

枸杞多糖的分离纯化、结构分析及抗神经炎症活性

韩著^{1,2}, 郝高峰^{1,2}, 撒志明³, 臧娅妮³, 马玲^{3*}, 孟敏^{1,4*}

(1. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃兰州 730000) (2. 中国科学院兰州化学物理研究所, 甘肃兰州 730000)

(3. 宁夏回族自治区药品检验研究院, 国家枸杞产品质量检验检测中心(宁夏), 宁夏银川 750000)

(4. 甘肃省人民医院药剂科, 甘肃兰州 730000)

摘要: 枸杞多糖是枸杞子的主要活性成分, 具有诸多生物活性。为了探究枸杞多糖在抗神经炎症方面的潜力, 该文以脱色率、多糖回收率和分离时间为指标, 筛选了最佳的脱色树脂和分离超滤膜, 构建了一种离子交换大孔树脂耦联超滤膜技术分离纯化枸杞多糖的新方法, 分离纯化得到 LBP_s-N; 并采用经典水提醇沉、H₂O₂ 氧化脱色的方法制备了 LBP_s-T; 利用高效凝胶渗透色谱法和柱前衍生化高效液相色谱法等分析了 LBP_s-N 和 LBP_s-T 的组成与结构, 采用 Griess 法和 ELISA 法检测了 LBP_s-N 和 LBP_s-T 的抗神经炎症活性。结果表明, 最佳脱色树脂为 LX-360, 脱色率和多糖回收率为 85.64% 和 80.83%; 最佳超滤膜分子量为 5.0 kDa, 多糖回收率为 73.54%; LBP_s-N 主要由葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖组成, LBP_s-T 主要由半乳糖和阿拉伯糖组成; LBP_s-N 和 LBP_s-T 的多糖纯度、分子量和三螺旋结构均有差别, 但均可抑制炎症因子分泌以缓解脂多糖诱导的小胶质细胞炎症, 其中 LBP_s-N 对 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 分泌的抑制作用更强。该研究构建的枸杞多糖分离纯化新方法为其在神经退行性疾病干预方面的应用提供了理论依据。

关键词: 枸杞多糖; 离子交换大孔树脂; 超滤膜; 分离纯化; 结构分析; 神经炎症

文章编号: 1673-9078(2026)03-134-144

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.3.0077

Isolation, Purification, Structural Analysis, and Anti-neuroinflammatory Activity of *Lycium barbarum* Polysaccharides

HAN Zhu^{1,2}, HAO Gaofeng^{1,2}, HAN Zhiming³, ZANG Yani³, MA Ling^{3*}, MENG Min^{1,4*}

(1. School of Pharmacy, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

(2. Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

(3. Ningxia Hui Autonomous Region Pharmaceutical Inspection and Research Institute/National Quality Inspection and Testing Centre for *Lycium barbarum* products (Ningxia), Yinchuan 750000, China)

(4. Gansu Provincial People's Hospital Pharmacy, Lanzhou 730000, China)

Abstract: *Lycium barbarum* polysaccharides (LBPs) are the predominant bioactive compounds in *Lycium barbarum* and exhibit multiple biological activities. To explore their potential anti-neuroinflammatory effects, we screened for an optimal decolorization resin and ultrafiltration membrane by using decolorization rate, polysaccharide recovery rate, and separation time as

引文格式:

韩著, 郝高峰, 撒志明, 等. 枸杞多糖的分离纯化、结构分析及抗神经炎症活性[J]. 现代食品科技, 2026, 42(3): 134-144.

HAN Zhu, HAO Gaofeng, HAN Zhiming, et al. Isolation, purification, structural analysis, and anti-neuroinflammatory activity of *Lycium barbarum* polysaccharides [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(3): 134-144.

收稿日期: 2025-01-16; 修回日期: 2025-04-22; 接受日期: 2025-05-01

基金项目: 宁夏回族自治区重点研发计划项目(2022BEG03174; 2024BBF02008); 兰州市人才创新创业项目(2023-RC-4); 甘肃省卫生健康行业科研项目(GSWSQN2023-07)

作者简介: 韩著(1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药功效与安全性评价研究, E-mail: hanz0324@163.com

通讯作者: 马玲(1979-), 女, 学士, 主任药师, 研究方向: 药品食品质量控制与研究, E-mail: 763746007@qq.com; 共同通讯作者: 孟敏(1984-), 女, 博士, 主任药师, 研究方向: 天然产物活性成分, E-mail: min_pharmacy@163.com

evaluation indices. A novel method for isolating and purifying LBPs was developed by coupling macroporous ion-exchange resin chromatography with ultrafiltration membrane technology. Through this approach, LBPs-N was successfully obtained. LBPs-T were prepared through conventional water extraction/alcohol precipitation and hydrogen peroxide-induced oxidative decolorization. The composition and structural characteristics of both LBPs-N and LBPs-T were analyzed using high-performance gel permeation chromatography and pre-column derivatization high-performance liquid chromatography. Their anti-neuroinflammatory activities were evaluated via the Griess method and ELISA. LX-360 resin provided optimal decolorization performance, achieving respective decolorization rates and polysaccharide recoveries of 85.64% and 80.83%. The optimum ultrafiltration membrane molecular weight was 5.0 kDa, with a polysaccharide recovery of 73.54%. LBPs-N is primarily composed of glucose, galactose, and arabinose, whereas LBPs-T predominantly consist of galactose and arabinose. Although LBPs-N and LBPs-T exhibit distinct differences in polysaccharide purity, molecular weight distribution, and triple-helix conformation, both fractions significantly suppress pro-inflammatory cytokine secretion, thereby alleviating lipopolysaccharide-induced microglial inflammation. Notably, LBPs-N demonstrated stronger inhibition of TNF- α , IL-6, and IL-1 β . The novel method for isolating and purifying LBPs established in this study provides a theoretical foundation for their potential application in mitigating neurodegenerative diseases.

Key words: *Lycium barbarum* polysaccharide; ion exchange macroporous resin; ultrafiltration membrane; separation and purification; structural analysis; neuroinflammation

枸杞子是茄科植物宁夏枸杞 (*Lycium barbarum* L.) 的干燥成熟果实, 富含多种活性成分, 几千年来一直被众多亚洲国家用作于药物或功能食品^[1]。诸多药理学研究表明, 枸杞多糖 (*Lycium barbarum* Polysaccharides, LBPs) 是枸杞子的主要活性成分之一, 具有调节免疫力、降血糖、防治老年黄斑变性等多种药理作用^[2]。近年来, LBPs 在神经保护方面的作用受到诸多学者的关注, 已有的 LBPs 提取分离、结构表征及在神经保护方面的生物活性研究进展如表 1 所示。

乙醇沉淀法是目前制备 LBPs 最常用的方法, 该方法在提取 LBPs 的过程中常常夹带有水溶性色素等小分子杂质, 这些杂质在乙醇沉淀 LBPs 的过程中常被多糖包埋进而发生共沉淀, 为随后的纯化步骤带来了困难。H₂O₂ 氧化法和活性炭吸附法是 LBPs 脱色的常用方法, 其中 H₂O₂ 会使多糖发生部分水解, 从而改变其生物活性^[18]; 活性炭则因其特异性较低、不能重复利用, 导致多糖产率下降, 纯化成本增加^[19]。因此, 构建一种有效分离纯化 LBPs 的方法可以推动其广泛应用。

表 1 具有神经保护潜力的LBPs的提取分离方法、生物活性及结构表征			
Table 1 Extraction and separation methods, biological activity, and structural characterization of LBPs with neuroprotective potential			
提取分离方法	生物活性	多糖结构表征	参考文献
高速剪切辅助提取-超滤膜分离	抗氧化和抗 AMD 活性	LICP009-3F-2a 的重均分子量为 13 720 Da, 由鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸组成	[3]
	神经营养和神经保护活性	LFP-1 的重均分子量为 17 800 Da, 由鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖、葡萄糖醛酸和半乳糖醛酸组成	[4]
	抗氧化和神经保护活性	LBP 的重均分子量和数均分子量分别为 22 355 Da 和 10 293 Da, 由鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、核糖和葡萄糖醛酸组成	[5]
水提醇沉法	神经保护活性	LBP-3 的平均分子量为 67 400 Da, 由阿拉伯糖和半乳糖组成	[6]
		/	[7-9]
	抗氧化和神经保护活性	/	[10]
	抗氧化、抗炎和神经保护活性	/	[11]
	/	神经保护活性	/
/	神经营养和神经保护活性	/	[12-15]
/	抗氧化和神经保护活性	/	[16]
/	抗氧化和神经保护活性	/	[17]

离子交换大孔树脂具有离子交换和大孔树脂吸附的双重功能。应用阴离子交换大孔树脂不仅能够去除粗多糖中的色素,而且不会破坏多糖的结构。膜分离技术由于没有相转移过程,主要依赖机械筛分原理,可维持提取成分的原始化学结构和生物活性。本课题组利用不同分子量的超滤膜,构建了一种串联超滤混合膜分离系统,将其用于LBP的精细化分离,并且实现了产业化实施^[20]。因此,该研究基于以上基础,构建了阴离子交换树脂耦联超滤膜过滤技术分离纯化LBP的新方法,对比了利用新方法分离纯化获得的枸杞多糖LBP-N和利用经典水提醇沉法分离、H₂O₂脱色获得的枸杞多糖LBP-T在初级结构和抑制神经炎症活性方面的差异,为LBP在食品或生物医药中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

枸杞子采自宁夏中杞枸杞贸易集团有限公司,经国家枸杞产品质量检验检测中心(宁夏)马玲按照2020版《中国药典》中“枸杞子”的性状、鉴别等项目检查鉴定为宁夏枸杞的干燥成熟果实。离子交换树脂LX-360,西安蓝晓科技新材料有限公司;乙醇、甲醇、二氯甲烷、三氟乙酸、盐酸、氢氧化钠、乙腈(分析纯),成都市科隆化工有限公司;考马斯亮蓝(分析纯),天津大茂有限公司;D-葡萄糖、D-半乳糖、D-甘露糖、L-阿拉伯糖、L-鼠李糖、L-岩藻糖、D-半乳糖醛酸、D-葡萄糖醛酸标准品(纯度≥99%),中国食品药品检定研究院;BV2小胶质细胞,中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库;一氧化氮(NO)检测试剂盒,南京建成生物工程研究所;TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 ELISA试剂盒,上海科兴生物科技有限公司;其他化学试剂至少为分析级或更高级别。

1.2 仪器与设备

Agilent1260高效液相色谱仪,安捷伦公司;Vivaflow[®]200超滤切向流膜,北京赛多利斯仪器系统有限公司;TU-1901双光束紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限公司;T25高速剪切机,艾卡仪器设备有限公司;V70傅里叶变换红外光谱仪,布鲁克公司;JSM-5601LV原子力显微镜,日本电子公司;Varioskan Flash型酶标仪,赛默飞世尔科技公司;Biosafte-10B型真空冷冻干燥机,赛飞有限公司。

1.3 方法

1.3.1 枸杞水提取物的制备

称取枸杞子干燥粉末约100 g,按1:12的料液比加

入蒸馏水,于60℃下使用高速剪切机以10 000 r·min⁻¹的转速辅助提取30 min。将提取液离心10 min,转速为8 000 r·min⁻¹,合并上清液,得到枸杞子水提液LBWE。

1.3.2 超滤膜浓缩LBWE

量取400 mL的LBWE加入截留分子量为3.0 kDa的超滤膜过滤系统贮液池I,通过蠕动泵将LBWE泵入Vivaflow[®]200膜元件,调节压力为0.8 MPa,渗透液通过管道II进入贮液池II,截留液通过管道I返回贮液池I,当贮液池I中的LBWE剩余体积为25 mL时,向贮液池I中注入25 mL的蒸馏水以润洗膜元件,停止蠕动泵,将润洗液与25 mL的截留液合并,得到枸杞子水提液LBWE浓缩液。

1.3.3 脱色离子交换大孔树脂的筛选

1.3.3.1 树脂的预处理

对离子交换大孔树脂LX-150、LX-360、D290、D310R、LSD-296进行预处理。首先,加入纯化水静置,过滤;再加入无水乙醇浸泡24 h后洗至无醇味,然后依次加入质量分数为4%的NaOH和4%的HCl,搅拌静置,洗至中性,备用。

1.3.3.2 LBP脱色树脂筛选试验

将预处理的LX-150、LX-360、D290、D310R、LSD-296离子交换树脂(相当于10 g干树脂)和50 mL LBWE浓缩液加入到250 mL锥形瓶中。将锥形瓶在恒温(25℃)水浴振荡器中以150 r·min⁻¹振荡12 h,直至达到吸附平衡,用滤纸过滤分离树脂和粗多糖溶液C-LBP。将溶液冷冻干燥,得到枸杞粗多糖C-LBP。比较不同树脂的脱色率和C-LBP的回收率。

1.3.3.3 脱色率的测定

将LBP样品于405 nm处测量溶液的吸光度,计算树脂对LBP的脱色率:

$$X = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

X—离子交换大孔树脂脱色率, %;

A₁—离子交换大孔树脂脱色前样品的吸光度;

A₂—离子交换大孔树脂脱色后样品的吸光度。

1.3.3.4 回收率的测定

采用苯酚-硫酸法测定LBP样品的多糖含量,计算树脂(超滤膜)对LBP的回收率:

$$Y = \frac{M_2}{M_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

Y—多糖回收率, %;

M_1 ——离子交换大孔树脂脱色（倒入超滤膜过滤系统）前样品的多糖含量与样品质量的乘积；

M_2 ——离子交换大孔树脂脱色（倒入超滤膜过滤系统）后样品的多糖含量与样品质量的乘积。

1.3.4 离子交换树脂偶联超滤膜的筛选及LBPs-N的制备

将预处理的 LX-360 离子交换树脂（相当于 100 g 干树脂）装入层析玻璃柱。将 50 mL LBWE 浓缩液以恒定的流速连续加入 LX-360 离子交换树脂上。加入 250 mL 蒸馏水洗脱，收集并合并吸附残液和洗脱液，得到粗多糖溶液 C-LBPs。

量取 300 mL 粗多糖溶液 C-LBPs，倒入超滤膜过滤系统贮液池 I，通过蠕动泵将其泵入截留分子量为 3.0、5.0、10.0 和 30.0 kDa 的 Vivaflow[®]200 膜元件进行分离，调节压力为 0.8 MPa。渗透液通过管道 II 进入贮液池 II，截留液通过管道 I 返回贮液池 I，当贮液池 I 中的截留液剩余 25 mL 时，向贮液池 I 中注入 25 mL 的蒸馏水润洗膜元件，停止蠕动泵，将润洗液与 25 mL 的截留液合并，得到多糖溶液 p-LBPs-N。取一定量测定不同超滤膜分子量对 LBPs 的回收率，测定方法见 1.3.3.4，并记录分离所需的时间。筛选出用于 LBPs 分离的最佳截留分子量为 5.0 kDa，通过该膜元件分离得到的多糖溶液 p-LBPs-N，利用冷冻干燥机在冷阱温度为 -50 °C，真空度为 8 Pa 的条件下干燥 36 h，得到纯化的枸杞多糖 LBPs-N。

1.3.5 枸杞多糖LBPs-T的制备

量取 400 mL 的枸杞子水提液 LBWE，减压浓缩至 50 mL，加入 200 mL 无水乙醇，静置过夜，过滤得沉淀物。将沉淀物加入 20 mL 水溶解，用氨水调节 pH 值至 8.0，然后逐滴加入质量分数为 30% 的 H₂O₂ 溶液，在 60 °C 下搅拌脱色 2 h。置入分子量为 3 000 Da 的透析袋中透析 72 h，将透析液离心过滤浓缩至 20 mL，最后将其放入冷冻干燥机中进行干燥，得到枸杞多糖 LBPs-T。

1.3.6 枸杞多糖LBPs-N和LBPs-T的结构表征

1.3.6.1 化学成分检测

采用苯酚-硫酸法、硫酸-咔唑法和考马斯亮蓝 G250 染色法依次测定 LBPs 中的总糖含量、糖醛酸含量和蛋白质含量，以葡萄糖、半乳糖醛酸和牛血清白蛋白（BSA）作为标准品。

1.3.6.2 分子量测定

参考文献^[21]，利用高效凝胶渗透色谱联用激光光散射仪和示差检测器（High Performance Gel Permeation Chromatography Combined with Multi-Angel Laser Light Scattering-Refractive Index Detection, HPGPC-MALLS-RID）串联检测法测定 LBPs-N 和 LBPs-T 的分子量（Molecular Weight, M_w ）。首先，称取适量各多糖粉末加入生理盐水（NaCl）配置成 10 mg·mL⁻¹ 的样品溶液，然后通过 0.45 μm 微孔滤膜后，进高效液相色谱分析。该方法使用的示差检测器为 RID-G7162A，激光光散射仪为 DAWN（Wyatt Technology Co. 美国）；色谱柱为 OHpak SB-806HQ 与 OHpak SB-804HQ（7.9 mm×300 mm, Shodex）。流动相为 0.2 mol·L⁻¹ NaCl，流速为 1.0 mL·min⁻¹。

1.3.6.3 单糖组成测定

参考文献^[22]，采用 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮（1-Phenyl-3-Methyl-5-Pyrazolone, PMP）柱前衍生化高效液相色谱法测定 LBPs-N 和 LBPs-T 的单糖组成。简言之，称取多糖粉末各 5 mg，用 1 mL 3 mol·L⁻¹ 的三氟乙酸在 110 °C 下水解多糖 8 h，使用 N₂ 将其吹干，并加入 300 μL 蒸馏水将其再次溶解。水解后，将混合标准溶液和多糖水解液进行 PMP 衍生化处理，过 0.45 μm 微孔滤膜，进高效液相色谱（High Performance Liquid Chromatography, HPLC）分析。其中色谱柱为 SinoChrom ODS-BP（5 μm, 4.6 mm×250 mm），流动相（A）为 82% 50 mmol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液（pH 值为 6.7）和（B）为 18% 乙腈，流速为 1.0 mL·min⁻¹，进样体积为 10 μL。

1.3.6.4 三螺旋结构测定

通过刚果红实验分析 LBPs-N 和 LBPs-T 的三螺旋结构。具体操作如下：称取样品粉末约 5 mg，用蒸馏水配成 2.5 mg·mL⁻¹ 的溶液，加入 2.0 mL 80 μmol·L⁻¹

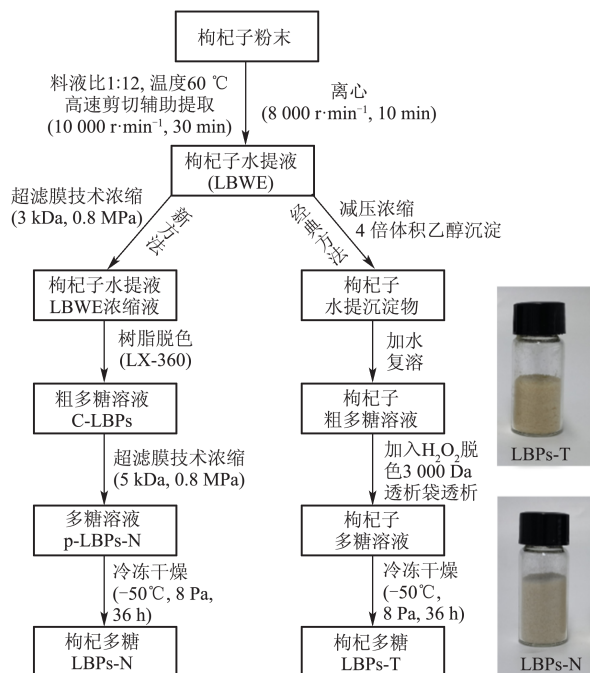


图 1 枸杞多糖分离纯化流程图

Fig.1 Flow chart of separation and purification of *Lycium barbarum* polysaccharides

刚果红溶液,充分摇匀混合。向上述混合物中加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 溶液,使其混合物中 NaOH 的终浓度为 $0.1 \sim 0.4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,用紫外-可见光谱仪测定不同 NaOH 浓度下 $200 \sim 800 \text{ nm}$ 范围内的最大吸收波长。蒸馏水被用来作为空白对照。

1.3.6.5 傅立叶变换红外光谱分析

称取 LBP_s-N 和 LBP_s-T 各 1.5 mg,与 200 mg 溴化钾研磨混合,压制后,以溴化钾作为背景,用红外光谱仪在 $4000 \sim 500 \text{ cm}^{-1}$ 波段进行扫描分析^[23]。

1.3.7 LBP_s-N和LBP_s-T对脂多糖(LPS)诱导BV2小胶质细胞神经炎症反应的保护作用

1.3.7.1 细胞增殖活性检测

BV2 细胞用含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素的 DMEM 培养基在 37°C 、5% CO_2 的条件下进行培养。将处于对数生长期的 BV2 细胞,调整浓度至每毫升 2×10^5 个,并接种 1 mL 该细胞悬液于 96 孔板中,待细胞贴壁后,将细胞分为空白对照组(NC),模型组(MC)、不同质量浓度(0.1 、 0.2 、 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)的 LBP_s-N 和 LBP_s-T 处理组,其中 LBP_s-N 和 LBP_s-T 处理组先分别给予不同浓度的多糖溶液孵育 6 h,然后再将各组加入空白试剂或 $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ LPS 培养 24 h,每孔加入 $20 \mu\text{L}$ MTT ($5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 溶液,继续置于 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养 3 h 后,吸弃培养基并于每孔加入 DMSO 后,用酶标仪检测 495 nm 处吸光度。

1.3.7.2 NO水平检测

按照 1.3.7.1 节的步骤对细胞进行分组并给药。收集不同处理组 BV2 细胞的上清液加入 96 孔板中,在每孔中依次迅速加入 $50 \mu\text{L}$ Griess Reagent I 和 $50 \mu\text{L}$ Griess Reagent II,并用酶标仪于 540 nm 处测定吸光度。

1.3.7.3 细胞因子水平检测

按照 1.3.7.1 节的步骤对细胞进行分组并给药。收集不同处理组 BV2 细胞的上清液,按照 ELISA 试剂盒说明书操作来测定不同处理组 BV2 细胞上清液中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 含量。

1.4 统计学分析

所有试验在相同条件下重复测定 3 次,数据均以平均值 $\pm$ 标准差(Standard Deviation, SD)表示。使用 SPSS 19.0 统计软件通过单因素方差分析确定各组之间的显著差异。 $P < 0.05$ 的值被认为是具有统计学意义的。

2 结果与讨论

2.1 不同树脂的脱色性能比较

树脂的吸附功能是由表面吸附、分子筛分、表面

电学性质和氢键相互作用等决定的^[24]。适当的脱色树脂要同时具备较强的色素亲和力和较弱的多糖吸附能力。为了选择最佳脱色树脂,该研究选取了 5 种阴离子交换树脂结果如图 2a 所示,树脂的脱色率均在 60% 以上,表明这些树脂对 LBP_s 的色素杂质具有较强的吸附能力,其中阴离子交换大孔树脂 LX-360 的脱色率大于 80%。D310R 和 D290 树脂的多糖回收率低于 50%,这与树脂的表面电学性能和氢键相互作用较强有关。相比之下,LX-360 的脱色率(85.64%)和多糖回收率(80.83%)均优于其他树脂。因此,选择 LX-360 作为 LBP_s 脱色的最佳树脂进行后续试验。

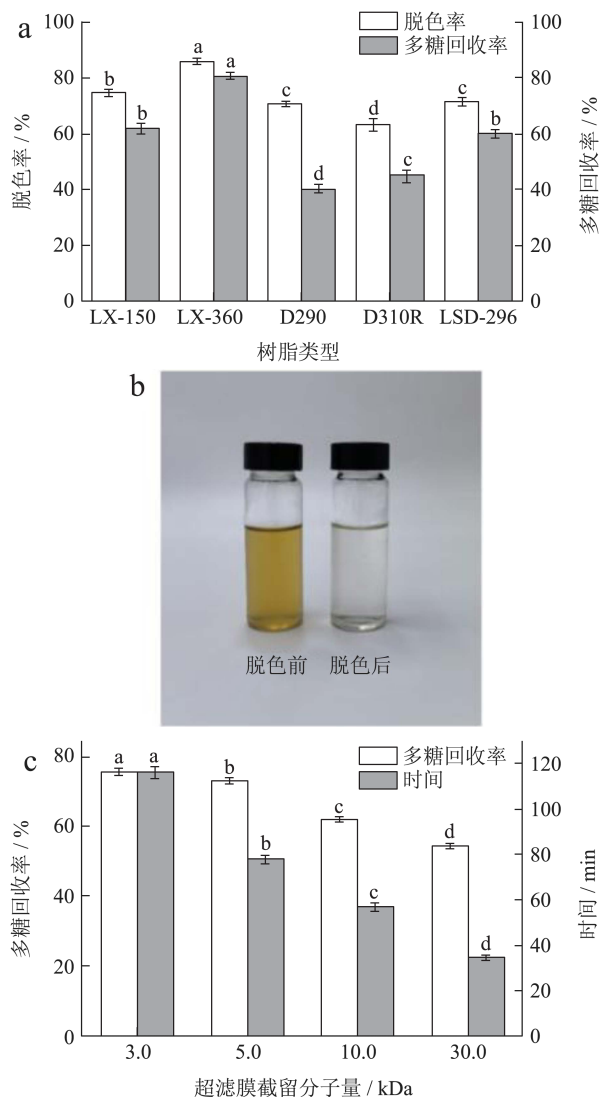


图 2 不同树脂和切向流超滤膜的筛选

Fig.2 Screening of different resins and tangential flow ultrafiltration membranes

注: a: 不同树脂脱色率和多糖回收率的比较; b: LBP_s 在 LX-360 树脂上动态吸附前后的颜色对比; c: 不同分子量超滤膜对多糖回收率和分离时间的影响; 其中不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

2.2 切向流超滤膜的筛选

枸杞多糖的分子量分布宽,在8~241 kDa之间。目前,商品化的膜元件的截留分子量主要集中在300、100、50、30、10、5、3和2 kDa。为了最大限度地截留枸杞多糖,同时尽可能多获取分子量小的多糖,该研究选取了截留分子量为30、10、5和3 kDa的4种切向流超滤膜,在相同条件下进行超滤分离,4种超滤膜对多糖的回收率如图2c,分子量为3.0和5.0 kDa的超滤膜对LBP具有高的回收率,分别为76.08%和73.54%;随着超滤膜分子量的增大,10.0和30.0 kDa的超滤膜对LBP的回收率明显下降,分别为62.31%和54.83%,这是因为LBP的分子量分布极宽,小分子量的LBP透过10.0和30.0 kDa的超滤膜,导致了多糖的回收率降低。然而,从超滤膜分离LBP所耗费的时间来看,5.0 kDa的超滤膜耗费的时间是3.0 kDa超滤膜的67.24%。因此,考虑到综合效率,选择5.0 kDa作为最佳的分离超滤膜进行后续试验。

2.3 枸杞多糖分离纯化新工艺的构建

提取枸杞多糖时,会不可避免的夹带出色素、黄酮苷、单糖等小分子,因此适宜的纯化过程变得不可或缺。超滤膜过滤技术是利用机械筛分的原理选择性的从溶液中获得目标分子量溶质,溶质分子能否透过超滤膜,完全取决于溶质分子的直径及超滤膜孔径。阴离子交换大孔树脂可通过分子间作用力和尺寸筛分作用等选择性地从不同体系中吸附目标成分^[25]。该研究构建了阴离子交换树脂(LX-360)耦联超滤膜(3.0和5.0 kDa)分离纯化枸杞多糖新方法,如图1所示,首先利用3.0 kDa的超滤膜进行浓缩,可以将上述小分子杂质,尤其是葡萄糖等单糖、低聚糖除去,解决了高浓度的单糖会显著降低枸杞子水提液在树脂中的流动性的问题。通过阴离子交换树脂LX-360纯化后,枸杞子水提液中的色素、黄酮苷等物质被吸附在树脂上,最后再经过5.0 kDa超滤膜的分离,进一步除去了小分子杂质,得到了纯化后的枸杞多糖LBP-N,该多糖的颜色比利用经典水提醇沉法分离、H₂O₂脱色纯化获得的枸杞多糖LBP-T的颜色更接近于白色(图1),说明该研究构建的新方法具有更好的脱色率。同时,新方法整个分离纯化过程有效避免了使用乙醇沉淀分离多糖时,乙醇会诱导多糖分子内氢键增强,从而改变其结构和活性。

2.4 LBP-N和LBP-T的结构表征

2.4.1 得率和化学成分分析

LBP-N的得率为4.30%,是LBP-T得率(2.17%)

的2倍,表明阴离子交换树脂(LX-360)耦联超滤膜(3.0和5.0 kDa)分离纯化枸杞多糖的方法对多糖的保留率更高,而传统方法保留率低的原因可能是由于H₂O₂脱色,破坏了多糖内部和原有氢键网络结构,产生分子量小的多糖透过了超滤膜^[26]。LBP-N的总糖含量为75.35%,高于LBP-T(64.45%),表明通过新方法分离纯化获得的枸杞多糖的纯度更高。LBP-N的蛋白质含量(4.42%)与LBP-T的蛋白质含量(4.73%)没有显著性差异,提示两种方法制备的枸杞多糖中均含有一定量的蛋白复合多糖,这种通过共价键连接的多糖-蛋白质缀合物不会被阴离子交换树脂吸附并去除^[27]。LBP-N和LBP-T的糖醛酸含量分别为11.37%和9.65%,通常糖醛酸含量越高,多糖的生物活性就越好,这一结果提示LBP-N可能具有更好的抗神经炎症活性^[28]。LBP-N和LBP-T得率和化学成分的差异,表明不同分离纯化方法会显著影响植物多糖的提取效率及化学组成,进而导致其理化特性和生物活性呈现显著差异。

2.4.2 分子量分析

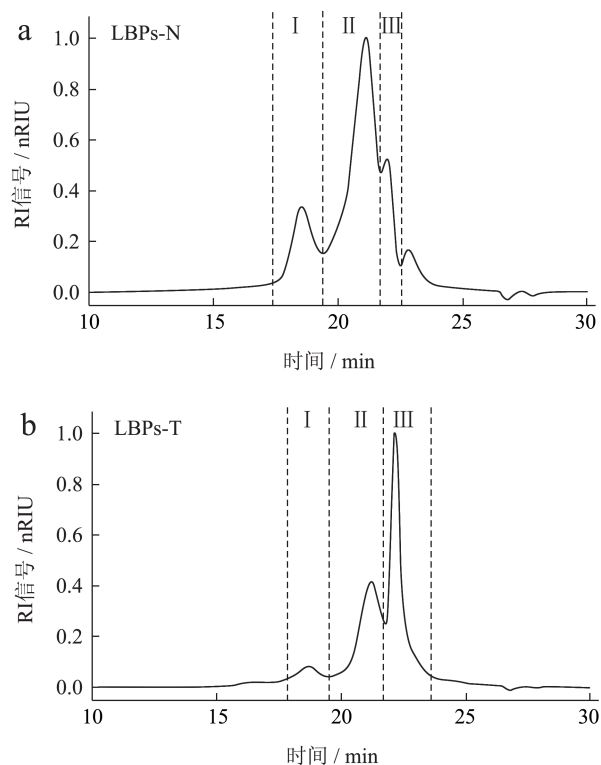


图3 高效凝胶渗透色谱图

Fig.3 HPGPC profile

分子量(M_w)是多糖的一个重要参数,如图3所示,LBP-N和LBP-T的HPGPC色谱图中均显示出3个不同的峰,说明两种粗多糖都是非均一性多

糖。LBPs-N 的分子量及其占比为: M_w -I (1.0×10^5 Da, 19.6%), M_w -II (1.9×10^4 Da, 65.2%) 和 M_w -III (1.4×10^3 Da, 15.2%); LBPs-T 的分子量及其占比为: M_w -I (9.7×10^4 Da, 9.6%), M_w -II (1.2×10^4 Da, 39.7%) 和 M_w -III (1.8×10^3 Da, 50.7%)。LBPs-T 的 M_w -I 和 M_w -II, 无论是分子量还是分子量占比, 都明显低于 LBPs-N; 而 LBPs-T 的 M_w -III 的分子量和占比高于 LBPs-N, 这可能是因为在使用 H_2O_2 脱色过程中, H_2O_2 破坏了 LBPs-T 组分中的部分糖苷键, 导致该组分发生部分降解, 进而使其 M_w -I 和 M_w -II 的分子量和占比降低, M_w -III 的分子量和占比升高^[29]。

2.4.3 单糖组成分析

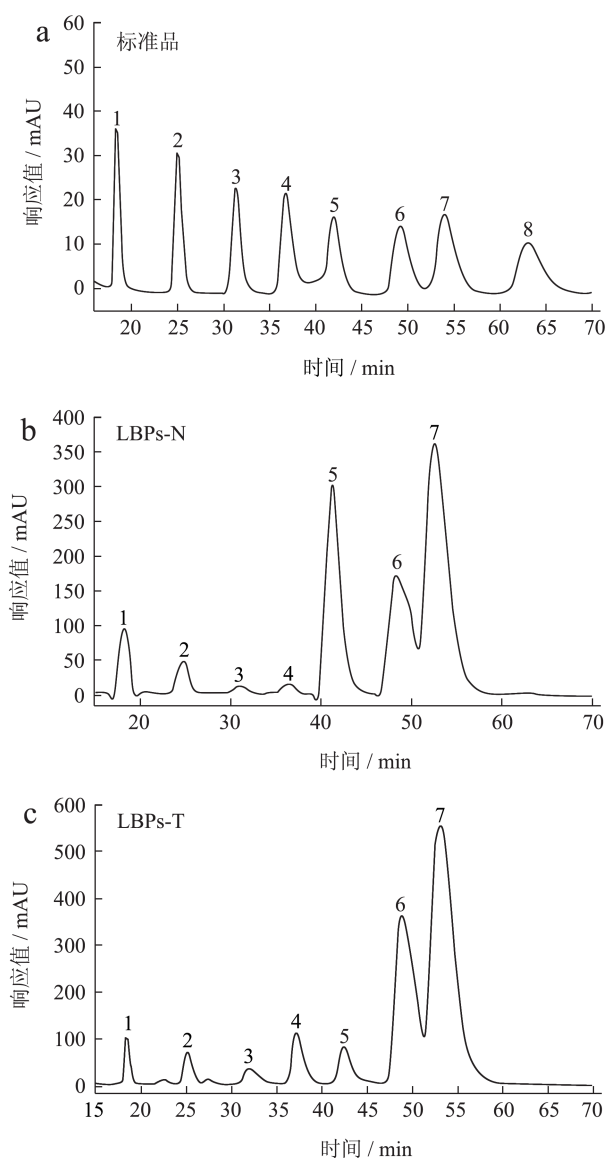


图 4 HPLC 色谱图

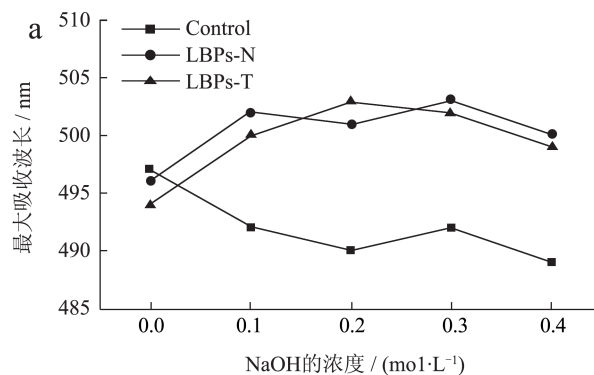
Fig.4 HPLC chromatograms

注: 1. 甘露糖; 2. 鼠李糖; 3. 葡萄糖醛酸; 4. 半乳糖醛酸; 5. 葡萄糖; 6. 半乳糖; 7. 阿拉伯糖; 8. 岩藻糖。

单糖是构成多糖的单位, 其组成与比例均会影响多糖的结构和生物活性。如图 4 所示, LBPs-N 和 LBPs-T 由不同摩尔百分比的甘露糖 (Man)、鼠李糖 (Rha)、葡萄糖醛酸 (GlcA)、半乳糖醛酸 (GalA)、葡萄糖 (Glc)、半乳糖 (Gal) 和阿拉伯糖 (Ara) 组成。LBPs-N 的单糖组成为 Man: Rha: GlcA: GalA: Glc: Gal: Ara=5.98:3.79:0.86:1.05:29.83:16.88:41.61; LBPs-T 的单糖组成为 Man: Rha: GlcA: GalA: Glc: Gal: Ara=3.06:2.85:2.59:6.78:5.30:27.06:52.36。LBPs-N 中葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖的相对摩尔比显著高于其它单糖, 占总单糖比例的 87% 以上, 是构成 LBPs-N 骨架的主要单糖单元, 该结果与 Wu 等^[6]报道的结果不同, 可能是由于分离纯化方法不同所导致的差异; LBPs-T 主要由半乳糖和阿拉伯糖组成, 该结果与 Wu 等^[6]的研究结果一致, 说明相同的提取分离方法会获得结构类似的多糖组分, 并且利用 H_2O_2 脱色时, LBPs-T 中的一些主要由葡萄糖苷键构成的侧链也会被 H_2O_2 裂解, 生成的葡萄糖或以葡萄糖为核心单元的低聚糖可通过超滤膜流失。该结果与分子量分析中, LBPs-T 的 M_w -I 和 M_w -II 显著低于 LBPs-N, 而 M_w -III 显著高于 LBPs-N 的结果相一致。由此可见, 不同的分离纯化方法得到多糖的单糖组成存在较大差异, 这些差异也为多糖生物活性的多样性提供了依据。

2.4.4 三螺旋结构分析

刚果红可以用来检测水溶液中多糖链的三螺旋结构。图 5a 显示了在 $0 \sim 0.4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 水溶液中, 刚果红-多糖复合物的最大吸收波长。在 $0 \sim 0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 溶液中, 所有样品与空白组相比, 都出现了明显的红移, 表明两种多糖在低碱性浓度下均具有三螺旋构象。而当 NaOH 溶液的浓度上升至 $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, LBPs-N 的最大吸收波长超过了 LBPs-T, 这可能与 LBPs-T 在脱色过程中被 H_2O_2 破坏了分子内和分子间氢键有关, 而这是维持多糖特定构象的主要动力, 这一结果与 Kou 等^[30]的研究结果一致, 表明不同分离纯化方法会影响多糖的三螺旋结构。



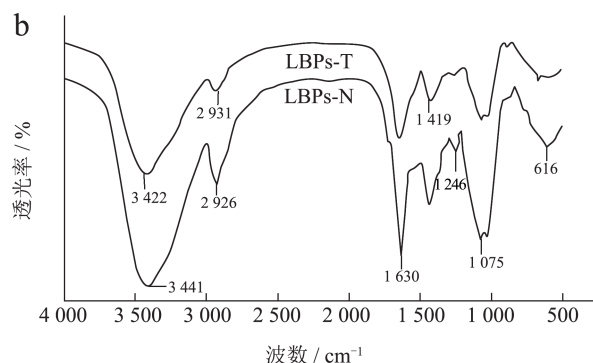


图5 三螺旋结构和红外谱图

Fig.5 Triple helix structures and infrared spectra

注: a: LBP-N 和 LBP-T 的三螺旋结构; b: LBP-N 和 LBP-T 的红外谱图。

2.4.5 红外光谱分析

傅立叶变换红外光谱 (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FT-IR) 通常用于鉴定多糖的特征官能团。如图 5b 所示, 3441 cm^{-1} 和 3422 cm^{-1} 附近的宽吸收峰是由 OH 的拉伸振动引起的^[31]; 2931 cm^{-1} 和 2926 cm^{-1} 处的吸收峰是由 CH、CH₂ 和 CH₃ 等碳-氢键的拉伸振动引起的^[32]; 1630 cm^{-1} 附近的强吸收峰属于对称或不对称羰基 (C=O) 的伸缩振动^[33], 提示两种 LBP 中均含有糖醛酸结构。此外, 在 1419 cm^{-1} 处出现的吸收峰与 CH 或 OH 的拉伸振动有关, 1246 cm^{-1} 和 1075 cm^{-1} 处的强宽吸收峰是由 COH 和 COC 引起的; 616 cm^{-1} 处的特征吸收峰可能归因于 β -吡喃糖构象^[22]。

2.5 LBP-N 和 LBP-T 对 LPS 诱导 BV2 小胶质细胞炎症反应的保护作用

2.5.1 LBP-N 和 LBP-T 对 LPS 诱导的 BV2 小胶质细胞增殖的影响

神经炎症是中枢神经系统为保护大脑免受损害而发生的炎症反应, LPS 诱导 BV2 小胶质细胞激活是常用的体外神经炎症模型^[34]。如图 6a 所示, 与 NC 组相比, MC 组细胞活力明显下降 ($P < 0.05$), 下降了 20.97%, 表明建模成功。与 MC 组相比, LBP-T 和 LBP-N 均可恢复细胞活力。其中, 当 LBP-T 的剂量为 $0.2 \sim 0.4\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 细胞活力分别为 102.26% 和 109.76%, 与 MC 组相比具有显著差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2.5.2 LBP-N 和 LBP-T 对 LPS 诱导的 BV2 小胶质细胞 NO 分泌的影响

在神经系统中, NO 是一种“非典型”的神经调节剂, 参与神经递质释放、神经元兴奋等过程。LPS 刺激会诱导 NO, NO 生成过多会引发促炎细胞因子的产生, 导致慢性炎症和代谢性内毒素血症^[35]。如图 6b 所示, 与 NC 组相比, BV2 细胞经 LPS 刺激后 NO 水

平显著增加 ($P < 0.05$), 该结果与杨冬梅等^[36]的研究结果相似。与 MC 组相比, LBP-T 和 LBP-N 在 $0.1 \sim 0.4\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的质量浓度下均能使细胞 NO 水平降低且呈浓度依赖关系。同时, 王玉银等^[37]的研究中也显示利用不同剂量的 LBP 干预 LPS 诱导的 BV2 小胶质细胞可明显降低 NO 水平, 这表明 LBP 能有效抑制 BV2 细胞释放 NO, 以缓解 LPS 造成的炎症, 从而减少细胞损伤。

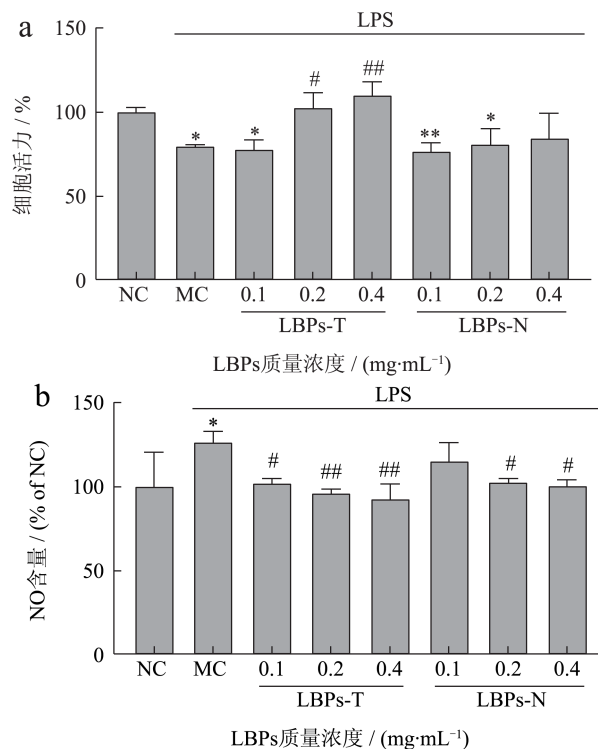


图6 LBP-N 和 LBP-T 对 LPS 诱导的 BV2 小胶质细胞增殖和 NO 分泌的影响

Fig.6 Effects of LBP-N and LBP-T on LPS-induced proliferation and NO secretion of BV2 microglial cells

注: a 为 LBP-N 和 LBP-T 对 LPS 诱导的 BV2 小胶质细胞增殖的影响; b 为 LBP-N 和 LBP-T 对 LPS 诱导的 BV2 小胶质细胞 NO 分泌的影响; 其中与空白对照 (NC) 组相比, * 为 $P < 0.05$, ** 为 $P < 0.01$; 与模型 (MC) 组相比, # 为 $P < 0.05$, ## 为 $P < 0.01$ 。

2.5.3 LBP-N 和 LBP-T 对 LPS 诱导的 BV2 小胶质细胞炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 分泌的影响

神经炎症的发病机制是一个复杂的过程, 受许多促炎因子的诱导调节, 其中 TNF- α 是调节中枢神经系统炎症反应的代表性细胞因子, 它可参与病理条件下兴奋性毒性细胞死亡和神经炎症的各阶段, 当其与受体结合时, 可增加胞内钙离子水平, 进而促进 IL-6 和 IL-1 β 的分泌, 从而导致突触功能障碍, 抑制神经元再生^[38]。由此可见 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平是评估炎症的关键标志物。如图 7 所示, 与 NC 组相比, MC 组中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 分泌量显著增加 ($P < 0.01$),

分别为 1 392.52、652.01 和 1 052.75 $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。相反,与 MC 组相比,0.1、0.2 和 0.4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 LBP_s-N 组和 LBP_s-T 组中的 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的分泌量显著降低且呈浓度依赖关系,其中在 0.2~0.4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的浓度下具有统计学意义 ($P<0.05$, $P<0.01$)。此外,当 LBP_s-N 和 LBP_s-T 的质量浓度为 0.4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, LBP_s-N 组中炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的分泌量分别为 611.04、371.52 和 653.25 $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 而 LBP_s-T 组中炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的分泌量分别为 623.01、543.25 和 714.51 $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。由此可见, LBP_s-N 对 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 分泌的抑制作用更强 ($P<0.01$), 这一结果提示 LBP_s-N 具有更好的抗神经炎症活性。

目前已有大量研究证实了粗多糖的抗神经炎症活性,如五味子多糖对过量 A β 诱导的小鼠海马炎症因子的增加具有良好的治疗作用^[39];远志多糖可显著降低 LPS 诱导的 BV2 细胞中 NO、TNF- α 和 IL-1 β 水平,具有显著的抗炎和抗 AD 活性^[40];石菖蒲根茎杂多糖可通过降低 LPS 刺激的 BV2 细胞中炎症因子的水平,而显著提高 AD 小鼠的记忆力和学习能力^[41];人参多糖可缓解 AD 模型在体外由 A β 引发的神经炎症,并能通过恢复神经元的有丝分裂抑制 A β 聚集体的形成,从而在 AD 模型中发挥神经保护活性^[42]。研究表明,多糖的生物活性与其化学结构密切相关,通过研究多糖的结构特征,发现葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖经常存在于具有抑制神经炎症生物活性的多糖之中,其中五味子多糖由 Man、Rha、GlcA、Glc、Gal 和 Ara 组成;远志多糖由 Man、Rha、Glc、Gal、Xyl 和 Ara 组成;石菖蒲根茎杂多糖主要由 Gal、Xyl、Ara 组成,还有少量 Glc、Man 等。人参多糖主要由 Glc、GalA、Gal 和 Ara 组成,还有少量 Rha、GlcA、Man。这些结果进一步证明了 Glc、Gal 和 Ara 可能与抗神经炎症活性有关,该研究中 LBP_s-N 主要由葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖组成,其摩尔比占总单糖的 87% 以上,而 LBP_s-T 中葡萄糖含量明显降低。与此同时, LBP_s-N 抑制神经炎症的活性优于 LBP_s-T。该结果说明葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖的存在可能是 LBP_s-N 和 LBP_s-T 具有良好抗神经炎症活性的关键因素,也进一步提示, LBP_s 在分离纯化中采用 H₂O₂ 脱色, H₂O₂ 的强氧化作用会打断部分葡萄糖的糖苷键,导致 LBP_s 中葡萄糖的组成比例下降^[29],影响其抑制神经炎症的活性,这一结果与 Jiao 等^[43]的研究结果一致,说明单糖组成的比例是决定多糖组分抗炎活性的主要因素之一。此外,分子量是影响多糖生物活性的另一个重要因素。通常情况下,分子量较低的多糖组分不易形成活性聚合物结构,而分子量过高的多糖组分则很难穿过细胞膜发挥药理作用。因此,合适的分子量是多糖组分发挥药理活性的首要

条件。Chen 等^[44]发现分子量大(850 kDa)的葡聚糖比分子量小(14.7 kDa)的杂多糖具有更好的抗炎活性。同时,其他研究学者也发现了来自黄芪的两种分子量不同的多糖表现出了不同的抗炎活性,其中分子量较大(4.95×10^6 Da)的黄芪多糖具有更显著的抗炎活性^[45]。同样,在该研究中,分子量较大的 LBP_s-N 也显示出比 LBP_s-T 更显著的抗炎活性,这是由于该研究利用经典水提醇沉法分离、H₂O₂ 脱色破坏了 LBP_s-T 中的部分糖苷键,从而导致其 Mw-II 的分子量和分子量占比显著降低,不易形成活性结构域。

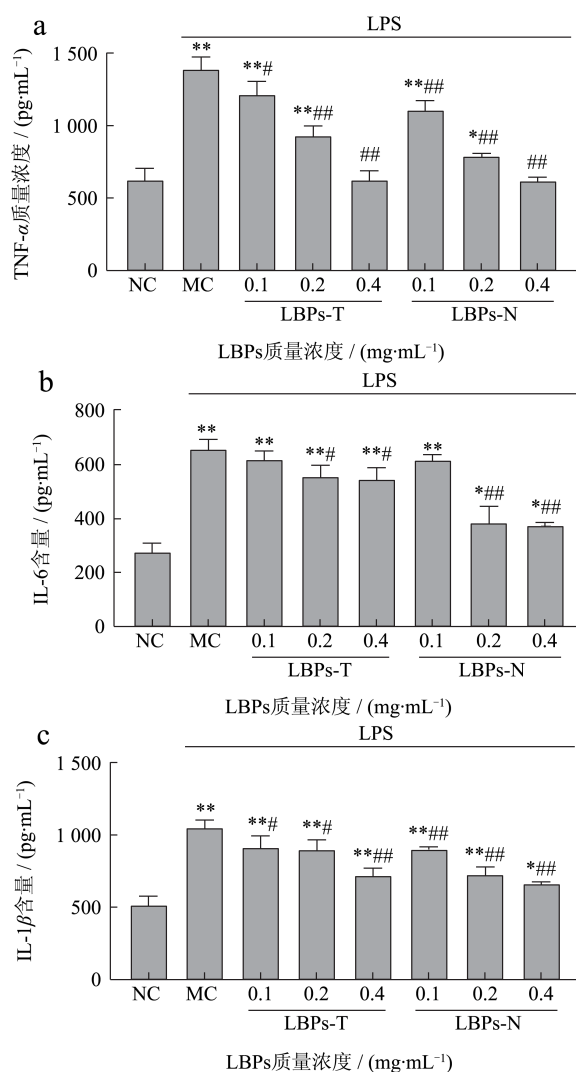


图7 LBP_s-N 和 LBP_s-T 对 LPS 诱导的 BV2 小胶质细胞炎症因子分泌的影响

Fig.7 Effect of LBP_s-N and LBP_s-T on LPS-induced inflammatory factor secretion in BV2 microglia

注: a: LBP_s-N 和 LBP_s-T 对 LPS 诱导的 BV2 小胶质细胞 TNF- α 分泌的影响; b: LBP_s-N 和 LBP_s-T 对 LPS 诱导的 BV2 小胶质细胞 IL-6 分泌的影响; c: LBP_s-N 和 LBP_s-T 对 LPS 诱导的 BV2 小胶质细胞 IL-1 β 分泌的影响; 其中与空白对照 (NC) 组相比, * 为 $P<0.05$, ** 为 $P<0.01$; 与模型 (MC) 组相比, # 为 $P<0.05$, ## 为 $P<0.01$ 。

3 结论

该研究构建了一种阴离子交换树脂耦联超滤膜过滤技术分离纯化 LBP 的新方法,通过该方法制备的 LBP-N 的得率是利用水提醇沉法制备的 LBP-T 的 2 倍。LBP-N 的多糖、蛋白质和糖醛酸含量分别为 75.35%, 4.42% 和 11.37%, 是主要由葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖组成的杂多糖,分子量分布为 $1.4 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^5$ Da, 具有三螺旋结构。体外抗神经炎症活性评价结果显示, LBP-N 对炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 分泌的抑制作用优于 LBP-T, 这主要归因于其单糖组成中葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖含量较高以及分子量较大。该研究将会为中药多糖在分离纯化和功能食品开发方面提供新途径,为枸杞多糖在神经退行性疾病干预方面的应用奠定基础。

参考文献

- [1] JELENA P D, Ž. K A, SENEM K, et al. Chemical composition, nutritional and health related properties of the medlar (*Mespilus germanica* L.): from medieval glory to underutilized fruit [J]. Phytochemistry Reviews, 2023, 22(6): 1663-1690.
- [2] 宋艳梅,张启立,崔治家,等.枸杞子化学成分和药理作用的研究进展及质量标志物的预测分析[J].华西药理学杂志,2022,37(2): 206-213.
- [3] LIU J F, LI Y C, PU Q S, et al. A polysaccharide from *Lycium barbarum* L.: Structure and protective effects against oxidative stress and high-glucose-induced apoptosis in ARPE-19 cells [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 201: 111-120.
- [4] ZHANG F, ZHANG X, GUO S, et al. An acidic heteropolysaccharide from *Lycii fructus*: Purification, characterization, neurotrophic and neuroprotective activities *in vitro* [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 249: 116894.
- [5] YANG Y, YU L, ZHU T Y, et al. Neuroprotective effects of *Lycium barbarum* polysaccharide on light-induced oxidative stress and mitochondrial damage via the Nrf2/HO-1 pathway in mouse hippocampal neurons [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 251: 126315.
- [6] WU J X, CHEN T, WAN F Q, et al. Structural characterization of a polysaccharide from *Lycium barbarum* and its neuroprotective effect against β -amyloid peptide neurotoxicity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 176: 352-363.
- [7] PO K K T, LEUNG J W H, CHAN J N M, et al. Protective effect of *Lycium Barbarum* polysaccharides on dextromethorphan-induced mood impairment and neurogenesis suppression [J]. Brain Research Bulletin, 2017, 134: 10-17.
- [8] YANG D, SO K F, LO A C. *Lycium barbarum* polysaccharide extracts preserve retinal function and attenuate inner retinal neuronal damage in a mouse model of transient retinal ischaemia [J]. Clinical & Experimental Ophthalmology, 2017, 45(7): 717-729.
- [9] YU M S, LEUNG S K Y, LAI S W, et al. Neuroprotective effects of anti-aging oriental medicine *Lycium barbarum* against β -amyloid peptide neurotoxicity [J]. Experimental Gerontology, 2005, 40(8): 716-727.
- [10] GAO K, LIU M Y, CAO J Y, et al. Protective effects of *Lycium barbarum* polysaccharide on 6-OHDA-induced apoptosis in PC12 cells through the ROS-NO pathway [J]. Molecules, 2015, 20(1): 293-308.
- [11] WANG K, XIAO J, PENG B, et al. Retinal structure and function preservation by polysaccharides of wolfberry in a mouse model of retinal degeneration [J]. Scientific Reports, 2014, 4: 7601.
- [12] ZHAO P, ZHOU R, ZHU X Y, et al. Neuroprotective effects of *Lycium barbarum* polysaccharide on focal cerebral ischemic injury in mice [J]. Neurochemical Research, 2017, 42(10): 2798-2813.
- [13] CAO S, DU J, HEI Q. *Lycium barbarum* polysaccharide protects against neurotoxicity via the Nrf2-HO-1 pathway [J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2017, 14(5): 4919-4927.
- [14] CHU P H, LI H Y, CHIN M P, et al. Effect of *lycium barbarum* (wolfberry) polysaccharides on preserving retinal function after partial optic nerve transection [J]. PloS One, 2013, 8(12): e81339.
- [15] LAKSHMANAN Y, WONG F S Y, ZUO B, et al. Posttreatment intervention with *Lycium barbarum* polysaccharides is neuroprotective in a rat model of chronic ocular hypertension [J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2019, 60(14): 4606-4618.
- [16] TENG P, LI Y, CHENG W, et al. Neuroprotective effects of *Lycium barbarum* polysaccharides in lipopolysaccharide-induced BV2 microglial cells [J]. Molecular Medicine Reports, 2013, 7(6): 1977-1981.
- [17] SHI Z, ZHU L, LI T, et al. Neuroprotective mechanisms of *Lycium barbarum* polysaccharides against ischemic insults by regulating NR2B and NR2A containing NMDA receptor signaling pathways [J]. Frontiers in Cellular Neuroscience, 2017, 11: 288.
- [18] YAO G L, HE W, WU Y G, et al. Structure and functional properties of protein from defatted *Camellia oleifera* seed cake: Effect of hydrogen peroxide decolorization [J]. International Journal of Food Properties, 2019, 22(1): 1283-1295.
- [19] ZHANG Y, CAMPBELL R, DRAKE M A, et al. Decolorization of Cheddar cheese whey by activated carbon [J]. Journal of Dairy Science, 2015, 98(5): 2982-2991.
- [20] LIU J F, PU Q S, QIU H D, et al. Polysaccharides isolated from *Lycium barbarum* L. by integrated tandem hybrid membrane technology exert antioxidant activities in mitochondria [J]. Industrial Crops and Products, 2021, 168: 113547.
- [21] PREMARATHNA A D, SOOÄÄR A, AHMED T A E, et al. Isolation, structural characterization and biological activities of polysaccharides from *Chondrus crispus* [J]. Food Hydrocolloids, 2024, 154: 110131.
- [22] CAO Y, KOU R B, HUANG X Y, et al. Separation of polysaccharides from *Lycium barbarum* L. by high-speed countercurrent chromatography with aqueous two-phase system [J]. International Journal of Biological Macromolecules,

- 2024, 256: 128282.
- [23] 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.
- [24] LIU J S, LEI Y X, GUO M Y, et al. Research progress on the hypoglycemic effects and mechanisms of action of momordica charantia polysaccharide [J]. Journal of Food Biochemistry, 2023, 2023(1): 8867155.
- [25] SHI Y Y, LIU T T, HAN Y, et al. An efficient method for decoloration of polysaccharides from the sprouts of *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem by anion exchange macroporous resins [J]. Food Chemistry, 2017, 217: 461-468.
- [26] BUTT H S, ULRIKSEN E S, RISE F, et al. Structural elucidation of novel pro-inflammatory polysaccharides from *Daphne mezereum* L [J]. Carbohydrate Polymers, 2024, 324: 121554.
- [27] ZHANG Q, ZHOU Y Y, YUE W T, et al. Nanostructures of protein-polysaccharide complexes or conjugates for encapsulation of bioactive compounds [J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 109: 169-196.
- [28] HOU C Y, CHEN L L, YANG L Z, et al. An insight into anti-inflammatory effects of natural polysaccharides [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 153: 248-255.
- [29] SHAO L J, SUN Y, LIANG J, et al. Decolorization affects the structural characteristics and antioxidant activity of polysaccharides from *Thesium chinense* Turcz: Comparison of activated carbon and hydrogen peroxide decolorization [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 155: 1084-1091.
- [30] KOU R B, ZUO G L, LIU J F, et al. Structural properties and hypoglycaemic activity of polysaccharides extracted from the fruits of *Lycium barbarum* L. using various extraction media [J]. Industrial Crops and Products, 2022, 188: 115725.
- [31] CHEN Z L, WANG C, MA H L, et al. Physicochemical and functional characteristics of polysaccharides from okra extracted by using ultrasound at different frequencies [J]. Food Chemistry, 2021, 361: 130138.
- [32] TANG Y Y, HE X M, LIU G M, et al. Effects of different extraction methods on the structural, antioxidant and hypoglycemic properties of red pitaya stem polysaccharide [J]. Food Chemistry, 2023, 405: 134804.
- [33] 田伟娜, 庄苗苗, 励建荣, 等. 基于酶解法的青萝卜多糖提取工艺优化及抗氧化活性分析[J]. 现代食品科技, 2025, 41(3): 1-13.
- [34] LEE S, KIM D C, BAEK H Y, et al. Anti-neuroinflammatory effects of tryptanthrin from *Polygonum tinctorium* Lour. in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells [J]. Archives of Pharmacal Research, 2018, 41(4): 419-430.
- [35] ZHANG L, DAWSON V L, DAWSON T M. Role of nitric oxide in Parkinson's disease [J]. Pharmacology & Therapeutics, 2006, 109(1): 33-41.
- [36] 杨冬梅, 杨晓君, 胡梦颖, 等. 黄诺玛昔通过抑制LPS诱导BV2细胞炎性活化保护HT22细胞的机制[J]. 食品工业科技, 2024, 45(22): 338-344.
- [37] 王玉银, 魏文悦, 郭敏芳, 等. 枸杞多糖通过抑制TLR4/NF- κ B信号通路促进LPS诱导的BV2小胶质细胞M2型极化[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2021, 37(12): 1066-1072.
- [38] GAO W, HUANG Y, HE R, et al. Synthesis and characterization of a new soluble soybean polysaccharide-iron(III) complex using ion exchange column [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 108: 1242-1247.
- [39] XU M J, YAN T X, FAN K Y, et al. Polysaccharide of Schisandra Chinensis *Fructus ameliorates* cognitive decline in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2019, 237: 354-365.
- [40] ZENG Z W, CHANG X, ZHANG D W, et al. Structural elucidation and anti-neuroinflammatory activity of *Polygala tenuifolia* polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 219: 1284-1296.
- [41] YU Q, QIU X, ZHONG J, et al. Structural identification and anti-neuroinflammatory effect of a heteropolysaccharide ATP50-3 from *Acorus tatarinowii* rhizome [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 266: 131254.
- [42] ZHANG S, LIU F B, LI J M, et al. A 4.7-kDa polysaccharide from *Panax ginseng* suppresses A β pathology via mitophagy activation in cross-species Alzheimer's disease models [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2023, 167: 115442.
- [43] JIAO H, SHANG X H, DONG Q, et al. Polysaccharide constituents of three types of sea urchin shells and their anti-inflammatory activities [J]. Marine Drugs, 2015, 13(9): 5882-5900.
- [44] CHEN C F, SU C H, LAI M N, et al. Differences in water soluble non-digestible polysaccharides and anti-inflammatory activities of fruiting bodies from two cultivated *Xylaria nigripes* strains [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 116: 728-734.
- [45] CHEN G M, JIANG N, ZHENG J P, et al. Structural characterization and anti-inflammatory activity of polysaccharides from *Astragalus membranaceus* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 241: 124386.