

仙人掌超支化多糖的结构表征与生物活性研究

席淑云¹, 许雅荟²

(1. 上海百雀羚日用化学有限公司, 上海, 200000;

2. 北京东方淼森生物科技有限公司, 北京, 100048)

摘 要: 为了分析仙人掌超支化多糖的结构及功效作用, 通过单糖组成、甲基化、电镜扫描等方法阐明多糖结构; 然后再采用生化、细胞等试验研究其生物活性。结果显示, 仙人掌多糖的平均相对分子质量主要分布在 6 kDa、1500 kDa, 且低相对分子质量组分 (OFP-1) 是一种支化度为 53.22% 的超支化多糖。在功效方面, 仙人掌多糖具有良好的抗氧化、抗刺激以及促进细胞迁移的功效, 且 OFP-1 的功效作用远高于高相对分子质量组分 (OFP-2)。因此, 可以推测, OFPs 的生物活性主要来源于低相对分子质量多糖, 这一研究为仙人掌多糖在化妆品中的应用奠定了理论基础。

关键词: 仙人掌; 超支化多糖; 抗氧化; 保护细胞

作者简介: 席淑云, 上海百雀羚日用化学有限公司研发中心原料研究总监, 研究方向: 化妆品原料开发及应用。E-mail: xisy@pechoin.com。



席淑云

超支化多糖 (hyperbranched polysaccharides, HBPS) 是一种具有高度支化结构的多糖类大分子, 其内部存在很多空腔, 外围则有着大量能进行功能化的端基 (-OH、-COOH、-NH₂ 等), 它们可进一步与周围物质发生相互作用。HBPS 作为一种天然生物聚合物, 具有优异的生物利用度、生物相容性和生物降解性, 使其在食品、医药、化妆品等领域具有很大的应用潜力。同时, 天然存在的 HBPSs 兼有天然多糖和合成 HBPSs 的优点。首先, 独特的超支化结构赋予 HBPSs 一些独特的特性, 如低粘度、强水溶性和高链端密度^[1]; 其次, 由于大量末端羟基和高比表面积的存在, 它们表现出易于结合细胞表面受体和吸附生物分子的趋势^[2]。因此, 天然超支化结构的研究对于阐明功效关系非常重要。然而, 目前对于超支化多糖的研究大多集中于化学合成, 天然来源的超支化多糖研究较少, 如来源于真菌的超支化 β -D 葡聚糖、支链淀粉、糖原等^[3]。

仙人掌是一种广为人知的沙漠植物, 因独特的生存环境使其具备了丰富的生物活性, 如抗氧化、抗刺激、抗辐射等。另一方面, 从仙人掌中提取得到的仙人掌多糖被认为是仙人掌中主要的活性物质, 但对其结构的研究还有缺乏。本研究通过膜分离的方法从仙人掌中分离出一种酸性多糖, 并研究了仙人掌多糖的超支化结构。同时, 采用抗氧化试验、细胞划痕试验以及红细胞溶血试验评价仙人掌多糖的抗氧化、保护细胞以及拮抗刺激的特性。

1. 实验材料

1.1 主要材料、试剂

仙人掌产于浙江绍兴, 清洗、干燥, 然后用粉碎机通

过 60 目筛精细粉碎。人角质形成细胞 (HaCaT) 购买自中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心。硝酸钠、NaOH、ABTS, 国药集团化学试剂有限公司; 单糖标准品、荧光探针 DCFH-DA (Ex/Em=488/525 nm), 美国 sigma 公司; 刚果红溶液, 索莱宝生物科技有限公司; 4% 牛红细胞 (RBC) 悬液, 北京百奥莱博生物科技有限公司。

1.2 试验仪器

电子天平, 沈阳神宇龙腾天平有限公司; ICS 5000+ 离子色谱、UltiMate3000 高效液相色谱仪, 美国 Thermo Fisher Scientific; OPTILAB T-rex 示差检测器、DAWN HELEOS-II 激光光散射检测器, Wyatt technology; 7890A-5977B 气质联用仪, Agilent Technologies; 多功能酶标仪, TECAN; 倒置显微镜、Leica S6 D 型体式显微镜, 德国徕卡公司; 二氧化碳培养箱, 赛默飞世尔科技公司; 电动助吸器, 德国艾本德生命科学公司; 细胞废液抽取泵, 海门市其林贝尔仪器制造有限公司。

2. 实验方法

2.1 样品处理

干燥仙人掌粉末, 纯水提取, 然后加入中性蛋白酶和 α -淀粉酶进行酶解, 经脱色、脱盐后, 直接醇沉冻干得 OFP; 随后采用 10w Da 滤膜进行分离, 得到低相对分子质量组分 (OFP-1) 和高相对分子质量组分 (OFP-2), 浓缩、醇沉、冻干后得到不同相对分子质量的仙人掌多糖粉末。

2.2 相对分子质量分布及单糖组成

采用凝胶渗透色谱 (GPC) 评估多糖的相对分子质

量, 流动相: 0.1 M 硝酸钠, 流速: 0.8 mL/min, 柱温: 60°C, 进样量: 100 μ L, 检测器温度: 50°C (示差检测器); 室温 (激光光散射检测器)。样品在 85°C 条件下加热 5 min。

单糖组成: 色谱系统采用 Thermo ICS 5000+ 离子色谱系统, 用电化学检测器检测分析单糖组分。进样量为 5 μ L。流动相 A (H₂O), 流动相 B (0.1M NaOH), 流动相 C (0.1 M NaOH, 0.2M NaAc), 流速 0.5 mL/min; 柱温为 30°C; 梯度洗脱。

2.3 傅里叶变换红外光谱 (FT-IR)

采用 KBr 压片法在 400 ~ 4000 cm^{-1} 测定多糖红外吸收光谱。

2.4 甲基化分析

采用气质联用仪 (GC-MS) 进行分析。色谱系统采用的是 Agilent 气相色谱系统, 色谱柱: BPX70 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m, SGE, Australia)。进样量为 1 μ L, 分流比 10:1, 载气为高纯氮气; 柱温箱的初始温度为 140°C 保持 2.0 min, 以 3°C/min 程序升温至 230°C, 保持 3 min。质谱系统采用的是四极杆质谱检测系统, 配有电子轰击离子源 (EI) 和 MassHunter 工作站。采用电子轰击离子源 (EI), 分析物在全扫描 (SCAN) 模式下进行检测, 质量扫描范围: 50 ~ 350 m/z。

2.5 刚果红试验

刚果红实验是研究多糖分子构象特征的方法之一。精确称取 10 份 2.0 mg 仙人掌多糖样品置于试管中, 加入纯净水和 0.05 mg/mL 刚果红试剂各 2.0 mL, 然后分别加入 1.0 mL 不同浓度的 NaOH 溶液; 同时, 以不加多糖的刚果红溶液作为对照组, 在 400 ~ 600 nm 的波长范围扫描, 测定最大吸收波长。

2.6 多糖分子形态观察

原子力显微镜 (AFM) 和低压透射电子显微镜 (LVEM) 的方法参照 Chen^[4] 的方法, 略作修改。

AFM: 预先将多糖配制成 1 mg/mL 的溶液, 然后在 85°C 条件下加热 30 min, 每隔 10 min 震荡一次, 过 0.45 μ m 滤膜, 再用蒸馏水稀释至终浓度为 5 μ g/mL。用移液枪吸取 5 μ L 多糖溶液, 滴在新剥离的干云母片上, 常温下风干, 置于原子力显微镜下进行观察。

LVEM: 用超纯水或 0.1% SDS 分别将多糖配制浓度为 1 mg/mL 的溶液, 并逐级稀释, 充分震荡溶解混匀。用移液枪吸取 5 μ L 多糖液滴加到铺有碳膜的铜网上, 待自然干

燥后, 置于透射电子显微镜真空系统中, 观察多糖分子微观结构。

2.7 ABTS 自由基清除试验

将多糖粉末配制成不同质量分数的样品组 (0.000625%、0.00125%、0.0025%、0.005%), 以质量分数 0.0005% 的 VC 作为阳性对照, 按照表 1 中各种试剂添加量配制反应体系, 反应一定时间, 734 nm 波长处测定吸光值。计算公式如下:

$$\text{ABTS 自由基清除率} = \frac{B + C - A}{B} \times 100\%$$

表 1 反应体系

添加试剂	受试样品	Vc	质量分数 50% 乙醇	ABTS 溶液
样品组 (A)	+	-	-	+
阳性对照组	-	+	-	+
阴性对照组 (B)	-	-	+	+
空白对照组 (C)	+	-	+	-

注: “+” 表示添加, “-” 表示未添加。

2.8 细胞划痕试验

将 HaCaT 细胞接种于 96 孔培养板, 置于培养箱中过夜。损伤细胞后, 将培养基吸出, PBS 溶液洗涤除去脱落的细胞和碎片。10 ng/mL 的表皮生长因子 (EGF) 作为阳性对照, 样品组加入多糖溶液。将孔板放入活细胞分析仪中, 37°C 加热 30 分钟, 然后观察 48 h 内 HaCaT 细胞迁移状况, 并用 Incucyte 软件对伤口愈合进行定量分析。

2.9 抗氧化试验

将 HaCaT 细胞接种至 12 孔板中, 培养箱孵育 18 ~ 24 h。设置空白对照组 (BC, UVB-), 阴性对照组 (NC, UVB+), 阳性对照组 (PC, 0.002% Vc)、样品组 (0.02%、0.05%、0.1%)。加样培养 18 ~ 24 h。根据组别设置, 将光照板置于 UVB 条件下照射 70 ~ 80 min 至剂量达到 90 mJ。辐照完成后, 继续培养 18 ~ 24 h。

(1) 流式细胞检测: 对细胞装载荧光探针 DCFH-DA 后, 收集细胞, 进行流式细胞仪检测, 读取荧光强度值 MFI。

(2) 免疫荧光检测: 弃去细胞培养基, 每个孔用 1 mL PBS 清洗 3 次, 再加入 500 μ L DCFH-DA 工作液, 孵育 30 min, 弃去细胞染色液, PBS 清洗, 荧光显微镜观察并拍照。

2.10 红细胞溶血试验

取离心管, 按照表 2 反应体系所示, 分别加入受试物、PBS、RBC 悬液、SDS, 并混合均匀, 置于摇床, 孵育 10 min 后离心并取上清液, 测定 OD530。计算各组溶血率, 根据溶血率计算样品组的红细胞溶血抑制率。

表2 反应体系

添加试剂	受试样品	PBS	RBC悬液	SDS
阴性组	-	+	+	+
样品组	+	+	+	+
溶剂对照组	-	+	+	-
模型对照组	+	-	+	-

注：表中“+”代表“添加”，“-”代表“未添加”，模型对照中受试样为去离子水。

红细胞溶血率计算公式为：

$$\text{红细胞溶血率} = \frac{OD_{\text{样品组}} - OD_{\text{溶剂对照组}}}{OD_{\text{模型对照组}} - OD_{\text{溶剂对照组}}} \times 100\%$$

红细胞溶血抑制率的计算公式为：

$$\text{红细胞溶血抑制率} = \frac{\text{阴性组溶血率} - \text{样品组溶血率}}{\text{阴性组溶血率}} \times 100\%$$

2.11 数据分析

试验中取得的各项数据经过 Excel 软件进行处理与作图。用 SPSS 17.0 进行统计学分析，组间比较采用单因素方差分析（ANOVA），当 $P < 0.05$ 时判断为差异显著。

3. 结果与讨论

3.1 仙人掌多糖结构解析

3.1.1 OFP 相对分子质量分布及多糖组成

OFP 主要包括 6 kDa (OFP-1) 和 1500 kDa (OFP-2) 两种相对分子质量片段。OFP-1 主要由 Rha (11.96%)、Ara (35.01%)、Gal (31.69%)、Glc (0.7%)、Xyl (17.81%)、Gal-UA (2.84%) 组成。OFP-2 主要由 Fuc (0.12%)、Rha (11.63%)、Ara (38.19%)、Gal (25.06%)、Glc (1%)、Xyl (21.55%)、Gal-UA (1.56%)、Glc-UA (0.89%) 组成。Ginestra G 等人^[5] 从无花果仙人掌中分离出多糖，其主要成分为单糖 Rha、Fuc、Ara、Xyl、Man、Gal 和 Glc，这与本研究的单糖组成不同，这可能是由于原料来源的差异。

表3 OFP的相对分子质量分布

	Peak1	Peak2	Peak3
重均相对分子质量 Mw	1.538×10^6	6.202×10^3	5.890×10^3
占比/%	22	78	

3.1.2 FT-IR 光谱分析

OFP-1 的 FT-IR 谱图如图 1 所示。3400 cm^{-1} 附近宽而强烈的峰是由 O-H 伸缩振动引起的^[6,7]，1607 cm^{-1} 和 1420 cm^{-1} 附近的特征吸收峰是由 -COOH 中的 C=O 伸缩振动引起的，表明多糖中存在糖醛酸^[8]，1252 cm^{-1} 附近的峰对应

官能团 C-O，1080 cm^{-1} 和 609 cm^{-1} 附近的吸收峰表明多糖中存在吡喃糖 (C-O-C 和 C-O-H)^[8,9]。综上，OFP-1 是一种含吡喃环的酸性多糖。

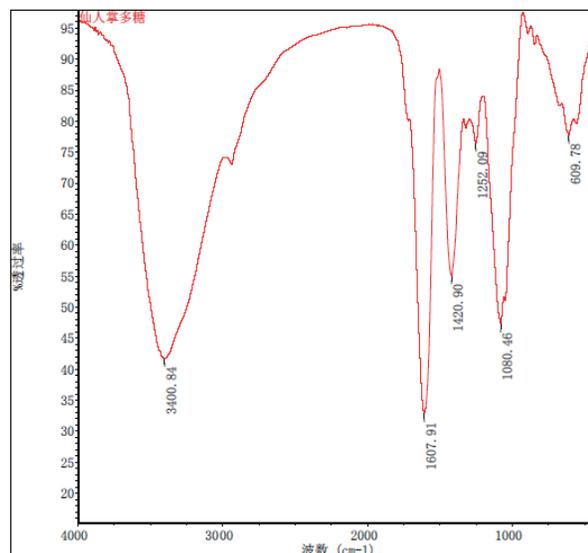


图1 OFP-1的FT-IR光谱图

3.1.3 甲基化分析

甲基化分析是阐明多糖结构的重要分析方法。首先，多糖所有的游离羟基都被甲基化转化为甲氧基，然后，通过对甲基化的多糖进行水解、还原和乙酰化，得到部分甲基化的糖醇乙酸酯 (PMAAs)，最后经过 GC-MS 分析后可以推断每个单糖的连接方式及结构。甲基化处理后 OFP-1 的键和结构分析结果如表 4 所示，根据现有数据，可以得到 OFP-1 的支化度 (DOB) 为 53.22%。

3.1.4 刚果红试验

刚果红 (CR) 可以与多糖形成复合物，在 NaOH 溶液一定浓度范围，络合物的最大吸收波长会增大，而当 NaOH 的浓度大于 0.3 M 时，三螺旋构象将转化为单螺旋构象，最大吸收波长将急剧下降^[9,10]。在不同浓度的 NaOH (0-0.5 M) 中，OFPs-CR 络合物的最大吸收波长如图 2 所示。在纯水中，OFPs-CR 的最大吸收波长与 CR 溶液相比没有明显变化，但随着 NaOH 浓度增加，OFPs-CR 络合物的最大吸收波长呈现先增大后保持不变的趋势，这表明 OFPs 在水溶液中不存在三股螺旋构象；而 OFPs-CR 复合物在高浓度 NaOH 中的最大吸收波长保持不变，这可能与多糖的高相对分子质量或超支化结构有关。OFPs-CR 络合物的最大吸收波长发生红移表明 OFPs 具有一种特殊的构象，如球形链构象或无规卷曲链构象，并且这种构象在 NaOH 比较稳定。因此，OFPs 的精确构象特征需要进一步研究。

表4 OFP-1的键合结构分析结果

出峰时间 (RT, min)	连接方式	衍生物名称	相对摩尔比 /%
6.181	t-Ara(f)	1,4-di-O-acetyl-2,3,5-tri-O-methyl arabinitol	14.53
7.516	t-Xyl(p)	1,5-di-O-acetyl-2,3,4-tri-O-methyl xylitol	9.60
8.9690	2-Rha(p)	1,2,5-tri-O-acetyl-6-deoxy-3,4-di-O-methyl rhamnitol	8.62
9.654	3-Ara(f)	1,3,4-tri-O-acetyl-2,5-di-O-methyl arabinitol	2.71
10.125	t-Gal(p)	1,5-di-O-acetyl-2,3,4,6-tetra-O-methyl galactitol	10.03
10.842	5-Ara(f)	1,4,5-tri-O-acetyl-2,3-di-O-methyl arabinitol	18.98
11.696	2-Xyl(p)	1,2,5-tri-O-acetyl-3,4-di-O-methyl xylitol	2.47
12.601	2,4-Rha(p)	1,2,4,5-tetra-O-acetyl-6-deoxy-3-O-methyl rhamnitol	5.88
13.042	3-Gal(p)	1,3,5-tri-O-acetyl-2,4,6-tri-O-methyl galactitol	2.47
13.961	4-Gal(p)-UA	1,4,5-tri-O-acetyl-2,3,6-tri-O-methyl galactitol	5.21
13.961	4-Gal(p)	1,4,5-tri-O-acetyl-2,3,6-tri-O-methyl galactitol	4.48
14.546	2,5-Ara(f)	1,2,4,5-tetra-O-acetyl-3-O-methyl arabinitol	2.68
15.687	6-Gal(p)	1,5,6-tri-O-acetyl-2,3,4-tri-O-methyl galactitol	1.87
15.945	3,4-Gal(p)	1,3,4,5-tetra-O-acetyl-2,6-di-O-methyl galactitol	4.62
19.121	3,6-Gal(p)	1,3,5,6-tetra-O-acetyl-2,4-di-O-methyl galactitol	2.88
20.582	3,4,6-Gal(p)	1,3,4,5,6-penta-O-acetyl-2-O-methyl galactitol	3.00

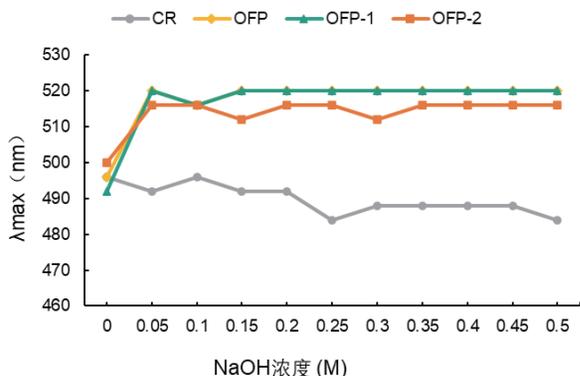


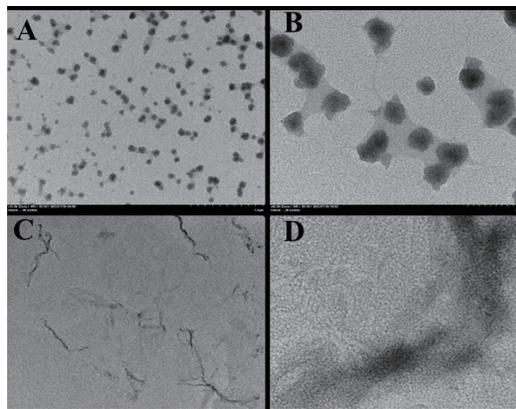
图2 OFPs与刚果红在不同浓度 NaOH 溶液中最大吸收波长变化趋势

3.1.5 仙人掌多糖的分子形态观察

OFP-1的透射电镜结果如图3所示，OFP-1在水溶液中相互连接或聚集成球，形成了一个尺寸较大的聚合物；此外，还发现 OFP-1 由直径较小的球形颗粒聚集、连接和

包围而成，因此，OFP-1在水溶液中可能是球形链构象。为了进一步观察 OFP-1 的微观结构，向多糖中加入 SDS 破坏内部氢键，也观察到了球形和分支构象（图3C和D），但不同于在水中的紧密球形结构，说明 OFP-1 在 SDS 中以灵活的缠结和分枝形态存在。

OFP-1的原子力显微镜（AFM）结果如图4所示。2D/3D图中有许多具有明显分散排列和均匀尺寸的球形分子，进一步证明了 OFP-1 为球链构象。球形链构象可能与分子内氢键、自身电荷以及超支化结构有关，OFP-1 的多糖单体高度约为 24.6 nm，远远高于单一多糖相对分子质量高度（0.1 ~ 1 nm）^[11]，这表明 OFP-1 中不存在三螺旋结构，与刚果红实验结果一致。同时还观察到大小不一的多糖聚合物，这可能是由于 OFP 中含有大量糖醛酸而自带负电荷产生了分子间斥力使 OFP 分子易发生聚集。此外，FT-IR 也表明 OFP-1 含有大量的羟基，分子内作用力也进一步促进了 OFP 形成簇合物。



注：A和B表示仙人掌多糖水溶液；C和D表示仙人掌多糖的 SDS 溶液

图3 低压透射电镜下 OFP 的微观结构

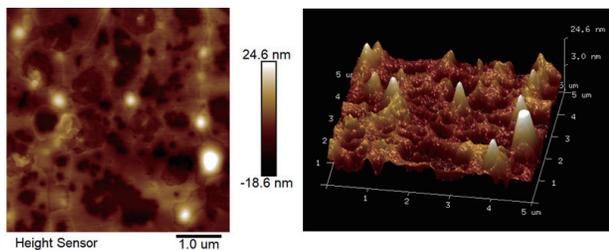


图4 OFP 的原子力显微镜图

3.2 功效评价

3.2.1 ABTS 自由基清除试验

仙人掌多糖 ABTS 自由基的清除能力如图5所示。结果表明，OFP-1 和 OFP-2 对 ABTS 自由基的清除活性呈浓度依赖性；此外，OFP-1 在各浓度点的清除活性均强于 OFP-2。同时在质量分数为 0.005% 时，OFP-1 的自由基清除活性接近 100%。

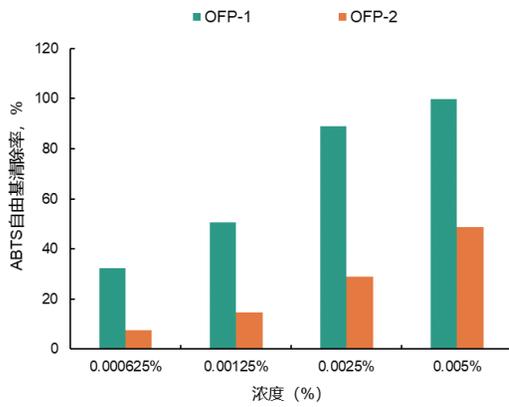
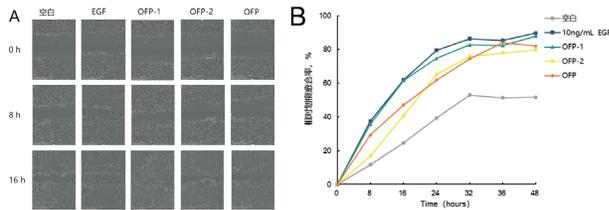


图5 仙人掌多糖对 ABTS 自由基清除能力

3.2.2 细胞迁移能力

大量研究表明，植物多糖具有较强的促进伤口愈合的能力，可以应用于治疗皮肤伤口的敷料或软膏的设计中^[12]。例如，金线莲多糖促进伤口愈合过程中成纤维细胞的增殖和迁移^[13]。本研究采用角质形成细胞（HaCaT）进行划痕试验，如图6所示，OFP-1处理后的细胞伤口闭合的速度大大提升；在相对划痕愈合率（图6B）中，OFP-1处理组在16 h时伤口愈合率达到60%，而OFP-2处理组只有40%，因此OFP-1具有较强的促进伤口愈合的能力。结合仙人掌多糖结构的研究，OFP中包含70%以上的低相对分子质量组分，因此，可以推测仙人掌多糖的修复作用主要归因于低相对分子质量多糖。



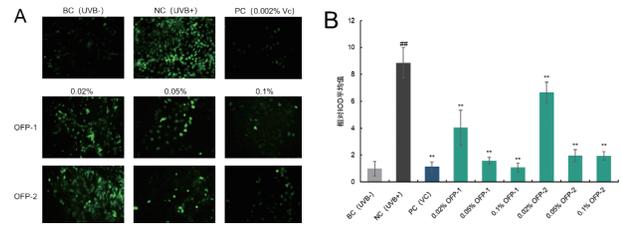
注：(A) 0h、8h、16h 细胞伤口愈合情况；(B) 相对划痕愈合率

图6 OFPs 细胞划痕实验结果

3.2.3 保护 UVB 诱导的细胞氧化损伤

通过 MTT 法测定 OFPs 对 HaCaT 细胞活力的影响，确定多糖浓度为 0.02%、0.05%、0.1%。

免疫荧光染色实验结果如图7所示。本实验中使用的 DCFH-DA 是一种细胞渗透性染料，在细胞内通过酯酶水解为膜不渗透性产物 DCFH，然后被 ROS 氧化成强荧光产物 DCF，因此可以用来检测细胞内 ROS 产生情况。从图中可以看到，在 0.02%、0.05% 和 0.1% 浓度下，仙人掌多糖可显著降低细胞内 ROS 水平，且相对 IOD 值呈现剂量依赖性降低。此外，相比于 OFP-2，OFP-1 的抑制作用更明显，这也验证了仙人掌多糖的低相对分子质量组分在细胞保护作用中起主要作用。



注：(A) 荧光显微镜观察细胞内 ROS 水平；(B) 通过 Image J 计算 IOD 值。

图7 OFPs 对 UVB 诱导 HaCaT 氧化损伤的影响。

3.2.4 红细胞溶血试验

SDS 作用于红细胞可引起红细胞膜损伤导致血红蛋白渗出，进而引起红细胞溶血。一般来说，只有当红细胞溶血抑制率在 20% 以上时，才能认为样品具有抗刺激作用。如图8所示，0.05% 浓度的仙人掌多糖（OFP，OFP-1）对红细胞溶血的抑制率分别为 25%，26%，这表明仙人掌多糖的抗刺激作用主要来源于低相对分子质量部分。

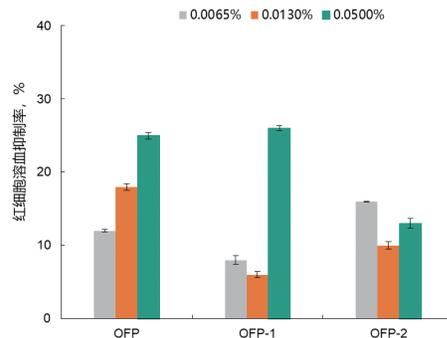


图8 红细胞溶血试验结果

4. 结论

本研究通过膜分离的方法得到了不同相对分子质量片段的仙人掌多糖，并研究了多糖的结构与功效。根据多糖的结构表征，仙人掌多糖主要含有两种不同相对分子质量片段：6 kDa（OFP-1）和 150 kDa（OFP-2），且 OFP-1 是一种酸性超支化多糖，支化度为 53.22%。ABTS 自由基清除试验表明，OFPs 具有良好的抗氧化功效，且 OFP-1 对 ABTS 自由基的清除作用远高于 OFP-2。同样地，在细胞划痕试验中，也发现 OFP-1 可显著促进角质形成细胞迁移，加速伤口愈合，因此，可以推测，仙人掌多糖的抗氧化以及修护功效主要归因于低相对分子质量组分。此外，在 UVB 诱导的 HaCaT 细胞氧化损伤试验中，OFP-1 可显著降低细胞内 ROS 水平，保护细胞免受 ROS 带来的一系列氧化损伤问题；红细胞溶血试验中，低浓度下，OFP-1 可拮抗 SDS 引起的红细胞溶血，具有保护细胞的作用。总之，仙人掌低相对分子质量超支化多糖在抗氧化以及保护细胞的功效上具有很大的应用潜力。

多糖的相对分子质量、糖苷键的构型和位置、单糖序列都会影响多糖的生物活性。有研究表明,低相对分子质量多糖的抗氧化活性更优异,可能是因为更容易与自由基结合。此外,含有糖醛酸的多糖具有更好生物活性,是因为糖醛酸残基可以起到供氢和电子转移的作用^[14-16]。为了确定仙人掌多糖生物活性与其结构之间的关系,需要更加深入的研究。

参考文献

- [1] Tao Y, Feng D. Dilute solution and rheological properties of hyperbranched polysaccharide from *Pleurotus tuber-regium* sclerotia[J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 28(1):151-158.
- [2] Zhang Y, Wang J, Zhang L. Creation of Highly Stable Selenium Nanoparticles Capped with Hyperbranched Polysaccharide in Water[J]. *Langmuir the Acs Journal of Surfaces & Colloids*, 2010, 26(22):17617.
- [3] Chen L, Ge M, Zhu Y, et al. Structure, bioactivity and applications of natural hyperbranched polysaccharides[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 223:115076.
- [4] Chen L, Xu W, Lin S, et al. Cell wall structure of mushroom sclerotium (*Pleurotus tuber-regium*): Part 1. Fractionation and characterization of soluble cell wall polysaccharides[J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 36:189-195.
- [5] Ginestra G, Parker M L, Bennett R N, et al. Anatomical, Chemical, and Biochemical Characterization of Cladodes from Prickly Pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(21):10323-10330.
- [6] 韩雨露. 仙人掌果多糖的结构表征、理化性质及抗氧化活性研究 [D]. 合肥工业大学, 2017.
- [7] Tian Y, Zhao Y, Zeng H, et al. Structural characterization of a novel neutral polysaccharide from *Lentinus giganteus* and its antitumor activity through inducing apoptosis[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 154:231-240.
- [8] 龚欢, 覃宝怡, 施松善, 等. 制黄精多糖的结构表征及其抗氧化活性研究 [J]. *中草药*, 2024, 55(16):5418-5427.
- [9] Jiaojiao Mou, Qiang Li, Weiwei Shi, et al. Chain conformation, physicochemical properties of fucosylated chondroitin sulfate from sea cucumber *Stichopus chloronotus* and its in vitro fermentation by human gut microbiota—ScienceDirect[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 228:115359-115359.
- [10] Zhang M, Wang G, Lai F, et al. Structural Characterization and Immunomodulatory Activity of a Novel Polysaccharide from *Lepidium meyenii*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(9):1921-1931.
- [11] Wang K, Wang J, Li Q, et al. Structural differences and conformational characterization of five bioactive polysaccharides from *Lentinus edodes*[J]. *Food Research International*, 2014, 62:223-232.
- [12] Ribeiro L M D, Júnior C R A, Macedo D V R H G, et al. Polysaccharide-Based Formulations for Healing of Skin-Related Wound Infections: Lessons from Animal Models and Clinical Trials[J]. *Biomolecules*, 2019, 10(1):63-63.
- [13] Thi-Phuong N, N. H P, Duc T D, et al. Polysaccharide and ethanol extracts of *Anoectochilus formosanus* Hayata: Antioxidant, wound-healing, antibacterial, and cytotoxic activities[J]. *Heliyon*, 2023, 9(3): e13559-e13559.
- [14] Lorenzo D F, Silipo A, Molinaro A, et al. The polysaccharide and low molecular weight components of *Opuntia ficus indica* cladodes: Structure and skin repairing properties [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 157:128-136.
- [15] Ge Y, Duan Y, Fang G, et al. Polysaccharides from fruit calyx of *Physalis alkekengi* var. *francheti*: Isolation, purification, structural features and antioxidant activities[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2008, 77(2): 188-193.
- [16] Capek P, Machová E, Turjan J. Scavenging and antioxidant activities of immunomodulating polysaccharides isolated from *Salvia officinalis* L.[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2008, 44 (1): 75-80.

Structural Characterization and Biological Activity of *Opuntia Ficus-indica* Hyperbranched Polysaccharide

Xi Shu-yun¹, Xu Ya-hui²

(1. Shanghai Pechoin Biotechnology Co., Ltd. Shanghai, 200000

2. Nutri-Woods Bio-Tech (Beijing) Co., Ltd. Beijing, 100048)

Abstract : In order to analyze the structure and efficacy of *Opuntia ficus-indica* hyperbranched polysaccharide, the polysaccharide structures were elucidated through methods such as monosaccharide composition, methylation and electron microscope scanning. Then, the biological activities were studied by biochemical and cell-based experiments. The results showed that the average molecular weights of *Opuntia ficus-indica* polysaccharide (OFP) were mainly distributed at 6 kDa and 1500 kDa. Moreover, the low molecular weight component (OFP-1) was a hyperbranched polysaccharide with a degree of branching of 53.22%. In terms of efficacy, OFPs exhibited good antioxidation, anti-stimulation and cell migration, and the efficacy of OFP-1 was far higher than that of high molecular weight component (OFP-2). Therefore, it can be speculated that the biological activities of OFPs mainly come from low molecular weight polysaccharides, which laid a theoretical foundation for the application of cactus polysaccharides in cosmetics.

Keywords : *Opuntia ficus-indica*; hyperbranched polysaccharide; antioxidant; protective cell