张立攀, 王俊朋, 李冰, 等. 山茱萸多糖的分离纯化、结构表征及体外降糖活性研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(6): 60−70. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030269

ZHANG Lipan, WANG Junpeng, LI Bing, et al. Isolation, Purification, and *in Vitro* Hypoglycemic Activity of Polysaccharides from *Cornus officinalis*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(6): 60−70. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030269

·研究与探讨·

山茱萸多糖的分离纯化、结构表征及体外降糖活性研究

张立攀, 王俊朋*, 李　冰, 赵梦瑶

（河南省商业科学研究所有限责任公司, 河南郑州 450002）

摘　要: 探究山茱萸多糖的结构及体外降糖活性机制。以山茱萸为原料，采用超声水提法提取山茱萸多糖，经 Sevage 脱蛋白、醇沉、DEAE-52、Sephadex G-100 柱层析分离纯化获得 COP-1S、COP-2S、COP-3S，对 3 种多糖组分进行体外降糖活性评价，在此基础上，通过分子量、单糖组成、红外光谱等测定对多糖结构表征，并利用酶促动力学、荧光光谱等探究 COP-2S 对 *α*-葡萄糖苷酶的抑制机理。降糖活性结果表明，3 种多糖组分对 *α*-淀粉酶抑制活性较弱，对 *α*-葡萄糖苷酶均有明显抑制作用，抑制能力大小顺序为：COP-2>COP-1>COP-3，其中 COP-2 的 IC_{50} 为 5.18 mg/mL；3 种多糖的平均分子量分别为 24.518×10^3、32.392×10^3、66.417×10^3 Da，单糖组成均含有甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、木糖、阿拉伯糖，但组成比例差异较大，COP-1S 中阿拉伯糖组成比例较高，COP-2S 和 COP-3S 中均含有阿拉伯糖和半乳糖醛酸，但在 COP-2S 中的组成比例较高；紫外和红外光谱表明 3 种多糖不存在蛋白和核酸，均含有吡喃环结构，其中 COP-2S 和 COP-3S 同时含有 *α* 和 *β* 构型糖苷键，COP-1S 为 *β* 构型；圆二色谱显示，3 种多糖均增加了 *α*-葡萄糖苷酶的 *β*-转角和无规则卷曲比例，减少 *β*-折叠比例，但仅有 COP-1S 增加了 *α*-螺旋比例；酶促动力学分析表明，COP-2S 对 *α*-葡萄糖苷酶的抑制类型为混合竞争抑制，抑制常数 K_i 为 0.2248 mg/mL；荧光光谱分析显示，COP-2S 对 *α*-葡萄糖苷酶的猝灭作用为静态猝灭，是一种以氢键和范德华力为主要驱动力的相互作用。本试验为山茱萸降糖高值化功能食品开发提供一定的理论依据。

关键词: 山茱萸, 多糖, 纯化, 体外降糖活性, 结构表征

中图分类号: TS201.7　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)06−0060−11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030269

本文网刊:

Isolation, Purification, and *in Vitro* Hypoglycemic Activity of Polysaccharides from *Cornus officinalis*

ZHANG Lipan, WANG Junpeng*, LI Bing, ZHAO Mengyao

(Henan Commerce Science Institute Co., Ltd., Zhengzhou 450002, China)

Abstract: To explore the structure and mechanism of hypoglycemic activity *in vitro* of polysaccharides from *Cornus officinalis*. Using *Cornus officinalis* as raw material, the polysaccharides were extracted by ultrasonic water extraction. COP-1S, COP-2S, and COP-3S were obtained by sevage deproteinization, alcohol precipitation, DEAE-52, and Sephadex G-100 column chromatography purification. The hypoglycemic activities *in vitro* of the three polysaccharide components were evaluated. On this basis, the structures of the polysaccharides were characterized by molecular weight, monosaccharide composition, infrared spectroscopy, etc. The inhibition mechanism of COP-2S on *α*-glucosidase was

收稿日期: 2025−03−19

基金项目: 河南省科学院基本科研业务费项目（240611009）; 河南省科学院成果转移转化项目（231611005）; 河南省中央引导地方科技发展资金项目（Z20241471145）; 河南省科学院成果转移转化项目（241611016）; 河南省科学院培育助推项目（20253811002）; 河南省科学院培育助推项目（20253811001）; 河南省重大科技专项项目（231100310200）; 河南省重点研发专项项目（251111112300）; 2024 年度第二批省级科技研发计划联合基金项目（245200810024）。

作者简介: 张立攀（1982−）, 男, 硕士, 正高级工程师, 研究方向: 食品和生物化学, E-mail: lipanzhang@163.com。

*** 通信作者:** 王俊朋（1990−）, 男, 硕士, 工程师, 研究方向: 功能性食品配料, E-mail: 1025628665@qq.com。

explored by enzyme kinetics and fluorescence spectroscopy. The results of hypoglycemic activity showed that the three polysaccharide components had weak inhibitory activity on α-amylase, but significant inhibitory effects on α-glucosidase. The order of inhibitory ability was COP-2>COP-1>COP-3, and the IC_{50} of COP-2 was 5.18 mg/mL. The average molecular weights of the three polysaccharides were 24.518×10^3, 32.392×10^3 and 66.417×10^3 Da, respectively. The monosaccharide compositions all contained mannose, rhamnose, glucose, xylose and arabinose, but the composition ratios were different. The arabinose composition ratio in COP-1S was relatively high, and both COP-2S and COP-3S contained arabinose and galacturonic acid, but the composition ratio in COP-2S was higher. UV and IR spectra indicated that the three polysaccharides did not contain protein and nucleic acid, and all contained pyran ring structures. COP-2S and COP-3S contained both α and β configurations glycosidic bonds, while COP-1S was of β configuration. Circular dichroism spectroscopy showed that all three polysaccharides increased the β-turn and random coil ratios of α-glucosidase, while decreasing the β-folding ratio, However, only COP-1S increased the α-helix ratio. Enzyme kinetics analysis indicated that the inhibition type of COP-2S on α-glucosidase was mixed competitive inhibition, with an inhibition constant K_i of 0.2248 mg/mL. Fluorescence spectroscopy analysis showed that the quenching effect of COP-2S on α-glucosidase was static quenching, which was a kind of interaction mainly driven by hydrogen bonds and van der Waals forces. This experiment provided a certain theoretical basis for the development of high-value functional foods with hypoglycemic effects from *Cornus officinalis*.

Key words: *Cornus officinalis*; polysaccharide; purification; *in vitro* hypoglycemic activity; structural characterization

近年来我国糖尿病人群呈逐年攀升态势，据统计 2024 年已达约 1.43 亿。餐后血糖升高是糖尿病患者主要的临床症状，长期维持高血糖易引起胰岛素分泌异常及多种慢性并发症[1]。α-淀粉酶、α-葡萄糖苷酶等是糖代谢过程中的关键酶，能够水解淀粉引起血糖升高[2]。临床常用的降糖药物（如二甲双胍、磺胺类药物等）主要为 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶抑制剂，但长期服用此类药物副作用明显，易引起肠胃功能紊乱、脚踝浮肿等[3]，因此寻找理想的天然降糖原料是当前的科研热点。

多糖是由 10 个及以上单糖由糖苷键连接而成的高分子聚合物，资源丰富，具有调节免疫力、抗氧化、抗炎、降血糖等多种功效[4]。研究表明多糖是山药、黄精、桑叶、苦瓜等发挥降糖活性的主要成分，具有刺激胰岛素分泌，控制血糖升高的作用[5]。山茱萸是常见的大宗中药材，分布于河南、山西、陕西等地，食用历史悠久，常用于泡酒、制酱等，2023 年经国家卫生健康委员会批准正式将其纳入药食同源目录[6]。山茱萸富含环烯醚萜类、黄酮、多糖、有机酸等诸多功能成分[7−8]，其中多糖作为其主要活性成分同样具有显著的降糖活性。崔永霞等[9] 基于代谢组学探究了山茱萸多糖对 T2DM 型糖尿病的干预机制，发现其能够通过调节糖脂代谢紊乱改善血糖水平。Fu 等[10] 从山茱萸果肉中提取纯化得到 PFC-3，发现其能够浓度依赖性地增强胰岛素抵抗 HepG2 细胞的葡萄糖摄取并显著改善葡萄糖消耗。目前关于山茱萸多糖对 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶活性抑制的研究较少，其抑制类型、作用机制等尚不清晰，此外多糖复杂的结构与其生物活性密切相关[11]，只有对其纯化才能更好地探究其结构与生理功能。因此本研究采用 DEAE-52、SephadexG-100 柱层析分离纯化得到山茱萸多糖组分，以 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶抑制率为评价指标，评价不同多糖组分的体外降糖活性，进一步测定多糖的分子量、单糖组成、红外光谱、紫外光谱等结构表征分析多糖组分结构与其酶活性抑制的构效关系，并利用圆二色谱研究多糖对 α-葡萄糖苷酶二级结构的影响，进一步通过抑制动力学、荧光猝灭等方法研究多糖的抑制类型及作用机理，为山茱萸多糖降糖功能因子的研究提供一定的理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

山茱萸　购买自河南张仲景大药房股份有限公司；DEAE-52 纤维素、α-淀粉酶（50 U/mg）、α-葡萄糖苷酶（100 U/mg）　上海源叶生物科技有限公司；乙腈（色谱纯）、甲醇（色谱纯）、三氯甲烷、甲醇、三氟乙酸（TFA）、1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮（1-Phenyl-3-methyl-5-pyrazolone, PMP）、硝酸钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠　分析纯，天津科密欧试剂有限公司；考马斯亮蓝-G250、牛血清蛋白　国药集团化学试剂有限公司；单糖标准品　上海麦克林生化科技股份有限公司；普鲁兰混标套餐（Pullulan KIT）　Sigma 公司。

RE-2000 旋转蒸发仪　上海亚荣生化仪器厂；KQ-700DE 型数控超声清洗器　昆山市超声仪器有限公司；GL-16M 型高速冷冻离心机　常州金坛良友仪器有限公司；AL104 电子天平　梅特勒-托利多仪器（上海）；HH 恒温水浴锅　金坛区中大仪器厂；101-1AB 型电热鼓风干燥箱　天津市泰斯特仪器有限公司；LGJ-12 真空冷冻干燥机　北京松源华兴科技发展有限公司；TU-1901 双光束紫外可见分光光度计　北京普析通用仪器有限责任公司；F-7000 型荧光分光光度计　赛伯乐（北京）仪器有限公司；1260 Agilent 高效液相色谱仪　安捷伦公司；Sartorius 普及型 pH 计　德国 Sartorius 公司；1515 高效液相色谱仪　Waters Chromatography, Inc；Optilab-rex 示差检测器、Dawn-Heleos 光散射检测器　美国怀雅特

技术公司(Wyatt Technology Corporation);SB805-803 串联凝胶柱 昭和电工株式会社(Showa Denko K.K.)。

1.2 实验方法

1.2.1 山茱萸多糖的提取 参考刘冰等[12]的方法,略有修改。山茱萸清洗、去核,60 ℃ 下低温烘干 12 h,粉碎过 40 目筛。准确称取 5 g 山茱萸粉末,以料液比 1∶30(m/v)加入纯净水,保持 55 ℃、300 W 条件下超声处理 2 h,过滤,收集滤液,真空浓缩至原体积的 1/4,加入 5 倍体积的无水乙醇,4 ℃ 过夜,5000 r/min 下离心 10 min,弃去上清液,真空冻干。称取一定质量的冻干粉末,制备成 10 mg/mL 的溶液,按照 4∶1(v/v)向溶液中加入 Sevage(正丁醇∶氯仿=1∶4)溶液脱蛋白,充分振荡 15 min,离心,留取上清液,继续重复脱蛋白操作 3 次,合并上清液,浓缩至原体积的 1/2。采用 3500 Da 透析袋截留处理,浓缩、真空冻干得到山茱萸多糖(*Cornus officinalis* Polysaccharides, COP)。

1.2.2 山茱萸多糖的纯化

1.2.2.1 DEAE-52 阴离子交换柱层析处理 按照说明书要求使用前用纯净水清洗 DEAE-52 纤维素,将处理好的纤维素装入层析柱(2.5 cm×30 cm)中,约为 2/3 柱体积,静置 24 h,将 10 mL 浓度 10 mg/mL 的山茱萸多糖溶液加入层析柱,分别用 0、0.1、0.3、0.5 mol/L 的 NaCl 溶液洗脱,调节流速为 2 mL/min,收集洗脱液,每管 10 mL,利用苯酚-硫酸法[13]测定每管洗脱液的多糖含量(以吸光值 A_{490} 表示),绘制洗脱曲线。

1.2.2.2 多糖理化指标测定 多糖、蛋白、糖醛酸含量分别采用硫酸-苯酚法、考马斯亮蓝法、硫酸-咔唑法测定[14−15]。

1.2.2.3 SephadexG-100 柱层析纯化多糖组分 取前期经初步分离得到的 3 个山茱萸多糖粗组分冻干粉(COP-1、COP-2、COP-3),分别复溶于去离子水,配制成 5 mg/mL 的多糖溶液,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤除去不溶性杂质后,上样于 Sephadex G-100 凝胶柱。采用去离子水进行洗脱,流速 0.4 mL/min,每管收集 10 mL 洗脱液。以硫酸-苯酚法于 490 nm 处测定吸光度(A_{490}),绘制洗脱曲线,根据洗脱峰分别收集 3 个独立多糖组分的洗脱液,经冻干后得到纯化多糖组分 COP-1S、COP-2S、COP-3S,备用。

1.2.2.4 多糖纯度测定 参考何坤明等[4]的方法,以去离子水为溶剂,分别将山茱萸多糖 3 种纯化组分配制成 5 mg/mL 的多糖溶液,采用紫外分光光度法在 200~400 nm 波长范围内进行全波长扫描,确定山茱萸多糖的特征吸收峰,并根据特征吸收情况检测蛋白质、核酸的残留情况

1.2.3 山茱萸多糖对 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶的抑制作用

1.2.3.1 α-淀粉酶抑制率的测定 参考 Xu 等[16]方法测定,分别取 3 种纯化多糖组分(COP-1、COP-2、COP-3),以去离子水为溶剂,制备系列浓度的多糖溶液(0、2.5、5、10、20 mg/mL)。将 2 mL 多糖溶液与 2 mL α-淀粉酶(1 U/mL)混合均匀,在 37 ℃ 下孵育 5 min,加入 2 mL质量浓度 1% 的淀粉溶液,继续反应 15 min,加入2 mL DNS 试剂,沸水浴 5 min,取出冷却至室温,以蒸馏水定容至 25 mL,于 540 nm 波长下测定吸光值,对照组不加多糖,空白组以纯净水代替 α-淀粉酶溶液,以阿卡波糖为阳性对照。

1.2.3.2 α-葡萄糖苷酶抑制率的测定 参考蔡文强等[17]的方法测定,分别制备系列浓度的多糖溶液(0、2.5、5、10、20 mg/mL),分别吸取 200 μL 的多糖溶液和 200 μL 的 α-葡萄糖苷酶溶液(0.3 U/mL),混合均匀,37 ℃ 下反应 20 min,加入 200 μL 浓度 0.5 mmol/L 的 PNPG 溶液,混匀后继续水浴 30 min,最后加入 5 mL 浓度 0.1 mol/L 的 Na_2CO_3 溶液终止反应,405 nm 波长下测定吸光值,对照组不加多糖溶液,空白组以纯净水代替 α-葡萄糖苷酶溶液,以阿卡波糖为阳性对照,按照式(1)计算抑制率:

$$Y(\%) = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100 \qquad \text{式(1)}$$

式中:Y 表示 α-淀粉酶或 α-葡萄糖苷酶抑制率,%;A_0 为对照组吸光值;A_1 为样品组吸光值;A_2 为空白组吸光值。

1.2.4 多糖分子量测定 通过 GPC-RI 法测定多糖相对分子量。色谱条件:流动相:0.1 mol/L 硝酸钠水溶液;色谱柱:Shodex SB-805-804-803 串联凝胶柱(8×300 mm);流速:1 mL/min;柱温:40 ℃;进样量:30 μL;检测器:Optilab REX+Dawn heleos,分析时间:40 min。

称取 12 个普鲁兰多糖分子量标准品(分子量范围:180~1330000 Da)各 5 mg,溶解于 0.5 mL 流动相溶液中,配制成 10 mg/mL 溶液,转置于 1.8 mL 进样小瓶中。精密称取多糖样品 10 mg,溶解于 1 mL 的流动相溶液中,配制成 10 mg/mL 溶液,涡旋至样品溶解后,12000 r/min 离心 10 min。吸取上清液,用 0.22 μm 的水系微孔滤膜过滤,然后将样品转置于 1.8 mL 进样小瓶中。

将标准品置于进样盘中,选择上述色谱方法进行分析,仪器通过 PEG 21600 和 22000 归一化后,采集的数据通过 Astra 6.1 软件分析。

1.2.5 单糖组成 采用 PMP 柱前衍生后由 HPLC 法测定[18]。分别配制浓度 1 mg/mL 的 10 种单糖标准品(甘露糖、古洛糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖、岩藻糖)。

称量 2 mg 多糖样品置于鸡心瓶中,加入 2 mol/L 的 TFA 溶液,涡旋振荡使多糖样品完全溶解后,置于 110 ℃ 烘箱中酸水解 4 h,多次加甲醇旋蒸以除去残留的 TFA,检测多糖样品为中性。分别吸取 50 μL 水解样品/标准品混合液(1 mg/mL),加入 50 μL 浓

度 0.6 mol/L 的 NaOH 溶液和 100 μL 浓度 0.5 mol/L 的 PMP 甲醇溶液(87.1 mg/mL)，涡旋振荡，70 ℃ 水浴反应 100 min，冷却至室温后加入 200 μL 浓度为 0.3 mol/L 的 HCl 溶液，继续加入 700 μL 纯净水和 1 mL 三氯甲烷萃取 15 min，弃去有机相，重复萃取三次后，8000 r/min 离心 5 min，取水层样品过 0.22 μm 微孔滤膜(水系)，按照以下色谱条件测定：

流动相配制：准确称取 13.6 g 磷酸二氢钾、1.8 g 氢氧化钠，溶解于 2 L 纯净水中，充分混匀后过滤膜(水相)，将此混合溶液与乙腈(色谱级)按 83∶17 (v/v)的比例充分混合均匀，超声脱气后得到 HPLC 流动相。检测条件：进样量为 10 μL，流动相流速 1 mL/min，柱温 25 ℃，紫外检测波长 254 nm，检测时间 75 min。

1.2.6　紫外光谱分析　准确称取多糖样品 10 mg，置于 10 mL 容量瓶，溶解并定容至刻度线，在 200~400 nm 波长下紫外光谱扫描。

1.2.7　红外光谱检测　准确称取 2 mg 干燥的多糖样品与 KBr 粉末混合，研磨，压片，在波长 4000~500 cm^{-1} 范围内进行红外光谱扫描。

1.2.8　圆二色光谱测定　将 5 mg/mL 的多糖样品溶液与 0.3 U/mL α-葡萄糖苷酶溶液等体积混合，37 ℃ 下反应 20 min，转移到 0.5 mm 石英比色皿，放入圆二色谱仪扫描，相关参数：设置扫描步长 1 nm，采集时间 1 s，扫描范围 190~260 nm，采用 CDNN 程序对二级结构分析。

1.2.9　抑制动力学　参考 Lin 等[19] 的方法，略有修改。固定 PNPG 浓度(0.5 mmol/L)，随着 α-葡萄糖苷酶浓度的增加(0、0.0375、0.075、0.15、0.3 U/mL)，分别测定不同浓度(0、2.5、5、10、20 mg/mL)山茱萸多糖抑制 α-葡萄糖苷酶的酶促反应速率；固定 α-葡萄糖苷酶浓度(0.3 U/mL)，随着 PNPG 浓度的增加(0.125、0.25、0.5、1.0、2.0 mmol/L)，分别测定在不同浓度多糖(0、2.5、5 mg/mL)时的酶促反应速率。由酶促反应速率和底物浓度绘制 Lineweaver-Burk 双倒数曲线，判断其抑制类型，并根据式(2)~式(4)计算相关动力学参数[19]。

$$\frac{1}{v}=\frac{K_m}{V_{max}}\left(\frac{[I]}{K_i}+1\right)\frac{1}{[S]}+\frac{1}{V_{max}}\left(\frac{[I]}{\alpha K_i}+1\right) \quad 式（2）$$

$$Slope=\frac{K_m}{V_{max}K_i}[I]+\frac{K_m}{V_{max}} \quad 式（3）$$

$$Y\text{-}intercept=\frac{1}{V_{max}^{app}}=\frac{1}{V_{max}}+\frac{[I]}{\alpha K_i V_{max}} \quad 式（4）$$

式中：v 为酶促反应速率，ΔOD/min；V_{max} 为最大反应速率，ΔOD/min；[S] 为底物浓度，%；K_m 为米氏常数，mg/mL；K_i 为抑制常数，mg/mL；[I] 为多糖浓度，mg/mL；α 为表观系数。

1.2.10　荧光猝灭分析　参考张宏图等[20] 的方法，将 α-葡萄糖苷酶(0.3 U/mL)与不同浓度的多糖样品溶液(0、1.25、2.5、5、10 mg/mL)充分混合，分别在 25、37 ℃ 下孵育 5 min 进行扫描，激发波长和发射波长为 280 nm，300~450 nm，狭缝宽度 5 nm，扫描速度 1200 nm/min。

1.3　数据处理

每组试验重复 3 次，结果以平均值±标准差表示，采用 SPSS 22.0 软件进行差异显著性分析，$P<0.05$ 表示具有显著差异，OriginPro 2019b 作图。

2　结果与分析

2.1　DEAE-52 离子交换柱层析及多糖组分主要成分分析

如图 1 所示，采用不同浓度的 NaCl 洗脱共获得 3 个洗脱峰，按照出峰先后顺序依次为 COP-1、COP-2、COP-3，其中 0.1 mol/L NaCl 的洗脱峰为 COP-2，峰面积较大。3 种组分的化学组成见表 1。由表 1 可知，3 种多糖组分中 COP-2 多糖得率最高，蛋白含量较低，这是由于水溶性蛋白在脱蛋白过程中被大量去除，与 COP-1 多糖相比，其他两种的糖醛酸含量较高，表明含有酸性多糖，该结果与洗脱曲线较一致。

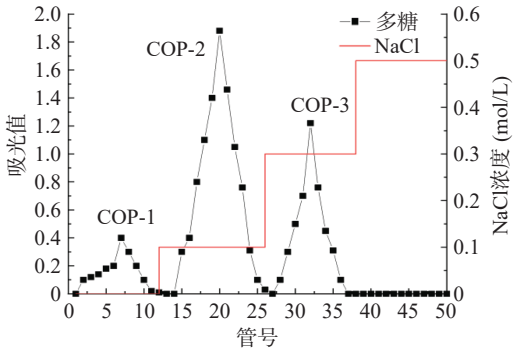


图 1　洗脱曲线

Fig.1　Elution curves

表 1　多糖的化学成分

Table 1　Chemical composition of polysaccharides

样品	多糖得率(%)	蛋白质含量(μg/mL)	糖醛酸含量(%)
COP-1	14.15±0.02^c	110.61±1.74^a	0.12±0.001^c
COP-2	31.06±0.04^a	97.32±1.16^b	16.67±0.21^b
COP-3	17.61±0.05^b	74.61±1.07^c	20.42±0.67^a

注：同一列不同小写字母代表组间差异显著，$P<0.05$。

2.2　不同山茱萸多糖组分的体外降糖活性

COP-1、COP-2、COP-3 对 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶的抑制作用见图 2。由图 2(a)可知，3 种组分对 α-淀粉酶的抑制作用均不明显，其中 COP-2 的抑制率相对较高。而相比 α-淀粉酶，3 种组分对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用较强，其中 COP-2 的抑制率最高为 47.8%，其次为 COP-1(37.7%)。3 种多糖组分随浓度变化对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用见图 2(b)，采用 Origin 软件中 DoseRsep 函数进行非线性拟合计算 COP-1、COP-2、COP-3 的 IC_{50} 值，分别为：12.51、5.18、27.85 mg/mL。

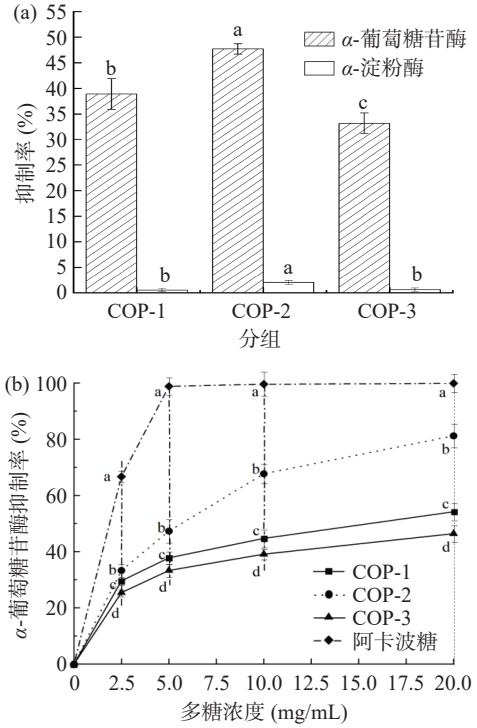


图 2 不同山茱萸多糖组分的体外降糖活性

Fig.2 Hypoglycemic activities of different polysaccharide fractions from cornus officinalis *in vitro*

注: 图中不同小写字母代表组间差异显著, $P<0.05$。

2.3 SephadexG-100 色谱柱层析

采用 SephadexG-100 层析柱对 COP-1、COP-2、COP-3 分离纯化后, 分别得到 COP-1S、COP-2S、COP-3S, 由图 3 可知, 3 种多糖组分均有单一的洗脱峰, 峰形单一对称, 表明为纯度均一的多糖, 其多糖含量分别为 89.3%、81.8%、90.2%。

2.4 山茱萸多糖 3 种组分单糖组成及分子量分布

凝胶渗透色谱(GPC)校准曲线见图 4(a), 由图 4(a)可知洗脱体积和 lg(分子量 [n])线性关系良好, 标准曲线方程: $\lg(\text{分子量 [n]})=48-4.93V+0.2V^2-0.00284V^3$, $R^2=0.9997$。COP-1S、COP-2S、COP-3S 多糖的凝胶色谱图分别见图 4(b)、图 4(c)、图 4(d), 经测定三者的出峰时间分别为 28.2、27.8、26.9 min, 平均分子量为 24.518×10^3、32.392×10^3、66.417×10^3 Da, 多分散性指数(M_w/M_n)为 1.94、1.24、2.27, 均在 1~3 之间, 表明 3 种多糖的平均分子量较集中, 纯度较高。

2.5 单糖组成分析

混合单糖标准品和 COP-1S、COP-2S、COP-3S 的色谱图见图 5。由图 5 可知 COP-1S、COP-2S、COP-3S 分别发现 5、8、7 个单糖峰, COP-1S 的单糖组成为: 甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、木糖、阿拉伯糖, 其摩尔比为 0.048∶0.023∶0.117∶0.119∶0.194, 主要由葡萄糖(摩尔百分比: 23.3%)、木糖(23.75%)、阿拉伯糖(38.8%)等组成; COP-2S 的单糖组成为: 甘露糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖, 其摩尔比为: 0.041∶0.026∶0.021∶0.028∶0.113∶0.028∶0.047∶0.034, 主要由葡萄糖(33.2%)、木糖(13.9%)、甘露糖(12.1%)、阿拉伯糖(10.2%)组成。COP-3S 单糖组成为甘露糖、鼠李糖、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖, 其摩尔比为 0.014∶0.007∶0.012∶0.093∶0.008∶0.013∶0.005, 主要由葡萄糖(54.2%)、木糖(9%)、鼠李糖(8.8%)、甘露糖(7.7%)、阿拉伯糖(3.28%)等组成; 综上可知, 三种多糖组分均含有甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、木糖、阿拉伯糖, 但比例相差较大。相比 COP-1S 和 COP-3S(半乳糖醛酸摩尔百分比 7.8%), COP-2S 含有较多的半乳糖醛酸(8.3%), 研究发现藜蒿叶多糖、酸枣果肉多糖、广金钱草多糖等均具有明显的 α-葡萄糖苷酶抑制作用, 而半乳糖醛酸在单糖组成中占比均最高[21−23], 因此半乳糖醛酸可能与 COP-2S 较高的 α-葡萄糖苷酶抑制活性有关。相比 COP-3S, COP-1S 和 COP-2S 的阿拉伯糖组成比例较高, 张涛等[24] 研究发现枸杞叶多糖单糖组成比例中阿拉伯糖含量最高, 具有明显的 α-葡萄糖苷酶抑制活性, 李湘洲等[25] 发现油茶饼粕多糖主要由阿拉伯糖组成, 是其抑制 α-葡萄糖苷酶活性的主要成分。由于 COP-2S 单糖组成中含有较多的半乳糖醛酸和阿拉伯糖, 这可能是其具有较高降糖活性的原因之一。

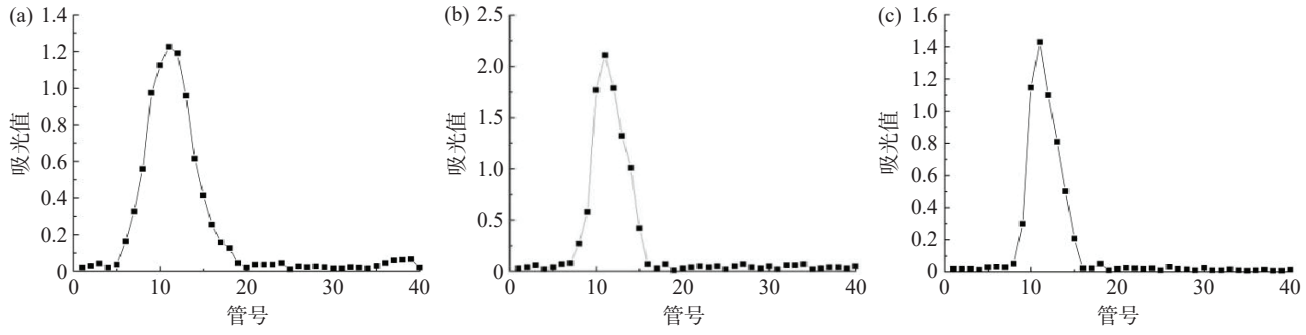


图 3 各多糖组分的 SephadexG-100 洗脱曲线

Fig.3 Elution curves of various polysaccharide fractions on Sephadex G-100

注: (a)COP-1S 的 SephadexG-100 洗脱曲线; (b)COP-2S 的 SephadexG-100 洗脱曲线; (c)COP-3S 的 SephadexG-100 洗脱曲线。

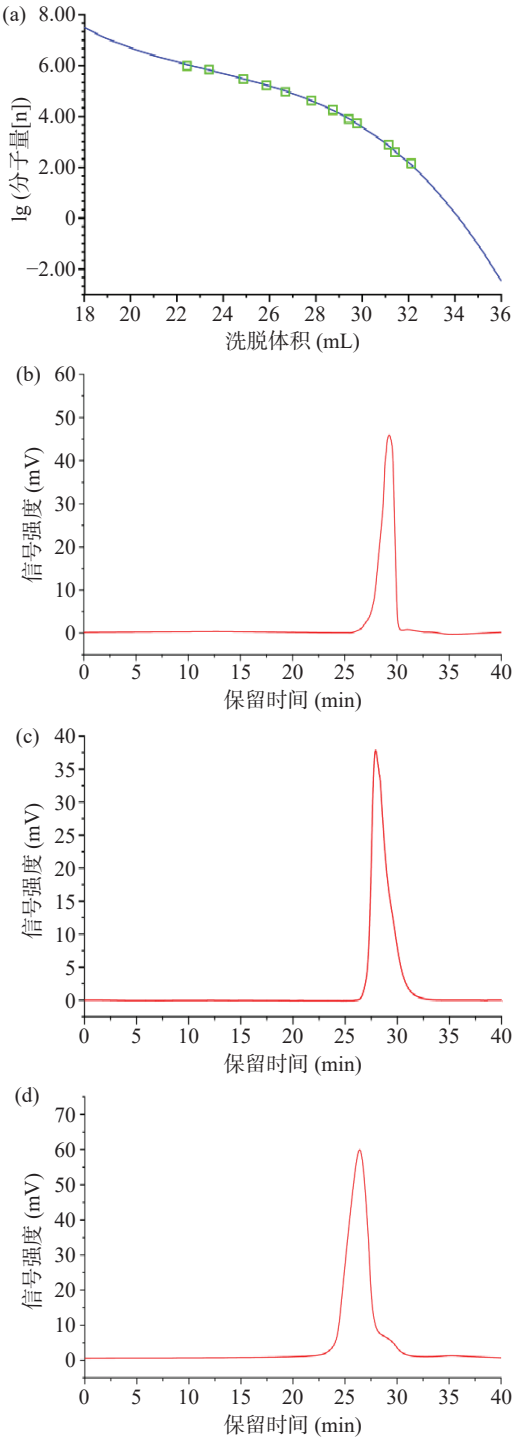


图 4　标准曲线及各多糖组分的凝胶色谱图

Fig.4　Calibration curves and gel permeation chromatograms of polysaccharide fractions

注：(a)凝胶渗透色谱的校准曲线；(b)COP-1S 的凝胶色谱图；(c)COP-2S 的凝胶色谱图；(d)COP-3S 的凝胶色谱图。

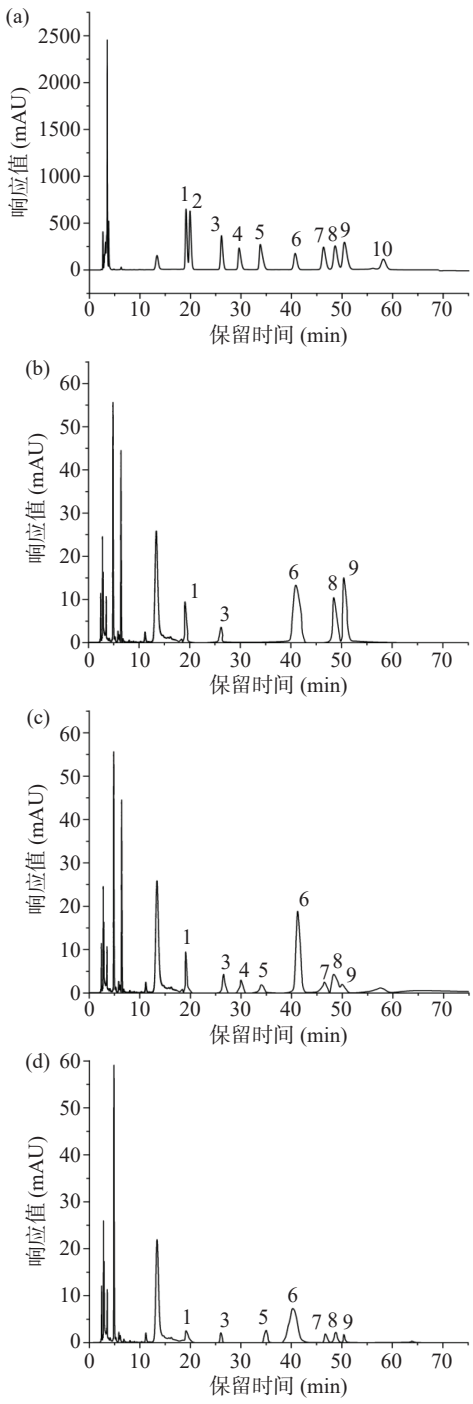


图 5　单糖混标及各多糖组分的高效液相色谱图

Fig.5　HPLC chromatograms of monosaccharide mixed standard and polysaccharide fractions

注：(a)单糖混标的高效液相色谱图；(b)COP-1S 的高效液相色谱图；(c)COP-2S 的高效液相色谱图；(d)COP-3S 的高效液相色谱图；1.Man(甘露糖)，2.Gul(古洛糖)，3.Rha(鼠李糖)，4.Glca(葡萄糖酸)，5.GalA(半乳糖醛酸)，6.Glc(葡萄糖)，7.Gal(半乳糖)，8.Xyl(木糖)，9.Ara(阿拉伯糖)，10.Fuc(岩藻糖)。

2.6　紫外光谱扫描

COP-1S、COP-2S、COP-3S 的紫外光谱见图 6，由图 6 可知，3 种多糖组分在 260 和 280 nm 处均无明显吸收峰，表明多糖样品中不存在蛋白质和核酸类物质。

2.7　红外光谱分析

COP-1S、COP-2S、COP-3S 的红外光谱见图 7，在 3430、2930、2858 cm^{-1} 处出现宽而强的吸收峰，表明其为多糖类物质[26−27]。在 1643 和 1453 cm^{-1} 处存在较强吸收峰，代表 C=O 的不对称和对称伸缩振动，表明存在糖醛酸[28]。1340 cm^{-1} 处附近的特征吸收峰是由烷基的 C-H 的变角振动引起的[2]。在 1086、1012 cm^{-1} 处存在弱吸收峰表明其存在吡喃环结构[29]，在 880 cm^{-1} 处附近有吸收峰表明其具有

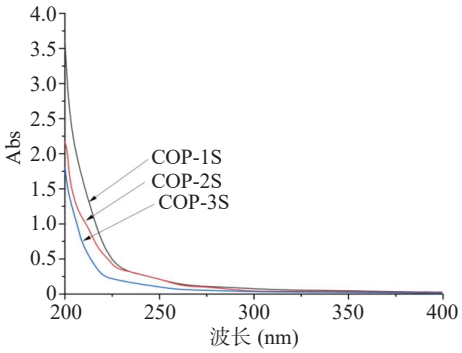


图 6　各多糖组分的紫外光谱图

Fig.6　UV spectrum of polysaccharide fractions

β 型糖苷键[30]，在 834 cm^{-1} 处有吸收峰代表分子中存在 α 型糖苷键[31]。3 种多糖组分在 1086、1012 cm^{-1} 处均有吸收峰，表明可能存在吡喃环结构，COP-2S 和 COP-3S 在 880、834 cm^{-1} 处均有较强吸收峰，而 COP-1S 仅在 880 cm^{-1} 处有吸收峰，表明 COP-2S、COP-3S 可能同时含有 α 和 β 构型糖苷键[32]，COP-1S 可能存在 β-构型糖苷键，COP-2S 和 COP-3S 在 1643 和 1453 cm^{-1} 处吸收峰较大，COP-1S 在该处吸收峰较小，表明 COP-2S 和 COP-3S 存在糖醛酸，COP-3S 在 1743 cm^{-1} 处有较强吸收，而 COP-1S、COP-2S 在此处无吸收峰。综上，红外光谱表明 3 种多糖的结构存在明显差异，这可能与其不同的降糖活性存在一定的联系。

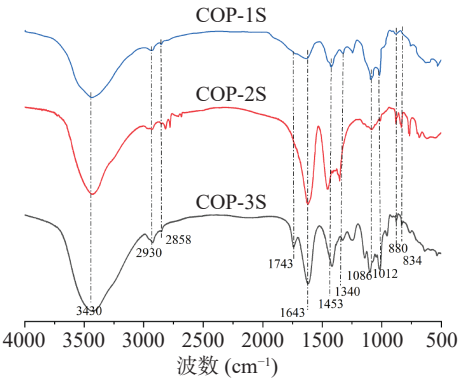


图 7　各多糖组分的红外图谱

Fig.7　UV and IR spectra of polysaccharide fractions

2.8　圆二色谱分析

采用圆二色谱探究 3 种多糖样品对 α-葡萄糖苷酶二级结构的影响(图 8)，由图 8 可知，α-葡萄糖苷酶在 208、222 nm 处存在负谱带，属于 α-螺旋吸收峰，当 3 种多糖溶液加入后，α-葡萄糖苷酶的负峰强度增强，其中 COP-1S 的加入明显增加了 α-螺旋的比例(表 2)，而 COP-2S 和 COP-3S 的差别不大。在 195 nm 处的正峰是 β-折叠特征峰，随着多糖溶液的加入，其强度逐渐减弱。此外，多糖还使 α-葡萄糖苷酶的 β-转角和无规则卷曲比例增大，可能是多糖与 α-葡萄糖苷酶相互作用使其二级结构变得更加无序。该研究结果表明 α-葡萄糖苷酶二级结构差异可能是 3 种多糖对 α-葡萄糖苷酶的抑制机理不同导致的。

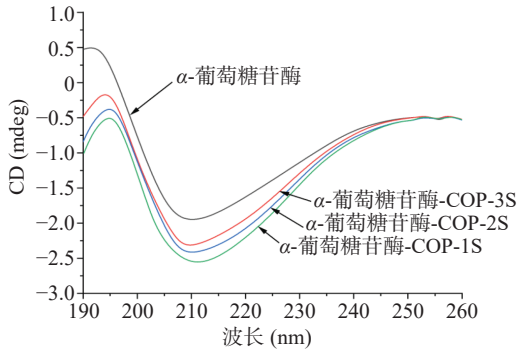


图 8　基于圆二色谱法分析多糖对 α-葡萄糖苷酶二级结构的影响

Fig.8　Analysis of the effects of polysaccharides on the secondary structure of α-glucosidase by circular dichroism (CD) spectroscopy

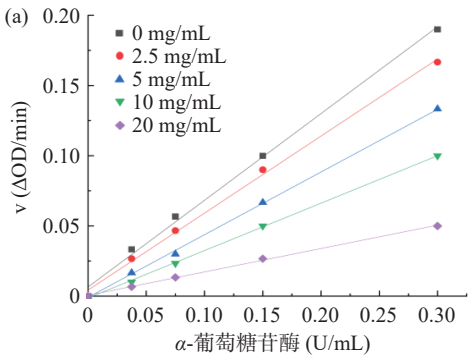
表 2　山茱萸多糖对 α-葡萄糖苷酶二级结构的影响

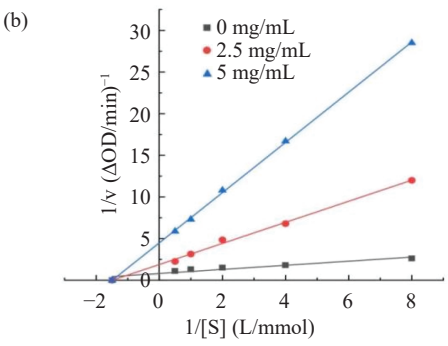
Table 2　Secondary structural changes of α-glucosidase induced by *Cornus officinalis* polysaccharides

样品名称	α-螺旋(%)	β-折叠(%)	β-转角(%)	无规则卷曲(%)
α-葡萄糖苷酶	9.6	47.3	18.7	29.2
α-葡萄糖苷酶-COP-1S	10.4	33.4	21.9	35.2
α-葡萄糖苷酶-COP-2S	9.7	36.9	20.5	33.2
α-葡萄糖苷酶-COP-3S	9.8	35.1	20.8	34.7

2.9　COP-2S 对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用类型

通过酶促动力学曲线可以判断 COP-2S 对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用类型，如图 9(a)所示，每条直线均过原点，且随着 COP-2S 浓度的增加，曲线斜率逐渐变小，表明 COP-2S 对 α-葡萄糖苷酶的抑制具有可逆性[33]。由 Lineweaver-Burk 图(图 9(b))可知每条





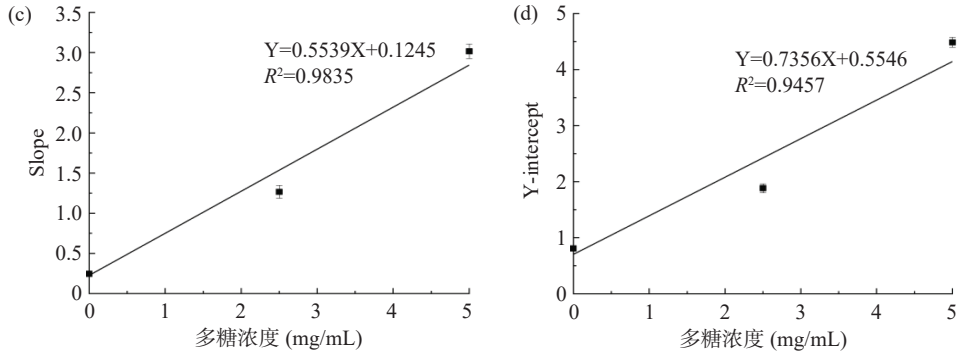


图 9　不同 COP-2S 浓度下的 α-葡萄糖苷酶抑制动力学曲线(a)、抑制作用的双倒数图(b)以及斜率、截距与 COP-2S 浓度之间的线性关系(c、d)

Fig.9　Kinetic curves of α-glucosidase inhibition at different COP-2S concentrations (a), double-reciprocal plots of the inhibition (b), and the linear relationship between slope, intercept and COP-2S concentration (c, d)

曲线的斜率和截距均不同，随着 COP-2S 浓度的增加，曲线的斜率逐渐增大，截距逐渐增大，三条直线交于第二象限，表明 COP-2S 对 α-葡萄糖苷酶的抑制类型为混合竞争抑制[34]。斜率（Slope）、截距（Y-intercept）与 COP-2S 浓度之间的线性关系见图 9(c)、图 9(d)，R^2 均>0.94，表明线性关系良好，结合式(2)~式(4)通过二次运算得到对应的动力学参数见表 3，其中 K_i 值和 α 值分别为 0.225 mg/mL、5.901 μg/mL。

表 3　酶促动力学参数

Table 3　Enzyme kinetic parameters

多糖浓度（mg/mL）	动力学参数				抑制机制	抑制类型
	V_{max}（ΔOD/min）	K_m（mg/mL）	K_i（mg/mL）	α（μg/mL）		
0	1.236	0.304				
2.5	1.531	0.160	0.2248	5.901	可逆	混合抑制
5	1.063	0.138				

2.10　荧光猝灭和热力学参数分析

COP-2S 与 α-葡萄糖苷酶相互作用的荧光光谱分析见图 10。由图 10(a)可知，随着多糖浓度的增加，荧光峰强度明显下降，表明 COP-2S 对 α-葡萄糖苷酶具有荧光猝灭作用。此外最大发射吸收峰(λ_{max})发生了轻微的蓝移(由 339→337)，表明 COP-2S 与酶结合改变了其空间构像[35]，从而降低活性，胡童霞等[36] 发现荞麦蜂花粉多酚对 α-淀粉酶具有明显抑制作用，其相互作用的最大荧光吸收峰发生了蓝移，本实验结果与之类似。荧光猝灭的发生机制包括静态猝灭和动态猝灭[37]，静态猝灭由猝灭剂和荧光物质结合形成络合物，当反应温度升高时猝灭常数变小，动态猝灭是猝灭剂和荧光分子相互碰撞导致荧光强度减弱，当温度升高时猝灭常数增大[38]，为了验证 COP-2S 与 α-葡萄糖苷酶之间的猝灭机制，通过 Stern-Volmer 方程式(5)、式(6)进行分析[39−40]：

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_q\tau_0[Q] = 1 + K_{sv}[Q] \qquad 式（5）$$

$$\lg\frac{F_0 - F}{F} = \lg K_a + n\lg[Q] \qquad 式（6）$$

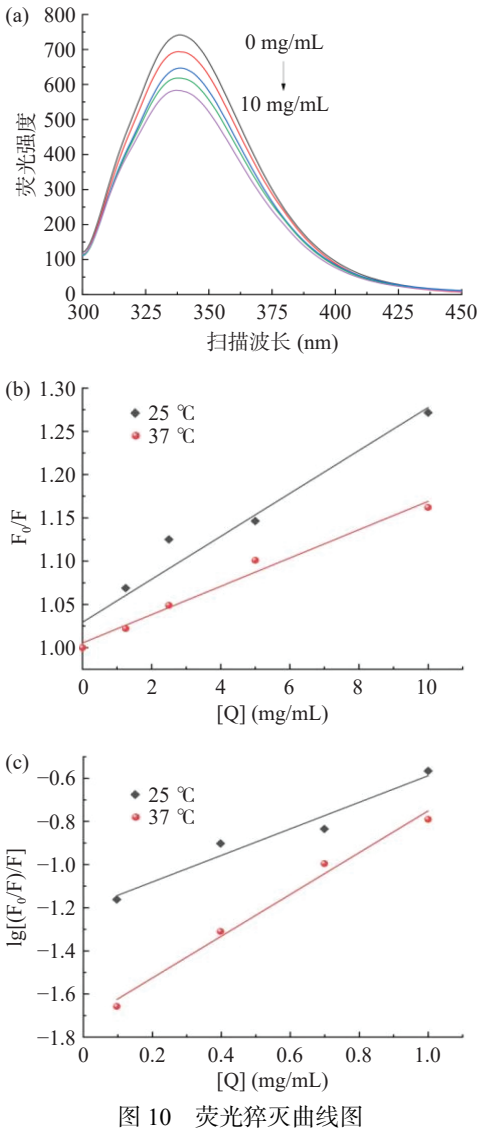


图 10　荧光猝灭曲线图

Fig.10　Fluorescence quenching curves

式中：F_0 为未加猝灭剂时 α-葡萄糖苷酶的荧光强度；F 为加入猝灭剂后的荧光强度；[Q] 为 COP-2S 浓度，mg/mL；K_q 为猝灭速率常数；τ_0 为荧光分子的初始平均寿命，10^{-8} s；K_{sv} 为荧光猝灭常数，L/g；K_a 为结合常数，L/g。

由图 10(b)、图 10(c)可知，在 25、37 ℃ 下

表 4 COP-2S 与 α-葡萄糖苷酶互作的荧光参数

Table 4 Fluorescence parameters of COP-2S interacting with α-glucosidase

温度(℃)	K_{sv}(L/g)	K_q(L/g)	n	ΔH^0(KJ/g)	ΔG^0(KJ/g)	ΔS^0(J/(g×K))
25	0.0248	0.063	0.6156	−65.57	−58.635	−23.27
37	0.0164	0.019	0.9685		−58.309	

COP-2S 浓度 [Q] 与 $\frac{F_0}{F}$ 之间线性关系良好,其相关性系数分别为 0.9468、0.9829,表明只发生了一种猝灭类型(动态或静态)[41]。不同温度下的荧光猝灭参数计算结果见表 3,由表可知,随着温度升高 K_{sv} 值减小,表明该过程为静态猝灭机制[42],25、37 ℃下 COP-2S 与酶的结合位点 n 值(分别为 0.6156、0.9685)均接近 1,说明 COP-2S 与 α-葡萄糖苷酶只有 1 个或 1 类结合位点[43]。

为了进一步明确 COP-2S 与 α-葡萄糖苷酶之间的分子间作用力,通过 Van't Hoff 公式计算热力学参数[44],见式(7)。

$$\lg K_a = \frac{\Delta H^0}{2.303RT} + \frac{\Delta S^0}{2.303R} \quad 式(7)$$

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0 \quad 式(8)$$

式中:K_a 为结合常数;T 为温度,K;R=8.314 J/mol/K。

将 K_a 带入式(8)计算各热力学参数见表 4。由表可知,ΔH^0 和 ΔS^0 均<0,表明该过程主要驱动力为氢键和范德华力,ΔG^0<0 表明该反应是自发进行的[45]。

3 结论

利用 DEAE-52 柱层析分离山茱萸粗多糖获得 3 种多糖组分 COP-1、COP-2、COP-3,其中 COP-2 的多糖得率较高,体外降糖活性较强,进一步对 3 种多糖组分进行 SephadexG-100 分离纯化得到 COP-1S、COP-2S、COP-3S,3 种多糖组分的单糖组成均包括葡萄糖、甘露糖、鼠李糖、木糖、阿拉伯糖,但组成摩尔比具有明显差异,COP-1S 含有较多的阿拉伯糖,相比 COP-3S,COP-2S 含有较多的阿拉伯糖和半乳糖醛酸含量,3 种多糖的平均分子量分别为 24.518×10^3、32.392×10^3、66.417×10^3 Da,紫外光谱显示 3 种多糖中不含有蛋白质和核酸,红外光谱显示 3 种多糖均含有吡喃环,COP-1S 存在 β 型糖苷键,COP-2S、COP-3S 同时含有 α 型和 β 型糖苷键,COP-3S 在 1743 cm^{-1} 处存在较强吸收峰,圆二色谱结果表明 3 种多糖的加入使 α-葡萄糖苷酶的 β-转角和无规则卷曲比例增加,β-折叠比例减小,但 COP-1S 使 α-螺旋比例升高,由于 3 种多糖结构存在明显差异,因此猜测这可能与其不同的降糖活性有关。进一步利用酶促动力学、荧光光谱分析重点研究 COP-2S 对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用机理,结果发现其抑制类型为一种可逆性的混合竞争抑制,荧光猝灭类型为静态猝灭,热力学参数表明该相互作用主要由氢键和范德华力自发驱动。本研究有助于山茱萸资源高效开发应用,为其降糖功能健康产品开发及医药应用提供理论依据。

© The Author(s) 2026. 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] 韩亚楠, 李晓娟, 王珣, 等. 南瓜多糖结构特征、改善糖尿病作用的机制及影响因素研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(21): 378−386. [HAN Yanan, LI Xiaojuan, WANG Xun, et al. Research progress on the structural characteristics of pumpkin polysaccharide, mechanism and influencing factors of ameliorating diabetes mellitus[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(21): 378−386.]

[2] 曹英, 侯敏, 易光平, 等. 驼乳制品中抑制 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶活性乳酸菌的筛选及益生特性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(19): 191−201. [CAO Y, HOU M, YI G P, et al. Screening and probiotic properties of lactic acid bacteria inhibiting α-amylase and α-glucosidase activities in camel dairy products[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(19): 191−201.]

[3] 陈盛宇, 张淑梅, 王玉霞, 等. 桦褐孔菌菌丝体多糖提取工艺优化及其降血糖能力测定[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(19): 110−117. [CHEN Shengyu, ZHANG Shumei, WANG Yuxia, et al. Optimization of extraction process and determination of blood glucose-lowering ability of polysaccharides from *Inonotus obliquus* mycelia[J]. Food Research and Development, 2023, 44(19): 110−117.]

[4] 何坤明, 王国锭, 白新鹏, 等. 山茱萸籽多糖分离纯化、结构表征及抗氧化活性[J]. 食品科学, 2021, 42(19): 81−88. [HE Kunming, WANG Guoding, BAI Xinpeng, et al. Isolation, purification, structure characterization and antioxidant activity of *Cornus officinalis* seed polysaccharides[J]. Food Science, 2021, 42(19): 81−88.]

[5] 许梦粤, 曾长立, 王红波. 药食同源植物多糖提取方法、结构解析和生物活性研究进展[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(19): 216−224. [XU Mengyue, ZENG Changli, WANG Hongbo. Advances in extraction method, structural analysis and bioactivity of polysaccharides from medicinal and edible homologous plants[J]. Food Research and Development, 2023, 44(19): 216−224.]

[6] 赵彦博, 李天浩, 马常阳, 等. 药食同源植物山茱萸活性成分提取、健康功效与应用研究进展[J]. 食品科学, 2024, 45(20): 12−23. [ZHAO Yanbo, LI Tianhao, MA Changyang, et al. Research progress in the extraction, health benefits and application of active components from *Cornus officinalis* as a medicinal and edible plant[J]. Food Science, 2024, 45(20): 12−23.]

[7] 张立攀, 赵梦瑶, 周莉, 等. 超声辅助提取山茱萸熊果酸工艺优化及其抗氧化和抑菌性[J]. 食品工业科技, 2020, 41(11): 181−187. [ZHANG Lipan, ZHAO Mengyao, ZHOU Li, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction technology of ursolic acid

from *Cornus officinalis* and its antioxidant and antibacterial activities[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(11): 181−187.]

[8] 尚子慧, 侯亚迪, 王利丽, 等. 山茱萸多糖的提取分离、化学结构及生物活性研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(5): 233−239. [SHANG Zihui, HOU Yadi, WANG Lili, et al. Research progress on extraction and separation, chemical structure and biological activity of polysaccharides from Shanzhuyu(*Corni fructus*)[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2024, 42(5): 233−239.]

[9] 崔永霞, 尚子慧, 侯亚迪, 等. 基于血清代谢组学探究山茱萸多糖对 2 型糖尿病大鼠的干预机制[J]. 中草药, 2024, 55(9): 2976−2986. [CUI Yongxia, SHANG Zihui, HOU Yadi, et al. Mechanism of intervention of *Corni fructus* polysaccharides in type 2 diabetes mellitus rats based on serum metabolomics[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2024, 55(9): 2976−2986.]

[10] FU Chengyang, REN Li, LIU Wenjuan, et al. Structural characteristics of a hypoglycemic polysaccharide from *Fructus corni*[J]. Carbohydrate Research, 2021, 506: 108358.

[11] 罗昭勇, 姜艳, 余晓历, 等. 石斛多糖的结构特征、生物活性、构效关系及产品开发进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(15): 429−442. [LUO Zhaoyong, JIANG Yan, YU Xiaoli, et al. Research progress on structure characteristics, biological activity, structure-activity relationship and product development of *Dendrobium* polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(15): 429−442.]

[12] 刘冰, 马静钰, 李婷, 等. 提取温度对黑果枸杞多糖理化特性及抗氧化、免疫调节活性的影响[J]. 食品工业科技, 2025, 46(3): 60−70. [LIU Bing, MA Jingyu, LI Ting, et al. Effects of extraction temperature on physicochemical properties and antioxidant and immunomodulatory activities of polysaccharides from *Lycium ruthenicum* Murr[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(3): 60−70.]

[13] 倪子寒, 许晓燕, 李芳, 等. 响应面法优化毛木耳粗多糖提取工艺及其抗肿瘤活性评价[J]. 粮食与油脂, 2025, 38(1): 92−100. [NI Zihan, XU Xiaoyan, LI Fang, et al. Optimization of the extraction process of crude polysaccharide from *Auricularia polytricha* by response surface methodology and evaluation of its antitumor activity[J]. Cereals & Oils, 2025, 38(1): 92−100.]

[14] LI Wenmei, WANG Yajun, WEI Hailian, et al. Structural characterization of Lanzhou lily (*Lilium davidii* var. *unicolor*) polysaccharides and determination of their associated antioxidant activity[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(15): 5603−5616.

[15] 董伟, 马生健, 马文欣, 等. 凉粉草多糖的理化性质及其体外抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(9): 52−58. [DONG Wei, MA Shengjian, MA Wenxin, et al. Physicochemical properties and *in vitro* antioxidant activity of *Mesona* chinensis polysaccharides[J]. Food Research and Development, 2023, 44(9): 52−58.]

[16] XU Yaqin, ZHANG Ling, YANG Yu, et al. Optimization of ultrasound-assisted compound enzymatic extraction and characterization of polysaccharides from blackcurrant[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 117: 895−902.

[17] 蔡文强, 崔嘉航, 朱慧慧, 等. 不同提取方法红芸豆皮膳食纤维结构、理化性质和降血糖活性分析[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(1): 237−243. [CAI Wenqiang, CUI Jiahang, ZHU Huihui, et al. Structure, physicochemical properties and hypoglycemic activity of dietary fiber from red kidney bean skin under different extraction methods[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(1): 237−243.]

[18] 肖诚熠, 庞旭佳, 张瑞芬, 等. 淮山多糖的分离纯化、结构特性及抗氧化活性[J]. 现代食品科技, 2024, 40(11): 149−156. [XIAO Chengyi, PANG Xujia, ZHANG Ruifen, et al. Isolation, purification, structural characteristics and antioxidant activities of the polysaccharides from Chinese yam[J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(11): 149−156.]

[19] LIN Suyun, ZHANG Guowen, LIAO Yijing, et al. Inhibition of chrysin on xanthine oxidase activity and its inhibition mechanism[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 81: 274−282.

[20] 张宏图, 董伟进, 陈南, 等. 茶多酚对 α-淀粉酶的抑制作用及分子机理[J]. 食品工业科技, 2022, 43(4): 90−96. [ZHANG Hongtu, DONG Weijin, CHEN Nan, et al. Inhibition effect and molecular mechanism of tea polyphenols on the α-amylase[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(4): 90−96.]

[21] 邹伟, 丁翘, 陶雪茹, 等. 藜蒿叶多糖提取工艺优化及其 α-葡萄糖苷酶抑制活性和抗氧化活性评价[J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(11): 1900−1909. [ZOU Wei, DING Qiao, TAO Xueru, et al. Optimization of extraction process of polysaccharide from *Artemisia selengensis* Turcz leaf and evaluation on its α-glucosidase inhibitory activity and antioxidant activity[J]. Natural Product Research and Development, 2024, 36(11): 1900−1909.]

[22] 袁书会, 陈强, 刘红波, 等. 低共熔溶剂提取酸枣果肉多糖工艺及其对 α-葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. 中国野生植物资源, 2024, 43(7): 1−8. [YUAN Shuhui, CHEN Qiang, LIU Hongbo, et al. Deep eutectic solvent extraction polysaccharide of wild jujube flesh and research on its inhibitory activity against α-glucosidase[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2024, 43(7): 1−8.]

[23] 程轩轩, 陈亮元, 郑诗嘉, 等. 广金钱草多糖指纹图谱的建立、含量测定及其对 α-葡萄糖苷酶的抑制活性研究[J]. 中国药房, 2020, 31(2): 183−189. [CHENG Xuanxuan, CHEN Liangyuan, ZHENG Shijia, et al. Fingerprint establishment, content determination and α-glucosidase inhibitory activity study of polysaccharide from *Desmodium* styracifolium[J]. China Pharmacy, 2020, 31(2): 183−189.]

[24] 张涛, 马麦迈, 卢顺, 等. 枸杞叶多糖结构表征及体外抗氧化与酶活抑制活性评价[J]. 中国食品学报, 2024, 24(11): 59−70. [ZHANG Tao, MA Maimai, LU Shun, et al. Structural characterization and evaluation of antioxidant and enzyme activity of *Lycium barbarum* leaves polysaccharide *in vitro*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(11): 59−70.]

[25] 李湘洲, 张胜, 李文生. 油茶饼粕多糖对体外 α-葡萄糖苷酶的抑制作用[J]. 湖南大学学报(自然科学版), 2012, 39(11): 71−73. [LI Xiangzhou, ZHANG Sheng, LI Wensheng. α-glucosidase inhibitory activity of *Camellia* cake polysaccharides *in vitro*[J]. Journal of Hunan University (Natural Sciences), 2012, 39(11): 71−73.]

[26] LI Huixian, DONG Zhou, LIU Xiaojia, et al. Structure characterization of two novel polysaccharides from *Colocasia esculenta* (taro) and a comparative study of their immunomodulatory activities[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 42: 47−57.

[27] SANANDIYA N D, SIDDHANTA A K. Chemical studies on the polysaccharides of *Salicornia brachiata*[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 112: 300−307.

[28] CAO Jinping, TANG Dandan, WANG Yue, et al. Characteristics and immune-enhancing activity of pectic polysaccharides from sweet cherry (*Prunus avium*)[J]. Food Chemistry, 2018, 254: 47−54.

［29］ LI Yimeng, YOU Lijun, DONG Fang, et al. Structural characterization, antiproliferative and immunoregulatory activities of a polysaccharide from *Boletus Leccinum rugosiceps*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 157: 106−118.
［30］ ZHOU Ruimei, CUI Mingxiao, WANG Yu, et al. Isolation, structure identification and anti-inflammatory activity of a polysaccharide from *Phragmites rhizoma*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 161: 810−817.
［31］ ZHANG Yiping, XU Wen, HUANG Xiaoqiang, et al. Fucoxanthin ameliorates hyperglycemia, hyperlipidemia and insulin resistance in diabetic mice partially through IRS-1/PI3K/Akt and AMPK pathways[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 48: 515−524.
［32］ HUANG Shiyu, HUANG Gangliang. Extraction, structural analysis, and activities of rice bran polysaccharide[J]. Chemical Biology & Drug Design, 2021, 98(4): 631−638.
［33］ 彭茜, 曹根凤, 陈婷, 等. 杨梅素对 *α*-淀粉酶的抑制机制研究[J]. 中国食品添加剂, 2024, 35(11): 121−128. ［PENG Qian, CAO Genfeng, CHEN Ting, et al. Study on the mechanism of myricetin's inhibitory effect on *α*-amylase[J]. China Food Additives, 2024, 35(11): 121−128.］
［34］ 王敏, 徐国辉, 赵一灵, 等. 金丝桃苷对黄嘌呤氧化酶的抑制作用及分子机理[J]. 食品工业科技, 2022, 43(12): 92−99. ［WANG Min, XU Guohui, ZHAO Yiling, et al. Inhibition effect and molecular mechanism of hypericin on xanthine oxidase[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(12): 92−99.］
［35］ LIU Mei, HU Bo, ZHANG Hui, et al. Inhibition study of red rice polyphenols on pancreatic α-amylase activity by kinetic analysis and molecular docking[J]. Journal of Cereal Science, 2017, 76: 186−192.
［36］ 胡童霞, 张楠, 朱鑫麗, 等. 荞麦蜂花粉多酚对 *α*-淀粉酶的抑制作用[J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(6): 930−937. ［HU Tongxia, ZHANG Nan, ZHU Xinli, et al. Inhibition effect of buckwheat bee pollen polyphenols on *α*-amylase[J]. Natural Product Research and Development, 2024, 36(6): 930−937.］
［37］ HE Xiao min, CARTER D C. Atomic structure and chemistry of human serum albumin[J]. Nature, 1992, 358(6383): 209−215.
［38］ 梁译文. 荧光猝灭及分子对接技术研究抗抑郁药等小分子药物与血清白蛋白的作用机理[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2023. ［LIANG Yiwen. Fluorescence quenching and molecular docking to study the mechanism of action of small molecule drugs such as antidepressants with serum albumin[D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2023.］
［39］ ZENG L, ZHANG G, LIN S, et al. Inhibitory mechanism of apigenin on *α*-glucosidase and synergy analysis of flavonoids[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(37): 6939−6949.
［40］ KITAMURA M, MURAKAMI K, YAMADA K, et al. Binding of sulforhodamine B to human serum albumin: a spectroscopic study[J]. Dyes and Pigments, 2013, 99(3): 588−593.
［41］ 曹皖雪, 李姣, 陶强, 等. 霍山石斛多糖硒化工艺的优化及对 *α*-淀粉酶的抑制作用[J]. 食品工业科技, 2025, 46(9): 206−214. ［CAO Wanxue, LI Jiao, TAO Qiang, et al. Selenization optimization of preparation process of polysaccharide from *Dendrobium huoshanense* and its inhibitory effect on *α*-amylase[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(9): 206−214.］
［42］ CHEN Mingmao, GUO Hao, LIU Yan, et al. Structural changes of human serum albumin induced by cadmium acetate[J]. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 2014, 28(6): 281−287.
［43］ 王伟, 崔妍, 郑明珠, 等. 矢车菊素-3-O-葡萄糖苷对 *α*-淀粉酶和 *α*-葡萄糖苷酶的抑制动力学[J]. 食品科学, 2023, 44(16): 185−191. ［WANG Wei, CUI Yan, ZHENG Mingzhu, et al. Inhibitory kinetics of cyanidin-3-O-glucoside against *α*-amylase and *α*-glucosidase[J]. Food Science, 2023, 44(16): 185−191.］
［44］ LI Jun, GONG Yuhong, LI Jinwei, et al. *In vitro* inhibitory effects of polyphenols from Tartary buckwheat on xanthine oxidase: Identification, inhibitory activity, and action mechanism[J]. Food Chemistry, 2022, 379: 132100.
［45］ ROSS P D, SUBRAMANIAN S. Thermodynamics of macromolecular association reactions analysis of forces contributing to stabilization[J]. Biophysical Journal, 1980, 32(1): 79−81.