

乙酰化多糖的制备、鉴定及其降糖作用机制的研究进展

郭鹏, 陈萌, 王文照, 杨春娟, 周诗晴, 杜宜逊, 冯婷婷, 吴延丽*

(哈尔滨医科大学 药学院, 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要: 多糖的乙酰化修饰是多糖化学修饰的重要手段。目前国内外对多糖乙酰化及其降糖作用机制的研究缺少系统性总结, 不利于对多糖乙酰化及其降糖作用机制的深入研究。该文对乙酰化多糖的制备、鉴定及其降糖作用机制进行综述, 以期对日后改善多糖活性, 进一步开发天然多糖资源提供参考。

关键词: 多糖; 乙酰化; 制备; 鉴定; 降糖; 机制

Progress in Preparation, Identification, and Hypoglycemic Mechanism of Acetylated Polysaccharides

GUO Peng, CHEN Meng, WANG Wenzhao, YANG Chunjuan, ZHOU Shiqing,

DU Yixun, FENG Tingting, WU Yanli*

(College of Pharmacy, Harbin Medical University, Harbin 150081, Heilongjiang, China)

Abstract: Acetylation modification of polysaccharides is an important chemical modification means of polysaccharides. At present, the global studies of the acetylation of polysaccharides and the mechanisms of their hypoglycemic effects are missing a systematic summary, which is not conducive to the in-depth study of the acetylation of polysaccharides and the mechanisms of their hypoglycemic effects. Therefore, the preparation, identification, and hypoglycemic mechanism of acetylated polysaccharides were reviewed, with a view to improving the activities of polysaccharides in the future and providing a reference for further exploitation of natural polysaccharide resources.

Key words: polysaccharide; acetylation; preparation; identification; hypoglycemic; mechanism

引文格式:

郭鹏, 陈萌, 王文照, 等. 乙酰化多糖的制备、鉴定及其降糖作用机制的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(5): 211-216.

GUO Peng, CHEN Meng, WANG Wenzhao, et al. Progress in Preparation, Identification, and Hypoglycemic Mechanism of Acetylated Polysaccharides[J]. Food Research and Development, 2024, 45(5): 211-216.

近年来, 糖尿病作为全球性复杂代谢性疾病日益受到关注。其包括 I 型糖尿病、II 型糖尿病、特殊类型糖尿病及妊娠糖尿病, 尤以 II 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 发病最为普遍^[1-2]。生理表现为由糖代谢紊乱所致的高血糖, 常伴有动脉粥样硬化、心脑血管疾病等^[3]。临床上通常考虑对症治疗, 但易产生毒副作用, 如胰岛素注射会导致低血糖症及过敏反应等^[4-5]。多糖作为天然药物降糖活性成分的代表, 具

有来源广泛^[6]、生物相容性高^[7]、生物活性强^[8-11]、毒副作用小^[12]等特点, 成为当前医药领域研究的热点。

多糖及其衍生物的结构与活性有着非常密切的联系, 部分多糖本身活性较低甚至无活性, 或由于多糖的水溶性较差, 从而影响其活性的发挥。研究表明, 对多糖进行结构修饰, 可改善溶解性, 增强其原有活性, 甚至产生出新的活性, 且不易产生毒副作用^[13-14]。乙酰化修饰是多糖结构修饰的常用手段, 通过乙酰化修饰,

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81872979); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (81403072); 黑龙江省自然科学基金联合引导项目 (LH2020H022); 黑龙江省博士后科研启动金资助项目 (LBH-Q19150); 哈尔滨医科大学药学院优秀青年人才基金项目 (2019-YQ-11)

作者简介: 郭鹏 (1998—), 男 (汉), 在读硕士研究生, 研究方向: 天然药物多糖化学修饰及其抗糖脂代谢紊乱活性。

*通信作者: 吴延丽 (1977—), 女 (汉), 教授, 博士, 研究方向: 天然药物药效物质基础。

可使多糖分子的羟基得以暴露,有效提高多糖的溶解度,此外引入乙酰基的数量和位置对多糖的生物活性也有重要影响^[15]。目前,国内外对多糖的乙酰化修饰及其降糖机制综述仍不全面,本文对近几年国内外文献进行整理,并分析各种制备方法的优缺点,探讨潜在的降糖新机制,对多糖的乙酰化修饰及其降糖机制的研究展开综述,以期为其发展为降糖药物提供研究思路。

1 乙酰化多糖的制备

1.1 NaOH-乙酸酐法

该法以水为溶剂,通过 NaOH 控制反应体系的浓度,以保证活性羟基亲核取代反应的顺利进行。该方法为实验室制备乙酰化多糖的最常用方法,具有条件温和、试剂易得、所得多糖结构完整、不易破坏多糖分子的三螺旋结构等优点,可以较大幅度地保护多糖的完整结构,进而避免多糖本身的活性受到破坏。但是以该法为主要方法制备的乙酰化多糖取代度普遍较低,其原因可能是乙酸酐水解的副反应^[16]。Chen 等^[17]通过加入不同量的乙酸酐,控制反应体系 pH 值为 8.0~8.5,获得了 3 种不同取代度的乙酰化灵芝多糖。Liu 等^[18]同样采用 NaOH-乙酸酐法制备乙酰化青钱柳叶多糖,获得了取代度为 0.13 的目标产物,且并未表现出明显的细胞毒性。

1.2 吡啶-乙酸酐法

该法多以二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)代替水作为溶剂,加入适量的吡啶作为催化剂,不仅可以提高多糖的溶解程度,还可以避免乙酰化试剂的分解,加快反应体系中的乙酰化反应,有利于获得较高取代度的乙酰化多糖。Song 等^[19]在研究中发现,加入吡啶后,乙酰化南瓜多糖的取代度由 0.28 上升到 0.67,并在后续的抗氧化试验中表现出更强的活性。Du 等^[20]以纯化后的银耳多糖为原料,在 DMSO 反应体系中获得了取代度为 0.23 的乙酰化银耳多糖,乙酰化修饰前后的多糖分子量差异不大,表明乙酰化过程中并未发生多糖的降解。

1.3 甲酰胺-乙酸酐法

采用甲酰胺代替 DMSO 作为溶剂,可进一步提高多糖分子的溶解度,此法更大程度地暴露了多糖的羟基,可能会对多糖的结构产生较大影响,由该法制得的一些乙酰化多糖的活性不升反降。李顺峰等^[21]发现,甲酰胺体系制得的乙酰化香菇多糖在抗氧化试验中,表现出较 NaOH-乙酸酐法制备的乙酰化香菇多糖和未经修饰的多糖更低的活性。经过刚果红试验发现,甲酰胺体系中得到的乙酰化香菇多糖的三螺旋结构消失,可能是活性降低的关键。Hu 等^[22]同样采用甲酰胺-乙酸酐法制备乙酰化藤五加多糖,在抗氧化试验中发

现,两种乙酰化藤五加多糖活性均低于未修饰乙酰化多糖,但并未对活性降低的原因进行深入探究,猜测与强烈反应所致的多糖三螺旋结构破坏有关。

1.4 其他方法

由于乙酰化反应条件比较温和,可通过更换不同溶剂、不同乙酰化试剂及不同催化剂进行反应。Chan 等^[23]以四氢呋喃为溶剂,制备了乙酰化灰树花多糖肽,乙酰化后的多糖肽对体内肿瘤治疗辅助作用和体外细胞生长抑制作用更明显。曾辉等^[24]采用无水乙酸钠作为催化剂制备乙酰化魔芋多糖,通过控制单因素变量来确定较优的制备工艺:乙酸酐与魔芋多糖的摩尔比 15:1,反应温度 60~80 °C,反应时间 0.5~1.5 h,无水乙酸钠用量 0.4~0.8 g。

多糖乙酰化修饰的总体思路为以一定量的溶剂(有机溶剂、水等)将多糖溶解,随后加入乙酰化试剂,反应体系的 pH 值则是保证反应顺利进行的关键。选取适当的催化剂可以有效提高乙酰化程度,而乙酰化取代度决定了乙酰化多糖的物理、化学性质和生物活性,低取代度的乙酰化多糖表现出良好的溶解性,而高取代度的乙酰化多糖则赋予多糖更好的凝胶性^[25]。不同多糖有着不同的单糖组成及三维结构,故而乙酰化反应发生的难易程度和最佳反应条件必然有所不同。在乙酰化反应的过程中,需时刻关注多糖的降解程度及其结构是否遭到破坏。简而言之,多糖本身结构受到破坏后,对其各项生物活性都会产生负面影响,相反,空间结构保持较好的乙酰化多糖,其生物活性多数出现不同程度的增强。

2 乙酰化多糖的鉴定方法

2.1 傅里叶变换红外光谱法

红外光谱检测是多糖结构鉴定的常用手段^[26],经乙酰化修饰后,乙酰基作为被引入基团在红外光谱中会表现出强烈的特征吸收。通常,乙酰化多糖具有以下红外结构特征:3 400~3 300 cm⁻¹ 处的宽吸收峰由 O—H 单键的伸缩振动产生;3 000~2 800 cm⁻¹ 处的吸收峰则为 C—H 单键的伸缩振动,上述吸收峰是糖类化合物的特征吸收峰;1 735~1 725 cm⁻¹ 之间则会出现引入乙酰基所产生的 C=O 伸缩振动吸收峰,且在 1 250 cm⁻¹ 左右存在较弱的酯基 C—O 单键伸缩振动,在 1 735~1 725 cm⁻¹ 处的吸收峰随乙酰化取代度的增加而显著增强,则说明乙酰化取代的成功^[20]。Wang 等^[27]发现,乙酰化修饰的龙须菜多糖在 1 733 cm⁻¹ 附近出现了更加强烈的羰基吸收峰,表明乙酰化的成功。Yang 等^[14]对乙酰化羊肚菌多糖进行检测发现,经乙酰化修饰后,羊肚菌多糖在 1 738.65 cm⁻¹ 处出现新的 C=O 吸收峰,且在 1 248.93 cm⁻¹ 处的吸收峰显著增强,判断乙酰化修饰成功。

2.2 氢核磁共振和碳核磁共振

核磁共振同样是鉴定多糖结构的可靠方法与手段^[28],常通过下列信息确认乙酰化修饰:氢核磁共振(hydrogen nuclear magnetic resonance, ^1H -NMR)中会出现 δ 1.8~2.2 ppm 的甲基质子信号;碳核磁共振(carbon-13 nuclear magnetic resonance, ^{13}C -NMR)中则会在 δ 20~22 ppm 处出现乙酰基中甲基碳的信号,同时 δ 170~180 ppm 处也会出现乙酰基的羰基信号。Gu 等^[29]在 500 MHz 条件下,对乙酰化麦冬多糖进行核磁共振扫描,在 ^{13}C -NMR 结果中,174~176 ppm 处的羰基碳信号和 20~22 ppm 处的甲基碳信号表明乙酰化修饰的成功。Li 等^[30]对乙酰化青钱柳叶多糖进行检测,在氢核磁共振中出现 2.04 ppm 的化学位移,判断为乙酰基上甲基的质子信号,碳核磁共振中 175 ppm 处的化学位移信号归属为乙酰基上的羰基碳,21.5 ppm 处的化学位移信号归属为乙酰基上的甲基碳,由此判断乙酰化修饰成功。

2.3 高效凝胶渗透色谱法和高效液相色谱法

高效凝胶渗透色谱(high performance gel permeation chromatography, HPGPC)法和高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法在确定多糖结构中具有重要的作用^[31-32]。一方面,HPGPC 与 HPLC 可以配合示差折光检测器确定多糖的相对分子质量,较为直观地确定多糖在乙酰化过程中的降解程度。另一方面,多糖经过衍生化水解后,利用高效液相色谱测定衍生化多糖与标准品的保留时间、峰面积等参数,可以确定多糖的单糖组成^[30]。Gu 等^[29]利用 HPGPC 测定了乙酰化前后麦冬根半乳聚糖的相对分子质量,经修饰,麦冬根半乳聚糖的相对分子质量由 16.1 kDa 下降至 8 kDa,表明乙酰化过程中存在降解。Li 等^[33]以 0.05 mol/L 磷酸二氢钾-乙腈溶液为流动相,在 1.0 mL/min 的流速、检测温度为 30 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下,利用 HPLC 得到了乙酰化平菇菌丝体多糖的单糖组成。

2.4 扫描电子显微镜法

扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)是明确多糖微观结构特征的常用技术^[34],可以观察多糖的微观结构和分支状态,通过比较不同多糖颗粒之间在超微形貌上的差异,可以得到分子粒径、表面光滑程度、颗粒状态等重要信息。Nuerxiati 等^[35]利用 SEM 对虎耳草多糖及其衍生物进行观测,结果显示,经过不同化学方法修饰后的虎耳草多糖在微观结构上发生了相当程度的变化,由于引入了新的基团,多糖分子间距和孔径都有所增加。Xiao 等^[36]在观测瑞士乳杆菌胞外多糖及其衍生物的超微结构后发现,由于剧烈的反应条件和引入基团的不同,一些衍生化多糖产生了断裂、变形,表现为无定形的状态。

2.5 乙酰化取代度的确定

多糖的乙酰化取代度,多采用羟胺比色法确定,其原理为在强碱条件下,乙酰化后的多糖会游离出乙酰

基,与羟胺反应生成乙酰肟羧酸,再与 Fe^{3+} 生成可溶性红色络合物羟肟酸铁,即可利用吸光度测定取代度。Zhang 等^[37]采用该方法测定了缘管浒苔多糖和不同乙酰化衍生多糖的乙酰化取代度,结果显示,未修饰的多糖取代度为 0,经过不同程度修饰后,取代度逐渐增加,表明乙酰化修饰的成功。此外,酸碱滴定法同样可以计算多糖的乙酰化取代度,利用过量的强碱将乙酰化多糖碱解,以酚酞为指示剂,滴定碱解反应中过量的碱,即可得出乙酰化多糖的取代度。Sánchez-Rivera 等^[38]利用 KOH 碱解乙酰化玉米淀粉和香蕉淀粉,利用 HCl 进行滴定,确定了两种乙酰化多糖的取代度。

3 乙酰化多糖的降糖活性作用机制

3.1 抑制糖代谢相关酶的活性

膳食淀粉被 α -淀粉酶消化成麦芽糖、糊精和短链寡糖,随后可被 α -葡萄糖苷酶转化成葡萄糖,从而提高餐后血糖水平,这与一些代谢性疾病息息相关^[39-40]。因此,抑制 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶中的一种或两种可以有效调节糖代谢,从而使相关药物产生降糖活性。李顺峰等^[41]制备了乙酰化香菇柄多糖,对其检测后发现,乙酰化香菇柄多糖表现出更强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,且具有剂量依赖性。杜泽飞^[42]对滇黄精多糖进行乙酰化修饰,共获得 3 种不同取代度的乙酰化多糖,且 3 种多糖对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制活性均显著提升,表现出较好的体外降糖活性。此外,刘阿娟等^[43]也发现乙酰化修饰增强了虎奶菇菌核多糖的体外降糖活性,表明乙酰化修饰在多糖发挥降糖活性方面具有一定的研究价值。

3.2 维持胰岛 β 细胞功能正常

胰岛 β 细胞是维持机体糖代谢平衡的重要细胞,其功能退化和质量恶化是导致 II 型糖尿病的重要因素^[44-45]。研究表明,胰腺癌和慢性胰腺炎会通过阻碍胰岛 β 细胞的正常功能发挥,导致胰源性糖尿病和 II 型糖尿病^[46]。因此,预防和抵抗胰腺癌的发作,保护胰岛 β 细胞免受损害,是研究降糖活性的重要方向。Gu 等^[29]用乙酰化麦冬根半乳聚糖干预 BxPC-3 和 PANC-1 两种胰腺癌细胞,研究表明,乙酰化麦冬根多糖上调了癌细胞的 *p53*、*p21*、*FasL* 和 *Bax* 等相关细胞凋亡基因的表达,激活了 caspase-3 蛋白酶的活性,从而诱导胰腺癌细胞的凋亡。李银莉^[47]发现,经乙酰化马齿苋多糖处理 INS-1 细胞后,在一定浓度范围内,乙酰化马齿苋多糖有效促进了细胞增长,进一步刺激了 INS-1 细胞的合成和胰岛素的分泌,并提高了 PDX-1 和 GLUT-1 的蛋白表达量,展现出较好的胰岛 β 细胞保护能力以及良好的开发前景。

3.3 双向调控免疫活性

免疫是维持机体内稳态平衡的重要生理功能,巨噬细胞在其中发挥着重要的作用。活化后的巨噬细胞

可以直接吞噬病原体,并产生炎症细胞因子来进一步激活免疫反应,消灭入侵机体的病原体^[48-49]。但同时,过度活化的巨噬细胞会产生大量的炎症细胞因子,阻碍机体恢复健康,并诱发如糖尿病、高脂血症等慢性疾病^[50-51]。而部分乙酰化多糖可以双向调控免疫活性,不仅可以作为免疫调节剂增强免疫活性,还可以在免疫反应过强、导致炎症发生时发挥抑制作用。Yang等^[14]得到3种不同取代度的乙酰化羊肚菌多糖,一方面测定了乙酰化羊肚菌多糖对RAW264.7细胞的免疫增强效果,另一方面用脂多糖诱导RAW264.7细胞形成炎症模型,采用3种乙酰化多糖作为抗炎剂干预,结果表明,羊肚菌多糖和乙酰化羊肚菌多糖通过NF- κ B和p38/MAPK信号传导通路发挥明显的免疫调节作用,可促进RAW264.7巨噬细胞的细胞增殖、吞噬作用,增加NO的产生和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的分泌。与羊肚菌多糖相比,乙酰化羊肚菌多糖进一步增强了RAW264.7细胞的增殖活性和NO的产生。此外,在脂多糖诱导的炎症反应模型中,乙酰化羊肚菌多糖表现出更强的抑制作用。

3.4 改善机体氧化应激

氧化应激是机体内氧化与抗氧化的失衡态,会使得生物体的一些重要的大分子物质与活性氧发生反应,进而失去原有的生理活性,最终导致细胞损伤与凋亡^[52-53]。当代药理学表明,氧化应激是导致机体糖代谢异常、逐步发展成糖尿病的重要原因。一方面,胰岛 β 细胞自身会生成大量内源性活性氧,且自身抗氧化能力较差,易受氧化损伤,影响胰岛素的分泌^[54];另一方面,大量产生的活性氧会与炎症细胞因子一同促进肝脏和外周组织的胰岛素抵抗,致使糖耐量受损^[55]。近年来,抗氧化作为调节糖代谢紊乱的重要途径而备受关注,Ma等^[56]测定了乙酰化桦褐孔菌多糖的体外抗氧化活性,以铁还原力测定试验和大鼠肝脏脂质过氧化抑制实验的结果为指标,验证了乙酰化桦褐孔菌多糖具有更强的体外抗氧化活性。Zhang等^[57]在此基础上,以乙酰化龙须菜多糖为研究对象,测定了其还原力活性和总抗氧化活性,对比发现,乙酰化后的多糖对一些自由基有着很强的清除活力,有望日后进一步开发应用。

3.5 充当益生元,改善肠道菌群

随着对机体糖代谢的不断深入研究,肠道菌群改变而导致糖尿病的发生成为新的研究方向。目前认为,肥胖所致肠道菌群的改变,是引发胰岛素抵抗,并进一步发展为糖尿病的关键^[58-59]。研究表明,部分多糖具有益生元作用,可以刺激机体肠道内益生菌的繁殖、调节肠道微环境、维护肠道pH值稳定^[60]。肠道乳酸菌和双歧杆菌等益生菌的减少与葡萄糖耐量异常密切相关,这可能影响葡萄糖和能量的吸收,同时促进脂

肪的合成和储存,进而参与糖尿病的发生发展^[61]。Nuerxiti等^[35]对虎耳草多糖进行乙酰化修饰,并对保加利亚乳杆菌和青春双歧杆菌的增殖进行干预,结果发现,虎耳草多糖对其增殖不产生明显效果,而乙酰化虎耳草多糖可明显促进保加利亚乳杆菌和青春双歧杆菌的增殖,表明乙酰化虎耳草多糖具有充当益生元的潜力。

4 结语与展望

糖尿病发病率逐年上升,严重阻碍我国医药卫生事业的健康发展,寻找低毒高效的新药,深受广大科研工作者的关注。多糖作为备受瞩目的天然活性物质,经乙酰化修饰后,能够有效增强生物活性、改善其生物调节作用,在一定程度上降低副作用甚至产生新的活性。

目前,国内外学者对多糖的乙酰化修饰及其降糖活性机制已有一定研究,但仍存在一些问题亟待解决:1)乙酰化多糖的结构特征与其发挥降糖活性作用之间的内在联系并未得到明确阐释,包括三螺旋结构、多糖微粒表面光滑程度、黏度特性等因素对其发挥降糖作用的影响;2)多糖的乙酰化修饰过程由于反应进度、取代位点等因素的不可控,致使乙酰化修饰过程并不具有明确的规律性和普适性,不同多糖的降糖活性也并不完全相似。因此,仍需确定具有较好规律性的乙酰化修饰方法;3)乙酰化多糖的单糖组成、相对分子质量、修饰位点等一级结构的研究已有报道,但作为大分子物质,其高级结构的研究鲜见,有必要开展乙酰化多糖的分子结构、空间构型、构效关系等方面的研究;4)多糖乙酰化修饰的毒性考察较少,且多数为细胞毒性试验,并未针对其进行长期疗效和毒性观察,有必要开展和完善安全性和毒理学方面研究;5)乙酰化多糖的降糖作用机制尚不明确,具体的分子机制、信号通路等生化、基因水平的作用途径的机制仍需进一步深入研究。

综上,多糖的乙酰化修饰作为开发利用多糖的重要手段,能够提升多糖在食品和生物医药领域的价值,仍有待于深入研究。在未来的研究中,针对上述问题,确定多糖乙酰化修饰的定量反应、明确乙酰化多糖的构效关系和降糖作用机制、阐释乙酰化多糖的高级结构将成为研究多糖乙酰化修饰的主要研究方向,以期为更加高效准确应用乙酰化多糖、开发降糖药物提供参考。

参考文献:

- [1] AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus[J]. Diabetes Care, 2010, 33(Suppl 1): S62-S69.
- [2] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2020年版)[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2021, 41(5): 482-548. Diabetes branch of Chinese Medical Association. Guideline for the prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus in China (2020 edition)[J]. International Journal of Endocrinology and Metabolism, 2021, 41(5): 482-548.

- [3] VIJAN S. Type 2 diabetes[J]. Annals of Internal Medicine, 2015, 162(5): ITC1-ITC16.
- [4] GHAZAVI M K, JOHNSTON G A. Insulin allergy[J]. Clinics in Dermatology, 2011, 29(3): 300-305.
- [5] RYS P, WOJCIECHOWSKI P, ROGOZ-SITEK A, et al. Systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials comparing efficacy and safety outcomes of insulin glargine with NPH insulin, premixed insulin preparations or with insulin detemir in type 2 diabetes mellitus[J]. Acta Diabetologica, 2015, 52(4): 649-662.
- [6] YU Y, SHEN M Y, SONG Q Q, et al. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 183: 91-101.
- [7] PULUHULAWA L E, JONI I M, MOHAMMED A F A, et al. The use of megamolecular polysaccharide sacran in food and biomedical applications[J]. Molecules, 2021, 26(11): 3362.
- [8] CHEN F, HUANG S Y, HUANG G L. Preparation, activity, and antioxidant mechanism of rice bran polysaccharide[J]. Food & Function, 2021, 12(2): 834-839.
- [9] GAO B B, PENG Y, PENG C S, et al. A comparison of characterization and its actions on immunocompetent cells of polysaccharides from sijunzi decoction[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2019, 2019: 1-12.
- [10] LÓPEZ-LEGARDA X, ROSTRO-ALANIS M, PARRA-SALDIVAR R, et al. Submerged cultivation, characterization and *in vitro* antitumor activity of polysaccharides from *Schizophyllum radiatum*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 186: 919-932.
- [11] PAN Y Y, WAN X Z, ZENG F, et al. Regulatory effect of *Grifola frondosa* extract rich in polysaccharides and organic acids on glycolipid metabolism and gut microbiota in rats[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 155: 1030-1039.
- [12] FAN Y M, ZHOU X F, HUANG G L. Preparation, structure, and properties of tea polysaccharide[J]. Chemical Biology & Drug Design, 2022, 99(1): 75-82.
- [13] LIU X F, WANG X Q, XU X F, et al. Purification, antitumor and anti-inflammation activities of an alkali-soluble and carboxymethyl polysaccharide CMP33 from *Poria cocos*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 127: 39-47.
- [14] YANG Y X, CHEN J L, LEI L, et al. Acetylation of polysaccharide from *Morchella angusticeps* peck enhances its immune activation and anti-inflammatory activities in macrophage RAW_{264.7} cells[J]. Food and Chemical Toxicology, 2019, 125: 38-45.
- [15] LIU J Y, WANG H C, YIN Y, et al. Controlled acetylation of water-soluble glucomannan from *Bletilla striata*[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 89(1): 158-162.
- [16] GOLACHOWSKI A, ZIEBA T, KAPELKO-ŻEBERSKA M, et al. Current research addressing starch acetylation[J]. Food Chemistry, 2015, 176: 350-356.
- [17] CHEN Y, ZHANG H, WANG Y X, et al. Acetylation and carboxymethylation of the polysaccharide from *Ganoderma atrum* and their antioxidant and immunomodulating activities[J]. Food Chemistry, 2014, 156: 279-288.
- [18] LIU X, XIE J H, JIA S, et al. Immunomodulatory effects of an acetylated *Cyclocarya paliurus* polysaccharide on murine macrophages RAW_{264.7}[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 98: 576-581.
- [19] SONG Y, YANG Y, ZHANG Y Y, et al. Effect of acetylation on antioxidant and cytoprotective activity of polysaccharides isolated from pumpkin (*Cucurbita pepo*, lady Godiva)[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 98(1): 686-691.
- [20] DU X J, ZHANG J S, LV Z W, et al. Chemical modification of an acidic polysaccharide (TAPA1) from *Tremella aurantialba* and potential biological activities[J]. Food Chemistry, 2014, 143: 336-340.
- [21] 李顺峰, 许方方, 崔国梅, 等. 香菇柄多糖乙酰化修饰及其抗氧化活性[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(3): 130-134.
- LI Shunfeng, XU Fangfang, CUI Guomei, et al. Acetylation modification of *Lentinus edodes* stipe polysaccharide and its antioxidant activity[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(3): 130-134.
- [22] HU H B, LI H M, HAN M H, et al. Chemical modification and antioxidant activity of the polysaccharide from *Acanthopanax leucorrhizus*[J]. Carbohydrate Research, 2020, 487: 107890.
- [23] CHAN J Y Y, CHAN E, CHAN S W, et al. Enhancement of *in vitro* and *in vivo* anticancer activities of polysaccharide peptide from *Grifola frondosa* by chemical modifications[J]. Pharmaceutical Biology, 2011, 49(11): 1114-1120.
- [24] 曾辉, 钱和. 高取代度水溶性高分子魔芋葡甘聚糖醋酸酯制备工艺的研究[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(5): 49-52.
- ZENG Hui, QIAN He. Study of the preparation of water-soluble high molecular weight konjac glucomannan acetate with high acetylation degree[J]. Food Research and Development, 2006, 27(5): 49-52.
- [25] 初丽君, 熊柳, 孙庆杰. 低取代度乙酰化绿豆淀粉的性质[J]. 食品科学, 2011, 32(15): 130-134.
- CHU Lijun, XIONG Liu, SUN Qingjie. Properties of acetylated mung bean starch with low substitution degree[J]. Food Science, 2011, 32(15): 130-134.
- [26] HONG T, YIN J Y, NIE S P, et al. Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis: Progress, challenge and perspective[J]. Food Chemistry, 2021, 12: 100168.
- [27] WANG X M, ZHANG Z S, WU Y, et al. Synthesized sulfated and acetylated derivatives of polysaccharide extracted from *Gracilaria lemaneiformis* and their potential antioxidant and immunological activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 124: 568-572.
- [28] CHENG L Z, WANG Y F, HE X X, et al. Preparation, structural characterization and bioactivities of Se-containing polysaccharide: A review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120: 82-92.
- [29] GU D, HUANG L L, CHEN X, et al. Structural characterization of a galactan from *Ophiopogon japonicus* and anti-pancreatic cancer activity of its acetylated derivative[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 113: 907-915.
- [30] LI J E, YE X M, ZHAO Z T, et al. Structural characterization and antioxidant activity of an acetylated *Cyclocarya paliurus* polysaccharide (Ac-CPP_{0.1})[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 171: 112-122.
- [31] TRABELSI I, BEN SLIMA S, KTARI N, et al. Structure analysis and antioxidant activity of a novel polysaccharide from katan seeds[J]. BioMed Research International, 2021, 2021: 6349019.
- [32] ZHAO Y, FENG Y Y, JING X, et al. Structural characterization of an alkali-soluble polysaccharide from *Angelica sinensis* and its anti-tumor activity *in vivo*[J]. Chemistry & Biodiversity, 2021, 18(6): e2100089.
- [33] LI H, ZHAO H, GAO Z, et al. The antioxidant and anti-aging effects of acetylated mycelia polysaccharides from *Pleurotus djamor*[J]. Molecules, 2019, 24(15): 2698.
- [34] PRZYBYŁ K, KOSZELA K, ADAMSKI F, et al. Deep and machine learning using SEM, FTIR, and texture analysis to detect polysaccharide in raspberry powders[J]. Sensors, 2021, 21(17): 5823.
- [35] NUERXIATI R, MUTAILIPU P, ABUDUWAILI A, et al. Effects of

- different chemical modifications on the structure and biological activities of polysaccharides from *Orchis chusua* D. Don[J]. Journal of Food Science, 2021, 86(6): 2434-2444.
- [36] XIAO L Y, HAN S, ZHOU J Z, et al. Preparation, characterization and antioxidant activities of derivatives of exopolysaccharide from *Lactobacillus helveticus* MB2-1[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 145: 1008-1017.
- [37] ZHANG Z S, WANG X M, ZHAO M X, et al. O-acetylation of low-molecular-weight polysaccharide from *Enteromorpha linza* with antioxidant activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 69: 39-45.
- [38] SÁNCHEZ-RIVERA M M, ALMANZA-BENITEZ S, BELLO-PEREZ L A, et al. Acetylation of banana (*Musa paradisiaca* L.) and corn (*Zea mays* L.) starches using a microwave heating procedure and iodine as catalyst: II. Rheological and structural studies[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 92(2): 1256-1261.
- [39] SUN H A, WANG D, SONG X T, et al. Natural prenylchalconarigenins and prenylnaringenins as antidiabetic agents: α -glucosidase and α -amylase inhibition and *in vivo* antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(8): 1574-1581.
- [40] ZHENG Y X, TIAN J H, YANG W H, et al. Inhibition mechanism of ferulic acid against α -amylase and α -glucosidase[J]. Food Chemistry, 2020, 317: 126346.
- [41] 李顺峰, 许方方, 崔国梅, 等. 不同纯化程度香菇柄多糖的乙酰化修饰及降血糖活性[J]. 食品科学技术学报, 2022, 40(6): 127-133.
- LI Shunfeng, XU Fangfang, CUI Guomei, et al. Acetylation modification and hypoglycemic activity of *Lentinus edodes* stipe polysaccharide with different purification degrees[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022, 40(6): 127-133.
- [42] 杜泽飞. 黄精的化学成分、炮制与结构修饰研究及黄精属植物系统发育分析[D]. 大理: 大理大学, 2020.
- DU Zefei. Studies on the chemical constituents, processing and structural modification from the polygonati rhizoma and phylogenetic analysis in plants of *Polygonatum* species[D]. Dali: Dali University, 2020.
- [43] 刘阿娟, 张静, 张化朋, 等. 虎奶菇菌核多糖的化学修饰及活性研究[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2014, 42(1): 105-108.
- LIU Ajuan, ZHANG Jing, ZHANG Huapeng, et al. Chemical modification and activity of polysaccharides from *Pleurotus tuber-regium*[J]. Journal of Shaanxi Normal University (Natural Science Edition), 2014, 42(1): 105-108.
- [44] INBERG A, LINIAL M. Protection of pancreatic beta-cells from various stress conditions is mediated by DJ-1[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(33): 25686-25698.
- [45] EIZIRIK D L, PASQUALI L, CNOP M. Pancreatic β -cells in type 1 and type 2 diabetes mellitus: Different pathways to failure[J]. Nature Reviews Endocrinology, 2020, 16(7): 349-362.
- [46] HART P A, BELLIN M D, ANDERSEN D K, et al. Type 3c (pancreatogenic) diabetes mellitus secondary to chronic pancreatitis and pancreatic cancer[J]. The Lancet Gastroenterology & Hepatology, 2016, 1(3): 226-237.
- [47] 李银莉. 马齿苋多糖的乙酰化修饰及其对胰岛 β 细胞活性影响的研究[D]. 南昌: 江西科技师范大学, 2021.
- LI Yinli. Study on the acetylation modification and effects of INS-1 cell activity of polysaccharide from natural *Portulaca oleracea* L.[D]. Nanchang: Jiangxi Normal University of Science and Technology, 2021.
- [48] MA X L, MENG M, HAN L R, et al. Structural characterization and immunomodulatory activity of *Grifola frondosa* polysaccharide via toll-like receptor 4-mitogen-activated protein kinases-nuclear factor κ B pathways[J]. Food & Function, 2016, 7(6): 2763-2772.
- [49] TIAN H, LIU Z J, PU Y W, et al. Immunomodulatory effects exerted by *Poria Cocos* polysaccharides via TLR4/TRAF6/NF- κ B signaling *in vitro* and *in vivo*[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019, 112: 108709.
- [50] FLOREZ N, GONZALEZ-MUNOZ M, RIBEIRO D, et al. Algae polysaccharides' chemical characterization and their role in the inflammatory process[J]. Current Medicinal Chemistry, 2017, 24(2): 149-175.
- [51] OLEFSKY J M, GLASS C K. Macrophages, inflammation, and insulin resistance[J]. Annual Review of Physiology, 2010, 72: 219-246.
- [52] LI B H, SUN C L, LIN X Y, et al. The emerging role of GSNOR in oxidative stress regulation[J]. Trends in Plant Science, 2021, 26(2): 156-168.
- [53] ZHENG Y Z, FU Z M, DENG G, et al. Free radical scavenging potency of ellagic acid and its derivatives in multiple $H^{\bullet}/e^{-}$ processes[J]. Phytochemistry, 2020, 180: 112517.
- [54] GURGUL-CONVEY E, MEHMETI I, PLÖTZ T, et al. Sensitivity profile of the human EndoC- β H1 beta cell line to proinflammatory cytokines[J]. Diabetologia, 2016, 59(10): 2125-2133.
- [55] RANI V, DEEP G, SINGH R K, et al. Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies[J]. Life Sciences, 2016, 148: 183-193.
- [56] MA L S, CHEN H X, ZHANG Y, et al. Chemical modification and antioxidant activities of polysaccharide from mushroom *Inonotus obliquus*[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 89(2): 371-378.
- [57] ZHANG Z S, WANG X M, YU S C, et al. Synthesized oversulfated and acetylated derivatives of polysaccharide extracted from *Enteromorpha linza* and their potential antioxidant activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2011, 49(5): 1012-1015.
- [58] QIN J J, LI Y R, CAI Z M, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes[J]. Nature, 2012, 490(7418): 55-60.
- [59] KHAN S, LUCK H, WINER S, et al. Emerging concepts in intestinal immune control of obesity-related metabolic disease[J]. Nature Communications, 2021, 12: 2598.
- [60] ZHU W, ZHOU S X, LIU J H, et al. Prebiotic, immuno-stimulating and gut microbiota-modulating effects of *Lycium barbarum* polysaccharide[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 121: 109591.
- [61] LARSEN N, VOGENSEN F K, VAN DEN BERG F W J, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults[J]. PLoS One, 2010, 5(2): e9085.