

# Антиоксидантное и гипогликемическое действие экстрагируемых кислотой полисахаридов из *Cordyceps militaris* на мышей с диабетом 2 типа

---

Huajie Zhao , <sup>1,2</sup> Qiangqiang Lai , <sup>2</sup> Jianjun Zhang , <sup>2</sup> Chunyan Huang, <sup>1</sup> и Ле Цзя<sup>2</sup>  
Показать больше

**Академический редактор:** Алессандра Ричелли  
**Получили** 23 июля 2018  
**Принял** 23 сен 2018  
**Опубликовано** 25 ноя 2018

## Абстрактный

Настоящая работа выполнена для оценки действия кислотного экстрагируемого полисахарида (AE-PS) из плодовых тел *Cordyceps militaris* о сахарном диабете 2 типа (СД2) и его структурных характеристиках. Мышам T2DM, индуцированным диетой с высоким содержанием жиров (HFD) и стрептозотоцином (STZ), вводили 100 и 400 мг / кг AE-PS в течение 4 недель. Наша работа доказала, что AE-PS снижает уровни липидов в сыворотке, перекисного окисления липидов и глюкозы в крови; улучшение глюкозы и инсулинорезистентности; усиление антиоксидантной активности ферментов; и уменьшил повреждения печени, почек и поджелудочной железы у мышей с СД2. Эти результаты могут предложить ссылки на использование AE-PS в качестве функциональной пищи или природного источника лекарств для профилактики и лечения СД2, индуцированного HFD и STZ. Более того, результаты газовой хроматографии (ГХ) показали, что AE-PS был гетерогенным и состоял из фукозы, рибозы, арабинозы, ксилозы, маннозы, галактозы и глюкозы с массовыми процентами 1,23%, 0,57%, 0,29%, 2,12%, 2,73%, 4,66%, и 88,4% соответственно. Инфракрасный анализ с преобразованием Фурье (FTIR) и анализ ядерного магнитного резонанса (ЯМР) показали, что AE-PS представляет собой полисахарид пиранового типа  $\alpha$ - и  $\beta$ - конфигурации.

---

## 1. Введение

Сахарный диабет (СД), серьезное хроническое эндокринное нарушение обмена веществ, в 2014 году стал причиной мучительных пыток 8,5% взрослого населения во всем мире, и эта

тенденция к росту увеличилась до 366 миллионов или более к 2030 году, согласно отчетам Международной федерации диабета, и приведет большая экономическая нагрузка на общество [ 1 ]. СД делится на три типа, включая сахарный диабет 1-го типа, сахарный диабет 2-го типа (СД2) и гестационный сахарный диабет в соответствии с клиническими проявлениями [ 2 ]. СД2, а именно инсулиннезависимый сахарный диабет или диабет у взрослых, характеризуется гиперлипидемией и гипергликемией, возникающими в результате инсулинорезистентности периферических тканей или нарушения синтеза инсулина в поджелудочной железе, и составляет более 90% пациентов с диабетом [ 2- 4 ]. В настоящее время образ жизни и диетические факторы, такие как низкозатратная, высокожировая и высококалорийная диета, привели к росту числа пациентов с СД2, особенно с ожирением [ 5 , 6 ]. Между тем, некоторые исследователи сообщили, что образование активных форм кислорода и последующие окислительные повреждения, особенно в печени, почках и поджелудочной железе, могут вызывать симптом высокого уровня сахара в крови [ 7 ]. Следовательно, добавка антиоксидантов очень полезна для ослабления симптомов высокого уровня сахара в крови, тем самым предотвращая и вылечивая ДМ и его осложнения. Клинически некоторые препараты, такие как тиазолидиндионы и  $\alpha$ Ингибиторы -глюкозидазы предлагаются для лечения СД2. Однако применение этих синтетических препаратов ограничено их побочными эффектами, такими как желудочно-кишечные и сердечно-сосудистые события [ 8 , 9 ]. Поэтому все больше и больше исследователей придают большое значение использованию и производству природных противодиабетических веществ.

*Cordyceps militaris* , широко применяемый для лечения различных заболеваний в качестве традиционной медицины в Китае, в последние годы привлекает все больше внимания. Благодаря наличию многих биологически активных материалов, таких как углеводы, белок, жир, клетчатка, микроэлементы, зола и кордицепин, *C. militaris* обладает множеством полезных биоактивностей, включая противовоспалительное, антигиперлипидемическое, повышение инсулинорезистентности и секреции инсулина, антибактериальное и антибактериальное действие. Противоопухолевые, антиоксидантные, иммуномодулирующие и противовирусные [ 10 - 14 ]. Между тем, он также может улучшить репродуктивную функцию и лечить вызванную циклофосфамидом репродуктивную дисфункцию у мышей [ 15 ]. Полисахариды грибов, выделенные из плодовых тел, мицелия и ферментационного бульона, использовались в качестве источников терапевтических средств для лечения гиперлипидемии, гипергликемии, поражения печени и т. Д. [ 16 , 17 ].

Накопленная литература сообщает, что полисахариды, которые были основными биологически активными веществами *C. militaris* , стали горячей точкой научных исследований из-за потенциальной биологической активности. Лю и др. сообщили о полисахаридах с их собственной иммуномодулирующей и антиоксидантной активностью [ 18 ]. Бон и Бемиллер [ 19 ], а также Парк и др. [ 20 ] показали, что полисахариды *C. militaris* обладают противовоспалительным и противоопухолевым действием. Кроме того, во многих сообщениях показано, что полученные методы полисахаридов *C. militaris* представляют собой, в основном, экстракцию горячей водой и ультразвуком [ 18 , 21 ]. Однако было опубликовано мало сообщений о полисахаридах, экстрагируемых кислотой (AE-PS) из плодовых тел *C. militaris* ; его биологическая активность у мышей с СД2, содержащая антиоксидантное, гипогликемическое и защитное действие на печень и почки; и его характеристики. Таким образом, настоящая работа была направлена на изучение

гипогликемического, антиоксидантного и защитного действия на печень и почки АЕ-PS от *C. militaris* у мышей с СД2, индуцированных диетой с высоким содержанием жиров (HFD-) и стрептозотоцином (STZ-). Кроме того, были переработаны его структурные особенности.

---

## 2. Материалы и методы

### 2.1. Материалы и химикаты

Плодовое тело *C. militaris* было получено из Пекинского научно-исследовательского центра съедобных грибов (Пекин, Китай). Диагностические наборы для анализа супероксиддисмутазы (SOD), пероксида глутатиона (GSH-Px), каталазы (CAT) и малонового диальдегида (MDA) были приобретены в Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute (Нанкин, Китай). Стандартные образцы 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила (DPPH), STZ и моносахаридов (арабиноза, галактоза, глюкоза, фукоза, манноза, рамноза, рибоза и ксилоза) были предоставлены Sigma Chemicals Co. Ltd. (Сент-Луис, США). Все остальные реагенты, использованные в этом эксперименте, были аналитической степени чистоты и приобретались местными поставщиками химикатов. Мышей Kunming (самцы, 18–22 г) были приобретены у Taibang Biological Products Co. Ltd. (Тайань, Китай).

### 2.2. Подготовка АЕ-PS

АЕ-PS был приготовлен с использованием метода, описанного Lin et al. [22]. Вкратце, высушенный порошок *C. militaris* смешивали с нужными объемами соляной кислоты (0,5 М, 1:10, ) при 80 °С в течение 6 ч. Супернатант собирали центрифугированием (3000 об / мин, 10 мин) и осаждали 3 объемами этанола (95%, ) при 4 °С в течение ночи. Полученный осадок депротенизировали по методу Севаджа [23], диализовали деионизированной водой и лиофилизировали с получением АЕ-PS, который использовали для дальнейшей работы.

### 2.3. Антиоксидантный анализ *in vitro*

Восстановительная способность определялась с использованием ранее описанного метода [24]. Вкратце, АЕ-PS (1 мл, 0-400  $\mu$ г / мл), фосфатный буфер (2,5 мл, 0,2 М, рН 6,6) и калий феррицианиды (1 мл, 1%, ) инкубировали (50 °С, 20 мин). После этого трихлоруксусная кислота (2 мл, 10%, ) и хлорид железа (1,2 мл, 0,1%, ) были добавлены для прекращения указанной выше реакции. Наконец, была определена  $OD_{700\text{ нм}}$ . Во время антиоксидантного анализа *in vitro* деионизированная вода и витамин С (Vc) использовались в качестве холостого опыта и положительного контроля соответственно.

Активность по улавливанию радикала DPPH измеряли согласно методу, описанному Zhao et al. [25]. Смесь, включающая АЕ-PS (0,2 мл, 0-400  $\mu$ г / мл) и раствор ДФПГА (0,6 мл, 0,004%, в метаноле) помещали в темноту и выдерживали еще 30 мин. Впоследствии была измерена  $OD_{517\text{ нм}}$  и рассчитана скорость улавливания по следующей формуле: где - абсорбция холостого опыта, а - абсорбция АЕ-PS или Vc.

Способность улавливать гидроксильные радикалы оценивали по ранее описанной методике [ 26 ]. Сульфат железа (1 мл, 9 мМ), АЯ-PS (1 мл, 0-400  $\mu$  г / мл), салициловая кислота (1 мл, 9 мМ) и перекись водорода (1 мл, 8,8 мМ) выдерживали в течение 30 мин при 37 ° С и центрифугировании (3000 об / мин, 10 мин). Определяли OD<sub>510 нм</sub> и рассчитывали скорость поглощения по следующей формуле: где - абсорбция холостого опыта, а - абсорбция АЕ-PS или Vc.

В ИК<sub>50</sub> значений ( $\mu$  г / мл) или продувочный ДФПГ гидроксильного радикала были определены как эффективные концентрации образца , в которой радикалы были заторможены на 50%.

## 2.4. Исследование острой токсичности

Эксперименты проводились в соответствии с процедурами, утвержденными Комитетом по уходу и использованию животных Шаньдунского сельскохозяйственного университета в соответствии с Законом о животных (научные процедуры) 1986 года (с поправками 2013 года). Тест на острую токсичность на мышах проводился с использованием ранее описанного метода [ 27 ]. Двадцать мышей в среднем делили на одну группу, получавшую АЕ-PS, и одну группу с физиологическим раствором. Группе, получавшей АЕ-PS, вводили 5000 мг АЕ-PS / кг, а группе, получавшей нормальный физиологический раствор, вводили нормальный физиологический раствор того же объема. Во время этого эксперимента у всех мышей был свободный доступ к пище и воде, и наблюдали за смертностью и поведенческими изменениями в течение 14 дней.

## 2.5. Эксперимент на животных

Семьдесят мышей содержали при 12-часовом цикле свет / темнота, температуре 23  $\pm$  2 ° С, влажности 50  $\pm$  5%, в помещении для животных со свободным доступом к пище и воде. После недели приручения шесть мышей получали нормальный рацион в качестве нормальной контрольной (NC) группы для диабетической группы. Других мышей в качестве диабетической группы кормили HFD (15% сала, 2% холестерина, 0,3% холата натрия, 0,7% соли, 5% белого сахара и 77% обычного рациона). Через 4 недели мышей в группе диабета не кормили в течение 12 часов, но со свободным доступом к воде, и им дважды вводили внутривентриально раствор 60 мг / кг STZ в цитратном буфере в течение 72 часов, в то время как мышам группы NC вводили внутривентриально изометрические физиологический раствор. После кормления в течение 3 дней, Уровни глюкозы в крови мышей с диабетом оценивали путем взятия капли крови с кончика хвоста с помощью глюкометра (Sano Bio-sensing Technology Co. Ltd., Чанша, Китай). Мыши с концентрацией глюкозы в крови более 11,1 мМ были идентифицированы как мыши с диабетом и выбраны для дальнейших фармакологических исследований.

Twenty-four diabetic mice were selected with the closest body weight and blood glucose level and then randomized into four groups of 6 mice each including one model control (MC) group, one glimepiride (GL) group, and two AE-PS-treated groups. In the GL group, mice were treated with glimepiride (2 mg/kg). In the AE-PS-treated groups, mice were administered with high level (HAE-

PS, 400 mg/kg) and low level (LAE-PS, 100 mg/kg). In the NC and the MC groups, mice received saline of the same volume. Each treatment lasted for 4 weeks, and all mice had free access to food and water.

Во время эксперимента вес тела и уровень глюкозы в крови натощак (ВБР) всех мышей регистрировали три раза на 0, 4 и 8 неделях соответственно. На последней неделе лечения также проводился пероральный тест на толерантность к глюкозе по предыдущей методике [ 28 ]. Мышам, голодавшим в течение ночи, вводили раствор глюкозы 2 г / кг через желудочный зонд и брали образцы крови из хвостовой вены для оценки уровней глюкозы в крови через 0, 30, 60, 90 и 120 мин.

В конце эксперимента всех мышей голодали в течение одной ночи, а затем быстро умерщвляли путем эвтаназии. Образцы крови собирали из орбитального синуса и центрифугировали (4000 об / мин, 10 мин, 4 ° C) для получения сыворотки, а печень, почки и поджелудочную железу удаляли хирургическим путем, взвешивали и немедленно гомогенизировали в растворах фосфатного буфера (0,2 М , рН 7,4) и центрифугировали (3000 об / мин, 10 мин, 4 ° C), чтобы предложить гомогенаты для дальнейшего биохимического анализа. Общий холестерин (ТС), триглицериды (TG), холестерин липопротеидов низкой плотности (LDL-C), холестерин липопротеинов высокой плотности (HDL-C), аланинаминотрансфераза (ALT), аспаргатаминотрансфераза (AST), азот мочевины ( BUN) и креатинин (CRE) оценивали с помощью автоматического биохимического анализатора (BS-380, Шэньчжэнь, Китай). SOD, GSH-Px, CAT и MDA в печени, почках, поджелудочной железе, и кровь, а также инсулин сыворотки оценивались с использованием коммерческих наборов реагентов в соответствии с инструкциями производителя. Срезы печени, почек и поджелудочной железы были подготовлены для гистопатологических наблюдений методом ранее опубликованного исследования [25 ].

## **2.6. Газовая хроматография (ГХ), инфракрасный анализ с преобразованием Фурье (FTIR) и спектроскопический анализ ядерного магнитного резонанса (ЯМР)**

Моносахаридный состав АЕ-PS рассчитывали с помощью газового хроматографа (GC-2010, Shimadzu, Япония), оснащенного детектором ионизации водородным пламенем. АЕ-PS и стандартные моносахариды (ксилоза, рибоза, арабиноза, манноза, галактоза, глюкоза, рамноза и фукоза) были приготовлены согласно опубликованному нами методу [ 29 ]. Обработанный супернатант (1 *мкл* ) вводили в капиллярную колонку из плавленого кремнезема HP-5 (3000 × 0,32 × 0,25 мм) и анализировали по стандартным кривым стандартных моносахаридов.

ИК-Фурье-спектр АЕ-PS анализировали с помощью инфракрасного спектрометра (Nicolet 6700, Thermo Fisher Scientific, США) в диапазоне частот 4000-500 см<sup>-1</sup> методом диска бромида калия.

Спектр ЯМР АЕ-PS в дейтерированной воде регистрировали на спектрометре Bruker AV-300, работающем при 300 МГц при 25 ° C.

## **2.7. Статистический анализ**

Статистический анализ был выполнен с помощью программного обеспечения SPSS. Все данные были выражены как средние значения  $\pm$  стандартное отклонение. Различия между экспериментальными группами считались статистически значимыми, если односторонним дисперсионным анализом множественных тестов Дункана.

### 3. Результаты

#### 3.1. Антиоксидантные способности АЕ-PS *in vitro*

Чем выше значение поглощения образца, тем сильнее его восстанавливающая способность. Понижающие способности АЕ-PS и Vc показаны на рисунке [1\(a\)](#). Снижения мощности АЕ-PS был повышен с увеличением концентрации образца от 0 до 400  $\mu\text{г} / \text{мл}$ . При 400  $\mu\text{г} / \text{мл}$ , восстанавливающая мощность АЕ-PS достигла  $0,94 \pm 0,08$ .

а)

б)

с)

а)

б)

с)

#### фигура 1\_

Антиоксидантная активность АЕ-PS *in vitro* : (а) восстанавливающая сила, (б) скорость поглощения DPPH и (с) скорость поглощения гидроксильного радикала.

Активность образцов по поглощению радикала DPPH отражалась в исходном изменении цвета жидкости. Способность АЕ-PS поглощать радикал DPPH зависела от концентрации (рис. [1\(b\)](#)). При 400  $\mu\text{г} / \text{мл}$ , в поглощающие способности Vc и АЕ-PS наДФПГ радикала  $94,19 \pm 3,91\%$  и  $77,28 \pm 2,24\%$  и  $IC_{50}$  значения Vc и АЕ-PS достигло  $119.475 \pm 2.077 \mu\text{г} / \text{мл}$  и  $167.125 \pm 2,223 \mu\text{г} / \text{мл}$ , соответственно.

Очевидно, что активность Vc и АЕ-PS по поглощению гидроксильных радикалов положительно коррелировала с концентрациями (рис. [1\(c\)](#)). Поглощающий активность Vc и АЕ-PS достигла  $68.41 \pm 3.20$  и  $50,91 \pm 2,87\%$  при концентрации 400  $\mu\text{г} / \text{мл}$ , и  $IC_{50}$  значения Vc и АЕ-PS были  $271,709 \pm 2,434$  и  $419,720 \pm 2,623 \mu\text{г} / \text{мл}$ .

#### 3.2. Исследование острой токсичности

При испытании на острую токсичность у испытуемых мышей не наблюдали аномального поведения и смертей, что указывает на то, что АЕ-PS был практически нетоксичным веществом.

### 3.3. Влияние АЕ-PS на массу тела и индексы органов

Вес тела и индексы органов всех экспериментальных мышей на трех различных экспериментальных стадиях показаны на рисунке 2. Исходная масса мышей среди всех групп не имеет достоверных различий. После процесса моделирования в течение 4 недель масса тела в группе NC была явно ниже, чем в других группах ( ). Через 8 недель в группе MC было отмечено значительное снижение массы тела и отчетливое увеличение показателей печени и почек по сравнению с группой NC ( ), в то время как пероральный прием АЕ-PS и GL, очевидно, увеличивал массу тела и снижал показатели печени и почек по сравнению с таковыми в группе MC ( ). Однако статистически значимых различий индекса поджелудочной железы среди всех групп не было.

а)

(б)

а)  
(б)

#### фигура 2\_

Влияние АЕ-PS на массу тела и индексы органов у мышей с СД2. (а) масса тела и (б) индексы органов. Значения представлены как средние  $\pm$  стандартное отклонение. Полоски с разными буквами существенно отличаются ( ).

### 3.4. Влияние АЕ-PS на FBG, уровни инсулина в сыворотке и способность пероральной толерантности к глюкозе

Уровни FBG на трех различных экспериментальных стадиях приведены на рисунке 3 (а). На 0 неделе уровень ВБР среди групп не претерпел заметных изменений. Через 4 недели уровень ВБР у мышей в группе NC был ниже, чем в группах MC, GL и дозировке ( ) и уровни FBG в группах MC, GL и дозе превышали 11,1 мМ, что указывает на успешное внедрение модели СД2. В конце эксперимента группа MC показала наблюдаемое повышение уровня FBG по сравнению с группой NC ( ). Однако лечение разными дозами АЕ-PS или GL в течение четырех недель показало заметное снижение по сравнению с группой MC ( ).

а)

(б)

(с)

(г)

а)

(б)

(с)

(г)

### **Рисунок 3**

Влияние АЕ-PS на FBG, уровни инсулина в сыворотке и способность пероральной толерантности к глюкозе у мышей T2DM. (а) уровни FBG, (б) уровни инсулина и пероральный тест на толерантность к глюкозе: (с) уровни глюкозы в крови и (д) AUC. Значения представлены как средние  $\pm$  стандартное отклонение. Полоски с разными буквами существенно отличаются ( ).

Как показано на Рисунке 3 (б) , уровень инсулина в сыворотке в группе МС продемонстрировал заметное повышение по сравнению с таковым в группе NC ( ), что свидетельствует о наличии инсулинорезистентности у мышей с диабетом. Кроме того, уровни сывороточного инсулина в группах GL и АЕ-PS были снижены по сравнению с таковым в группе МС.

Изменение уровня глюкозы в крови в каждой группе после перорального введения глюкозы (2 г / кг) показано на рисунке 3 (с) . Уровни глюкозы в крови всех экспериментальных групп достигали пика через 30 мин, а затем в группе NC постепенно восстанавливались до исходного уровня через 120 мин. Однако уровень глюкозы в крови в других группах неизменно поддерживался на высоком уровне в течение всего теста. Кроме того, площадь под кривой (AUC) была рассчитана с помощью GraphPad Prism 5 (Рисунок 3 (д) ). AUC (3217,0  $\pm$  285,0) в группе МС была выше, чем (1014,0  $\pm$  100,2) в группе NC ( ). Введение АЕ-PS и GL привело к значительному подавлению AUC по сравнению с группой МС.

### **3.5. Влияние АЕ-PS на AST, ALT, BUN и CRE**

Как показано на рисунках 4 (а) - 4 (д) , активность AST, ALT и уровни BUN и CRE показали заметный рост в группе МС по сравнению с таковыми в группе NC (все с ), что свидетельствует о повреждении печени и почек. Напротив, предварительная обработка АЕ-PS заметно ингибировала аномальное увеличение этих индексов ( ) по сравнению с таковыми в группе МС.



a)

(б)

(с)

(г)

(е)

(е)

(грамм)

a)

(б)

(с)

(г)

(е)

(е)

(грамм)

#### **Рисунок 4\_**

Влияние АЕ-PS на свойства сыворотки у мышей T2DM: (a) AST, (b) ALT, (c) BUN, (d) CRE, (e) HDL-C, (f) LDL-C и (g) TC. Значения представлены как средние  $\pm$  стандартное отклонение. Полоски с разными буквами существенно отличаются ( ).

### **3.6. Влияние АЕ-PS на параметры метаболизма липидов**

Уровни LDL-C и TC увеличились, тогда как уровень HDL-C снизился в группе МС по сравнению с таковой в группе NC ( , Рисунки 4 (д) - 4 (ж) ). Интересно, что аномальное повышение уровней ХС-ЛПНП и ОХ и снижение уровня ХС-ЛПВП было значительно улучшено при добавлении АЕ-PS по сравнению с таковыми в группе МС.

### **3.7. Гистопатологическое исследование печени и почек**

Изображения гистологических срезов печени и почек показаны на рисунках [5](#) и [6](#). Очевидное повреждение печени, характеризующееся клеточной дегенерацией и некрозом гепатоцитов, было обнаружено в группе МС по сравнению с таковой в группе NC (Рисунки [5 \(a\)](#) и [5 \(b\)](#)). Разрушение клубочков, гломерулярный склероз, вакуолизация канальцевых эпителиальных клеток и потеря щеточной каймы наблюдались в разрезе почек в группе МС по сравнению с таковой в группе NC (Рисунки [6 \(a\)](#) и [6 \(b\)](#)). Срезы печени и почек мышей, получавших АЕ-PS (100 и 400 мг / кг), явно улучшили эти повреждения по сравнению с таковыми в группе МС (Фигуры [5 \(d\)](#), [5 \(e\)](#), [6 \(d\)](#) и [6 \(e\)](#)).

**a)**

**(б)**

**(c)**

**(г)**

**(e)**

**a)**

**(б)**

**(c)**

**(г)**

**(e)**

### **Рисунок 5.**

Оптические микрофотографии срезов печени мышей (увеличение 400 ×) у мышей T2DM. (a) группа NC, (b) группа МС, (c) группа GL, (d) группа НАЕ-PS и (e) группа LAЕ-PS.

**a)**

**(б)**

**(c)**

**(г)**

(e)

a)

(б)

(с)

(г)

(е)

### Рисунок 6\_

Оптические микрофотографии срезов почек мышей (увеличение 400x) мышей с СД2. (a) группа NC, (b) группа MC, (c) группа GL, (d) группа HAE-PS и (e) группа LAE-PS.

### 3.8. Влияние АЕ-PS на антиоксидантные ферменты и перекись липидов

Как показано на рисунках [7\(a\)](#) - [7\(c\)](#) , [7\(e\)](#) - [7\(g\)](#) и [7\(i\)](#) - [7\(k\)](#) , значительное снижение SOD в печени, почек и поджелудочной железы, GSH-Px , и активность CAT была обнаружена у мышей с HFD- и STZ-индуцированным диабетом по сравнению с таковыми в группе NC ( ), демонстрируя, что у мышей с диабетом имел место окислительный стресс. Однако лечение АЕ-PS повысило эти параметры по сравнению с таковыми в группе MC. Активность печеночной SOD, GSH-Px и CAT увеличилась на 79,2%, 113,7% и 56,8% в группе HAE-PS, а также на 51,8%, 64,3% и 31,4% в группе LAE-PS, соответственно. , по сравнению с группой MC. Сходная тенденция АЕ-PS к активности SOD, CAT и CAT наблюдалась в гомогенатах почек и поджелудочной железы; активности SOD, GSH-Px и CAT в группе HAE-PS были на 119,0%, 97,1% и 89,1% в почках, а также на 61,3%, 102,1% и 156,9% в поджелудочной железе выше, чем в группе Группа MC.

a)

(б)

(с)

(г)

(е)

(e)

(грамм)

(час)

(я)

(j)

(k)

(l)

a)

(б)

(с)

(г)

(е)

(е)

(грамм)

(час)

(я)

(j)

(k)

(l)

### **Рисунок 7\_**

Влияние АЕ-PS на SOD, GSH-Px, CAT и MDA у мышей T2DM. (a – d) в гомогенатах печени, (e – h) в гомогенатах почек и (i – l) в гомогенатах поджелудочной железы, соответственно. Значения представлены как средние  $\pm$  стандартное отклонение. Полоски с разными буквами существенно отличаются ( ).

Кроме того, также оценивали перекисное окисление липидов, таких как MDA (Фигуры [7 \(d\)](#) , [7 \(h\)](#) и [7 \(l\)](#) ). Уровень MDA в группе MC был выше, чем в группе NC ( ) в печени, почках и поджелудочной железе. После добавления АЕ-PS повышенные тенденции были значительно ослаблены.

### 3.9. ГХ, ИК-Фурье и ЯМР-спектроскопический анализ

Моносахаридный состав АЕ-PS измеряли путем сравнения со временами удерживания и пиками хроматографа стандартных моносахаридов, включая ксилозу, рибозу, арабинозу, маннозу, галактозу, глюкозу, рамнозу и фукозу (рис. [8 \(a\)](#) ). АЕ-PS состоял из семи различных моносахаридов фукозы, рибозы, арабинозы, ксилозы, маннозы, галактозы и глюкозы с массовыми процентами 1,23%, 0,57%, 0,29%, 2,12%, 2,73%, 4,66% и 88,4%. %, соответственно (рис. [8 \(b\)](#) ), показывая, что АЕ-PS был гетерогенным, а глюкоза является основным компонентом.

a)

(b)

(c)

(г)

(e)

a)

(b)

(c)

(г)

(e)

#### Рисунок 8

Предварительные характеристики: (a) GC-хроматограммы стандартных моносахаридов, (b) GC-хроматограммы АЕ-PS, (c) FT-IR, (d)  $^1\text{H}$  ЯМР и (e)  $^{13}\text{C}$  ЯМР.

ИК-Фурье спектры были мощным методом, позволяющим хорошо идентифицировать характерные функциональные и органические группы. Широкая и сильная полоса при  $3425.01\text{ см}^{-1}$  из -ОНА валентных колебаний, слабый пик при  $2927.46\text{ см}^{-1}$  С-Н изгибных колебаний, пик при  $1641.15\text{ см}^{-1}$  C = O асимметричных колебаний, а пик при  $1409.3\text{ см}^{-1}$

<sup>1</sup> валентных колебаний –COOH показаны на рисунке 8 (с) в ИК-Фурье спектрах АЕ-PS в диапазоне 500-4000 см<sup>-1</sup>. Кроме того, сильное обширное поглощение при 1200–900 см<sup>-1</sup> для связанных колебаний гликозидной полосы С – О – С и деформационных колебаний С – О – Н боковых групп указывает на характерные поглощения полисахаридов [30]. Диагностические пики поглощения при 915,31 см<sup>-1</sup>, 848,54 см<sup>-1</sup> и 761,76 см<sup>-1</sup> могут указывать на присутствие β-D-пираноидной глюкозы и α-изомеров пиранозы [31]. На основании результатов, упомянутых выше, можно сделать вывод, что АЕ-PS был сахаром пиранозной формы с α- и β- конфигурациями.

Как показано на рисунке 8 (d), сигналы АЕ-PS были распределены при δ<sub>н</sub> 3,0–5,4, которые были типичными сигналами ЯМР полисахаридов [32]. Химические сдвиги аномерных протонов при 5,40, 5,23, 5,20, 5,08, 5,00, 4,54 и 4,22 частей на миллион указывают на существование как α-, так и β- конфигураций в АЕ-PS [33]. Сигналы от 3.09 до 3.98 м.д. отнесены к атомам Н2 – Н6. Множество сигналов при δ<sub>н</sub> 0,94–1,99 были известны как принадлежность групп N – СН<sub>3</sub> и N – Н. В спектре ЯМР <sup>13</sup>С (рис. 8 (е)), сигналы при 100,26 м.д., 99,88 м.д., 99,68 м.д. и 93,40 м.д. проявляют как α-, так и β- аномерные конфигурации, существующие в АЕ-PS [34]. Сигналы при δ<sub>н</sub> 76,85–60,63 отнесены к С2 – С6. Кроме того, сигналы при 5,40 м. Д., 5,23 м. Д., 5,20 м. Д., 5,08 м. Д. и 5,00 м. Д. В спектре <sup>1</sup>Н ЯМР были отнесены к аномерным протонам α- глюкопиранозных единиц в основной цепи, что подтверждалось сигналом при 93,40 м. Д. В Спектр ЯМР <sup>13</sup>С [35, 36]. Химический сдвиг аномерного протона при 4,54 и 4,22 м.д. и <sup>13</sup>Химический сдвиг С при 100,26 ppm, 99,88 ppm и 99,68 ppm может быть отнесен к β-галактопиранозе [37, 38]. Результаты анализа ЯМР были также подтверждены анализом ГХ и ИК-Фурье.

## 4. Обсуждение

Этиология СД2 в основном связана с нарушением секреции инсулина и развитием инсулинорезистентности. Аномальная секреция инсулина происходит из-за функционального дефицита и потери β- клеток поджелудочной железы, что в первую очередь может вызывать гипергликемию и впоследствии снижать чувствительность к инсулину [39, 40].

Следовательно, экспериментальная модель на животных должна имитировать патогенез и клинические особенности людей с СД2. В настоящее время животные модели, широко используемые в экспериментальных исследованиях, содержат мышей KK / A<sup>y</sup>, db / db и ob / ob, которые обладают наследственной гипергликемией и инсулинорезистентностью [41]. Тем не менее, эти модели на животных более дороги, их труднее разводить, они поддерживают постоянство при патологических состояниях и не подходят для исследований средств, усиливающих секрецию инсулина, из-за серьезной инсулинорезистентности. Во многих литературных источниках сообщается, что модель T2DM, созданная путем кормления мышей HFD для возникновения инсулинорезистентности с последующим введением STZ, является сравнительно дешевой и простой и точно отражает патологические особенности T2DM [1, 39]. В нашей работе мышей кормили HFD в течение 4 недель, а затем дважды внутривентриально вводили раствор STZ 60 мг / кг в цитратном буфере в течение 72 часов для создания модели T2DM.

Снижение веса, обычное явление при диабете, может быть связано с неэффективным использованием большинства белков и углеводов [ 42 ]. В этой работе у мышей с диабетом, индуцированных HFD и STZ, наблюдалось заметное снижение массы тела, а также значительное увеличение показателей органов печени и почек, что соответствовало результатам, опубликованным Li et al. [ 43 ]. Однако потеря веса тела и увеличение показателей органов заметно улучшились при введении АЕ-PS. По сравнению с полисахаридами *Inonotus obliquus* в дозировке 900 мг / кг скорость роста массы тела (13,03%) и скорость снижения индекса печени (20,87%) и индекса почек (25,98%) мышей в НАЕ -PS группа была выше, чем у мышей, получавших Полисахариды *I. obliquus* [ 1 ]. Эти результаты показали, что АЕ-PS обладает хорошим терапевтическим эффектом в отношении потери веса тела, вызванной T2DM, и увеличения индексов органов.

ВСК и тесты на толерантность к глюкозе являются двумя наиболее распространенными тестами для диагностики диабета [ 44 ]. Следовательно, в настоящем исследовании во время лечения исследовались как ВБР, так и способность пероральной толерантности к глюкозе. В нашей работе инъекция СТЗ, очевидно, увеличивала уровни ВБР и ухудшала способность пероральной толерантности к глюкозе. Однако было очевидно, что добавка АЕ-PS может снизить концентрацию FBG и улучшить ухудшенную способность пероральной толерантности к глюкозе у мышей T2DM, особенно АЕ-PS в дозе 400 мг / кг.

Кроме того, инсулинорезистентность обычно используется в качестве показателя для оценки диабета. Петля обратной связи инсулина представляет собой простейший механизм в базовом состоянии, а взаимодействие  $\beta$ - клеток, печени и периферических тканей поддерживает динамическое равновесие уровней инсулина [ 45 ]. Строгий контроль инсулина играет важную роль в профилактике и лечении диабета. В нашем исследовании T2DM значительно повышал уровень инсулина в диабетических группах, тогда как лечение АЕ-PS снижало уровень инсулина, демонстрируя, что АЕ-PS может смягчить инсулинорезистентность, тем самым достигнув терапевтического эффекта на T2DM.

Во многих сообщениях показано, что T2DM тесно связан с дислипидемией из-за снижения чувствительности рецепторов мембран жировых клеток к инсулину, что ведет к ослаблению антижирового эффекта и вызывает накопление жирных кислот в крови [ 45 , 46 ]. Согласно нашей работе, введение АЕ-PS значительно снизило уровни TC и LDL-C и заметно увеличило уровни HDL-C у мышей с диабетом, что указывает на то, что АЕ-PS может оказывать положительное влияние на гиперлипидемию, вызванную T2DM, для снижения риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Клинически сывороточные АСТ и АЛТ обычно используются в качестве биохимических маркеров для оценки повреждения печени, и их активность заметно повышается, когда происходит повреждение печени, что связано с нарушением проницаемости гепатоцитарной мембраны, что приводит к проникновению АЛТ и АСТ в кровообращение [ 25 ]. . Физическое состояние почек диагностируется путем мониторинга динамических изменений уровней BUN и CRE [ 22 ]. BUN, эндогенное вещество, вырабатывается при разложении печеночного белка и выводится через клубочковую фильтрацию. CRE - это эндогенный побочный продукт катаболизма креатина и фосфокреатина, который затем попадает в жидкости организма. Настоящая работа показала, что АЕ-PS может восстанавливать повреждения тканей печени и

почек у мышей с диабетом. Кроме того, защитные эффекты на печень и почки могут быть подтверждены гистопатологическими исследованиями клинически. В настоящее время окрашивание H&E печени и почек у мышей T2DM также было обработано для проверки защиты на клеточном уровне. Результаты показали, что вызванное STZ повреждение печени и почек может быть ингибировано АЕ-PS, что также было подтверждено результатами оценок AST, ALT, BUN и CRE.

Диабет связан с окислительным стрессом, вызванным дисбалансом между антиоксидантной способностью и уровнями свободных радикалов и / или реактивного кислорода в организмах, что связано с резистентностью к инсулину, которая может снизить утилизацию глюкозы и увеличить уровни свободных радикалов, полученных из кислорода [ 45 ]. Чтобы хорошо оценить противодиабетическую способность АЕ-PS, *in vitro* и *in vivo* , были проанализированы его антиоксидантные способности. Снижение мощности обычно связано с существованием редуктонов, которые могут оказывать антиоксидантное действие, отдавая атом водорода при разрыве цепи свободных радикалов [ 25 ]. DPPH как стабильное соединение свободных радикалов является широким индикатором и быстрым методом тестирования способности различных антиоксидантных образцов улавливать свободные радикалы [ 21 ]. Гидроксильный радикал, самая сильная химическая активность среди свободных радикалов и / или реактивного кислорода, может разрушать многие биомолекулы, такие как белок, РНК и ДНК [ 17 ]. Основываясь на этих результатах, АЕ-PS показал потенциал для развития в качестве природного антиоксиданта для предотвращения и лечения заболеваний, вызванных ROS. Кроме того, Jing et al. [ 21 ] исследовали антиоксидантную способность экстрагируемых водой полисахаридов. Его свойство снижения (0,62) было ниже , чем (0,94) АЕ-PS при 400  $\mu$  г / мл, и его ИК<sub>50</sub> значений до продувочногоДФПГА (1150  $\mu$  г / мл) и гидроксильный радикал (548  $\mu$  г / мл) были выше по сравнению с теми АЕ-PS, указывая , что АЭ-PS имел более сильную антиоксидантную способность. Антиоксидантные ферменты *in vivo*, включая SOD, GSH-Px и CAT, могут защищать от образования ROS в условиях окислительного стресса с возможным механизмом, с помощью которого SOD может активировать дисмутацию супероксидных радикалов до перекиси водорода, которая, наконец, разлагается до H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и O<sub>2</sub>с помощью GSH-Px и CAT, что приводит к предотвращению образования ROS [ 29 , 47 , 48 ]. В нашем исследовании АЕ-PS ингибировал снижение SOD, GSH-Px и CAT в печени, почках и поджелудочной железе у мышей с диабетом, индуцированным HFD и STZ. Результаты свидетельствовали о том, что АЕ-PS потенциально лечился и предотвращался от T2DM за счет повышения антиоксидантных эффектов *in vivo* . Более того, свободные радикалы и / или реактивный кислород могут взаимодействовать с полиненасыщенными жирными кислотами с образованием перекисного окисления липидов (MDA), которое считается маркером повреждений тканей, вызванных окислительным стрессом [ 49 ]. Однако аномальные уровни MDA в печени, почках и поджелудочной железе мышей с HFD и STZ-индуцированным диабетом подавлялись введением АЕ-PS, что указывает на то, что АЕ-PS может устранять свободные радикалы и / или липиды, индуцированные реактивным кислородом. перекисное окисление.

Оценка ГХ показала, что АЕ-PS состоит из фукозы, рибозы, арабинозы, ксилозы, маннозы, галактозы и глюкозы, которые отличаются от СМР-W1 (манноза, галактоза и глюкоза) субкритической водной экстракцией, СВР-1 ( манноза, галактоза и глюкоза) путем щелочной



экстракции из плодовых тел и кислые полисахариды (ксилоза, арабиноза, галактоза и рамноза) из мицелия *C. militaris* [ 50 ]. Кроме того, АЕ-PS представлял собой полисахарид с  $\alpha$ - и  $\beta$ - конфигурацией по данным FT-IR и ЯМР, который отличался от CSP и SeCSP-II ( $\beta$ - конфигурация) *C. militaris* [ 51]. Эти разные результаты могут быть связаны с условиями экстракции и состояниями образца. Более того, моносахаридный состав и структура полисахарида грибов могут играть важную роль в его биологической активности [ 17 , 52 , 53 ]. Лу и др. сообщили, что полисахариды *Auricularia auricularia* обладают замечательным гипогликемическим эффектом у мышей с диабетом [ 54 ]. Zhao et al. [ 25 ], Song et al. [ 55 ] и Ma et al. [ 56 ] сообщили, что фукоза играет важную роль в обеспечении более высокой биологической активности, а  $\beta$ гликозидные связи -типа могут поддерживать биологическую активность. АЕ-PS проявлял антиоксидантную и гипогликемическую активность, а также защитное действие на печень и почки, что может быть связано со свойствами гликозидных связей этого  $\beta$ - типа и гетерополисахарида, содержащего фукозу.

---

## 5. Выводы

Эта работа показала, что АЕ-PS из *C. militaris* обладает потенциальной антиоксидантной, антигиперлипидемической и гипогликемической активностью, повышает инсулинорезистентность и защищает печень, почки и поджелудочную железу у мышей T2DM, что позволяет предположить, что АЕ-PS можно использовать как потенциально натуральный нетоксичный и функциональный продукт питания для профилактики и лечения СД2 и его осложнений, вызванных HFD и STZ. Кроме того, анализ ГХ показал, что АЕ-PS был гетерогенным, а глюкоза была основным моносахаридным компонентом. Анализ FT-IR и ЯМР показал, что АЕ-PS был полисахаридом с пирановым кольцом с  $\alpha$ - и  $\beta$ - конфигурациями.

---

## Сокращения

АЕ-PS:	Полисахариды, экстрагируемые кислотой
ALT:	Аланинаминотрансфераза
AST:	Аспаратаминотрансфераза
AUC:	Площадь под кривой
БУЛОЧКА:	Азот мочевины
КОТ:	Каталаза
CRE:	Креатинин
DPPH:	1,1-дифенил-2-пикрилгидразил
DM:	Сахарный диабет
ВБР:	Уровень глюкозы в крови натощак
FTIR:	Инфракрасное преобразование Фурье
GC:	Газовая хроматография
GL:	Глимепирид
GSH-Px:	Глутатион пероксидаза
ЛПВП-Х:	Холестерин липопротеинов высокой плотности
HFD:	Диета с высоким содержанием жиров

ЛПНП-Х:	Холестерин липопротеинов низкой плотности
МС:	Управление моделью
MDA:	Малоновый диальдегид
NC:	Нормальный контроль
ЯМР:	Ядерный магнитный резонанс
SD:	Стандартное отклонение
SOD:	Супероксиддисмутаза
СТЗ:	Стрептозотоцин
СД2:	Сахарный диабет 2 типа
ТС:	Общий холестерин
ТГ:	Триглицерид
ВК:	Витамин С.

---

## Доступность данных

Данные, использованные для подтверждения результатов этого исследования, доступны по запросу у соответствующего автора.

---

## Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конкурирующих финансовых интересов.

---

## Благодарности

Авторы выражают признательность за финансовую поддержку Системе грибных технологий провинции Шаньдун (SDAIT-07-05).

---

## Рекомендации

1. J. Wang, C. Wang, S. Li et al., «Антидиабетические эффекты полисахаридов *Inonotus obliquus* у мышей с диабетом 2 типа, индуцированного стрептозотоцином, и потенциальный механизм через сигнальный путь PI3K-Akt», *Биомедицина и фармакотерапия*, том. 95. С. 1669–1677, 2017. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
2. W. Li, G. Yuan, Y. Pan, C. Wang и H. Chen, «Сетевые фармакологические исследования биоактивных соединений и механизмов действия натуральных продуктов для лечения сахарного диабета: обзор», *Frontiers in Pharmacology*, т. 8, стр. 74, 2017. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)

3. Р. Дж. Хайне, «Диабет в следующем столетии: проблемы и возможности», *Нидерландский медицинский журнал*, вып. 55, нет. 6. С. 265–270, 1999. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
4. NY Wang, WC Kan, TJ Cheng, SH Yu, LH Chang и JJ Chuu, «Дифференциальные антидиабетические эффекты и механизм действия богатого чарантином экстракта тайваньской *Momordica charantia* между диабетическими мышами 1 и 2 типа», *Food and Химическая токсикология*, т. 69. С. 347–356, 2014. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
5. KL Tucker и S. Buvanapin, «Питание и старение в развивающихся странах», *Journal of Nutrition*, vol. 131, вып. 9. С. 2417S – 2423S, 2001. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
6. SH Yu, SYT Chen, WS Li et al., «Гипогликемическая активность за счет новой комбинации плодового тела и мицелия *Cordyceps militaris* у мышей с сахарным диабетом 2 типа, вызванного диетой с высоким содержанием жиров», *Journal of Diabetes Research*, vol. 2015 г., идентификатор статьи 723190, 10 стр., 2015 г. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
7. Р. Каккар, С. В. Манга, Дж. Радхи, К. Прасад и Дж. Калра, «Повышенный окислительный стресс в печени и поджелудочной железе крыс во время прогрессирования диабета, индуцированного стрептозотоцином», *Клиническая наука*, том. 94, нет. 6. С. 623–632, 1998. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
8. Х. Флорез, Дж. Луо, С. Кастильо-Флорез и др. «Влияние желудочно-кишечных симптомов, вызванных метформином, на качество жизни и приверженность лечению у пациентов с диабетом 2 типа», *Последипломная медицина*, том. 122, нет. 2. С. 112–120, 2015. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
9. Д. С. Белл, Х. Р. Патил и Дж. Х. О'Киф, «Дивергентные эффекты различных лекарств от диабета на сердечно-сосудистый прогноз», *Обзоры в сердечно-сосудистой медицине*, вып. 14, вып. 2–4, с. E107 – e122, 2013. Посмотреть: [Google Scholar](#)
10. Л. Ван, С. К. Лю, Й. Ванг, Х. Сю, Х. Су и Х. Ченг, «Антибактериальная активность новых наночастиц серебра, биосинтезированных с использованием экстракта *Cordyceps militaris*», *Current Applied Physics*, vol. 16, нет. 9. С. 969–973, 2016. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
11. PH Leung, QX Zhang и JY Wu, «Культивирование мицелия, химический состав и противоопухолевая активность гриба *Tolyocladium* sp, выделенного из дикого *Cordyceps sinensis*», *Журнал прикладной микробиологии*, вып. 101, нет. 2. С. 275–283, 2006. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)

12. XC Liu, ZY Zhu, YL Tang et al., «Структурные свойства полисахаридов из культурных плодовых тел и мицелия *Cordyceps militaris*», *Углеводные полимеры*, т. 142. С. 63–72, 2016.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
13. Дж. Ван, К. Чен, З. Цзян, М. Ван, Х. Цзян и Х. Чжан, «Защитный эффект экстракта *Cordyceps militaris* против бисфенола А, вызванного репродуктивным повреждением», *Системная биология в репродуктивной медицине*, вып. 62, нет. 4. С. 249–257, 2016.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
14. В. Чен, В. Чжан, В. Шен и К. Ван, «Влияние кислой полисахаридной фракции, выделенной из культивированного *Cordyceps sinensis*, на макрофаги in vitro», *Cellular Immunology*, vol. 262, нет. 1. С. 69–74, 2010.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
15. Л. Цзинь и С. З. Чен, «Эффект окислительного повреждения китайского гусеничного гриба ontetis, вызванного циклофосфамидом у мышей», *Здоровье матери и ребенка Китая*, том. 23. С. 1858–1860, 2008.Посмотреть: [Google Scholar](#)
16. Т. Qiu, Х. Ма, М. Ye, R. Yuan и Y. Wu, «Очищение, структура, снижение липидов и защитное действие полисахарида из *Lachnum YM281* на печень», *Carbohydrate Polymers*, т. 98, нет. 1. С. 922–930, 2013.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
17. J. Zhang, M. Liu, Y. Yang et al., «Очистка, характеристика и гепатопротекторная активность полисахаридов цинка мицелия с помощью *Pleurotus djamor*», *Carbohydrate Polymers*, т. 136, нет. 6. С. 588–597, 2016.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
18. JY Лю, CP Фен, Х. Ли, MC Чанг, JL Meng и LJ Ху, «Иммуномодулирующая и антиоксидантная активность полисахаридов *Cordyceps militaris* у мышей», *Международный журнал биологических макромолекул*, вып. 86. С. 594–598, 2016.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
19. Дж. А. Бон и Дж. Бемиллер, «(1 → 3) -β-D-глюканы как модификаторы биологического ответа: обзор взаимосвязей структура-функциональная активность», *Углеводные полимеры*, т. 28, вып. 1. С. 3–14, 1995.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
20. SE Park, J. Kim, Y.-W. Ли, Х.-С. Ю и Ч.-К. Чо, «Противоопухолевая активность водных экстрактов *Cordyceps militaris* у голых мышей с ксенотрансплантатами клеток NCI-H460», *Журнал исследований акупунктуры и меридианов*, вып. 2, вып. 4. С. 294–300, 2009.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
21. Y. Jing, X. Cui, Z. Chen et al., «Выяснение и биологическая активность нового полисахарида из культивированного *Cordyceps militaris*», *Carbohydrate Polymers*, vol. 102. С. 288–296, 2014.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)

22. Л. Линь, Ф. Цуй, Дж. Чжан и др., «Антиоксидантные и ренопротекторные эффекты остаточных полисахаридов из *Flammulina velutipes* », *Carbohydrate Polymers* , vol. 146. С. 388–395, 2016.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
23. Штауб А.М. Методы удаления белков из полисахаридов // *Углеводная химия* . 5, вып. 5. С. 5–6, 1965.Посмотреть: [Google Scholar](#)
24. М. Ояйдзу, «Исследования продуктов реакции потемнения: антиоксидантная активность продуктов реакции потемнения, полученных из глюкозамина», *Японский журнал питания* , вып. 44, нет. 6. С. 307–315, 1986.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
25. Х. Чжао, Ю. Лан, Х. Лю и др., «Антиоксидантная и гепатопротекторная активность полисахаридов из отработанных грибных субстратов (*Laetiporus sulphureus*) у мышей с острым алкоголем», *Окислительная медицина и клеточное долголетие* , том. 2017 г., идентификатор статьи 5863523, 12 стр., 2017 г.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
26. Н. Смирнофф и QJ Cumbes, "активность поглощения гидроксильных радикалов совместимых растворенных веществ", *Phytochemistry* , vol. 28, вып. 4. С. 1057–1060, 1989.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
27. J. Zhang, G. Meng, C. Zhang et al., «Антиоксидантные эффекты кислых, щелочных и ферментативно экстрагируемых полисахаридов цинка мицелия *Pleurotus djator* на печень и почки мышей с индуцированным стрептозоцином диабетом», *ВМС Complementary и альтернативная медицина* , т. 15, вып. 1, стр. 440, 2015.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
28. MCT Fyfe, JR White, A. Taylor et al., «Активатор глюкокиназы PSN-GK1 проявляет усиленное антигипергликемическое и инсулинотропное действие», *Diabetologia* , vol. 50, нет. 6. С. 1277–1287, 2007.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
29. Х. Чжао, С. Ли, Дж. Чжан и др., «Антигиперлипидемическая активность ферментативных и кислых внутриклеточных полисахаридов, вызываемых *Termitomyces albuminosus* », *Carbohydrate Polymers* , т. 151. С. 1227–1234, 2016.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
30. К. Лю, Х. Ли, Ю. Ли, Ю. Фэн, С. Чжоу и Ф. Ван, «Структурная характеристика и антимутагенная активность нового полисахарида, выделенного из чернил *Sepiella maindroni* », *Food Chemistry* , vol. 110, нет. 4. С. 807–813, 2008.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
31. Х. Лю, Й. Фан, В. Ван и др., «Полисахариды из листьев *Lucium barbarum* : выделение, характеристика и активность пролиферации спленоцитов», *Международный журнал*

- биологических макромолекул , вып. 51, нет. 4. С. 417–422, 2012.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
32. J. Gao, T. Zhang, ZY Jin et al., «Структурная характеристика, физико-химические свойства и антиоксидантная активность полисахарида из *Lilium lancifolium* Thunb», *Food Chemistry* , vol. 169. С. 430–438, 2015.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
33. Х. Кавагиси, Т. Канао, Р. Инагаки и др., «Формолиз мощного противоопухолевого (1 → 6) белкового комплекса  $\beta$ - D-глюкана из плодовых тел *Agaricus blazei* и противоопухолевая активность полученных продуктов», *Углеводы Полимеры* , т. 12, вып. 4. С. 393–403, 1990.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
34. Ю. Сю, Х. Нью, Н. Лю и др., «Характеристика, антиоксидантная и гипогликемическая активность деградированных полисахаридов из плодов черной смородины (*Ribes nigrum* L.)», *Химия пищевых продуктов* , т. 243, стр. 26–35, 2018.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
35. У. Ху, G. Liu, Z. Yu et al., «Очистка, характеристика и антигликационная активность нового полисахарида черной смородины», *Food Chemistry* , vol. 199. С. 694–701, 2016.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
36. М. Мiao, А. Bai, В. Jiang, У. Song, SW Cui и Т. Zhang, «Характеристика нового водорастворимого полисахарида из *Leuconostoc citreum* SK24.002», *Food Hydrocolloids* , vol. 36, нет. 5. С. 265–272, 2014.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
37. Дж. Чжу, В. Лю, Дж. Ю и др. «Характеристика и гипогликемический эффект полисахарида, экстрагированного из плодов *Lyium barbarum* L.», *Carbohydrate Polymers* , vol. 98, нет. 1. С. 8–16, 2013.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
38. Х. Du, У. Zhang, Н. Му, Z. Lv, У. Yang и J. Zhang, «Структурное выяснение и антиоксидантная активность нового полисахарида (ТАРВ1) из *Tremella aurantialba* », *Food Hydrocolloids* , vol. 43. С. 459–464, 2015.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
39. А. Тахара, А. Мацуяма-Йоконо и М. Шибасаки, «Эффекты противодиабетических препаратов при диете с высоким содержанием жиров и у мышей с диабетом 2 типа, индуцированного стрептозотоцином-никотинамидом», *Европейский журнал фармакологии* , вып. 655, нет. 1–3, с. 108–116, 2011.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
40. К.С. Полонски, Б.Д. Гивен, Л.Дж. Хирш и др., «Аномальные паттерны секреции инсулина при инсулиннезависимом сахарном диабете», *Медицинский журнал Новой Англии* , вып. 318, нет. 19. С. 1231–1239, 1988.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)

41. К. Сринивасан и П. Рамарао, «Животные модели в исследованиях диабета 2 типа: обзор», *Индийский журнал медицинских исследований*, вып. 125, нет. 3. С. 451–472, 2007. Посмотреть: [Google Scholar](#)
42. IM Chung, EH Kim, MA Yeo, SJ Kim, M.-. C. Co и X. И. Мун, «Противодиабетические эффекты трех фенольных экстрактов корейского сорго у нормальных крыс и крыс с индуцированным стрептозотоцином диабетом», *Food Research International*, vol. 44, нет. 1. С. 127–132, 2011. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
43. П.Б. Ли, В.Л. Лин, Ю.Г. Ван, В. Пэн, XY Cai и В.В. Су, «Антидиабетическая активность олигосахаридов *Ophiopogonis japonicus* у экспериментальных крыс с диабетом 2 типа», *Международный журнал биологических макромолекул*, вып. 51, нет. 5. С. 749–755, 2012. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
44. Американская диабетическая ассоциация, «Диагностика и классификация сахарного диабета», *Diabetes Care*, vol. 34, Приложение 1, стр. S62 – S69, 2010 г. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
45. Ю. Чжан, Т. Ху, Х. Чжоу, Ю. Чжан, Г. Цзинь и Ю. Ян, «Антидиабетический эффект полисахаридов из *Pleurotus ostreatus* у крыс с индуцированным стрептозотоцином диабетом», *Международный журнал биологических макромолекул*, вып. 83. С. 126–132, 2016. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
46. A. Sahebkar, GT Chew и GF Watts, «Последние достижения в фармакотерапии гипертриглицеридемии», *Progress in Lipid Research*, vol. 56, нет. 1. С. 47–66, 2014. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
47. Д. Яо, В. Ши, Ю. Гоу и др., «Опосредованная жирными кислотами внутриклеточная транслокация железа: синергетический механизм окислительного повреждения», *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 39, нет. 10. С. 1385–1398, 2005. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
48. М. Назироглу, А. Караоглу и А.О. Аксой, «Введение селена и высоких доз витамина Е защищает индуцированное цисплатином окислительное повреждение тканей почек, печени и хрусталика у крыс», *Токсикология*, т. 195, нет. 2-3, с. 221–230, 2004. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
49. С.М. Сабир, С.Д. Ахмад, А. Хамид и др., «Антиоксидантная и гепатопротекторная активность спиртового экстракта листьев *Solidago microglossa*, содержащего полифенольные соединения», *Химия пищевых продуктов*, т. 131, вып. 3. С. 741–747, 2012. Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)

50. X. Luo, Y. Duan, W. Yang, H. Zhang, C. Li и J. Zhang, «Структурное выяснение и иммуностимулирующая активность полисахарида, выделенного субкритической водной экстракцией из *Cordyceps militaris* », *Carbohydrate Polymers* , vol. 157. С. 794–802, 2017.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
51. ZY Zhu, F. Liu, H. Gao, H. Sun, M. Meng и YM Zhang, «Синтез, характеристика и антиоксидантная активность полисахарида селена из *Cordyceps militaris* », *Международный журнал биологических макромолекул* , вып. 93, Часть А, стр. 1090–1099, 2016.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
52. S. Zou, X. Zhang, W. Yao, Y. Niu и X. Gao, "Характеристика структуры и гипогликемическая активность полисахарида, выделенного из плодов *Lycium barbarum* L", *Углеводные полимеры* , т. 80, нет. 4. С. 1161–1167, 2010.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
53. D. Gan, L. Ma, C. Jiang, R. Xu и X. Zeng, «Производство, предварительная характеристика и противоопухолевая активность *in vitro* полисахаридов из мицелия *Pholiota dinghuensis* Vi», *Carbohydrate Polymers* , vol. 84, нет. 3. С. 997–1003, 2011.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
54. А. Лу, М. Ю, М. Шен и др., «Приготовление полисахаридов аурикулярных аурикулярных, имитирующих гидролизаты, и их гипогликемический эффект», *Международный журнал биологических макромолекул* , вып. 106. С. 1139–1145, 2018.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
55. X. Song, Q. Shen, M. Liu и др., «Антиоксидантные и гепатопротекторные эффекты полисахаридов внутриклеточного мицелия *Pleurotus geesteranus* против алкогольных заболеваний печени», *Международный журнал биологических макромолекул* , вып. 114. С. 979–988, 2018.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)
56. Г. Ма, В. Янг, АМ Марига и др., «Очистка, характеристика и противоопухолевая активность полисахаридов из остатков *Pleurotus eryngii* », *Углеводные полимеры* , т. 114. С. 297–305, 2014.Смотреть на: [Сайт издателя](#) | [Google Scholar](#)

---

## Авторские права

Авторские права © 2018 Huajie Zhao et al. Это статья в открытом доступе, распространяемая по [лицензии Creative Commons Attribution License](#) , которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии правильного цитирования оригинальной работы.