

杨艺, 赵媛, 孙纪录, 等. 化学修饰多糖的方法及生物活性研究进展 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(11): 468–479. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070383

YANG Yi, ZHAO Yuan, SUN Jilu, et al. Research Progress on Chemical Modification Methods of Polysaccharides and Their Biological Activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(11): 468–479. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070383

· 专题综述 ·

化学修饰多糖的方法及生物活性研究进展

杨 艺¹, 赵 媛², 孙纪录³, 邵娟娟^{1,*}

(1. 河北农业大学理工学院, 河北沧州 061000;

2. 江南大学化工学院, 江苏无锡 214122;

3. 河北农业大学食品科技学院, 河北保定 071000)

摘 要: 多糖属于生物大分子, 其生物活性取决于结构及理化性质。研究表明, 多糖的化学修饰可以使其结构多样性显著增加, 提高生物活性, 甚至增加新的生物活性。本文系统综述了近年来化学修饰多糖的研究进展, 包括常用的化学修饰方法、各类化学修饰对多糖分子量、理化特性或空间结构的影响、化学修饰多糖的生物活性以及化学修饰多糖在医药和食品工业中的应用前景及挑战, 以期对化学修饰多糖的深入研究提供参考建议, 同时为未来基于人类健康的食品医药开发提供重要的依据。

关键词: 多糖, 化学修饰, 生物活性, 结构, 理化性质

中图分类号: O629.12

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)11-0468-12

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022070383



本文网刊:

Research Progress on Chemical Modification Methods of Polysaccharides and Their Biological Activity

YANG Yi¹, ZHAO Yuan², SUN Jilu³, SHAO Juanjuan^{1,*}

(1. College of Science and Technology, Hebei Agricultural University, Cangzhou 061000, China;

2. School of Chemical and Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

3. College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China)

Abstract: Polysaccharides are biological macromolecules and their biological activities depend on their structure and physicochemical properties. Studies have shown that chemical modification of polysaccharides can significantly increase their structural diversity, improve their biological activities, and even add new biological activities. This article reviews systematically the research progress of chemical modification of polysaccharides in recent years, including frequently-used methods of chemical modification, the influence of various chemical modification on molecular weight of polysaccharides, physical and chemical properties and spatial structure, the biological activity of chemically modified polysaccharides as well as their pharmaceutical and food industrial application prospect and challenges. It is expected to offer a reference for the further research chemically modified polysaccharides and provide an important basis for the future development of food and medicine based on human health.

Key words: polysaccharide; chemical modification; biological activity; structure; physicochemical property

近年来, 多糖在食品、医药等领域的发展一直是人们关注的热点。在自然界中, 多糖来源广泛且具有

多种生物活性, 是理想的免疫增强剂, 可以有效改善免疫系统的功能, 对正常细胞没有毒性或副作用^[1]。

收稿日期: 2022-08-03

基金项目: 河北省重点研发计划项目 (21327107D); 河北省现代农业产业技术体系淡水养殖创新团队建设项目 (HBCT2018180206); 河北农业大学 2022 年大学生创新创业训练项目《硒化泥鳅多糖的制备技术研究》(2022003); 河北农业大学 2023 年大学生创新创业训练项目《多糖化学修饰方法及生物活性的研究》(2023104)。

作者简介: 杨艺 (2002-), 女, 大学本科, 研究方向: 食品加工, E-mail: 1285197141@qq.com。

*** 通信作者:** 邵娟娟 (1984-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 食品加工, E-mail: 386953141@qq.com。

多糖可以用于抗肿瘤、抗病毒、抗衰老的药物研究,是新药的重要发展方向^[2]。由于多糖无毒、成本低、易于获取且可生物降解,因此很适合作为研发生物医药的天然原料,可以制备结构稳定、生物相容的中性多糖纳米纤维,也可作为药物运输的有效载体^[3]。

多糖的应用取决于多糖的来源和结构。多糖的结构可以通过修饰技术进行选择修正。物理、化学和生物修饰常用于增强多糖的功能活性。以往的研究表明,化学修饰对于提高其结构和功能性质效果较显著^[4]。羧甲基化、硫酸化、磷酸化和硒化等化学修饰方法是多糖安全改良的有效途径。在化学修饰模式下,某些官能团能够在特定条件下被替换或引入多糖,化学修饰多糖的生物活性与取代度(Degree of Substitution, DS)密切相关^[5]。本文对近年来多糖化学修饰的研究进展进行了归纳总结,包括常用的化学修饰方法,化学修饰对多糖分子量、理化特性或空间结构的影响以及化学修饰多糖的生物活性,综述了化学修饰多糖在医药和食品中的应用前景及挑战。

1 多糖的化学修饰

为了改善多糖的结构组成、分子量、连接模式和离子性质,通常需要对多糖进行修饰。某些官能团的引入改变了多糖的分子量、结构、取代基类型、取代基的位置和数量。通过改变这些参数,多糖的理化性质和功能性质也会随之改变^[6]。

1.1 硫酸化修饰

向多糖的聚合链中加入硫酸基,称为硫酸化修饰,如图 1 所示。硫酸化可以通过将已知量的多糖溶解在溶剂中,然后在控制条件下用特定的试剂处理,用硫酸基取代羟基,从而可以通过硫酸化试剂与糖单位的摩尔比来控制硫酸化的程度^[7]。这些基团通常附着在多糖 C-1、2、3、4 和 6 处羟基的位置^[8]。氯磺酸-吡啶法、浓硫酸法和三氧化硫-吡啶法均可实现多糖的硫酸化。

1.1.1 氯磺酸-吡啶法 多糖的硫酸化最常用的方法是氯磺酸-吡啶法。在冷却条件下将氯磺酸滴入吡啶中反应获得氯磺酸-吡啶试剂,然后与 N,N-二甲基甲酰胺溶液中的多糖进行取代反应生成硫酸化多糖^[10]。Yu 等^[11]成功制备了两种硫酸化青钱柳多糖(SCP3 和 SCP5),SCP3(DS 为 0.45)和 SCP5(DS 为 0.14)的分子量均高于青钱柳多糖,且多糖的单糖类型和主链结构没有改变。硫酸化青钱柳多糖的碳水化合物和

蛋白质含量均明显低于天然多糖,这可能与硫酸基团比例增加有关^[12]。该方法提供了较好的产率和取代基程度^[13],而氯磺酸毒性较高、反应时间长和操作复杂是该方法的缺点。

1.1.2 浓硫酸法 将浓硫酸与正丁醇混合,加入硫酸铵溶液,然后逐滴加入多糖溶液反应,将产物调至中性,并用无水乙醇沉淀获得硫酸化多糖^[14]。Jiang 等^[15]以龙眼水溶性多糖(LP1)为原料,采用浓硫酸法制备了 LP1-S 硫酸化多糖,其取代度为 2.011,产物的纯度较高,但硫酸化后多糖的分子量有所下降,这与浓硫酸易使多糖降解有关。这种方法成本低、易于使用,但由于浓硫酸容易使多糖降解和炭化,使得硫酸化多糖产率较低,因此该方法使用较少,仍需进一步优化。

1.1.3 三氧化硫-吡啶法 多糖溶解在 N,N-二甲基甲酰胺溶液中并与三氧化硫-吡啶试剂反应,将混合物调至中性,无水乙醇沉淀、纯化^[16]。硫酸化条斑紫菜多糖的 DS 与硫酸化时间呈正相关,三氧化硫-吡啶法硫酸化多糖的反应条件温和,不会对多糖分子链造成严重损伤,即硫酸化后多糖的分子量略有降低^[17],这种下降的原因可能与硫酸化过程中多糖的降解有关。三氧化硫-吡啶法操作简便,反应条件稳定,毒性小。但试剂价格昂贵,只适用于实验室小规模应用。

1.2 羧甲基化修饰

羧甲基化是使用最广泛的多糖化学修饰方法之一,其具有简单、无毒和低成本的优势。羧甲基化反应是以威廉逊反应(Williamson Reaction)为基础的,其中 1°或 2°醇基的多糖可以与羧甲基醚化^[18]。羧甲基化的原理是将多糖的-OH 去质子化,然后在碱性溶液中形成烷氧基,从而提高其亲核性。通过 SN₂ 反应在氯乙酸和多糖烷氧基之间引入 -CH₂COONa^[19]。具体反应方程式如图 2 所示。溶媒法和水媒法是获得具有高生物活性羧甲基化多糖的两种行之有效的方法。

1.2.1 溶媒法 长期以来,多糖羧甲基化主要采用溶媒法。将多糖溶解于有机溶剂中并将溶液调至碱性,用氯乙酸处理混合物,经过透析、浓缩和冻干,得到羧甲基化多糖^[20]。赵迪^[21]采用溶媒法制备了羧甲基化黑木耳多糖,羧甲基化修饰后黑木耳多糖的溶解度提高了 71%,但羧甲基化修饰过程会导致多糖的三股螺旋结构改变,进而多糖的分子量有所减少。羧甲

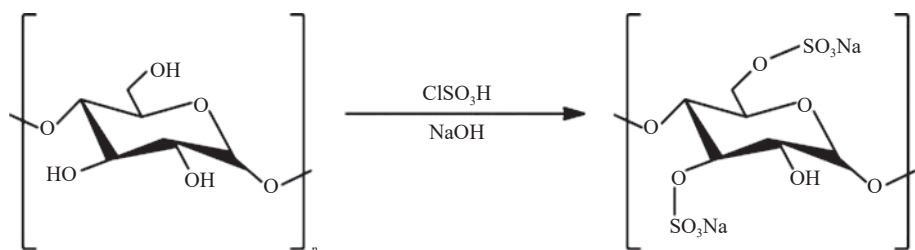
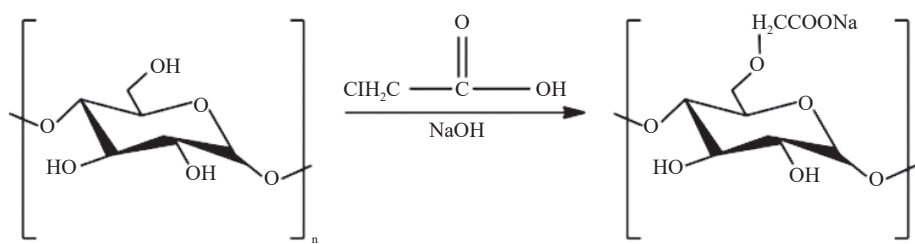


图 1 多糖的硫酸化修饰反应^[9]

Fig.1 Sulfation modification of polysaccharides^[9]

图2 多糖的羧甲基化修饰反应^[9]Fig.2 Carboxymethylation modification of polysaccharides^[9]

基的引入还可以提高龙眼肉多糖对羟自由基的清除能力,这可能与修饰后的多糖的结构变化以及羟基基团的含量有关^[22]。羧甲基化多糖的生物活性与DS密切相关,在溶媒法的反应过程中,DS受氯乙酸浓度的影响最大。该方法传热速度快且稳定,醚化效率高^[23]。缺点是材料消耗高,有机试剂分离和回收困难。

1.2.2 水媒法 水媒法的操作步骤与溶媒法相似。水媒法与溶媒法的不同之处在于多糖不是溶解在有机溶剂中,而是直接在稀碱溶液中反应一段时间^[24]。羧甲基化青钱柳多糖与未经修饰前的多糖相比,糖类和蛋白质含量降低,DS值最高的羧甲基化青钱柳多糖含有更多的糖醛酸^[25]。与溶媒法相比,水媒法具有设备简单、投资少、成本低等优点。但由于试剂利用率低、副产物多、后处理困难等原因,制约了该方法的应用。

1.3 硒化修饰

硒化是一种多糖修饰方法,其原理是硒被引入多糖的聚合物链中,多糖含有多种基团,如游离羟基、醛基、羰基等,这些基团可与无机硒结合。图3中的反应方程式表明,硒通过取代H、O原子与多糖分子相连而形成硒多糖^[26]。大量研究证实相对无机硒、多糖或无机硒和多糖的混合物,硒多糖具有更好的抗氧化、抗肿瘤、免疫调节、降血糖和重金属清除能力。而且,相对传统的硒补充,硒多糖毒性更低、生物可用度更高^[27]。多糖的硒化可以通过冰醋酸-亚硒酸钠法、冰醋酸-亚硒酸法、硝酸钠-亚硒酸钠法和氯氧化硒法来实现。

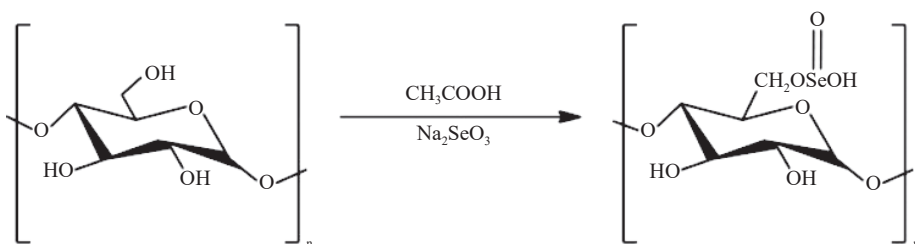
1.3.1 冰醋酸-亚硒酸钠法 冰醋酸-亚硒酸钠方法是在室温搅拌条件下使多糖在冰醋酸中完全溶解,加入一定量的亚硒酸钠并在加热条件下进行反应,结束后冷却反应混合物并进行沉淀,纯化。亚硒酸基团主要引入多糖的C-6位。该方法试剂易得,制备工

艺简单,但产物的硒含量最低,硒产率在0.24~0.03%之间^[28]。由于其产率极低,因此该方法使用较少。

1.3.2 冰醋酸-亚硒酸法 恒温搅拌条件下将多糖完全溶解于冰醋酸中,加入氯化钡与该混合物进行反应,一段时间后加入硝酸继续反应,结束后滴加稀硫酸,中和、沉淀、离心、透析、冷冻干燥。采用冰醋酸-亚硒酸法可以得到高纯度、高取代基含量的硒化多糖^[29]。该方法的机制为硒以硒酯的形式取代多糖C-6位的羟基。冰醋酸-亚硒酸法需要的试剂较多,成本较高,制备工艺较为复杂,硒产率在0.73~0.20%之间^[28]。冰醋酸-亚硒酸法和冰醋酸-亚硒酸钠法的共性缺点为硒多糖产率较低,这严重制约其在硒多糖制备中的使用。

1.3.3 硝酸-亚硒酸钠法 硝酸-亚硒酸钠法是生产硒化多糖最常用的方法之一。多糖溶解于硝酸溶液,加入亚硒酸钠进行反应。结束后,产物冷却至室温,然后用碳酸钠中和,沉淀、离心、纯化。采用硝酸-亚硒酸钠法对香菇多糖进行硒化修饰,红外光谱分析表明,硒主要以O-Se-O、Se=O和Se-O-C的形式存在。SEM-EDX分析显示,经过硒化修饰后,香菇多糖的表面结构和主要元素成分发生了显著变化^[30]。硒化慈姑多糖(Se-PSSP)总糖含量高于PSSP。这种现象是由于硒化过程可以促进分子的聚集。Se-PSSP中糖醛酸的含量高于PSSP,Se-PSSP的分子量低于PSSP,这可能与酸性条件下多糖分子的降解有关。此外,硒化可能破坏分子内和分子间的氢键,从而破坏多糖中三螺旋结构的稳定性^[31]。由于硝酸的危险性较高,毒性较大,因此该修饰工艺具有很大提升空间。

1.3.4 氯氧化硒法 将多糖溶解在吡啶溶液中,加热条件下与氯氧化硒试剂反应,结束后,将产物冷却至室温,沉淀、纯化。溶解度较低的多糖可以用氯氧化

图3 多糖的硒化修饰反应^[9]Fig.3 Selenium modification of polysaccharides^[9]

硒法进行硒化修饰。采用氯化硒试剂与微波辐射相结合的方法可以有效地制备出高硒含量的圆头蒿多糖(SeASP)。硒化后, SeASP 的最大硒含量达到 22400 $\mu\text{g/g}$, 硒基在 C6 位以亚硒酸盐形式被取代, 氯化硒法修饰能有效地防止多糖链的降解^[32]。该方法适用于溶解度不高的多糖, 其缺点是成本高, 合成条件苛刻, 制备过程中易产生有毒气体。

1.4 磷酸化修饰

天然存在的磷酸化多糖是有限的, 因此, 在过去的几年中, 磷酸化修饰已成为多糖结构修饰的重要途径。磷酸化修饰的原理是引入磷酸基团以取代多糖聚合链中存在的羟基, 反应式如图 4 所示。磷酸化修饰是改变多糖性质和生物活性的有效途径。目前常用的磷酸化修饰方法有三氯氧磷(POCl_3)法、磷酸及其酸酐法、磷酸盐法、五氧化二磷(P_2O_5)法。

1.4.1 三氯氧磷法 在室温搅拌条件下将多糖加入到 N, N-二甲基甲酰胺溶液中, 将 POCl_3 /吡啶加入到混合溶液中进行反应, 结束后产物进行冷却、离心、乙醇沉淀、透析、冻干操作^[33]。Wang 等^[34]采用三氯氧磷法制得磷酸化取代度(DS)为 0.34~0.5 的圆头蒿多糖(PASP)。其平均分子质量随温度的增加而增加。高温促进了三氯氧磷与一级和二级羟基的反应, 有利于磷酸二酯交联多糖链。试剂、反应时间和反应环境对 DS 均有影响, 因此可以通过优化上述因素来提高磷酸化修饰的取代程度及磷酸化多糖产率。

1.4.2 磷酸及其酸酐法 将多糖和磷酸铵一定比例混合加入含有尿素的溶液中进行反应。将反应混合物冷却, 溶解于 NaOH 水溶液中, 用甲醇沉淀, 然后干燥^[35]。Wang 等^[36]制备了磷酸化壳聚糖, 在 H_3PO_4 /尿素的反应路线中, 氨基取代了羟基。在尿素作为反

应促进剂的条件下, 磷酸根与壳聚糖之间的主要反应途径是化学取代而不是离子结合。但由于尿素对缩合反应的催化活性较差, 导致磷酸化壳聚糖取代度较低。

1.4.3 磷酸盐法 磷酸盐法已广泛应用于多糖的磷酸化。三偏磷酸钠(STMP)和三聚磷酸钠(STPP)按比例溶于水中制备磷酸化试剂, 将硫酸钠和多糖加入试剂中, 并用碳酸氢钠调至中性, 加入乙醇沉淀, 透析和冷冻干燥, 得到磷酸化多糖^[37]。桦褐孔菌多糖磷酸化修饰的影响因素与 STPP 与 STMP 质量比、反应温度、反应时间、pH 有关, 修饰后的桦褐孔菌多糖溶液中磷酸根含量为 9.58%, 适当提高三聚磷酸钠含量占比和反应温度有利于促进磷酸化修饰多糖的反应^[38]。反应试剂配比、反应温度、反应时间、pH 对 DS 的影响较大, 磷酸化试剂的浓度控制 DS 值并为多糖提供磷酸化基团。

1.4.4 五氧化二磷法 近年来, 五氧化二磷多糖结构修饰的方法已经被广泛使用。该方法可用于制备磷酸化壳聚糖(PCS)^[39]。在冰水浴及惰性气体 N_2 条件下, 将多糖和五氧化二磷溶解于甲基磺酸(MSA)溶液中反应得到 PCS。产物用丙酮、甲醇和乙醚洗涤, 干燥。淀粉和羟丙基淀粉被五氧化二磷磷酸化后可以装载到药物输送系统中, 以优化粘液扩散特性, 提高药物的生物利用度^[40]。由于其强酸性环境和多糖易严重降解, 这种方法的应用受到限制。

1.5 乙酰化修饰

其原理为多糖中的羟基在乙酰化反应中通过酯化转化为乙酰基, 反应式如图 5 所示。乙酰基可以使多糖分支伸展, 改变多糖链的空间排列, 进一步导致多糖羟基的暴露。因此, 乙酰化修饰可以改变多糖

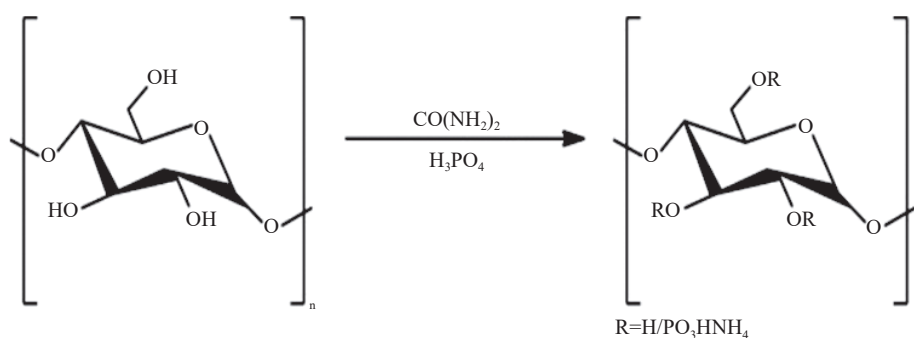


图 4 多糖的磷酸化修饰反应^[9]

Fig.4 Phosphorylation modification of polysaccharides^[9]

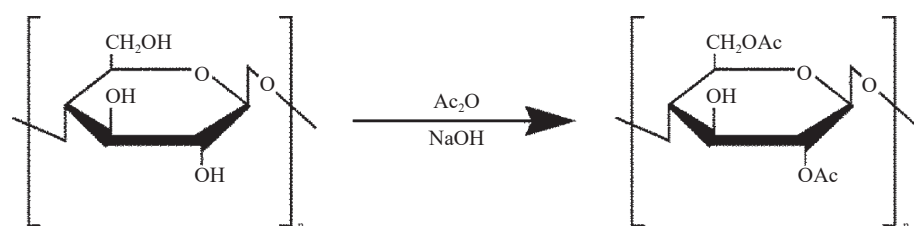


图 5 多糖的乙酰化修饰反应^[43]

Fig.5 Acetylation modification of polysaccharides^[43]

的水溶性和疏水性^[6]。常用的方法为乙酸酐-吡啶法。将多糖和乙酸酐混合在甲酰胺溶液中,加入吡啶作为催化剂进行反应。Ye等^[41]以青钱柳属多糖为原料,采用乙酸酐法制备 Ac-CPP0.1。结果表明,乙酰基的引入可以改变 CPP0.1 的化学成分。一些半乳糖残基的 O-2 和 O-6 位置被乙酰基取代。Ai等^[42]对脱色甜菜多糖 ASP2 进行了乙酰化处理,与 ASP2 相比,ASP2 的乙酰化修饰显著提高了多糖的乳化活性,此外,在乙酰化修饰过程中,多糖分子量有所增加。

1.6 其他化学修饰方法

多糖的修饰也可以通过使用其他一些方法进行,如甲基化、碘化、磺酰化、去乙酰化、去硫酸化。这些方法尚未得到广泛应用,但增加了与多糖的物理、化学和药理学性质相关的有意义的贡献。未来也需要开发一些新方法修饰多糖,以改善结构和功能性能。常见的多糖化学修饰方法如表 1 所示。

表 1 多糖的化学修饰方法

Table 1 Chemical modification methods of polysaccharides

化学修饰方式	化学修饰方法
硫酸化修饰	氯磺酸-吡啶法,硫酸法和三氧化硫-吡啶法
羧甲基化修饰	溶媒法和水媒法
乙酰化修饰	乙酸酐法、吡啶-乙酸酐法、DMF-乙酸酐法
硒化修饰	冰醋酸-亚硒酸钠法、冰醋酸-硒酸法、硝酸-亚硒酸盐法、氯化硒法
磷酸化修饰	三氯氧磷法、磷酸盐法、磷酸及其酸酐法、五氧化二磷法
去硫酸化修饰	碱水解、酸水解、甲醇解
去乙酰化修饰	乙酸酐法、吡啶-乙酸酐法、DMF-乙酸酐法
与金属离子络合	配位离子与适宜浓度多糖溶液(NaOH调节pH)络合
烷基化修饰	引入烷基、取代烷基修饰、使用烷化剂
磺酰化修饰	磺酰基团与多糖中羟基反应
苯甲酰化修饰	苯甲酰化试剂与多糖中羟基发生酯化反应

2 化学修饰对多糖生物活性影响

本文统计了中国知网数据库 2013~2022 年期间化学修饰多糖生物活性的中文论文发表数量,统计结果如图 6 所示。近十年化学修饰对多糖生物活性影响的研究主要围绕抗氧化、抗肿瘤、免疫调节、抗病毒、抗菌、抗凝血、保肝、降血糖血脂、抗重金属九个

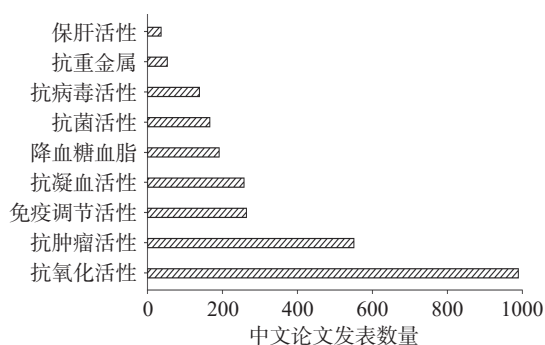


图 6 2013~2022 年化学修饰多糖生物活性中文论文发表数量

Fig.6 Number of Chinese papers on bioactivity of chemically modified polysaccharides published in 2013~2022

方面,其中关于抗氧化、抗肿瘤方面的论文发表数量较多。此外,本文统计 web of science 和中国知网两个数据库从 2013~2022 年期间多糖化学修饰的国内外论文发表数量,统计结果如图 7 所示。由结果分析可以得出的信息:a.总体来看,关于多糖化学修饰的论文发表数量,国外多于国内。国内外针对多糖化学修饰的研究报道主要集中于硫酸化多糖。b.国内外关于磷酸化多糖、羧甲基化多糖、硒多糖、乙酰化多糖的研究报道均较少。c.国外关于多糖化学修饰的论文发表数量随年份呈上升趋势。而国内关于多糖化学修饰的论文发表数量呈下降趋势,这与近年来国家对于论文审核要求不断严格化,注重论文的高质量以及我国各级政府及高校对专利的资助、奖励政策有关。多糖化学修饰领域还需进一步深入研究。

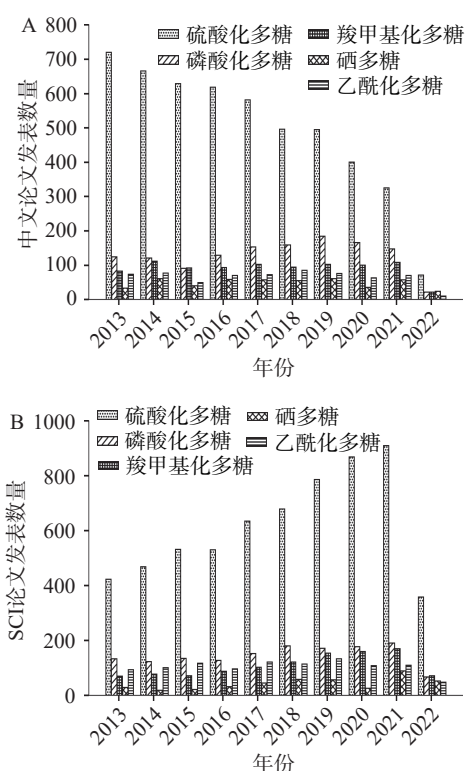


图 7 2013~2022 年多糖化学修饰国内外论文发表数量
Fig.7 Number of papers published on chemical modification of polysaccharides at home and abroad in 2013~2022

2.1 抗凝血活性

凝血是生理性止血的重要组成部分,抗凝血剂可预防血栓形成及维持脑血栓、肺栓塞及中风病人的健康。因此,抗凝血活性获得人们越来越多的关注。硫酸化多糖对正常细胞没有毒性作用,可以作为抗凝血药物使用^[8]。Reis 等^[44]从绿藻石莼中分离出来的硫酸化多糖具有抗凝作用,其中硫酸化多糖 F50U1 能够抑制所有凝血途径。Francisco 等^[45]从红藻中分离出硫酸化多糖表现出抗凝血、抗血小板及抗血栓作用。抗凝血活性测定表明从海参中分离纯化出的四种硫酸化多糖,因其硫酸化程度不同,表现出的抗凝血活性也有所不同^[46]。天然乌贼墨多糖没有明显抗凝活性,经过硫酸化修饰后,多糖的抗凝

活性进一步增强,机制为调节血浆凝血因子和抗凝血酶的异常水平^[47]。综上,多糖本身的抗凝血活性较弱,但通过化学修饰使得硫酸基的强负电荷与凝血因子如抗凝血酶上的带正电荷的氨基酸残基离子相互作用以显示抗凝血活性,高取代程度增加了负电荷的密度,使其能够更好地中和带正电荷的氨基酸残基。因此,抗凝血活性随取代程度的增加而增强。

2.2 抗氧化活性

抗氧化活性主要来源于自由基清除能力、链引发能力、过氧化物分解能力、过渡金属离子催化剂结合能力以及化合物的还原能力。活性氧(ROS)包括羟基自由基、超氧阴离子、过氧化氢是在有氧环境下细胞新陈代谢过程中由外界因素所形成的^[48]。抗氧化剂通过清除人体内的活性氧来防止氧化损伤。抗氧化活性可以通过羟基自由基清除能力、超氧自由基清除能力、氧自由基吸收能力、DPPH 自由基清除能力、ABTS⁺自由基清除能力、铁离子还原能力等方法进行检测^[49]。

2.2.1 硫酸化多糖的抗氧化活性 硫酸基取代程度取决于多糖的活性位点。同时,多糖链上羟基越多,硫酸化的可能性越大。以往的研究表明,与无硫酸化多糖相比,含有-OSO₃H 基团的硫酸化多糖更容易将氢原子转移到自由基上,从而具有更高的抗氧化活性^[50]。同时,硫酸化多糖的抗氧化活性具有剂量依赖性,并且随着硫酸化多糖浓度的增加而显著提高^[51]。李容等^[52]对川木瓜多糖进行羧甲基化、乙酰化、硫酸化修饰并比较其抗氧化活性,结果表明硫酸化多糖的抗氧化能力最强。壶瓶碎米茅多糖^[53]和辣木多糖^[54]经过硫酸化修饰后抗氧化能力也有所提高。

2.2.2 磷酸化多糖的抗氧化活性 磷酸化多糖显示出与天然多糖相比更强的 DPPH、超氧化物和羟基自由基清除能力^[55]。大球盖菇多糖进行磷酸化修饰后具有了显著性的羟基自由基清除能力^[56]。Xie 等^[57]对青钱柳多糖进行磷酸化处理后,其抗氧化活性水平提高,且多糖磷酸化后细胞氧化应激减少。Chen 等^[58]利用三氯氧磷-吡啶法制备出不同取代程度的磷酸化南瓜多糖对羟基自由基和超氧阴离子的清除能力均高于未进行磷酸化修饰的南瓜多糖。磷酸化多糖的抗氧化活性取决于附在多糖上的-OPO₃H₂ 基团的数量,-OPO₃H₂ 基团数量越多,即磷酸化取代程度越高,抗氧化活性越大。

2.2.3 羧甲基化多糖的抗氧化活性 羧甲基化可以提高多糖的抗氧化活性,其机制为引入羧甲基基团使得多糖的水溶性增加,氢键减少,改变多糖的分子量和延长链构象。Liu 等^[59]制备的羧甲基化南瓜多糖对超氧阴离子和羟基自由基有较好的清除作用,是一种潜在的抗氧化剂。Duan 等^[60]制备了不同取代程度的羧甲基化黑加仑多糖,其中取代程度最高的羧甲基化黑加仑多糖具有最好的抗氧化活性。抗氧化活性测试表明羧甲基化修饰后的罗汉果多糖具有更强的

抗氧化性能,且多糖的羧甲基化过程中有三股螺旋结构的产生^[61]。值得注意的是,适量的羧甲基基团和稳定的三股螺旋结构有利于提高多糖的抗氧化活性。一定范围内,多糖的抗氧化活性随着取代基含量的增加而增强。当多糖的三股螺旋结构遭到破坏不再稳定时,取代程度较高的多糖并不表现出更强的抗氧化活性^[62]。

2.2.4 硒多糖的抗氧化活性 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)可以分解过氧化物,降低自由基产生,进而降低器官受自由基侵害的程度^[63]。研究表明,硒是 GSH-Px 活性中心,因此动物体内硒代谢对抗氧化能力有很大影响。硒多糖作为硒源物质不仅能有效供给硒代谢,而且本身具有抗氧化作用,能显著提高动物的抗氧化能力。它可以在体内形成抗氧化酶的活性中心,从而提高酶的活性,发挥抗氧化和防止细胞损伤作用^[64]。有研究表明硒多糖通过激活多糖异构碳上的氢原子来提高多糖的抗氧化活性^[65]。羟基自由基、DPPH 自由基、ABTS⁺自由基清除能力和还原能力测定表明,硒化冬凌草多糖抗氧化能力强于冬凌草多糖^[66]。吕明帅等^[67]提取出的硒化黑木耳多糖具有更强的体内抗氧化活性,能够使小鼠肝、肾、心、血清中的 GSH-Px 活性明显提高。黄绿蜜环菌硒多糖具有一定的抗氧化活性,并且其活性的影响因素与硒多糖浓度相关^[68]。硒化修饰通过提高多糖的糖醛酸含量,降低其分子量,进而提高抗氧化活性。同时,硒含量也是影响多糖抗氧化活性的关键因素。

2.3 免疫调节活性

免疫系统在人类健康和疾病中起着重要作用。多糖作为免疫调节剂,主要通过两个过程调节免疫功能,一种是直接针对病原微生物,另一种是通过增加巨噬细胞和 T 淋巴细胞的活性来增强免疫系统^[69]。

2.3.1 硫酸化多糖的免疫调节活性 硫酸化修饰可以改善多糖和巨噬细胞之间的相互作用。它可以促进一氧化氮(NO),白细胞介素-6 和白细胞介素-1 β 的分泌,以提高免疫力^[70]。Xu 等^[71]研究了硫酸化多糖和寡糖在免疫相关疾病的调节作用,结果表明硫酸化多糖具有良好免疫功能,这可能归结于以下两个原因:一方面,多糖链上的羟基被硫酸基取代,使其成为带大量负电荷的聚阴离子化合物,更容易与体内许多碱性蛋白相互作用,调节其活性;另一方面,硫酸化修饰后多糖链的三股螺旋结构可能发生改变,这也是影响化合物生物活性的关键性因素。Shen 等^[72]制备了硫酸化灵芝多糖(SMP)并研究其对小鼠的免疫调节活性的影响,结果表明 SMP 可以激活 T 和 B 淋巴细胞,可作为一种潜在的功能性食品免疫调节剂。Yu 等^[73]研究了硫酸化修饰对青钱柳多糖(CP)免疫调节作用的影响,与 CP 相比,硫酸化青钱柳多糖能显著增加脾淋巴细胞的增殖和 T 淋巴细胞的比例,促进小鼠血清中 IgA 和 IgM 的分泌,增强小鼠体液免疫应答。

2.3.2 磷酸化多糖的免疫调节活性 近年来,有研究报道了磷酸化多糖的免疫调节活性,其作用是使树突状细胞、自然杀伤细胞、淋巴细胞和巨噬细胞增殖增加,进而增加细胞因子的释放,调节免疫系统。Feng等^[74]对磷酸化川牛膝多糖(pRCPS)对免疫抑制小鼠的免疫调节作用进行研究,结果表明,pRCPS能显著提高血清免疫球蛋白(IgG、IgA、IgM)水平,促进脾细胞增殖,提高胸腺和脾脏指数。pRCPS还能促进巨噬细胞的吞噬作用,pRCPS与鸡新城疫疫苗联合应用可显著提高鸡体HI抗体效价,促进免疫器官发育,增加细胞因子(IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6和IL-10)的分泌水平,促进其免疫增强作用^[75]。

2.3.3 羧甲基化多糖的免疫调节活性 韦毅铭等^[76]制备的羧甲基化龙眼肉多糖能够改善小鼠体内细胞免疫和体液免疫功能,结果表明羧甲基化修饰可以抑制体内溶血素形成以及血清中溶菌酶含量,调节Th1与Th2细胞亚群比例平衡。此外,羧甲基化修饰还可以促进B淋巴细胞的增殖以及巨噬细胞的吞噬能力,同时增加腹腔巨噬细胞分泌NO和细胞因子,进而达到增强免疫调节活性的目的^[77]。

2.3.4 硒多糖的免疫调节活性 纪迅^[78]研究了硒化大蒜多糖对鸡新城疫(ND)的影响,结果表明,硒化大蒜多糖具有较强免疫效果,可以显著提高鸡ND血清抗体效价和鸡体内的体液免疫及黏膜免疫水平。王丹阳^[79]通过对硒化甘草多糖联合抗菌药进行免疫试验证实了硒化甘草多糖可促进小鼠血清中IgG、IgA、IgM、IL-1和IL-2的含量,提高免疫活性。Feng等^[31]通过对硒修饰慈姑多糖(PSSP)进行免疫活性实验,结果表明,硒化PSSP显著减弱了DPPH、ABTS⁺、羟基自由基诱导的氧化应激作用,增强了免疫功能。值得注意的是,硒多糖主要通过提高巨噬细胞的吞噬能力,来提高机体免疫功能,该实验中硒化PSSP可以在25~200 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下促进吞噬细胞的增殖,并且对细胞活力无明显杀伤作用。

2.4 抗肿瘤活性

2.4.1 硫酸化多糖的抗肿瘤活性 多糖的抗肿瘤作用机制是抑制肿瘤细胞增殖,并诱导肿瘤细胞凋亡。同时,它可以激活免疫系统杀死肿瘤细胞。许多硫酸化多糖可以调节巨噬细胞等免疫细胞的生物活性,提高其识别肿瘤细胞的能力。王玉涵等^[80]制备的硫酸化海带多糖能抑制人乳腺癌MCF-7细胞、人结肠癌细胞LOVO的增殖。硫酸化青钱柳多糖通过减少乳酸脱氢酶(LDH)、细胞内活性氧(ROS)和丙二醛(MDA)的分泌、增强吞噬作用和超氧化物歧化酶(SOD)水平以及抑制异常凋亡,更有效地保护巨噬细胞免受H₂O₂诱导的损伤,其抗肿瘤活性与延长S期细胞周期阻滞密切相关。此外,硫酸化青钱柳多糖还降低了肿瘤细胞的存活率^[81]。

2.4.2 磷酸化多糖的抗肿瘤活性 多糖的磷酸化也增强了天然多糖的抗肿瘤活性。Huang等^[82]制备的

磷酸化levan(一种胞外多糖)对HCT-116和A549癌细胞的体外抗肿瘤活性高于天然levan,并且磷酸化levan具有抗增殖活性,可通过线粒体途径诱导癌细胞凋亡。与硫酸基团和羧甲基基团相比,磷酸基团更能增强多糖的抗肿瘤活性^[83]。因此,多糖磷酸化是一种预防和治疗癌症的新途径。

2.4.3 羧甲基化多糖的抗肿瘤活性 羧甲基化马齿苋多糖^[84]和羧甲基化茯苓多糖^[85]对HepG₂肝癌细胞的毒性均有一定的抑制作用,经过羧甲基化修饰后的多糖具有更好的抗肿瘤活性。聂瑞红^[86]对*Rhizobium* sp. N613胞外多糖(LREPS)进行羧甲基化,羧甲基化LREPS(CM-LREPS)具有较好抗肿瘤活性,取代度为0.659的CM-LREPS效果最佳。羧甲基化多糖-蛋白质复合物对S-180肿瘤细胞具有较高的抗肿瘤活性,其中羧甲基基团的引入、蛋白质含量、分子量对多糖抗肿瘤生物活性的影响不容忽视。这说明羧甲基基团和相对较长的分子链增加了多糖与肿瘤细胞受体结合的机会^[87]。

2.4.4 硒多糖的抗肿瘤活性 硒多糖对一些癌症具有药理作用,其作用机制可能是通过提高机体的免疫能力和体内的抗氧化能力,从而减少活性氧自由基对免疫系统的损害,达到抗肿瘤作用^[88]。硒多糖能抑制肿瘤增殖,阻止癌细胞DNA合成,延长潜伏期^[89]。Gu等^[90]通过从富硒茶中分离出硒多糖并对其生物活性进行研究,结果表明SeTPS-1和SeTPS-2表现出优异的抗氧化作用,并防止了体外的DNA损伤。

2.5 抗病毒活性

天然多糖不具有抗病毒活性或活性较弱,通过硫酸化修饰可以使该能力发挥出来,特别是针对HIV病毒^[91]。硫酸化多糖可以直接干扰病毒复制相关的酶进而达到抗病毒增殖的功能,机制为硫酸基团的强负电荷作用使受体细胞对病毒的吸附作用减弱,从而减弱病毒增殖^[92]。Andrew等^[93]对海洋硫酸化多糖进行实验研究,结果表明海洋硫酸化多糖能够抑制病毒内化、渗透和复制,激活宿主免疫系统,增强抗氧化状态。

磷酸化修饰也可提高多糖的抗病毒活性,其抗病毒活性与磷酸基团的取代数量有关,一些磷酸化多糖已被报道对鸭肝炎病毒有效^[94]。Feng等^[95]对川牛膝多糖(RCPS)进行了不同程度的磷酸化修饰,4种磷酸化川牛膝多糖对犬细小病毒(Canine Parvovirus, CPV)均表现出较高的抗病毒活性,其抗病毒活性显著强于未修饰的川牛膝多糖。因此,磷酸化修饰可作为多糖抗病毒活性的修饰技术,从而为优化抗病毒药物提供理论依据。

2.6 保肝活性

肝病是一种严重影响人类健康的疾病。目前只有少数几种保护肝脏的药物被批准使用,而且一些药物还有副作用。一些天然多糖已知具有保肝活性,多糖的磷酸化进一步增强了保肝活性,在肝病治疗中具

有潜在的应用前景。Duan 等^[96]研究了磷酸化平菇多糖(PPOP)对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用,与平菇多糖(POP)相比,PPOP 在体内具有更强的肝保护作用,且对腺嘌呤诱导的慢性肾损伤具有一定的保护作用。Jing 等^[97]对 *Lachnum* YM406 的胞外多糖(LEP-2a)进行化学修饰,以获得磷酸化多糖 PLEP-2a,LEP-2a 和 PLEP-2a 均能显著减轻四氯化碳引起的急性肝损伤。其保肝作用机制与下调 Fas、Fas-L 的表达以及 CCl₄ 引起的 Caspase 3/8 激活和 PARP 裂解,减少肝细胞凋亡有关。此外,PLEP-2a 也可以显著减轻肝纤维化。

2.7 抗菌活性

多糖表面的糖蛋白受体与细菌细胞壁相互作用,破坏细胞膜,导致蛋白质渗漏和核酸降解,最终导致细菌死亡^[98]。多糖的化学修饰进一步提高了抗菌活性,在食品及医药领域中具有潜在的应用价值。羧甲基化马尾藻多糖^[99]和羧甲基化牡丹籽渣多糖^[37]的抗菌性能结果表明其具有较好抗菌活性。Madruga 等^[100]在抗菌试验中发现,当 DS 值为 0.8、1.0 和 1.2 时,羧甲基卡拉胶(CMKCs)对金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌、大肠杆菌和铜绿假单胞菌均有生长抑制作用。此外,硫酸化多糖还可以通过破坏膜通透性促进蛋白质渗漏,进而增强抗菌活性。

2.8 抗重金属活性

重金属铅和锡在中毒代谢过程中主要引起脂质过氧化,谷胱甘肽过氧化物酶中的巯基可与重金属锡结合,干扰体内的生物代谢。硒多糖能竞争性拮抗重金属铅和锡,减少铅和锡中毒^[101]。硒可参与谷胱甘肽过氧化物酶活性中心的形成,硒多糖可以提高 GSH-Px 的活性,增加体内硒的含量,达到拮抗重金属的目的^[102]。

2.9 降血糖、血脂活性

在人类慢性临床疾病中,糖尿病是一种常见的糖脂代谢紊乱的临床综合征,主要由胰岛 B 细胞受损引起,导致胰岛素的生物活性下降。硒多糖可以通过保护受损的胰岛 B 细胞,促进胰岛素敏感性升高并降低糖化血红蛋白水平,从而对糖尿病的治疗起到干预作用,改善脂质状况以及肝、胰腺和肾组织^[103]。甜玉米芯硒多糖可以抑制 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶活性,有效降低血糖^[104]。Surhio 等^[105]对 *Lachnum* YM281 新型多糖 LEP-1b 进行硒化修饰,SeLEP-1b 可以改善高脂血症小鼠的血脂水平,降低致动脉粥样硬化指数,并改善抗氧化机制。

3 总结与展望

化学修饰通过在多糖链中引入新的基团来改变多糖的结构、理化性质和生物活性,具有广阔的应用前景。各类化学修饰通过取代多糖上的不同部位来改变单糖组成的摩尔比、分子量和多糖的溶液构象,为生物活性的改变提供结构基础。这些变化的程度取决于化学修饰的实验条件,如反应试剂、反应时

间、反应温度以及 pH。结构的改变导致了多糖的理化性质的改变,进而影响多糖的生物活性,甚至增加新的生物活性。多糖的抗氧化、免疫调节、抗肿瘤和降血糖血脂等活性进一步拓宽其在食品医药应用范围。羧甲基、硫酸基、乙酰基等基团的加入可以有效地改善多糖的溶解性、溶液构象和一系列结构特征,是提高多糖生物活性的潜在机制。化学修饰是促进多糖的开发与利用的一种重要途径,可以考虑采用化学修饰方法制备具有特定生理功能的多糖。

未来的挑战在于: a.通过控制基团取代程度和多糖替代位置从而达到精确结构改造的目的; b.采用仪器分析技术研究化学修饰后多糖在不同条件和复杂体系中的结构功能特征变化也有很大提升空间; c.关于各类化学修饰的结构和活性机制,还需要进行更多的研究; d.浓硫酸法、冰醋酸-亚硒酸钠法、冰醋酸-亚硒酸法等一些具体化学修饰方法的修饰工艺还需进一步优化; e.从国内外论文发表数量上来看,还需要进一步深入研究各类化学修饰多糖包括其结构、方法和生物活性影响; f.需要更多的证明数据来支持使用化学修饰多糖的食品或医药的安全性和无毒性,并确保反应过程中的副产物被消除。总体而言,化学修饰多糖方法及其生物活性在现代食品及医药领域具有很大的研究及发展潜力。

参考文献

- [1] ZHAO Y, YAN B, WANG Z, et al. Natural polysaccharides with immunomodulatory activities[J]. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2020, 20(2): 96–106.
- [2] WANG X, ZHANG S, SHANG H, et al. Evaluation of the antiviral effect of four plant polysaccharides against duck circovirus[J]. *Research in Veterinary Science*, 2022, 152: 446–457.
- [3] ZHANG H, CUI S, LV H, et al. A crosslinking strategy to make neutral polysaccharide nanofibers robust and biocompatible: With konjac glucomannan as an example[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 215: 130–136.
- [4] WANG K W, YANG C, YAN S N, et al. *Dendrobium hancockii* polysaccharides, structure characterization, modification, antioxidant and antibacterial activity[J]. *Industrial Crops and Products*, 2022, 188: 115565.
- [5] XU Y, WU Y, SUN P, et al. Chemically modified polysaccharides: Synthesis, characterization, structure activity relationships of action[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 132: 970–977.
- [6] LI S, XIONG Q, LAI X, et al. Molecular modification of polysaccharides and resulting bioactivities[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2016, 15(2): 237–250.
- [7] LI S, SHAH N P. Antioxidant and antibacterial activities of sulphated polysaccharides from *Pleurotus eryngii* and *Streptococcus thermophilus* ASCC 1275[J]. *Food Chemistry*, 2014, 165: 262–270.
- [8] LIU Y, TANG Q, DUAN X, et al. Antioxidant and anticoagulant activities of mycelia polysaccharides from *Catathelasma ventricosum* after sulfated modification[J]. *Industrial Crops and Products*, 2018, 112: 53–60.
- [9] AHMAD M M. Recent trends in chemical modification and antioxidant activities of plants-based polysaccharides: A review[J]. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2021, 2:

100045.

- [10] BEDINI E, LAEZZA A, PARRILLI M, et al. A review of chemical methods for the selective sulfation and desulfation of polysaccharides[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 174: 1224–1239.
- [11] YU Y, SONG Q, HUANG L, et al. Immunomodulatory activities of sulfated *Cyclocarya paliurus* polysaccharides with different degrees of substitution on mouse spleen lymphocytes[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 64: 103706.
- [12] HAN Y, OUYANG K, LI J, et al. Sulfated modification, characterization, immunomodulatory activities and mechanism of the polysaccharides from *Cyclocarya paliurus* on dendritic cells[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 159: 108–116.
- [13] 周艳, 林中瑞, 张聪, 等. 响应面法优化猴头菌硫酸化多糖[J]. *生物技术*, 2019, 29(5): 492–497. [ZHOU Y, LIN Z R, ZHANG C, et al. Optimization of the sulfated polysaccharide of *Hericium erinaceus* by response surface methodology[J]. *Biotechnology*, 2019, 29(5): 492–497.]
- [14] ZHU Z Y, LIU Y, SI C L, et al. Sulfated modification of the polysaccharide from *Cordyceps gunnii* mycelia and its biological activities[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 92(1): 872–876.
- [15] JIANG J, MENG F Y, HE Z, et al. Sulfated modification of *longan* polysaccharide and its immunomodulatory and antitumor activity *in vitro*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 67: 323–329.
- [16] SUN Y, SUN W, GUO J, et al. Sulphation pattern analysis of chemically sulphated polysaccharide LbGp1 from *Lycium barbarum* by GC-MS[J]. *Food Chemistry*, 2015, 170: 22–29.
- [17] CHEN X W, HUANG W B, SUN X Y, et al. Antioxidant activity of sulfated *Porphyra yezoensis* polysaccharides and their regulating effect on calcium oxalate crystal growth[J]. *Materials Science and Engineering:C*, 2021, 128: 112338.
- [18] KATRITZKY A R, RAMSDEN C A, SCRIVEN E F V, et al. Comprehensive heterocyclic chemistry III[M]. Amsterdam: Elsevier, 2008.
- [19] XIE L, SHEN M, WANG Z, et al. Structure, function and food applications of carboxymethylated polysaccharides: A comprehensive review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 118: 539–557.
- [20] LIU W, HU C, LIU Y, et al. Preparation, characterization, and α -glycosidase inhibition activity of a carboxymethylated polysaccharide from the residue of *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 99: 454–464.
- [21] 赵迪. 黑木耳多糖对炎性肠病的预防作用及其化学修饰[D]. 上海: 华东理工大学, 2021. [ZHAO D. The preventive effect of *Auricularia auricular-judae* (Bull.) polysaccharide against IBD and its modification[D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2021.]
- [22] 沈玉彬, 郝二伟, 杜正彩, 等. 龙眼多糖化学结构、构效关系与药理活性研究进展[J]. *中草药*, 2022, 53(23): 7624–7632. [SHEN Y B, HAO E W, DU Z C, et al. Research progress on chemical structure, structure-activity relationship and pharmacological activity of *Dimocarpus longan* polysaccharides[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2022, 53(23): 7624–7632.]
- [23] LI J, SHANG W, SI X, et al. Carboxymethylation of corn bran polysaccharide and its bioactive property[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2017, 52(5): 1176–1184.
- [24] FAN L, WANG L, GAO S, et al. Synthesis, characterization and properties of carboxymethyl kappa carrageenan[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 86(3): 1167–1174.
- [25] WANG Z J, XIE J H, SHEN M Y, et al. Carboxymethylation of polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* and their characterization and antioxidant properties evaluation[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 136: 988–994.
- [26] YANG W, HUANG G, HUANG H. Preparation and structure of polysaccharide selenide[J]. *Industrial Crops and Products*, 2020, 154: 112630.
- [27] NAVARRO-ALARCON M, CABRERA-VIQUE C. Selenium in food and the human body: A review[J]. *Science of the Total Environment*, 2008, 400(1–3): 115–141.
- [28] GAO Z, CHEN J, QIU S, et al. Optimization of selenylation modification for garlic polysaccharide based on immune-enhancing activity[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 136: 560–569.
- [29] PANG X F, YANG G N, ZHAO Q. Preparation of selenide glycyrrhiza polysaccharides[J]. *Chem Eng*, 2009, 37: 63–66.
- [30] REN G, LI K, HU Y, et al. Optimization of selenizing conditions for Seleno-Lentinan and its characteristics[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 81: 249–258.
- [31] FENG Y, QIU Y, DUAN Y, et al. Characterization, antioxidant, antineoplastic and immune activities of selenium modified *Sagittaria sagittifolia* L. polysaccharides[J]. *Food Research International*, 2021: 110913.
- [32] ZHU S, HU J, LIU S, et al. Synthesis of Se-polysaccharide mediated by selenium oxychloride: Structure features and antiproliferative activity[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 246: 116545.
- [33] CHEN F, HUANG G, HUANG H. Preparation, analysis, antioxidant activities *in vivo* of phosphorylated polysaccharide from *Momordica charantia*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 252: 117179.
- [34] WANG J, WANG Y, XU L, et al. Synthesis and structural features of phosphorylated *Artemisia sphaerocephala* polysaccharide[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 181: 19–26.
- [35] GHIMICI L, SUFLET D M. Phosphorylated polysaccharide derivatives as efficient separation agents for zinc and ferric oxides particles from water[J]. *Separation and Purification Technology*, 2015, 144: 31–36.
- [36] WANG K, LIU Q. Chemical structure analyses of phosphorylated chitosan[J]. *Carbohydrate Research*, 2014, 386: 48–56.
- [37] LI X L, TU X F, THAKUR K, et al. Effects of different chemical modifications on the antioxidant activities of polysaccharides sequentially extracted from peony seed dreg[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 112: 675–685.
- [38] 于方园, 胡森, 门雨薇, 等. 桦褐孔菌多糖磷酸化修饰工艺研究[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(12): 133–138. [YU F Y, HU M, MEN Y W, et al. Phosphorylation modification process of *Inonotus obliquus* polysaccharides[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(12): 133–138.]
- [39] HU S, SONG L, PAN H, et al. Thermal properties and combustion behaviors of flame retarded epoxy acrylate with a chitosan based flame retardant containing phosphorus and acrylate structure[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2012, 97: 109–115.
- [40] GRIESSER J, BURTSCHER S, KÖLLNER S, et al. Zeta potential changing self-emulsifying drug delivery systems containing phosphorylated polysaccharides[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2017, 119: 264–270.
- [41] YE X, ZHAO Z, WANG W. Structural characterization and antioxidant activity of an acetylated *Cyclocarya paliurus* polysac-

- charide (Ac-CPP0.1)[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 171: 112–122.
- [42] AI C, MENG H, LIN J, et al. Emulsification properties of alkaline soluble polysaccharide from sugar beet pulp: Effect of acetylation and methoxylation[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 124: 107361.
- [43] XIE L, SHEN M, HONG Y, et al. Chemical modifications of polysaccharides and their anti-tumor activities[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 229: 115436.
- [44] REIS S E, ANDRADE R G C, ACCARDO C M, et al. Influence of sulfated polysaccharides from *Ulva lactuca* L. upon Xa and IIa coagulation factors and on venous blood clot formation[J]. *Algal Research*, 2020, 45: 101750.
- [45] Da SILVA CHAGAS F D, LIMA G C, DOS SANTOS V I N, et al. Sulfated polysaccharide from the redalgae *Gelidiella acerosa*: Anticoagulant, antiplatelet and antithrombotic effects[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 159: 415–421.
- [46] GAO N, CHEN R, MOU R, et al. Purification, structural characterization and anticoagulant activities of four sulfated polysaccharides from sea cucumber *Holothuria fuscopunctata*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 164: 3421–3428.
- [47] LI F, LIN Z, WU Y, et al. Antioxidant, anticoagulant and thrombolytic properties of SIP-IV, a sulfated polysaccharide from *Sepia esculenta* ink, and its derivatives[J]. *Food Bioscience*, 2022, 49: 101959.
- [48] RAHMAN I, BISWAS S K, KODE A. Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2006, 533(1-3): 222–239.
- [49] 李晓丽. 牡丹籽粕多糖的化学修饰及其抗氧化和抑菌能力的研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2019. [LI X L. Chemical modifications of polysaccharides extracted from peony seed dreg, and their antioxidant and antibacterial activities *in vitro* [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2019.]
- [50] WANG J, BAO A, MENG X, et al. An efficient approach to prepare sulfated polysaccharide and evaluation of anti-tumor activities *in vitro* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 184: 366–375.
- [51] HU H, LI H, HAN M, et al. Chemical modification and antioxidant activity of the polysaccharide from *Acanthopanax leucorrhizus* [J]. *Carbohydrate Research*, 2020, 487: 107890.
- [52] 李容, 钟兆银, 姜艳, 等. 川木瓜多糖的化学修饰及其活性研究[J]. *右江民族医学院学报*, 2018, 40(5): 418–422. [LI R, ZHONG Z Y, JIANG Y, et al. Study on the chemical modification and the activity of *Chaenomeles speciosa* polysaccharide [J]. *Journal of Youjiang Medical University for Nationalities*, 2018, 40(5): 418–422.]
- [53] 张子木, 黄秀芳, 张琴, 等. 壶瓶碎米茅多糖硫酸化结构修饰及抗氧化活性研究[J]. *中国粮油学报*, 2021, 36(12): 28–33. [ZHANG Z M, HUANG X F, ZHANG Q, et al. Sulfated structure modification and antioxidant activity of *Cardamine hupingshanensis* polysaccharide [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2021, 36(12): 28–33.]
- [54] 许云华, 周旋, 乔友志. 硫酸化辣木多糖的制备及其抗氧化活性研究[J]. *连云港师范高等专科学校学报*, 2020, 37(3): 103–108. [XU Y H, ZHOU X, QIAO Y Z. On Preparation and antioxidant activity of sulfated polysaccharide in *Moringa oleifera* [J]. *Journal of Lianyungang Normal College*, 2020, 37(3): 103–108.]
- [55] CAO Y Y, JI Y H, LIAO A M, et al. Effects of sulfated, phosphorylated and carboxymethylated modifications on the antioxidant activities *in-vitro* of polysaccharides sequentially extracted from *Amana edulis* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 146: 887–896.
- [56] 金明枝. 大球盖菇多糖的结构表征、化学修饰及生物活性研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2021. [JIN M Z. Structure characterization, chemical modification and biological activity of polysaccharides from *Stropharia rugosoannulata* [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2021.]
- [57] XIE L, SHEN M, WEN P, et al. Preparation, characterization, antioxidant activity and protective effect against cellular oxidative stress of phosphorylated polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2020, 145: 111754.
- [58] CHEN L, HUANG G. Antioxidant activities of phosphorylated pumpkin polysaccharide [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 125: 256–261.
- [59] LIU Y, HUANG G. The antioxidant activities of carboxymethylated cushaw polysaccharide [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 121: 666–670.
- [60] DUAN S, ZHAO M, WU B, et al. Preparation, characteristics, and antioxidant activities of carboxymethylated polysaccharides from blackcurrant fruits [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 155: 1114–1122.
- [61] 白家峰, 姚延超, 郑毅, 等. 罗汉果多糖的羧甲基化修饰及抗氧化性能影响研究[J]. *湖北农业科学*, 2021, 60(15): 107–111. [BAI J F, YAO Y C, ZHENG Y, et al. Study on the effect of carboxymethylation of *Siraitia grosvenorii* polysaccharide on its antioxidant [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2021, 60(15): 107–111.]
- [62] LIU Y, YOU Y, LI Y, et al. Characterization of carboxymethylated polysaccharides from *Catathelasma ventricosum* and their antioxidant and antibacterial activities [J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 38: 355–362.
- [63] CHEN F, HOU L, ZHU L, et al. Effects of selenide chitosan sulfate on glutathione system in hepatocytes and specific pathogen-free chickens [J]. *Poultry Science*, 2020, 99(8): 3979–3986.
- [64] LUO L, WANG Y, ZHANG S, et al. Preparation and characterization of selenium-rich polysaccharide from *Phellinus igniarius* and its effects on wound healing [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 264: 117982.
- [65] ZHU Z Y, LIU F, GAO H, et al. Synthesis, characterization and antioxidant activity of selenium polysaccharide from *Cordyceps militaris* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 93: 1090–1099.
- [66] 程爽, 贺斐, 付龙洋, 等. 冬凌草硒多糖的制备及其抗氧化活性分析[J]. *精细化工*, 2021, 38(10): 2064–2071. [CHENG S, HE F, FU L Y, et al. Preparation of selenium polysaccharide from *Rabdosia rubescens* and analysis of its antioxidant activity [J]. *Fine Chemicals*, 2021, 38(10): 2064–2071.]
- [67] 吕明帅, 赵博, 孙文玉, 等. 富硒黑木耳多糖的理化性质及抗氧化活性研究[J]. *中国调味品*, 2021, 46(6): 54–59. [LÜ M S, ZHAO B, SUN W Y, et al. Research on physicochemical properties and antioxidant activity of selenium-enriched *Auricularia auricula* polysaccharides [J]. *China Condiment*, 2021, 46(6): 54–59.]
- [68] 周连玉, 钟睿, 焦璐, 等. 黄绿蜜环菌硒多糖抗氧化活性及抑菌活性研究[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(15): 6–10. [ZHOU L Y, ZHONG R, JIAO L, et al. Antioxidant and antibacterial activities of selenium-containing polysaccharide extracted from *Armillaria luteo-virens* [J]. *Food Research and Development*, 2020, 41(15): 6–10.]
- [69] HUANG L, SHEN M, MORRIS G A, et al. Sulfated polysaccharides: Immunomodulation and signaling mechanisms [J]. *Trends*

in Food Science & Technology, 2019, 92: 1–11.

[70] KIM J K, CHO M L, KARNJANAPRATUM S, et al. *In vitro* and *in vivo* immunomodulatory activity of sulfated polysaccharides from *Enteromorpha prolifera*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2011, 49(5): 1051–1058.

[71] XU L, HE D, ZHANG C, et al. The regulate function of polysaccharides and oligosaccharides that with sulfate group on immune-related disease[J]. *Journal of Functional Foods*, 2022, 88: 104870.

[72] SHEN M, CHEN X, HUANG L, et al. Sulfated *Mesona chinensis* Benth polysaccharide enhance the immunomodulatory activities of cyclophosphamide-treated mice[J]. *Journal of Functional Foods*, 2021, 76: 104321.

[73] YU Y, MO S, SHEN M, et al. Sulfated modification enhances the immunomodulatory effect of *Cyclocarya paliurus* polysaccharide on cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice through MyD88-dependent MAPK/NF- κ B and PI3K-Akt signaling pathways[J]. *Food Research International*, 2021, 150: 110756.

[74] FENG H, FAN J, LIN L, et al. Immunomodulatory effects of phosphorylated *Radix Cyathulae officinalis* polysaccharides in immunosuppressed mice[J]. *Molecules*, 2019, 24(22): 4150.

[75] LIN L, YANG J, YANG Y, et al. Phosphorylation of *Radix Cyathula officinalis* polysaccharide improves its immune-enhancing activity[J]. *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 2020, 39(1): 50–62.

[76] 韦毅铭, 何舟, 田海芬, 等. 羧甲基化龙眼肉多糖制备工艺优化及其抗氧化、免疫活性[J]. *食品科学*, 2017, 38(22): 275–283.

[WEI Y M, HE Z, TIAN H F, et al. Optimization of preparation of carboxymethylated polysaccharides from longan (*Dimocarpus longan*) pulp by response surface methodology and their antioxidant activity and immunoregulatory activity[J]. *Food Science*, 2017, 38(22): 275–283.]

[77] 王警. 乙酰化和羧甲基化龙眼肉多糖的制备及其抗氧化和免疫调节活性的研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2016. [WANG J. Study on the preparation, antioxidant and immunomodulatory activities of acetylated and carboxymethylated polysaccharides from *Dimocarpus longan* pulp[D]. Nanning: Guangxi Medical University, 2016.]

[78] 纪迅. 硒化大蒜多糖的制备及其对鸡ND疫苗免疫效果的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2021. [JI X. Preparation of selenium garlic polysaccharide and its effect on chicken ND vaccine[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2021.]

[79] 王丹阳. 硒化甘草多糖联合抗菌药的抗菌活性及其免疫调节作用研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2021. [WANG D Y. Antimicrobial activity of selenizing glycyrrhiza uralensis fisch polysaccharide combined antimicrobial agents and its immunomodulatory effect[D]. Shihezi: Shihezi University, 2021.]

[80] 王玉涵, 魏溢, 姜胤秀, 等. NaHSO₃/NaNO₂法修饰海带多糖及抗肿瘤活性研究[J]. *黑龙江医药*, 2021, 34(6): 1250–1254.

[WANG Y H, WEI Y, JIANG Y X, et al. Study on the modification of *Laminaria japonica* polysaccharide by NaHSO₃/NaNO₂ method and its antitumor activity[J]. *Heilongjiang Medicine Journal*, 2021, 34(6): 1250–1254.]

[81] XIE L, HUANG Z, QIN L, et al. Effects of sulfation and carboxymethylation on *Cyclocarya paliurus* polysaccharides: Physicochemical properties, antitumor activities and protection against cellular oxidative stress[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 204: 103–115.

[82] HUANG T Y, HUANG M Y, TSAI C K, et al. Phosphorylation of levan by microwave-assisted synthesis enhanced anticancer

ability[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2021, 131(1): 98–106.

[83] CHEN X, XU X, ZHANG L, et al. Chain conformation and anti-tumor activities of phosphorylated (1→3)- β -D-glucan from *Poria cocos*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2009, 78(3): 581–587.

[84] 牛庆川. 马齿苋多糖的羧甲基修饰及抗肿瘤活性的研究[D]. 南昌: 江西科技师范大学, 2020. [NIU Q C. Study on the carboxymethyl modification and antitumor activity of polysaccharide from natural *Portulaca oleracea* L.[D]. Nanchang: Jiangxi Science and Technology Normal University, 2020.]

[85] 宋波, 李小莲, 吴一周, 等. 羧甲基茯苓多糖的制备及抗肿瘤活性研究[J]. *中国现代应用药学*, 2019, 36(11): 1328–1332. [SONG B, LI X L, WU Y Z, et al. Study on preparation and anti-tumor activity of carboxymethylpachymaran[J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2019, 36(11): 1328–1332.]

[86] 聂瑞红. 硒化 *Rhizobium* sp. N613 胞外多糖的制备及其生物活性研究[D]. 太原: 山西大学, 2013. [NIE R H. Preparation and study on biological activity of selenium exopolysaccharide from *Rhizobium* sp. N613[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2013.]

[87] TAO Y, ZHANG Y, ZHANG L. Chemical modification and antitumor activities of two polysaccharide-protein complexes from *Pleurotus tuber-regium*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2009, 45(2): 109–115.

[88] MAO G, LI Q, DENG C, et al. The synergism and attenuation effect of selenium (Se)-enriched *Grifola frondosa* (Se)-polysaccharide on 5-fluorouracil (5-Fu) in Heps-bearing mice[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 107: 2211–2216.

[89] ZHOU L, SONG Z, ZHANG S, et al. Construction and antitumor activity of selenium nanoparticles decorated with the polysaccharide extracted from *Citrus limon* (L.) Burm. f. (Rutaceae)[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 188: 904–913.

[90] GU Y, QIU Y, WEI X, et al. Characterization of selenium-containing polysaccharides isolated from selenium-enriched tea and its bioactivities[J]. *Food chemistry*, 2020, 316: 126371.

[91] SONG S, PENG H, WANG Q, et al. Inhibitory activities of marine sulfated polysaccharides against SARS-CoV-2[J]. *Food & Function*, 2020, 11(9): 7415–7420.

[92] CHEN L, HUANG G. The antiviral activity of polysaccharides and their derivatives[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 115: 77–82.

[93] ANDREW M, JAYARAMAN G. Marine sulfated polysaccharides as potential antiviral drug candidates to treat Corona Virus disease (COVID-19)[J]. *Carbohydrate Research*, 2021: 108326.

[94] MING K, CHEN Y, YAO F, et al. Phosphorylated *Codonopsis pilosula* polysaccharide could inhibit the virulence of duck hepatitis A virus compared with *Codonopsis pilosula* polysaccharide[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 94: 28–35.

[95] FENG H, FAN J, YANG S, et al. Antiviral activity of phosphorylated *Radix Cyathulae officinalis* polysaccharide against canine parvovirus *in vitro*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 99: 511–518.

[96] DUAN Z, ZHANG Y, ZHU C, et al. Structural characterization of phosphorylated *Pleurotus ostreatus* polysaccharide and its hepatoprotective effect on carbon tetrachloride-induced liver injury in mice[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 162: 533–547.

[97] JING L, ZONG S, LI J, et al. Potential mechanism of protec-

- tion effect of exopolysaccharide from *Lachnum* YM406 and its derivatives on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice[J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 36: 203–214.
- [98] AMORIM R N S, RODRIGUES J A G, HOLANDA M L, et al. Antimicrobial effect of a crude sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria ornata*[J]. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2012, 55: 171–181.
- [99] LI Y T, CHEN B J, WU W D, et al. Antioxidant and antimicrobial evaluation of carboxymethylated and hydroxamated degraded polysaccharides from *Sargassum fusiforme*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 118: 1550–1557.
- [100] MADRUGA L Y C, SABINO R M, SANTOS E C G, et al. Carboxymethyl-kappa-carrageenan: A study of biocompatibility, antioxidant and antibacterial activities[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 152: 483–491.
- [101] CHIBA M, FUJIMOTO N, OYAMADA N, et al. Interactions between selenium and tin, selenium and lead, and their effects on alad activity in blood[J]. *Biological Trace Element Research*, 1985, 8(4): 263–282.
- [102] DAS T M, RAO C P, KOLEHMAINEN E. Interaction of metal ions with N-glycosylamines: Isolation and characterization of the products of 4, 6-O-benzylidene-N-(o-carboxyphenyl)- β -D-glucopyranosylamine with different metal ions[J]. *Carbohydrate Research*, 2001, 335(3): 151–158.
- [103] KESHAVARZ-REZAEI M, HATAMIAN-ZARMI A, ALVANDI H, et al. The HbA1c and blood glucose response to selenium-rich polysaccharide from *Fomes fomentarius* loaded solid lipid nanoparticles as a potential antidiabetic agent in rats[J]. *Biomaterials Advances*, 2022, 140: 213084.
- [104] 王峙力, 王鑫, 韩辉, 等. 甜玉米芯硒多糖的制备及其对淀粉酶抑制作用[J]. *包装工程*, 2021, 42(21): 33–41. [WANG S L, WANG X, HAN Y, et al. Preparation of selenium polysaccharide from sweet corn cob and its inhibitory effect on amylase[J]. *Packaging Engineering*, 2021, 42(21): 33–41.]
- [105] SURHIO M M, WANG Y, XU P, et al. Antihyperlipidemic and hepatoprotective properties of selenium modified polysaccharide from *Lachnum* sp[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 99: 88–95.