

青翘、连翘叶多糖的分离纯化、结构解析和抗炎活性比较*

赵小艳¹, 高秀华^{2,3,4}, 申晓芸^{2,3,4}, 李科^{2,3,4**}, 李震宇^{2,3,4}

(1. 山西药科职业学院, 太原 030031; 2. 山西大学中医药现代研究中心, 太原 030006; 3. 山西大学化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 太原 030006; 4. 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室, 太原 030006)

摘要 目的:从青翘以及连翘叶中提取分离得到青翘多糖和连翘叶多糖进行结构表征和抗炎活性比较。**方法:**通过浸提和纯化工艺获得粗多糖, 采用凝胶排阻色谱和激光光散射检测法测定其分子量, 使用 MTT 法评估了多糖的细胞毒性, 通过 ELISA 法测定 NO、TNF- α 和 IL-10 的水平。**结果:**聚合物分散性指数 (PDI) 显示其分子量分布较为均匀。单糖组成分析表明, 2 种多糖均含有多种单糖, 其中青翘多糖含有更多的半乳糖醛酸, 而连翘叶多糖葡萄糖含量较高。甲基化分析显示青翘多糖主要通过 4-Gal(*p*)-UA 连接, 而连翘叶多糖则主要通过 4-Glc(*p*) 连接。青翘和连翘叶多糖均能显著抑制 LPS 诱导的 NO 和 TNF- α 的产生, 同时促进 IL-10 的生成, 且连翘叶多糖在这些效应上优于青翘多糖。**结论:**青翘与连翘叶多糖具有显著的抗炎活性, 本研究为连翘资源开发奠定基础。

关键词:青翘多糖; 连翘叶多糖; 分离纯化; 结构表征; 抗炎

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793 (2025) 03-0440-12

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-1320

Separation, purification, structural analysis, and comparison of the anti-inflammatory activity of polysaccharides in Green Fructus Forsythiae and Folium Forsythiae*

ZHAO Xiao-yan¹, GAO Xiu-hua^{2,3,4}, SHEN Xiao-yun^{2,3,4}, LI Ke^{2,3,4**}, LI Zhen-yu^{2,3,4}

(1. Shanxi Pharmaceutical Vocational College, Taiyuan 030031, China; 2. Modern Research Center of Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 3. Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering, Ministry of Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 4. Shanxi Provincial Key Laboratory of Research and Utilization of Functional Substances in Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030006, China)

Abstract Objective: To extract and isolate polysaccharides from Green Fructus Forsythiae and Folium Forsythiae for structural characterization and comparison of their anti-inflammatory activities. **Methods:** Crude polysaccharides were obtained through extraction and purification processes. Gel permeation chromatography and laser light scattering were used to determine their molecular weight. The MTT assay was employed to evaluate the cytotoxicity of the polysaccharides, while ELISA was used to measure levels of nitric oxide (NO), tumor necrosis

* 2024 年度山西省中医药管理局科研课题 (2024ZYB055) 连翘多糖分离纯化、结构解析及体外抗炎活性成分筛选

** 通信作者 Tel: (0351) 7011202; E-mail: like@sxu.edu.cn

第一作者 Tel: 15615237219; E-mail: 2284667690@qq.com

factor- α (TNF- α), and interleukin-10 (IL-10). **Results:** The polydispersity index (PDI) indicated a relatively uniform molecular weight distribution. Monosaccharide composition analysis showed that both polysaccharides contained various monosaccharides, with Green Fructus Forsythiae polysaccharide having a higher content of galacturonic acid, while Folium Forsythiae polysaccharide had a higher glucose content. Methylation analysis revealed that polysaccharides in Green Fructus Forsythiae were primarily linked by 4-Gal (*p*)-UA, while those of Folium Forsythiae polysaccharide were mainly linked by 4-Glc (*p*). Both polysaccharides significantly inhibited the production of NO and TNF- α induced by LPS while promoting the generation of IL-10, with polysaccharide in Folium Forsythiae showing superior effects compared to Green Fructus Forsythiae polysaccharide. **Conclusion:** Polysaccharides from Green Fructus Forsythiae and Folium Forsythiae exhibit significant anti-inflammatory activities. This research lays the foundation for the development of Folium Forsythiae resources.

Keywords: Green Fructus Forsythiae polysaccharide; Folium Forsythiae polysaccharide; separation and purification; structural characterization; anti-inflammatory

连翘是木犀科植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实,为临床常用的清热解毒类中药,主要分布在我国陕西、河北等地,又名黄花条、连壳等,果实初熟尚绿时采收称为青翘,果实熟透颜色发黄时采收称为老翘^[1]。据《本草纲目》《神农本草经》等中医典籍记载,连翘味苦,性寒,可泻火,入心肺二经。连翘具有清热解毒,消肿散结,疏散风热的功效^[2],可用于治疗风热感冒、乳痈、瘰疬肿痛等疾病^[3]。研究显示^[1],连翘具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗癌、抗氧化、抗衰老、抗肥胖、保肝,以及改善糖尿病肾病、阿尔兹海默病等药理作用,同时其安全性较高。

至今,许多对于连翘的研究多集中在连翘苷、连翘酯苷以及连翘酚等化合物,而对于连翘中大分子化合物连翘多糖相关报道较少。在连翘提取物的制备方法(2020年版《中华人民共和国药典》)中,醇沉后的物质当作杂质被处理,没有加以利用,而一些相关研究表明,这些沉淀为连翘多糖,并且连翘多糖具有抗炎以及抗氧化活性^[4]。目前市场上的连翘主要以青翘为主,果实为连翘的主要入药部位,而大量的连翘叶却未得到充分利用,大部分被直接废弃,造成资源浪费。对连翘叶成分的深入分析以及开发基于连翘叶的食品,能够有效提升连翘的经济效益,并保护自然资源。2017年,山西省颁布了《食品安全地方标准连翘叶》^[5],将连翘叶纳入食品范畴(山西省食品安全地方标准审评委员会,2017年),为连翘叶及其提取物的产品开发奠定了基础。近年来,已有学者对连翘叶片黄酮类、皂苷类等成分进行了研究^[6],而关于连翘叶片多糖类物质的研究却鲜见报道。本研究

通过对比青翘和连翘叶多糖的结构以及抗炎活性,为其进一步开发奠定基础。

1 材料

1.1 试剂

单糖对照品岩藻糖(Fuc,批号F2252)、葡萄糖(Glu,批号D9434)、甘露糖(Man,批号M6020)、阿拉伯糖(Ara,批号E003256)、半乳糖(Gal,批号G5388)、葡萄糖醛酸(GlcA,批号G5269)、半乳糖醛酸(GalA,批号73960)、木糖(Xyl,批号95729)、果糖(Fru,批号F0550000)、核糖(Rib,批号R7500)购自Sigma公司;鼠李糖(Rha,批号B21172)、甘露糖醛酸(Man-UA,批号B25941)、古罗糖醛酸(Gul-UA,批号B25921)。购自上海源叶生物科技有限公司。以上单糖对照品质量分数均大于98%。

二甲基亚砜(DMSO,批号472301)、氢氧化钠(色谱纯,批号221465)、醋酸钠(分析纯,批号241245)、1-环己基-2-吗啉乙基碳二亚胺甲基对甲苯磺酸盐(批号C106402)、咪唑(批号I5513)、乙酸酐(批号3320102)购自Sigma公司。三氟乙酸(色谱纯,批号200028)、甲醇(分析纯,批号200015)、无水乙醇(批号016362)购自ANPEL公司;二氯甲烷(批号80047318)、氨水(批号XW011336216024)、碘甲烷(批号80084118)、乙酸(批号C124040010)、硝酸钠(分析纯,批号10019918)、硼氟化钠(批号XW011568189701)购自国药集团化学试剂有限公司;苯酚(批号13300101)、硫酸(批号1270301)购自西陇科学股份有限公司;RAW264.7(小鼠单核巨噬细胞株,批号SCC-211800)、MTT(批号M1020)、

胎牛血清(批号 S9030)、DMEM 培养基(批号 11995)、0.25% 胰蛋白酶(批号 T1300)、PBS 磷酸盐缓冲液(批号 P1010)、脂多糖(批号 L8880)购自北京索莱宝科技有限公司。苯酚、硫酸购自西陇科学股份有限公司。RAW264.7(小鼠单核巨噬细胞株, ATCC)、MTT、澳洲胎牛血清、DMEM 培养基、0.25% 胰蛋白酶、PBS 磷酸盐缓冲液、脂多糖均购自北京索莱宝科技有限公司。一氧化氮(NO)检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-10(IL-10)的酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 仪器

SJ30-5A 十万分之一电子天平(沈阳神宇龙腾天平有限公司);XH-T 漩涡混合器(新宝仪器公司);Reacti-thermo 氮气吹扫仪(Thermo 公司);ICS 5000+ 离子色谱(Thermo 公司);UltiMate 3000 高效液相色谱仪(Thermo 公司);OPTILABT-r α x 示差检测器(Wyatt 公司);DAWN HELEOS-II 激光光散射检测器(Wyatt 公司);Tissuelyser-48 高通量组织破碎仪(上海净信实业发展有限公司);ZLS-1 台式快速离心浓缩干燥器(湖南赫西仪器装备有限公司);LGJ-10 冷冻干燥机(四环福瑞科仪科技发展有限公司);6890A 气相色谱仪(Agilent 公司);5977B 质谱仪(Agilent 公司);酶标仪 Multiskan GO(Thermo 公司);Milli-Q 纯水仪(Merck 公司);DGJ-10C 冷冻干燥机(上海博登生物科技有限公司);RE 5298A 旋转蒸发仪(郑州市亚容生化仪器有限公司);explorer 100AKTA 纯化系统(通用电器公司);Sephacryl S-400HR 26 mm \times 1 000 mm 凝胶纯化柱(通用电器公司)。

2 方法

2.1 多糖的提取纯化

按照参考文献[7]方法并稍作修改,将青翘和连翘叶分别干燥、研磨和筛分过 100 目筛。加入 5 倍量无水乙醇,搅拌萃取脂溶性色素和部分杂质,6 000 g 离心 10 min,收集沉淀。向沉淀中按 1:20 加入纯水,60 $^{\circ}$ C 水浴提取 4 h 冷却至室温,6 000 g 离心 10 min,收集上清。沉淀残渣按照同样的步骤复提取 1 次。合并 2 次提取液,真空旋蒸浓缩至原体积的 10%,加入 4 倍体积无水乙醇,4 $^{\circ}$ C 过夜醇沉。8 000 g 离心 10 min 收集沉淀,冷冻干燥,即得粗多糖提取物。

按照参考文献方法^[8-9]除去粗多糖中的蛋白质、脂肪及色素等杂质。取粗多糖,加入纯水使其充分溶解,加入木瓜蛋白酶,过夜酶解。向水相中加入三氯甲烷和正丁醇(三氯甲烷与正丁醇比例为 1:4),充分混匀,收集上层水相。向液体中加入石油醚,充分混匀,收集下层水相。向水相中加入大孔树脂 AB-8,充分混匀,过夜吸附。收集液体,3 000 Da 透析袋透析 48 h 除去小分子组分,冷冻干燥,即得精制多糖。将其浓缩至原体积的 1/5 多糖母液,10 000 g 离心 10 min,取上清液过凝胶层析柱分离纯化,流速 1 mL \cdot min⁻¹;采用 1.5 倍柱体积纯水洗脱,每 10 mL 收集 1 管,收集所有洗脱液。每隔 1 管对管中洗脱液的总糖含量采用苯酚-硫酸法进行测定,绘制凝胶纯化洗脱曲线。合并同一个洗脱峰对应的各收集管洗脱液,旋蒸浓缩至原体积的 20%。冷冻干燥,并采用苯酚-硫酸法鉴定凝胶纯化后多糖含量。

2.2 多糖的分子量测定

将精制连翘叶多糖和青翘多糖分别溶解在 0.1 mol \cdot L⁻¹ 硝酸钠水溶液(含 0.02% 叠氮化钠, *whw*)中,配制为终浓度为 1 mg \cdot mL⁻¹ 的溶液,并通过孔径为 0.45 μ m 的过滤器过滤后上机检测。采用凝胶排阻色谱柱 Ohpak SB-805 HQ(300 mm \times 8 mm)和 Ohpak SB-803 HQ(300 mm \times 8 mm)串联。柱温 45 $^{\circ}$ C,进样量 100 μ L,流动相 A(0.02% 叠氮化钠,0.1 mol \cdot L⁻¹ 硝酸钠),流速 0.6 mL \cdot min⁻¹,等度洗脱 75 min。利用示差检测器根据其折光强度检测样品的浓度信息,利用多角度激光光散射仪检测大分子的光散射信息,并根据马克-霍温克方程(Mark-Houwink Equation)计算出每个组分对应的分子量^[10-11]。

2.3 多糖的单糖组成分析

按照参考文献[12-13]方法称取待测样品 5 mg 置于水解管中,加入 2 mol \cdot L⁻¹ 三氟乙酸 3 mL 溶解,密封,121 $^{\circ}$ C 加热 2 h。通氮气,吹干。加入纯甲醇清洗,再吹干,重复甲醇清洗 2~3 次。加入无菌水 1 mL,转入色谱瓶中待测。

色谱系统采用 Thermo ICS5000+ 离子色谱系统(Thermo Fisher Scientific, USA),利用电化学检测器对单糖组分进行分析检测。采用 DionexTM CarboPacTM PA20(150 mm \times 3.0 mm, 10 μ m)液相色谱柱;进样量为 5 μ L。流动相 A(水),流动相 B(0.1 mol \cdot L⁻¹ 氢氧化钠),流动相 C(0.1 mol \cdot L⁻¹ 氢氧化钠,0.2 mol \cdot L⁻¹ 醋酸钠),流速 0.5 mL \cdot min⁻¹;柱温为 30 $^{\circ}$ C;洗脱梯度:

0 min A相-B相-C相(95:5:0), 26 min A相-B相-C相(85:5:10), 42 min A相-B相-C相(85:5:10), 42.1 min A相-B相-C相(60:0:40, V/V), 52 min A相-B相-C相(60:40:0), 52.1 min A相-B相-C相(95:5:0), 60 min A相-B相-C相(95:5:0)。

用外标法定量,通过配制不同浓度对照品溶液,利用 Chromeleon 7 软件拟合得到标准曲线。利用不同浓度的对照品溶液,以对照品的浓度为横坐标,以对照品的峰面积为纵坐标作图,以获得靶向化合物与其峰面积的线性关系,进而根据未知样品中相应化合物的峰面积计算其浓度。

2.4 多糖的甲基化分析

按照参考文献[13]方法称取样品 5 mg,加入纯水 1 mL 溶解,加入 $100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 1-环己基-2-吗啉乙基碳二亚胺甲基对甲苯磺酸盐 1 mL,反应 2 h。加入 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的咪唑 1 mL,将样品平均分为 2 份,分别加入 $30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的硼氢化钠和 $30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的硼氟化钠 1 mL,反应 3 h。加入冰醋酸 100 μL 终止反应。透析 48 h 后冷冻干燥样品,进行后续处理。样品中加入 DMSO 溶解 500 μL 。加入氢氧化钠 1 mg,孵育 30 min。加入碘甲烷溶液 50 μL 反应 1 h。加入水 1 mL 和二氯甲烷 2 mL,涡旋混匀,8 000 g 离心 10 min,弃水相。重复水洗 3 次。吸取下层二氯甲烷相并用氮气吹干。加入 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TFA 100 μL , 121 $^{\circ}\text{C}$ 反应 90 min。30 $^{\circ}\text{C}$ 蒸干。加入 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氨水 50 μL , $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼氟化钠 50 μL ,混匀,室温下反应 2.5 h。加入乙酸 20 μL 终止反应,氮气吹干,甲醇 250 μL 洗 2 次,氮气吹干。加入乙酸酐 250 μL ,涡旋混匀,100 $^{\circ}\text{C}$ 反应 2.5 h。加入水 1 mL 静置 10 min。加入二氯甲烷 500 μL ,涡旋混匀,8 000 g 离心 10 min,弃水相,重复水洗 3 次。取下层二氯甲烷相,GC-MS 上机检测。

色谱系统采用 Agilent 气相色谱系统(Agilent 6890A; Agilent Technologies, USA),色谱柱为 BPX70 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)。进样量为 1 μL ,分流比 10:1,载气为高纯氮气;柱温箱的初始温度为 140 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2.0 min,以 3 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 程序升温至 230 $^{\circ}\text{C}$,保持 3 min。

质谱系统采用 Agilent 公司的四极杆质谱检测系统(Agilent 5977B; Agilent Technologies, USA),配有电子轰击离子源(EI)和 MassHunter 工作站。采用电子轰击离子源(EI),分析物在全扫描(SCAN)模

式下进行检测,质量扫描范围(m/z): 50~350。

2.5 多糖的抗炎活性筛选

2.5.1 细胞培养 将 RAW 264.7 细胞在含有 10% PBS、 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 青霉素和 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 链霉素的 DMEM 培养基中,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 饱和湿度下培养,直至细胞生长至对数期。

2.5.2 细胞毒性实验 通过 MTT 法测定青翘多糖及连翘叶多糖对 RAW 264.7 细胞存活的影响。将生长密度 80% 的 RAW 264.7 细胞,传代 3~5 次,吹打后制成 2×10^4 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的单细胞悬液,接种于 96 孔板中,每孔 100 μL ,置于细胞培养箱中培养,待细胞完全贴壁后,分别加入青翘多糖及连翘叶多糖溶液(10、25、50、100、250、500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 10 μL ,无血清的 DMEM 培养基为对照组,孵育 24 h 后,每孔加入 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 MTT 试剂 10 μL ,再于培养箱中培养 4 h。4 h 后小心吸弃 MTT 试剂,向每孔中加入 DMSO 试剂 100 μL 。室温下用摇床振荡 10 min,再于酶标仪 490 nm 下检测每孔吸收度。

$$\text{细胞存活率} = [(A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})] \times 100\%$$

2.5.3 ELISA 法检测 IL-10、NO 和 TNF- α 的水平 用含 10% FBS 胎牛血清的完全培养液将 RAW264.7 细胞配成单个细胞悬液,以每孔 10^4 个细胞的浓度接种到 96 孔板,每孔体积 100 μL 。在 5% CO_2 , 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育 24 h,届时细胞单层铺满孔底。设置对照组,炎症模型组,以及多糖给药组(浓度梯度分别为 10, 25, 50, 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),每组均设置 3 个复孔,药物干预 2 h 后,炎症模型组与多糖给药组加入适量 LPS,使得 LPS 最终浓度为 1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,对照组加入等量的 PBS 后继续培养 24 h; 24 h 后取细胞培养基上清液,1 000 g, 4 $^{\circ}\text{C}$,离心 15 min,取上清液,根据 ELISA 试剂盒和 NO 快速检测盒的说明测定 NO、TNF- α 和 IL-10 的生成量。

2.6 统计学分析

实验数据用均数 \pm 标准差表示,采用 Prism 7.00 软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 多糖的提取、分离纯化及分子量测定

通过水提醇沉法从青翘和连翘叶中得到青翘多糖和连翘叶多糖,粗多糖经 Sephacryl S-400HR 柱色谱纯化,洗脱曲线如图 1,各得到 1 个主要组分,青翘多糖回收率为 16.0%,连翘叶多糖回收率为 15.0%。

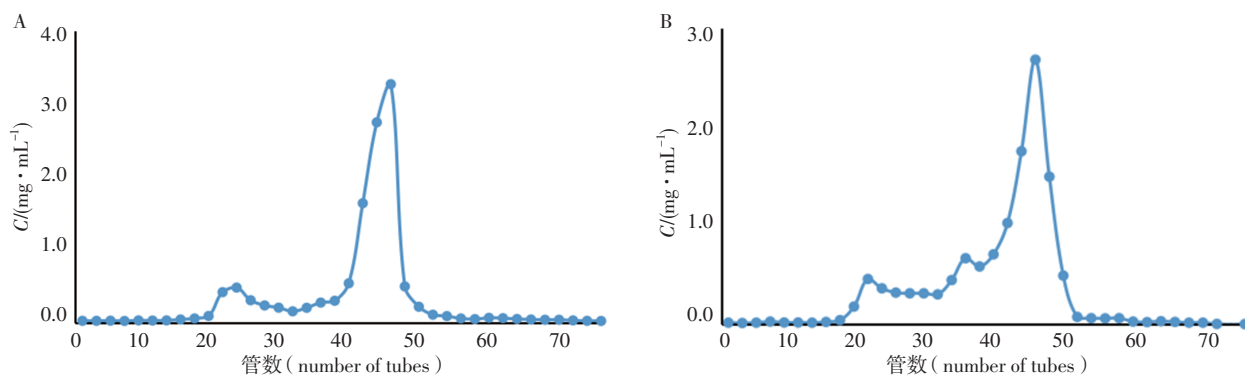


图1 Sephacryl S-400HR 柱色谱分离青翘多糖 (A) 和连翘叶多糖 (B) 的洗脱曲线

Fig. 1 Elute curves of Green Fructus Forsythiae polysaccharide (A) and Folium Forsythiae polysaccharide(B) on Sephacryl S-400HR Fast Flow column

将青翘多糖 39、41、43、45、47 管的洗脱液,连翘叶多糖 39、41、43、45、47 管的洗脱液进行合并后,对青翘多糖和老翘多糖凝胶柱纯化前后的总糖含量进行测定,标准曲线见图 2。青翘提取除杂后得率为 18.52 mg,纯度为 74.7%;连翘叶得率为 17.92 mg,纯度为 72.6%。凝胶纯化后青翘多糖纯度高达 91.1%,连翘叶多糖 89.1%。

经凝胶排阻色谱-示差检测器,多角度激光光散射仪检测,根据马克·霍温克方程(Mark-Houwink Equation)计算出每个组分对应的分子量。由表 1 可得到连翘叶多糖的数均分子量、重均分子量、均分子量、峰值分子量比青翘大。从多糖样品的聚合物分

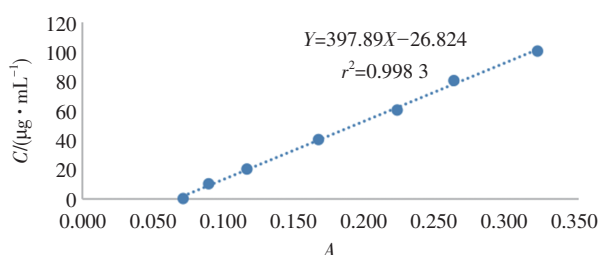


图2 青翘多糖和连翘叶多糖的总糖含量测定标准曲线

Fig. 2 Standard curve for determination of total sugar content of Green Fructus Forsythiae polysaccharide and Folium Forsythiae polysaccharide

散性指数(PDI)可以看出青翘多糖和连翘叶多糖的PDI较小,分子量分布较均匀。

表 1 青翘多糖和连翘叶多糖的分子量测定结果

样品名称 (sample name)	数均分子量 (M_n)/kDa	峰值分子量 (M_p)/kDa	重均分子量 (M_w)/kDa	均分子量 (M_z)/kDa	聚合物分散性指数 (PDI)
青翘多糖 (Green Fructus Forsythiae polysaccharide)	7.84 ± 0.67	6.26 ± 0.94	13.04 ± 0.42	22.93 ± 0.74	1.62 ± 0.79
连翘叶多糖 (Folium Forsythiae polysaccharide)	486.20 ± 0.13	372.24 ± 0.15	587.49 ± 0.10	797.21 ± 0.18	1.21 ± 0.16

3.2 多糖的单糖组成分析

将单糖对照品混合样品与青翘多糖、连翘叶多糖的衍生化产物进行 HPLC 分析,可以确定其单糖组成(见图 3)。从表 2 可知青翘多糖含有大量半乳糖醛酸(47.15%)、少量葡萄糖(14.31%)。根据表 3 可知连翘叶多糖含有大量葡萄糖(44.76%)、少量半乳糖醛酸(20.95%)。

3.3 基于 GC-MS 的多糖连接方式分析

青翘多糖和连翘叶多糖的 GC-MS 总离子色谱图见图 4。通过计算色谱峰面积与对应衍生物分子量的比值,近似代表化合物的相对摩尔量,进而计算出样

品中各种糖苷键的相对摩尔比。青翘多糖甲基化分析结果如表 4 所示,其中 4-Gal(p)-UA 含量占比最高推测为主链,同时存在 t-Rha(p), t-Glc(p), t-Gal(p)-UA, t-Gal(p), 4-Glc(p) 等分支结构。连翘叶多糖甲基化分析结果如表 5 所示,其中 4-Glc(p) 含量占比最高推测为主链,同时存在 t-Ara(f), t-Gal(p)-UA, 4-Gal(p)-UA, 4-Gal(p) 等分支结构。

3.4 MTT 法检测细胞毒性

通过 MTT 法测定青翘多糖和连翘叶多糖对 RAW 264.7 细胞存活率的影响,如图 5-A、图 5-B 所示,与对照组比较,10~100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 质量浓度范围内

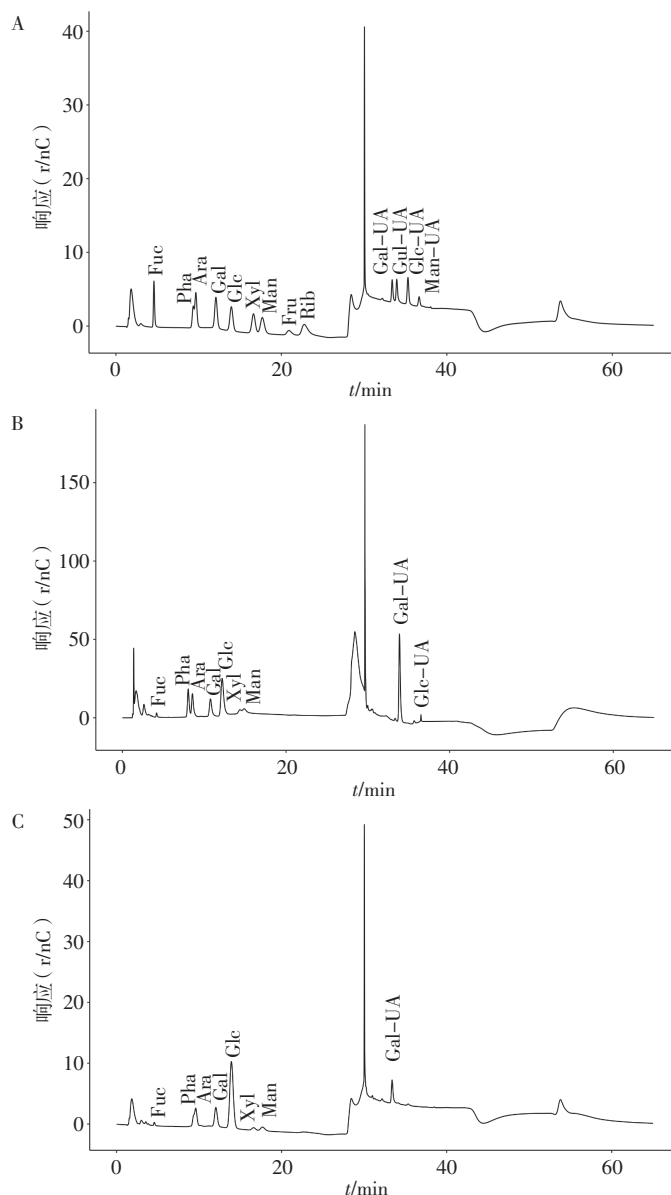
青翘多糖与连翘叶多糖 24 h 内细胞存活率均在 90% 以上,表明青翘多糖与连翘叶多糖此浓度范围内无细胞毒性。因此,可在 10~100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内选取合适浓度进行后续炎症因子的测定。

3.5 ELISA 法检测 IL-10、NO 和 TNF- α 的水平

如图 6 所示,青翘多糖和连翘叶多糖均可抑制 LPS 模型组产生 NO。青翘多糖为 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,抑制 NO 产生的作用最强;连翘叶多糖为 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,抑制 NO 产生的作用最强。青翘多糖和连翘叶多糖最佳剂量组与模型组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$),均能显著抑制 TNF- α 的产生。连翘叶多糖对 TNF- α 产生的抑制作用强于青翘多糖。

0.05),均能显著抑制 NO 的产生。连翘叶多糖对 NO 活性的抑制作用强于青翘多糖。

如图 7 所示,青翘多糖和连翘叶多糖均可抑制 LPS 模型组产生 TNF- α 。青翘多糖为 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,抑制 TNF- α 产生的作用最强;连翘叶多糖为 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,抑制 TNF- α 产生的作用最强。青翘多糖和连翘叶多糖最佳剂量与模型组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$),均能显著抑制 TNF- α 的产生。连翘叶多糖对 TNF- α 产生的抑制作用强于青翘多糖。



A. 单糖对照组 (monosaccharide reference standards) B. 青翘多糖的单糖组成 (monosaccharide compositions of Green Fructus Forsythiae polysaccharide) C. 连翘叶多糖的单糖组成 (monosaccharide compositions of Folium Forsythiae polysaccharide)

图 3 单糖组成结果

Fig. 3 Monosaccharide composition results

表 2 青翘多糖单糖组成结果

Tab. 2 Results of the monosaccharide composition of Green Fructus Forsythiae polysaccharide

单糖名称 (type of monosaccharide)	摩尔比 (molar ratio)/%	含量 (content)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
Fuc	1.02	3.64
Ara	10.80	35.31
Rha	10.65	38.08
Gal	9.21	36.13
Glc	14.31	56.14
Xyl	1.84	6.01
Man	3.91	15.35
Gal-UA	47.15	199.29
Glc-UA	1.11	4.67

表 3 连翘叶多糖单糖组成结果

Tab. 3 Results of the monosaccharide composition of Folium Forsythiae polysaccharide

单糖名称 (type of monosaccharide)	摩尔比 (molar ratio)/%	含量 (content)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
Fuc	1.13	3.55
Ara	9.36	26.81
Rha	7.34	22.98
Gal	8.77	30.15
Glc	44.76	153.87
Xyl	2.38	6.82
Man	5.32	18.30
Gal-UA	20.95	77.60

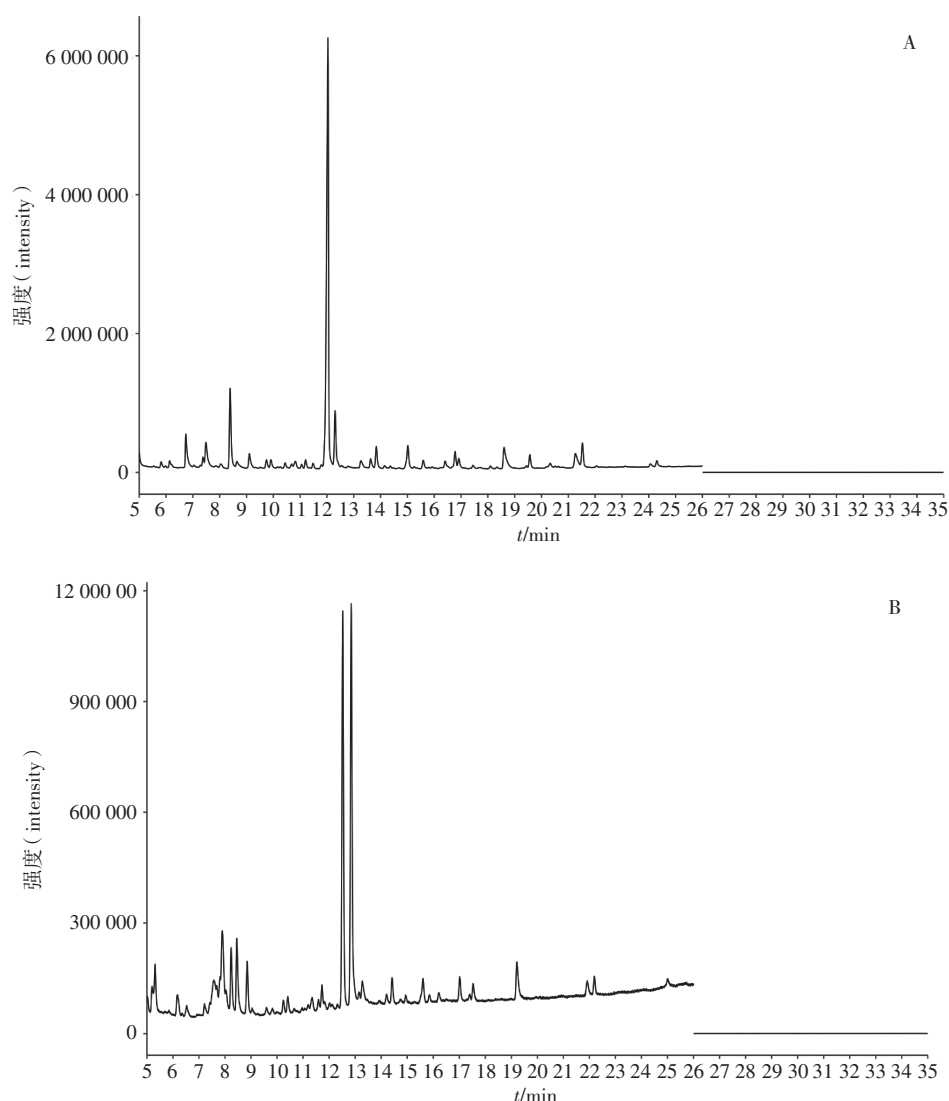


图 4 青翘多糖 (A) 和连翘叶多糖 (B) 的甲基化总离子流图

Fig. 4 Methyated total ion flow diagrams of Green Fructus Forsythiae polysaccharide (A) and Folium Forsythiae polysaccharide (B)

表 4 青翘多糖连接类型

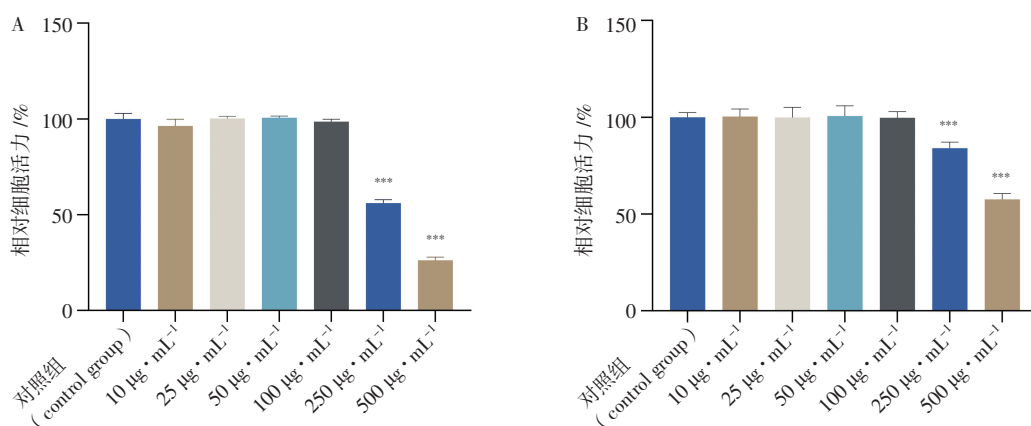
Tab. 4 Linkage types of Green Fructus Forsythiae polysaccharide

连接方式 (type of linkage)	部分甲基化糖醇乙酸酯 (PMAAs)	保留时间 (retention time) / min	<i>m/z</i>	相对摩尔比 (molar ratio) / %
t-Rha(<i>p</i>)	1,5-di- <i>O</i> -acetyl-6-deoxy-2,3,4-tri- <i>O</i> -methyl rhamnitol	4.706	59,72,89,102,115,118,131,145,162,175	4.75
t-Ara(<i>f</i>)	1,4-di- <i>O</i> -acetyl-2,3,5-tri- <i>O</i> -methyl arabinitol	4.975	71,87,102,118,129,145,161	2.20
t-Xyl(<i>p</i>)	1,5-di- <i>O</i> -acetyl-2,3,4-tri- <i>O</i> -methyl xylitol	5.818	88,101,102,118,119,161,162	1.12
2-Rha(<i>p</i>)	1,2,5-tri- <i>O</i> -acetyl-6-deoxy-3,4-di- <i>O</i> -methyl rhamnitol	7.379	89,100,115,130,131,175,190	1.21
t-Glc(<i>p</i>)	1,5-di- <i>O</i> -acetyl-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -methyl glucitol	7.487	87,102,118,129,145,161,162,205	4.90
3-Ara(<i>f</i>)	1,3,4-tri- <i>O</i> -acetyl-2,5-di- <i>O</i> -methyl arabinitol	8.032	87,99,113,118,129,201,233	1.08
t-Gal(<i>p</i>)-UA	1,5-di- <i>O</i> -acetyl-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -methyl galactitol	8.391	73,89,102,118,147,162,163,207	10.10
t-Gal(<i>p</i>)	1,5-di- <i>O</i> -acetyl-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -methyl galactitol	8.392	87,102,118,129,145,161,162,205	1.22
5-Ara(<i>f</i>)	1,4,5-tri- <i>O</i> -acetyl-2,3-di- <i>O</i> -methyl arabinitol	9.109	87,102,118,129,162,189	2.59
3,4-Rha(<i>p</i>)	1,3,4,5-tetra- <i>O</i> -acetyl-6-deoxy-2- <i>O</i> -methyl rhamnitol	9.909	87,99,113,118,129,149,173,275	1.27
4-Man(<i>p</i>)	1,4,5-tri- <i>O</i> -acetyl-2,3,6-tri- <i>O</i> -methyl mannitol	11.208	87,102,113,118,129,162,233	1.06
4-Gal(<i>p</i>)-UA	1,4,5-tri- <i>O</i> -acetyl-2,3,6-tri- <i>O</i> -methyl galactitol	12.002	87,99,102,115,118,131,162,175,235	41.06
4-Gal(<i>p</i>)	1,4,5-tri- <i>O</i> -acetyl-2,3,6-tri- <i>O</i> -methyl galactitol	12.037	87,102,113,118,129,162,233	9.44
4-Glc(<i>p</i>)	1,4,5-tri- <i>O</i> -acetyl-2,3,6-tri- <i>O</i> -methyl glucitol	12.303	87,102,113,118,129,162,233	8.54
6-Gal(<i>p</i>)	1,5,6-tri- <i>O</i> -acetyl-2,3,4-tri- <i>O</i> -methyl galactitol	13.627	87,99,102,118,129,162,189,233	1.14
3,4-Gal(<i>p</i>)-UA	1,3,4,5-tetra- <i>O</i> -acetyl-2,6-di- <i>O</i> -methyl galactitol	13.842	87,118,131,143,185,205,307	3.00
2,4-Glc(<i>p</i>)	1,2,4,5-tetra- <i>O</i> -acetyl-3,6-di- <i>O</i> -methyl glucitol	15.020	87,88,99,113,130,190,233	3.46
4,6-Glc(<i>p</i>)	1,4,5,6-tetra- <i>O</i> -acetyl-2,3-di- <i>O</i> -methyl glucitol	16.782	85,102,118,127,159,162,201,261	1.89

表 5 连翘叶多糖连接类型

Table 5 Linkage types determination of Folium forsythia polysaccharide

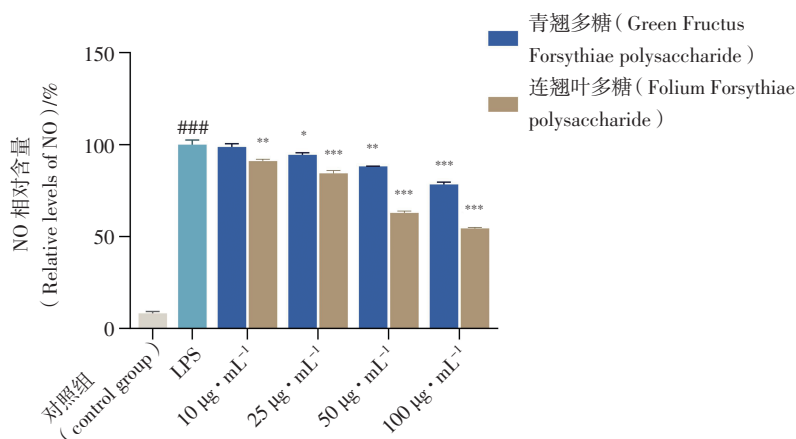
连接方式 (type of linkage)	部分甲基化糖醇乙酸酯 (PMAAs)	保留时间 (retention time) / min	<i>m/z</i>	相对摩尔比 (molar ratio) / %
t-Rha(<i>p</i>)	1,5-di- <i>O</i> -acetyl-6-deoxy-2,3,4-tri- <i>O</i> -methyl rhamnitol	5.025	59,72,89,102,115,118,131,145,162,175	1.44
t-Ara(<i>f</i>)	1,4-di- <i>O</i> -acetyl-2,3,5-tri- <i>O</i> -methyl arabinitol	5.309	71,87,102,118,129,145,161	3.03
t-Xyl(<i>p</i>)	1,5-di- <i>O</i> -acetyl-2,3,4-tri- <i>O</i> -methyl xylitol	6.338	88,101,102,118,119,161,162	0.37
t-Ara(<i>p</i>)	1,5-di- <i>O</i> -acetyl-2,3,4-tri- <i>O</i> -methyl arabinitol	6.507	88,101,102,117,118,129,161	1.70
t-Gal(<i>p</i>)-UA	1,5-di- <i>O</i> -acetyl-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -methyl galactitol	8.843	73,89,102,118,147,162,163,207	3.92
t-Gal(<i>p</i>)	1,5-di- <i>O</i> -acetyl-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -methyl galactitol	8.850	87,102,118,129,145,161,162,205	2.92
2,3-Rha(<i>p</i>)	1,2,3,5-tetra- <i>O</i> -acetyl-6-deoxy-4- <i>O</i> -methyl rhamnitol	10.221	71,89,101,131,262	1.20
4-Man(<i>p</i>)	1,4,5-tri- <i>O</i> -acetyl-2,3,6-tri- <i>O</i> -methyl mannitol	11.722	87,102,113,118,129,162,233	2.60
4-Gal(<i>p</i>)-UA	1,4,5-tri- <i>O</i> -acetyl-2,3,6-tri- <i>O</i> -methyl galactitol	12.525	87,99,102,115,118,131,162,175,235	21.89
4-Gal(<i>p</i>)	1,4,5-tri- <i>O</i> -acetyl-2,3,6-tri- <i>O</i> -methyl galactitol	12.568	87,102,113,118,129,162,233	6.51
4-Glc(<i>p</i>)	1,4,5-tri- <i>O</i> -acetyl-2,3,6-tri- <i>O</i> -methyl glucitol	12.902	87,102,113,118,129,162,233	46.81
3,4-Gal(<i>p</i>)-UA	1,3,4,5-tetra- <i>O</i> -acetyl-2,6-di- <i>O</i> -methyl galactitol	14.435	87,118,131,143,185,205,307	1.76
2,4-Glc(<i>p</i>)	1,2,4,5-tetra- <i>O</i> -acetyl-3,6-di- <i>O</i> -methyl glucitol	15.608	87,88,113,130,190,233	1.76
4,6-Glc(<i>p</i>)	1,4,5,6-tetra- <i>O</i> -acetyl-2,3-di- <i>O</i> -methyl glucitol	17.008	85,102,118,127,159,162,201,261	2.17
3,6-Gal(<i>p</i>)	1,3,5,6-tetra- <i>O</i> -acetyl-2,4-di- <i>O</i> -methyl galactitol	17.524	87,101,118,129,160,189,234	1.91



$n=3, \bar{x} \pm s, *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001$ vs 对照组 (control group)

图5 MTT 法检测不同浓度的青翘多糖 (A) 和连翘叶多糖 (B)

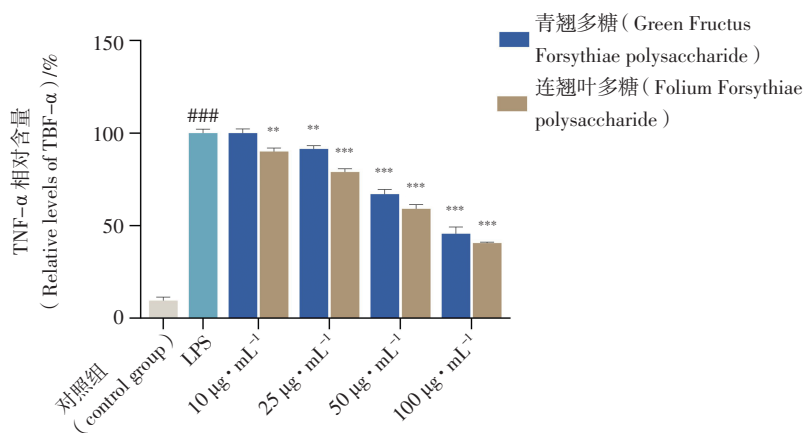
Fig. 5 MTT assay results with various concentrations of Green Fructus Forsythiae polysaccharide (A) and Folium Forsythiae polysaccharide (B)



$n=3, \bar{x} \pm s, *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001$ vs 模型组 (model group), ### $P < 0.001$ vs 对照组 (control group)

图6 青翘多糖和连翘叶多糖对 NO 的影响

Fig. 6 Effects of Green Fructus Forsythiae polysaccharide and Folium Forsythiae polysaccharide on NO



$n=3, \bar{x} \pm s, **P < 0.01, ***P < 0.001$ vs 模型组 (model group), ### $P < 0.001$ vs 对照组 (control group)

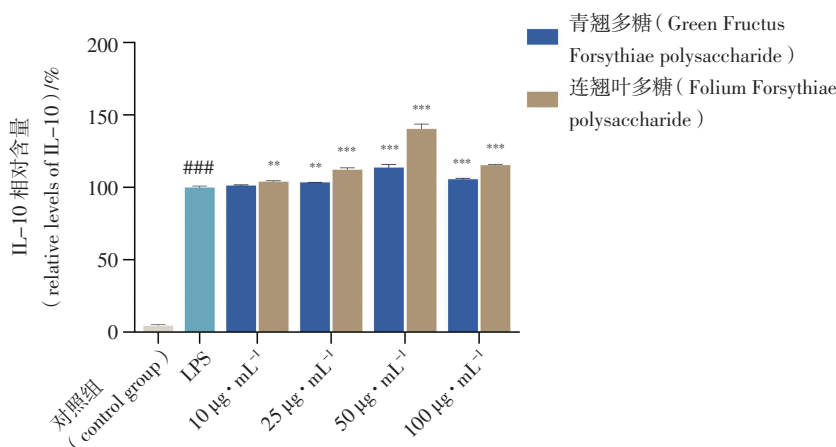
$n=3, \bar{x} \pm s, **P < 0.01, ***P < 0.001$ vs , ### $P < 0.01$ vs

图7 青翘多糖和连翘叶多糖对 TNF-α 的影响

Fig. 7 Effects of Green Fructus Forsythiae polysaccharide and Folium Forsythiae polysaccharide on TNF-α

如图 8 所示,青翘多糖在 10~50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,促进 LPS 模型组产生 IL-10。青翘多糖为 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,促进 IL-10 产生的作用最强,与模型组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。青翘多糖在 50~100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,抑制 LPS 模型组产生 IL-10。连翘叶多糖在 0~

50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,促进 LPS 模型组产生 IL-10。连翘叶多糖为 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,促进 IL-10 产生的作用最强,与模型组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。连翘叶多糖在 50~100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,抑制 LPS 模型组产生 IL-10。连翘叶多糖对 IL-10 的促进作用强于青翘多糖。



$n=3, \bar{x} \pm s, **P < 0.01, ***P < 0.001$ vs 模型组 (model group), ### $P < 0.01$ vs 对照组 (control group)

图 8 青翘多糖和连翘叶多糖对 IL-10 的影响

Fig. 8 Effects of Green Fructus Forsythiae polysaccharide and Folium Forsythiae polysaccharide on IL-10

4 结论

本研究对青翘和连翘叶多糖的结构解析及其抗炎活性进行了系统的探讨。通过对青翘和连翘叶多糖的结构分析,发现这些多糖具有复杂的糖链结构。青翘多糖主要通过 4-Gal(p)-UA 连接,而连翘叶多糖则主要通过 4-Glc(p) 连接。其结构特征为多糖的生物活性提供了基础。

在抗炎活性方面,青翘和连翘叶多糖均表现出显著的抗炎效果。青翘多糖能够有效 LPS 诱导的 NO 和 TNF- α 的产生,同时促进 IL-10 的生成。

综上所述,青翘和连翘叶多糖在抗炎活性方面表现出良好的潜力,为开发新型天然抗炎药物提供了重要的科学依据。

5 讨论

连翘是山西省的重要道地药材,以其独特的生长环境和清热解毒、消肿散结等功效广泛应用于感冒、咽喉炎等疾病的治疗,成分包括苯乙醇苷、黄酮类等,具有抗炎、抗病毒和免疫调节作用。其中,连翘多糖因其免疫调节、抗氧化、抗肿瘤等生物活性,近年来备受关注,但研究仍显不足。有研究表明^[14-15],结构对多糖的生物活性有非常大的影响。本研究的多糖结构分析结果表明,青翘多糖与连翘叶多糖在分子量、

单糖组成、连接方式上都存在明显差异。

5.1 相对分子质量对青翘多糖和连翘叶多糖活性的影响

多糖的活性与其分子量密切相关,需达到适宜范围方能有效发挥功能。较高的分子量有助于多糖携带足够的活性基团^[16-17]。Liu 等^[18]用超滤膜将灵芝多糖截留为 RGLP(相对分子质量 10 000 kDa 以上)和 EGLP(相对分子质量 10 000 kDa 以下)进行体外抗炎活性筛选,结果显示相对分子质量较大的 RGLP 活性更强。本研究结果表明,相对分子质量较大的连翘叶多糖抗炎活性优于相对分子质量较小的青翘多糖,推测相对分子质量是影响其抗炎活性的原因之一。

5.2 单糖组成对青翘多糖和连翘叶多糖活性的影响

青翘多糖由 9 个单糖组成,其中半乳糖醛酸含量最多。连翘叶多糖由 8 个单糖组成,其中葡萄糖含量最多。高含量的半乳糖醛酸(青翘多糖)与葡萄糖(连翘叶多糖)可能导致它们在免疫调节上的不同作用^[19]。半乳糖醛酸具有较强的负电荷,可能在免疫系统中具有更多的调节作用,尤其是在减少过度炎症反应方面^[20]。多糖中较高比例的葡萄糖,能够使其具有良好的抗炎活性^[21]。因此推测,青翘多糖中高

比例的半乳糖醛酸和连翘叶多糖中高比例的葡萄糖发挥抗炎作用的重要原因。

5.3 糖苷键对青翘多糖和连翘叶多糖活性的影响

多糖的连接方式对其活性具有显著影响,这是由于不同的连接方式会改变多糖的空间构象、生物活性位点的可及性以及与其靶标分子的相互作用能力^[22]。主链的组成直接影响多糖的刚性和与免疫受体的结合能力^[23]。本研究结果提示,青翘多糖主链主要由 4-Gal(*p*)-UA 组成,占比最高(41.06%),同时含有 4-Glc(*p*)和少量 4-Man(*p*),连翘叶多糖主链以 4-Glc(*p*)为主,占比最高(46.81%),同时含有 4-Gal(*p*)-UA(21.89%)。4-Gal(*p*)-UA 和 4-Glc(*p*)通常能够维持多糖的空间稳定性,便于与免疫系统中的模式识别受体(如 TLRs 或 CLR)相互作用,从而触发抗炎信号通路^[24],使多糖发挥抗炎作用。

5.4 NO、TNF- α 和 IL-10 与炎症反应密切相关

NO 是炎症反应中生成的重要炎症因子,介导炎症等疾病的发生,其含量可以作为炎症反应程度的指标^[25]。多糖能调节 NO 的生成,通过促进 NO 合成酶的表达或降低 NO 的过量释放,进而减轻炎症反应^[26]。TNF- α 是一种由巨噬细胞等免疫细胞产生的促炎细胞因子,它在促进炎症反应和调节细胞死亡中起着关键作用。IL-10 是一种多细胞源性的细胞因子,其中单核细胞、巨噬细胞是其主要来源细胞。通过抑制促炎因子的产生、调节巨噬细胞极化和增强 B 细胞功能等多种机制来控制炎症反应。多糖类物质能够上调 IL-10 的表达,增强其抗炎作用。多糖能够通过抑制促炎细胞因子的释放和促进抗炎因子的合成,调整免疫平衡。本研究细胞实验结果显示,这 2 种多糖均能有效抑制 LPS 诱导的 NO 和 TNF- α 的产生,同时对 IL-10 的影响则呈现出浓度依赖性,但两者的抑制效果存在差异,其中,连翘叶多糖对 NO 和 TNF- α 的抑制作用强于青翘多糖。青翘多糖和连翘叶多糖在 0~50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内均能促进 LPS 模型组 IL-10 的产生。然而,当浓度提高到 50~100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,青翘多糖对 IL-10 的产生产生了抑制作用,而连翘叶多糖在此浓度范围内仍能促进 IL-10 的生成。综上所述,连翘叶多糖的体外抗炎活性优于青翘多糖。

尽管本研究揭示了青翘多糖和连翘叶多糖的抗炎效果,但仍需进一步探讨其具体的作用机制及在体内的生物活性。后续可以通过代谢组学技术来研究

连翘叶多糖的抗炎活性机制,在动物炎症模型上进行验证。此外,未来的研究可以考虑多糖的联合应用效果,以期为临床抗炎治疗提供更为全面的理论基础。

参考文献

- [1] WANG ZY, XIA Q, LIU X, *et al.* Phytochemistry, pharmacology, quality control and future research of *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl: a review[J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 210: 318
- [2] 宋小俊. 连翘不同部位化学成分研究进展[J]. *西北药学杂志*, 2014, 29(2): 220
- [3] SONG XJ. Research advances of chemical composition of different parts of *Forsythia suspensa* [J]. *Northwest Pharm J*, 2014, 29(2): 220
- [4] WANG LX, WANG HL, HUANG J, *et al.* Review of lignans from 2019 to 2021: newly reported compounds, diverse activities, structure-activity relationships and clinical applications [J]. *Phytochemistry*, 2022, 202: 113326.
- [5] XIAO ZY, GUO YZ, LI JX, *et al.* Harnessing traditional Chinese medicine polysaccharides for combatting COVID-19 [J]. *Carbohydr Polym*, 2024, 346: 122605.
- [6] 山西省卫生和计划生育委员会, 山西省食品药品监督管理局. DBS 14/001-2017 食品安全地方标准 连翘叶 [S]. 2017
- [7] Shanxi Provincial Health and Family Planning Commission, Shanxi Provincial Food and Drug Administration. DBS 14/001-2017 Local Standards for Food Safety: *Forsythia Leaves* [S]. 2017
- [8] 王燕, 王儒彬, 孙磊, 等. 不同采摘期连翘叶中总黄酮、总酚酸含量与 DPPH 自由基清除能力的相关性 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(16): 109
- [9] WANG Y, WANG RB, SUN L, *et al.* relationship between total flavonoids, total phenolics and 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activities during growth of *Forsythia suspensa* leaves [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2011, 17(16): 109
- [10] GUI LL, WANG SK, WANG J, *et al.* Effects of forsythin extract in *Forsythia* leaves on intestinal microbiota and short-chain fatty acids in rats fed a high-fat diet [J]. *Food Sci Hum Wellness*, 2024, 13(2): 659
- [11] DU BX, YEPEI FU YP, WANG X, *et al.* Isolation, purification, structural analysis and biological activities of water-soluble polysaccharide from *Glehniae Radix* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 128: 724
- [12] ZHANG H, LICC, LAI P F H, *et al.* Fractionation, chemical characterization and immunostimulatory activity of β -glucan and galactoglucan from *Russula vinosa* Lindblad [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 256: 117559
- [13] HU T, HUANG Q, WONG K, *et al.* Structure, molecular conformation, and immunomodulatory activity of four polysaccharide fractions from *Lignosus rhinocerotis sclerotia* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 94: 423
- [14] ZHENG ZM, HUANG QL, LING CQ. Water-soluble yeast β -glucan

- fractions with different molecular weights: extraction and separation by acidolysis assisted-size exclusion chromatography and their association with proliferative activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 123: 269
- [12] WANG L, ZHANG B, XIAO J, *et al.* Physicochemical, functional, and biological properties of water-soluble polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt fruit [J]. *Food Chem*, 2018, 249: 127
- [13] ZHU M, HUANG R, WEN P, *et al.* Structural characterization and immunological activity of pectin polysaccharide from kiwano (*Cucumis metuliferus*) peels [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 254: 117371
- [14] LIU H, XU J, XU X, *et al.* Structure/function relationships of bean polysaccharides: a review [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2023, 63 (3): 330
- [15] LIU T, REN Q, WANG S, *et al.* Chemical modification of polysaccharides: a review of synthetic approaches, biological activity and the structure-activity relationship [J]. *Molecules*, 2023, 28 (16): 6073
- [16] LIN JF, XIANG SW, LV H, *et al.* Antimicrobial high molecular weight pectin polysaccharides production from diverse citrus peels using a novel PL10 family pectate lyase [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 234: 123457
- [17] LU J, HE R, SUN P, *et al.* Molecular mechanisms of bioactive polysaccharides from *Ganoderma lucidum* (Lingzhi), a review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 150: 765
- [18] LIU G, ZHANG J, KAN Q, *et al.* Extraction, structural characterization, and immunomodulatory activity of a high molecular weight polysaccharide from *Ganoderma lucidum* [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 846080. DOI: 10.3389/fnut.2022.846080
- [19] WANG ZC, ZHENG Y, LAI ZR, *et al.* Effect of monosaccharide composition and proportion on the bioactivity of polysaccharides: A review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 254. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127955
- [20] LI WZ, YANG BX, JOE G H, *et al.* Glycation with uronic acid-type reducing sugar enhances the anti-inflammatory activity of fish myofibrillar protein via the Maillard reaction [J]. *Food Che*, 2023, 407: 135162
- [21] DU B, LIN CY, BIAN ZX, *et al.* An insight into anti-inflammatory effects of fungal beta-glucans [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2015, 41 (1): 49
- [22] CHEN N, JIANG TY, XU JX, *et al.* The relationship between polysaccharide structure and its antioxidant activity needs to be systematically elucidated [J]. *Int J Biol Macromo*, 2024, 270: 132391
- [23] SUN X, STEFANETTI G, BERTI F, *et al.* Polysaccharide structure dictates mechanism of adaptive immune response to glycoconjugate vaccines [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116 (1): 193
- [24] CHEN GM, JIANG N, ZHENG JP, *et al.* Structural characterization and anti-inflammatory activity of polysaccharides from *Astragalus membranaceus* [J]. *Int J Biol Macromo*, 2023, 241: 124386
- [25] ZENG F, LI Y, ZHANG X, *et al.* Immune regulation and inflammation inhibition of *Arctium lappa* L. polysaccharides by TLR4/NF- κ B signaling pathway in cells [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 254 (Pt2): 127955
- [26] ZHANG Y, YAN M, XIA Y, *et al.* Glutaredoxin-1 modulates the NF- κ B signaling pathway to activate inducible nitric oxide synthase in experimental necrotizing enterocolitis [J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2024, 32 (1): 101214

(本文于 2024 年 12 月 7 日收到)