组斑马鱼幼鱼发育正常,体态匀称,无水肿、畸形或心包扩张等异常表现。当 BP-1 暴露质量浓度低于 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,未见畸形、体轴弯曲或心包水肿等现象;而当质量浓度达到 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,个别斑马鱼出现表型异常,主要表现为心包腔扩张、体轴弯曲及发育迟缓。斑马鱼存活率结果显示,在 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下浓度时,斑马鱼存活率保持 100% ,但随着浓度升高,死亡率逐渐增加,至 $1 \ 000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时达到全部死亡。畸形率数据显示, $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下的 BP-1 暴露不会引起斑马鱼畸形,但超过该浓度后畸形率显著上升。心率监测结果表明,不同浓度 BP-1 处理对

斑马鱼心率均未产生显著性影响。确定 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为最大耐受浓度, 根据此实验对斑马鱼的综合评估, 将后续实验给药组分为 BP-1-10组、BP-1-50组、BP-1-200组, 见图3、表3。



注: A. 空白组; B. BP-1-1组; C. BP-1-10组; D. BP-1-50组; E. BP-1-200组

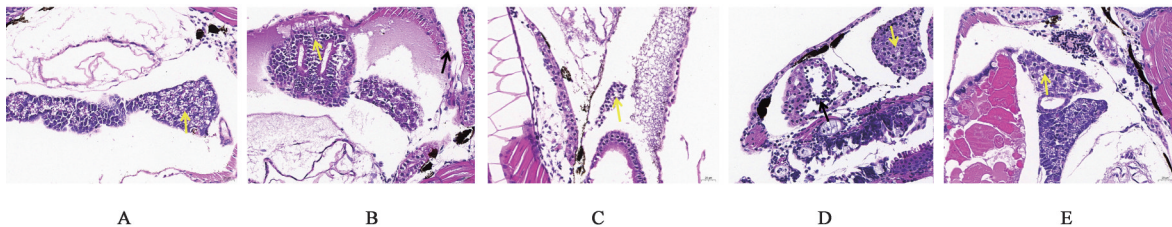
图3 不同浓度BP-1对斑马鱼表型的影响

Fig. 3 Effect of different concentrations of BP-1 on zebrafish phenotypes

3.4 BP-1对糖尿病斑马鱼的降糖作用

3.4.1 对生化指标的影响 与空白组比较, 模型组斑马鱼体内葡萄糖水平显著增高, INS水平显著降低 ($P < 0.01$), 表明造模成功。与模型组比较, BP-1各剂量组葡萄糖的水平呈下降趋势, INS的水平呈上升趋势, 其中BP-1-50组差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表4。

3.4.2 BP-1对糖尿病斑马鱼肝脏的保护作用 空



注: A. 空白组; B. 模型组; C. BP-1-10组; D. BP-1-50组; E. BP-1-200组

图4 BP-1对糖尿病斑马鱼肝脏组织形态的影响(HE, $\times 400$)

Fig. 4 Effect of BP-1 on liver morphology in diabetic zebrafish (HE, $\times 400$)

3.4.3 BP-1对糖尿病斑马鱼糖代谢相关基因表达水平的影响 与空白组比较, 模型组 Glucagon、PCK1的mRNA表达显著上调 ($P < 0.01$), Insa的mRNA表

表3 不同浓度BP-1对斑马鱼存活率、畸形率、心率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effect of different concentrations of BP-1 on survival rate, malformation rate and heart rate of zebrafish ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	存活率/%	畸形率/%	心率/bpm
空白组		100.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	147.30 \pm 15.90
BP-1-1组	1	100.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	141.90 \pm 10.68
BP-1-10组	10	100.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	145.50 \pm 9.82
BP-1-50组	50	100.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	150.30 \pm 10.81
BP-1-200组	200	93.33 \pm 5.77 ¹⁾	10.00 \pm 10.00	143.70 \pm 7.13
BP-1-1 000组	1 000	0.00 \pm 0.00 ²⁾	50.00 \pm 10.00 ²⁾	-

注: 与空白组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

表4 不同浓度BP-1对糖尿病斑马鱼体内葡萄糖、INS水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=30$)

Table 4 Effect of different concentrations of BP-1 on Glucose and INS levels in diabetic zebrafish ($\bar{x} \pm s, n=30$)

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	葡萄糖/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	INS/ $\text{mU} \cdot \text{L}^{-1}$
空白组		8.80 \pm 2.29	0.09 \pm 0.01
模型组		15.31 \pm 2.23 ¹⁾	0.05 \pm 0.01 ¹⁾
BP-1-10组	10	13.19 \pm 2.80	0.07 \pm 0.00
BP-1-50组	50	10.29 \pm 1.08 ²⁾	0.08 \pm 0.02 ²⁾
BP-1-200组	200	12.00 \pm 0.65	0.07 \pm 0.01

注: 与空白组比较 ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较 ²⁾ $P < 0.05$

白组斑马鱼肝脏组织结构完整, 肝细胞形态规则, 胞质均匀染色, 细胞核清晰可见, 未见明显病理改变; 模型组肝脏呈现明显病理改变, 肝小叶结构紊乱, 肝细胞排列不规则, 可见大面积细胞坏死区域, 表现为细胞核固缩、溶解或消失; BP-1-10组和BP-1-50组肝脏病理改变较模型组有所改善, 但仍可见局部肝细胞水肿和空泡变性; BP-1-200组肝脏组织结构接近正常, 肝细胞形态饱满, 染色均匀, 仅见少量炎性细胞浸润各组均未观察到明显的肝窦充血现象。见图4。

达显著下调 ($P < 0.01$)。与模型组比较, BP-1-50、BP-1-200组的 Glucagon、PCK1的mRNA表达显著下调 ($P < 0.01$), Insa的mRNA表达显著上调 ($P < 0.01$)。

见表5。

表5 不同浓度BP-1对糖尿病斑马鱼Glucagon、Insa、PCK1 mRNA表达水平的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 5 Effect of different concentrations of BP-1 on Glucagon, Insa, PCK1 mRNA expression of Zebrafish sugar metabolism genes ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	质量浓度/mg·L ⁻¹	Glucagon	Insa	PCK1
空白组		0.97±0.03	1.07±0.07	0.91±0.09
模型组		2.49±0.18 ¹⁾	0.27±0.03 ¹⁾	2.21±0.13 ¹⁾
BP-10组	10	2.39±0.11	0.36±0.03	2.00±1.56
BP-50组	50	1.94±0.15 ²⁾	0.53±0.06 ²⁾	1.65±0.11 ²⁾
BP-200组	200	1.45±0.15 ²⁾	0.66±0.05 ²⁾	1.25±0.11 ²⁾

注:与空白组比较¹⁾P<0.01;与模型组比较²⁾P<0.01

4 讨论

本研究优化得到芜菁多糖半仿生提取法的最佳工艺参数,经分离纯化获得主要水洗脱组分BP-1,并通过多维度表征初步解析了其结构。对BP-1的结构表征表明,其为一种不含核酸与蛋白质的酸性杂多糖,这与多数植物多糖的纯度特征相符^[13]。GC-MS结果显示其单糖组成以核糖、半乳糖和阿拉伯糖为主,摩尔比分别为32.12:23.49:10.75,这一组成比例与孙莲等^[24]和邝婷婷等^[25]研究的新疆与四川产芜菁多糖存在差异。这种差异可能源于药材产地、生长环境及提取纯化方法的不同,表明芜菁多糖的化学组成具有多样性,其生物活性可能与特定的单糖比例及连接模式密切相关^[26]。FT-IR证实了糖环的 α -构型糖苷键及糖醛酸单元的存在,后者所带负电荷可能影响多糖的溶解性、链构象及其与生物膜的相互作用^[19]。刚果红实验未检测到经典的三螺旋构象,表明其活性可能不依赖于此类高级结构。扫描电镜与原子力显微镜观察显示BP-1呈不规则片状聚集态,由分子链通过氢键等相互作用缠绕形成,这种微观形貌可能与其物理性质和生物可利用度有关^[27-28]。

本研究成功构建了葡萄糖联合四氧嘧啶诱导的斑马鱼糖尿病模型,该模型在生化指标(血糖升高、胰岛素降低)及肝组织病理损伤上均表现出典型特征,适用于天然产物的在体活性筛选^[29]。实验结果表明,BP-1能剂量依赖性地改善糖尿病斑马鱼的糖代谢紊乱。中、高质量浓度(50、200 mg·L⁻¹)干预能显著降低机体葡萄糖含量并提升INS水平,且高剂量组对肝脏组织的病理损伤表现出明显的修复作用,提示BP-1兼具降糖与器官保护潜能。为进一步从分子层面阐释其作用机制,本研究选取了调

控血糖稳态的3个关键基因进行检测。Glucagon与Insa是一对作用拮抗的激素,共同维持血糖平衡^[30]。PCK1是肝脏糖异生途径的限速酶,其表达上调是2型糖尿病肝糖过度输出的核心分子事件之一^[13]。Real-time PCR结果显示,BP-1能显著下调模型组斑马鱼肝脏中Glucagon与PCK1的mRNA表达,同时上调Insa的mRNA表达。这一系列基因表达变化揭示,BP-1可能通过双重途径发挥降糖作用:一方面,通过抑制胰高血糖素信号及糖异生关键酶PCK1的表达,减少肝糖原分解和内源性葡萄糖的生成;另一方面,通过促进Insa的表达或保护胰岛 β 细胞功能,增强外周组织对葡萄糖的摄取与利用^[31]。这种多靶点调节模式与许多具有明确降糖活性的植物多糖的作用特点相吻合^[32]。然而,本研究仅在mRNA水平进行了检测,其蛋白表达及上游信号通路的改变尚需进一步验证。

综上所述,本研究通过分离纯化得到芜菁均一多糖组分BP-1并探究其结构,药理实验探索其安全性、体内降糖活性与机制研究,证明了芜菁多糖的潜在降糖价值,为深入研究其降糖活性与结构间的构效关系提供数据支持,同时为其进一步在功能性食品和药用领域方面的开发应用提供理论依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 古力阿依木·萨木萨克. 机播恰玛古栽培技术[J]. 农村科技, 2016, 6: 48.
GULIAYIMU S. Cultivation Techniques of Jibo Qiamagu [J]. Rural Sci Technol, 2016, 6: 48.
- [2] 古丽米拉·卡德尔, 阿吉然姆·阿布拉, 任国瑞, 等. 芜菁多糖除蛋白及抑制RAW264. 7巨噬细胞焦亡作用研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(2): 183-190.
GULIMIRA K, AJIRANUM A, REN G R, et al. Study on protein removal and inhibition of pyroptosis in RAW264. 7 macrophages by turnip polysaccharides [J]. J Food Safe Quality Inspect, 2023, 14(2): 183-190.
- [3] 赵学志, 何洪巨, 刘庞源, 等. 芜菁不同生长期硫代葡萄糖苷的变化[J]. 北方园艺, 2018(5): 27-32.
ZHAO X Z, HE H J, LIU P Y, et al. Changes of glucosinolates in turnips at different growth stages [J]. Northern Horticulture, 2018, (5): 27-32.
- [4] 李雅双, 连路宁, 阿西娜, 等. 芜菁化学成分及生物活性的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(9): 2247-2249.
LI Y S, LIAN L N, A X N, et al. Advance in the study on the chemical constituents and biological activity of the *Brassica rapa* L. [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2013, 24(9):

- 2247-2249.
- [5] 海仁古丽·麦提提,祖丽皮艳·阿布力米特,海力茜·陶尔大洪. 芫菁中性多糖降血糖作用研究的初步探讨[J]. 食品安全质量检测学报,2020,11(2):387-392.
HAIRENGULI M, ZULIPIYAN A, HAILIQIAN T. Preliminary study on the hypoglycemic effect of neutral polysaccharide from *Brassica rapa* L. [J]. J Food Safe Quality,2020,11(2):387-392.
- [6] 赵滢,刘利娥,韩萍,等. 响应面法优化超声辅助提取蔓菁多糖工艺及其体外抗氧化性研究[J]. 食品工业科技,2020,41(7):139-145.
ZHAO Y, LIU L E, HAN P, et al. Optimization of ultrasonic assisted extraction process by response surface methodology and antioxidant activity *in vitro* for polysaccharides from turnip[J]. Sci Technol Food Ind,2020,41(7):139-145.
- [7] 王艳艳,汪子皓,李奕萱,等. 酸枣多糖低共熔溶剂提取工艺优化及体外降糖活性[J]. 医药导报,2025,44(6):928-933.
WANG Y Y, WANG Z H, LI Y X, et al. Ultrasonic-assisted deep eutectic solvent extraction of ziziphusjujube ultrasonic-assisted deep eutectic solvent extraction of ziziphusjujube[J]. Her Med,2025,44(6):928-933.
- [8] 任亚敏,王宏慧,秦令祥,等. 香菇-木耳复合多糖半仿生酶法提取工艺优化及其对运动耐力的影响研究[J]. 保鲜与加工,2025,25(11):122-128.
REN Y M, WANG H H, QIN L X, et al. Optimization of semi bionic enzyme extraction of lentinus edodes and auricularia auricula compound polysaccharide and its effect on exercise endurance[J]. Stor Process,2025,25(11):122-128.
- [9] 彭欣宇,邵予欣,沙旖璇,等. 半仿生法提取夏枯草多糖工艺优化及其体外抗氧化、酶抑制活性研究[J]. 食品工业科技,2025,doi:10.13386/j.issn1002-0306.2025030365.
PENG X Y, SHAO Y X, SHA Y X, et al. Optimization of the semi-biologically-inspired method for extracting polysaccharides from *Prunella vulgaris* and its *in vitro* antioxidant and enzyme-inhibiting activities research[J]. Sci Technol Food Ind,2025,doi:10.13386/j.issn1002-0306.2025030365.
- [10] YAN X, MIAO J, ZHANG B, et al. Study on semi-bionic extraction of astragalus polysaccharide and its anti-aging activity *in vivo*[J]. Front Nutr,2023,10(120):1919.
- [11] 张嘉园. 荨麻多糖的分离纯化、结构鉴定及降糖活性研究[D]. 西安:陕西科技大学,2021.
ZHANG J Y. Research on the isolation, purification, structural identification and hypoglycemic activity of urtica polyglycans [D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2021.
- [12] 陈文彬. 维药恰玛古多糖提取工艺、结构表征及生物活性的研究[D]. 南昌:江西中医药大学,2020.
CHEN W B. Research on the extraction technology, structural characterization and biological activity of polysaccharides from chamaerhodoside in Uyghur medicine [D]. Nanchang: Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine,2020.
- [13] GURU A, SUDHAKARAN G, ALMUTAIRI M H, et al. β -cells regeneration by WL15 of cysteine and glycine-rich protein 2 which reduces alloxan induced β -cell dysfunction and oxidative stress through phosphoenolpyruvate carboxykinase and insulin pathway in zebrafish *in-vivo* larval model[J]. Mol Biol Rep,2022,49(12):11867-11879.
- [14] 张宝. 黄芪多糖的分离纯化及其抗衰老活性研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2022.
ZHANG B. Extraction, purification and anti-aging activity of astragalus polysaccharides [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University,2022.
- [15] 杨桐,陈江,张雪,等. 分级醇沉玉竹多糖的结构表征及其抗糖尿病活性研究[J]. 中草药,2025,56(17):6121-6136.
YANG T, CHEN J, ZHANG X, et al. Structural characterization and antidiabetic activity study of polysaccharides from *Polygonatum odoratum* prepared by fractional alcohol precipitation [J]. Chin Tradit Herb Drug,2025,56(17):6121-6136.
- [16] CHEN H, LIU N, HE F, et al. Specific β -glucans in chain conformations and their biological functions[J]. Poly J,2022,54(4):427-453.
- [17] NASCIMENTO G O, MARQUES S P D, MAIA C E G, et al. Hypoglycemic effect of *Coffea arabica* leaf extracts and major bioactive constituents[J]. J Biomol Struct Dyn,2023,41(24):11-16.
- [18] SUDHAKARAN G, RAJESH R, GURU A, et al. Deacetylated nimbin analog N_2 fortifies alloxan-induced pancreatic β -cell damage in insulin-resistant zebrafish larvae by upregulating phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) and insulin levels [J]. Toxicol Appl Pharmacol,2022,454:116229.
- [19] 汤陈鹏,吕峰,王蓉琳. 孔石莼多糖锌结构表征与体外降血糖活性[J]. 食品科学,2020,41(7):52-58.
TANG C P, LYU F, WANG R L. Characterization of polysaccharide-zinc from *Hygrophila salicifolia* and its *in vitro* antidiabetic activity [J]. Food Sci,2020,41(7):52-58.
- [20] 杨亚,李瑞煜,冯五文,等. 薏苡仁多糖提取纯化、结构表征及药理作用研究进展[J]. 中华中医药学刊,2025,43(6):93-99.
YANG Y, LI R Y, FENG W W, et al. Research progress in extraction, purification, structural characterization and pharmacological action of polysaccharides from *Yiyiren* (Coicis Semen) [J]. Chin Arch Tradit Chin Med,2025,43(6):93-99.
- [21] 仇玉洁. 菱角多糖的超声提取、结构表征及其对巨噬细胞免疫激活效应的研究[D]. 镇江:江苏大学,2022.
CHOU Y J. Research on ultrasonic extraction of water extracts from squid shell polysaccharides, structural characterization and their effects on macrophage immune activation[D]. Zhenjiang: Jiangsu University,2022.
- [22] ZHANG M, QIN H, AN R, et al. Isolation, purification, structural characterization and antitumor activities of a

- polysaccharide from *Lilium davidii* var. *unicolor* Cotton [J]. *J Mol Struct*, 2022, 1261: 132941.
- [23] XUE H K, XU J Q, ZHANG J L, et al. Modeling, optimization, purification, and characterization of polysaccharides from *Lilium lancifolium* Thunb [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2022, 162: 113491.
- [24] 孙莲, 马合木提·买买提明, 曾玲力, 等. 柱前衍生化 HPLC 测定新疆芫菁多糖中的单糖 [J]. *华西药学杂志*, 2010, 25(2): 171-172.
- SUN L, MAHEMUTI M, ZENG L L, et al. Determination of monosaccharide compositions and contents in polysaccharide of *Brassica rapa* L. by Pre-column derivatization-HPLC [J]. *West China J Pharm Sci*, 2010, 25(2): 171-172.
- [25] 邝婷婷, 王宇, 王张, 等. 柱前衍生 HPLC 法分析蔓菁多糖中单糖的组成 [J]. *中成药*, 2014, 36(10): 2121-2125.
- QIU T T, WANG Y, WANG Z, et al. Analysis of monosaccharide compositions in *Brassica rapa* polysaccharide by precolumn derivation HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2014, 36(10): 2121-2125.
- [26] XIE Y, JIANG S, SU D, et al. Composition analysis and anti-hypoxia activity of polysaccharide from *Brassica rapa* L. [J]. *Int J Biol Macromol*, 2010, 47(4): 528-533.
- [27] 陈燕云, 平华, 高媛, 等. 黍稷麸皮多糖分离纯化、结构表征及抑菌活性分析 [J]. *食品工业科技*, 2024, 45(10): 1-7.
- CHEN Y Y, PING H, GAO Y, et al. Isolation, purification, structure characterization and antibacterial activity of polysaccharides from *Proso millet* bran [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2024, 45(10): 1-7.
- [28] ZHANG X, LIU Z, ZHONG C, et al. Structure characteristics and immunomodulatory activities of a polysaccharide RGRP-1b from *Radix Ginseng Rubra* [J]. *Int J Bio Macromol*, 2021, 189: 980-992.
- [29] 吉薇, 章超桦, KALUEF A V, 等. 糖尿病斑马鱼模型的建立与南极磷虾酶解物降血糖活性评价 [J]. *食品与机械*, 2019, 35(6): 24-29.
- JI W, ZHANG C H, KALUEF A V, et al. Establishment of diabetic zebrafish model and evaluation of hypoglycemic activity of antarctic krill enzymatic hydrolysates [J]. *Food Mach*, 2019, 35(6): 24-29.
- [30] 王黎明. 具有降血糖活性的茶多糖组分分离纯化与结构鉴定 [D]. 无锡: 江南大学, 2006.
- WANG L M. Purification and structure of anti-hyperglycemic component from tea polysaccharides [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2006.
- [31] 李燕, 张好好, 任艳琦, 等. 二甲双胍通过激活下丘脑 MC4R 缓解高脂饮食大鼠胰岛素抵抗 [J]. *中国病理生理杂志*, 2025, 41(8): 1467-1476.
- LI Y, ZHANG H H, REN Y Q, et al. Metformin attenuates insulin resistance by activating hypothalamic MC4R in high-fat diet-fed rats [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2025, 41(8): 1467-1476.
- [32] XIA T, LIU C, HU Y, et al. Coix seed polysaccharides alleviate type 2 diabetes mellitus via gut microbiota-derived short-chain fatty acids activation of IGF1/PI3K/Akt signaling [J]. *Food Res Int*, 2021, 150: 110717.
- [责任编辑 吕冬梅]