

# 麦冬多糖的修饰及其抗氧化活性与空间结构的研究

张力妮<sup>1</sup>, 张静<sup>\*2</sup>, 孙润广<sup>1</sup>, 王小梅<sup>1</sup>, 梁涛<sup>2</sup>

(1. 陕西师范大学 物理学与信息技术学院, 陕西 西安 710062; 2. 陕西师范大学 食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710062)

**摘要:** 研究热水浸提和超声波辅助法提取的两种麦冬多糖以及它们修饰之后的抗氧化活性及三股螺旋结构。采用硫酸化、磷酸化、羧甲基化对多糖进行修饰,并用红外光谱表征,进行抗氧化性的测定,利用刚果红实验进行三股螺旋结构的检测。结果表明:各种多糖都有一定的体外抗氧化活性,其中超声提取的效果较优于热水浸提的。这几种多糖对DPPH和超氧阴离子自由基的清除能力较强,但对羟基自由基的清除能力较弱,且经过修饰之后的多糖有一定程度的三股螺旋结构,而未经修饰的没有三股螺旋结构。

**关键词:** 麦冬;多糖;化学修饰;抗氧化;刚果红

中图分类号:Q 539 文献标志码:A 文章编号:1673—1689(2014)01—0027—07

## Study on Antioxidant Activity and Spatial Structure of *Ophiopogon japonicus* Polysaccharide with Modified

ZHANG Lini<sup>1</sup>, ZHANG Jing<sup>\*2</sup>, SUN Runguang<sup>1</sup>, WANG Xiaomei<sup>1</sup>, LIANG Tao<sup>2</sup>

(1. College of Physics and Information Technology, Shanxi Normal University, Xi'an 710062, China; 2. College of Food Engineering and Nutrition Science, Shanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

**Abstract:** In this manuscript, the antioxidant activities in vitro and triple helix structure of the different chemical modified on *Ophiopogon Japonicus* polysaccharide, which extracted by hot water and ultra-sound were investigated. They were modified by sulfation, phosphorylation and carboxymethylation, and characterized them by IR. Finally assay their antioxidant activities and determined the triple helix structure with Congo red experiment. Results showed that these polysaccharides all have a certain degree of antioxidant activities in vitro, which the effect of ultra-sound extraction is better than that of the hot water extraction. Moreover they significantly decrease the DPPH and superoxide anion radicals, but they had little scavenging effect on the hydroxyl radicals. After modified, the polysaccharides show the triple helix structure, however the unmodified polysaccharides were not express the triple helix structure.

**Keywords:** *Ophiopogon Japonicus*, polysaccharide, chemical modified, antioxidant activities, Congo red

收稿日期: 2013-10-07

基金项目: 国家自然科学基金项目(10874108); 陕西省自然科学基金项目(SJ08A16)。

\* 通信作者: 张静(1959—), 女, 陕西西安人, 副教授, 主要从事天然产物研究。E-mail: zhangjin@snnu.edu.cn

麦冬 (*Ophiopogon japonicus* L.) 的块根是我国传统的中草药之一。味甘、微苦,具有养阴生津,润肺清心的功效,临床上主要用于热病伤津、心烦口渴、肺燥干咳等症。近年来研究发现,麦冬多糖具有多方面的活性,如对心血管系统、呼吸系统、免疫调节、降血糖、抗肿瘤、变态反应、非过敏性哮喘、抗辐射、抗疲劳等方面的作用<sup>[1-4]</sup>。目前有研究表明,麦冬中主要含有甾体皂苷、多糖、氨基酸、高异黄酮等成分<sup>[5,6]</sup>。

目前,已经有大量的文献报道了关于蔬菜、水果、红酒、茶叶等天然产物的抗氧化作用<sup>[7]</sup>。其中,也有文献报道葡聚糖的抗氧化性和免疫活性与它们的3股螺旋结构有一定的相关性<sup>[8]</sup>。

作者在体外对麦冬多糖及其修饰后的抗氧化活性进行测定,并通过刚果红实验对这些多糖进行3股螺旋结构的测定,进一步来阐述它们之间的关系,为其开发利用提供实验依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

麦冬多糖:实验室自制;刚果红、Tris、邻苯三酚、1,1-二苯基-2-苦苯肼自由基(DPPH)、抗坏血酸、BHT等试剂均为分析纯。

KQ3200B型超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司产品;TU-1810紫外可见分光光度计:北京普析通用仪器有限责任公司产品;JY92-II型超声波细胞粉碎机:宁波新芝生物科技有限公司产品;FD-1A冷冻干燥机:北京博医康实验仪器公司产品。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 麦冬多糖的提取

1)麦冬多糖的热水浸提法 将麦冬块根60℃烘干后粉碎,加入4倍体积分数95%乙醇超声脱脂3次,烘干。取80g脱脂后的块根粉末,按料液质量体积比1g:10mL加蒸馏水,80℃恒温水浴提取2h,提取两次。提取液经减压浓缩,用4倍量体积分数95%乙醇醇沉、离心、透析和真空干燥后得水提麦冬粗多糖WPOJ。

2)麦冬多糖的超声提取法 将麦冬块根60℃烘干后粉碎,加入4倍体积的95%乙醇超声脱脂3次,烘干。取80g脱脂后的块根粉末,按料液质量体积比1g:10mL加蒸馏水,搅拌使其充分溶解,放于超声波细胞粉碎机下提取,提取条件:超声时间10

s,间隙时间15s,超声次数90次,超声功率400W。分别提取两次,两次的提取液经减压浓缩,用4倍量体积分数95%乙醇醇析得粗多糖沉淀,离心,透析,真空干燥后得超声提取的麦冬粗多糖UPOJ。

#### 1.2.2 麦冬多糖的修饰

1)硫酸化修饰 采用氯磺酸-吡啶法<sup>[9]</sup>,将附有冷凝管、分液漏斗和搅拌装置的三口瓶置于冰盐浴中,加入15mL吡啶,打开搅拌器,在30~40min内,慢慢滴加氯磺酸5mL,直至有大量淡黄色固体出现,加入1g麦冬多糖,迅速将反应装置移入60℃恒温水浴中,恒温搅拌反应2h,再度移至冰浴中冷却,随即用4mol/L的NaOH调节为中性,将反应液倾入1000mL的烧杯中,加入3倍体积分数95%乙醇,在4℃下保存过夜,离心收集沉淀,溶于水,流水透析3d,再用蒸馏水透析1d,浓缩,冷冻干燥既得硫酸化多糖S-WPOJ、S-UPOJ。

2)羧甲基化修饰<sup>[10]</sup> 按照参考文献的方法略作改变,称糖1g溶于85mL(质量分数20%NaOH溶液中)搅拌1h,使其充分溶解混匀,加入15mL4mol/L氯乙酸的异丙醇溶液,55℃搅拌反应5h,反应结束后冷却至室温,用2mol/LHCl调pH为中性,将反应液倾入1000mL的烧杯中,加入3倍体积分数95%乙醇,在4℃下保存过夜,离心收集沉淀,溶于水,流水透析3d,再用蒸馏水透析1d,浓缩,冷冻干燥既得羧甲基化多糖C-WPOJ、C-UPOJ。

3)磷酸化修饰<sup>[11]</sup> 称取1g麦冬多糖溶于250mLpH=12(0.01mol/L)的NaOH溶液中,同时加入5gNaCl,加入10mg三氯氧磷(约6.02mL),55℃下恒温反应1h,待反应后,冷却至室温,调pH到中性,将反应液倾入1000mL的烧杯中,加入3倍体积分数95%乙醇,在4℃下保存过夜,离心收集沉淀,溶于水,流水透析3d,再用蒸馏水透析1d,浓缩,冷冻干燥既得磷酸化多糖P-WPOJ、P-UPOJ。

1.2.3 麦冬多糖的光谱表征<sup>[12]</sup> 硫酸化与磷酸化后的麦冬多糖水溶性减小,而羧甲基化的麦冬多糖水溶性增强。对超声提取和热水浸提的麦冬多糖及化学修饰产物经溴化钾压片后,采用傅里叶变换红外光谱(IR)进行分析。

1.2.4 总还原力的测定<sup>[13]</sup> 按照参考文献的略作修改,在10mL试管中分别加入不同浓度(25、50、100、150、200μg/mL)的多糖样品溶液1mL,磷酸盐缓冲液(0.2mol/L,pH=6.6)0.5mL和质量分数0.3%

铁氰化钾 1.5 mL,置于 50 °C 水浴中反应 20 min,然后加入体积分数 10% 的三氯乙酸 1 mL,混匀后以 3 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液 2 mL,加入质量分数 0.3% 三氯化铁溶液 0.5 mL,摇匀后在 700 nm 处测其吸光值,每个浓度做 3 个平行实验,取其平均值。并用抗坏血酸和 BHT 分别做阳性和阴性对照, $A_{700\text{nm}}$  越大,其还原能力越强。

取 1 mL 质量浓度分别为 25、50、100、150 和 200  $\mu\text{g/mL}$  的样液于试管中,依次加入 2.5 mL、0.2 mol/L pH=6.6 的磷酸盐缓冲溶液,然后再加入 2.5 mL 质量分数 1% 铁氰化钾( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ )溶液,于 50 °C 水浴中保温 20 min 后快速冷却,再加入 2.5 mL 体积分数 10% 三氯乙酸溶液,以 3 500 r/min 离心 10 min,取上清液 2.5 mL,依次加入 2.5 mL 蒸馏水、0.5 mL 质量分数 0.1% 三氯化铁溶液振荡摇匀,静置 10 min 后在 700 nm 下测其吸光度。每个浓度做 3 个平行试验,取其平均值。吸光值越大,表明其还原能力越强。以 25~200  $\mu\text{g/mL}$  维生素 C 为标准溶液做标准曲线,以维生素 C 质量分数(mg/g) 表示样品总还原力。

**1.2.5 体外清除 DPPH 自由基<sup>[14]</sup>** 按照参考文献的略作修改,取 0.5 mL 浓度分别为 25、50、100、150 和 200  $\mu\text{g/mL}$  的样液同 1.0 mL 0.1 mmol/L DPPH 溶液(需现用现配)振荡摇匀,其中 DPPH 先用少量无水乙醇溶解,再用体积分数 50% 乙醇配制到相应浓度。对照样为 0.5 mL 体积分数 95% 的乙醇和 0.1 mmol/L DPPH 溶液混匀,常温避光反应 60 min 后在 517 nm 处比色,以体积分数 95% 乙醇作空白。DPPH 自由基清除率用以下方程式计算:

$$Y = [(A_0 - A) / A_0] \times 100\%$$

**1.2.6 体外清除羟自由基( $\cdot\text{OH}$ )的作用<sup>[15]</sup>** 采用邻二氮菲-金属离子- $\text{H}_2\text{O}_2$  体系,通过 Fenton 反应生成羟自由基,促使邻二氮菲- $\text{Fe}^{2+}$  被氧化成邻二氮菲- $\text{Fe}^{3+}$ ,使其水溶液在波长 509 nm 处最大吸收消失,以此来计算其清除率。

配制质量浓度分别为 25、50、100、150、200  $\mu\text{g/mL}$  的多糖溶液,试样管依次加入 1.5 mL 的磷酸缓冲液(pH 7.4、0.2 mol/L) 1 mmol/L 的邻二氮菲溶液 1.5 mL 然后再加入 1 mL 1.5 mmol/L 的  $\text{FeSO}_4$  溶液,试样溶液加入 1 mL 体积分数 0.01%  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液作为样品管,损伤管用蒸馏水代替试样溶液,未损伤管用蒸馏水代替试样液和  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液。将上述各组加样

摇匀后,置于恒温水浴中,37 °C 保温 1 h,509 nm 处测定其吸光值。

$$\text{清除率} = [(A_{\text{样品}} - A_{\text{损伤}}) / (A_{\text{未损伤}} - A_{\text{损伤}})] \times 100\%$$

**1.2.7 体外清除超氧阴离子自由基( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )的作用<sup>[16]</sup>** 采用邻苯三酚自氧化法,加 pH 8.2 的 Tris-HCl 缓冲液 4.5 mL 于试管中,25 °C 保温 20 min,各管加入不同质量浓度的多糖溶液 0.4 mL,糖液浓度为 25、50、100、150 和 200  $\mu\text{g/mL}$  及在 25 °C 下保温过的邻苯三酚溶液 0.1 mL,混匀后,25 °C 准确反应 4 min,立即用 10 mol/L HCl 溶液 2 滴终止反应,325 nm 处测定吸光值。对照品以蒸馏水代替糖液,缓冲液加蒸馏水作为空白管:清除率= $[(A_{\text{对照}} - A_{\text{样品}}) / A_{\text{对照}}] \times 100\%$

**1.2.8 刚果红实验** 将多糖配成 0.5 mg/mL 的溶液,刚果红配成 50  $\mu\text{mol/L}$  的溶液,各取 2 mL 等体积混合,然后依次加入不同浓度的 NaOH (0~0.5 mol/L),室温下静置 15 min,与 600~400 nm 范围内进行紫外扫描,测定其在各个 NaOH 浓度下的最大吸收波长,以纯刚果红溶液和各 NaOH 浓度的混合液做对照<sup>[17]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 红外光谱检测

从红外图谱中,3 400  $\text{cm}^{-1}$  左右都有羟基的特征吸收峰,是 O-H 的伸缩振动,表明多糖存在分子内和分子间氢键,在 2 900  $\text{cm}^{-1}$  左右的吸收峰是 C-H 的伸缩振动引起的,1 400~1200  $\text{cm}^{-1}$  是 C-H 的变角振动,1 200~1 000  $\text{cm}^{-1}$  之间的吸收峰是由两种 C-O 伸缩振动引起的。其中一种是 C-O-H 的,另外一种为糖环的 C-O-C。多数红外图谱中都在 1 665~1 635  $\text{cm}^{-1}$  处有吸收峰,它们是糖的水化物的吸收峰。WPOJ、UPOJ 分别在 931  $\text{cm}^{-1}$  和 929  $\text{cm}^{-1}$  处有呋喃环的对称伸缩振动。S-WPOJ 的图谱中在 833  $\text{cm}^{-1}$  处有 C-O-S 伸缩振动吸收峰,S-WPOJ 中在 822  $\text{cm}^{-1}$  处有 C-O-S 的伸缩振动吸收峰。C-WPOJ 中在 1 604  $\text{cm}^{-1}$  处是 C=O 的非对称的伸缩振动,C-UPOJ 则是在 1 597  $\text{cm}^{-1}$  处有 C=O 的非对称伸缩振动和 1 330  $\text{cm}^{-1}$  处的 C=O 的对称伸缩振动吸收峰。P-WPOJ 在 1 035  $\text{cm}^{-1}$  处有 P-O-C 的伸缩振动吸收峰,P-UPOJ 在 1 120  $\text{cm}^{-1}$  处有 P-O-C 的伸缩振动吸收峰。证实两种多糖的硫酸化、羧甲基化和磷酸化修饰都已成功。

## 2.2 总还原力测定

抗氧化剂的还原能力与其抗氧化性之间存在一定的关系,抗氧化剂清除自由基的机理是通过自身的还原作用给出电子来清除的,一般来说,还原能力越强,其抗氧化性也越强<sup>[7]</sup>。从图 1、2 中可以看出,随着浓度的增加,各种糖的还原能力逐渐增强,其中超声提取多糖的效果强于水提多糖的效果,磷酸化的还原能力最强,粗品的次之,硫酸化的还原能力最弱。所以可以大致的认为磷酸化麦冬多糖的抗氧化性最强,而硫酸化麦冬多糖的最弱。

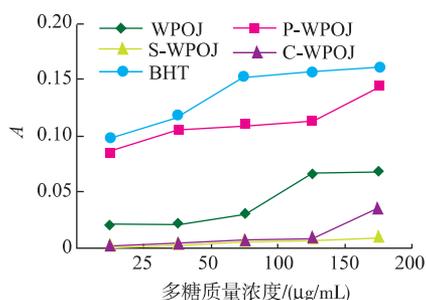


图 1 WPOJ、S、P、C-WPOJ-总还原力测定

Fig. 1 Reduction abilities of *Ophiopogon japonicus* polysaccharide WPOJ、S、P、C-WPOJ

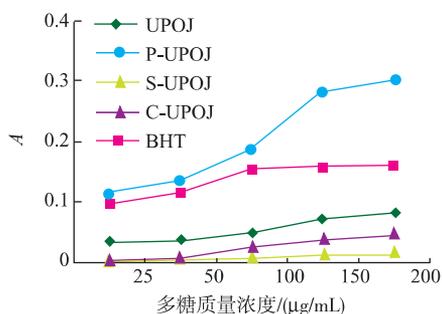


图 2 UPOJ、S、P、C-UPOJ-总还原力测定

Fig. 2 Reduction abilities of *Ophiopogon japonicus* polysaccharide UPOJ、S、P、C-UPOJ

## 2.3 体外清除 DPPH 自由基

从图 3、4 中可以看出,它们对 DPPH 自由基都有一定的清除作用,而且随着浓度的增大,清除作用也依次增大,呈现正相关的关系。在清除该自由基的过程中,同样是超声提取多糖的效果好于水提多糖的,磷酸化的清除作用最强,粗品的清除作用次之,而硫酸化的清除作用最弱,粗品的清除作用强于硫酸化而弱于磷酸

化。而且通过 BHT 和 VC 的阴性和阳性对照,可以看出,它们的清除作用都不及 VC,其中只有羧甲基化的清除作用强于 BHT,其余的都比 BHT 的清除作用弱。说明两种方法提取的麦冬多糖、经过修饰之后,虽然对清除自由基有一定的效果,但是效果不是很明显。

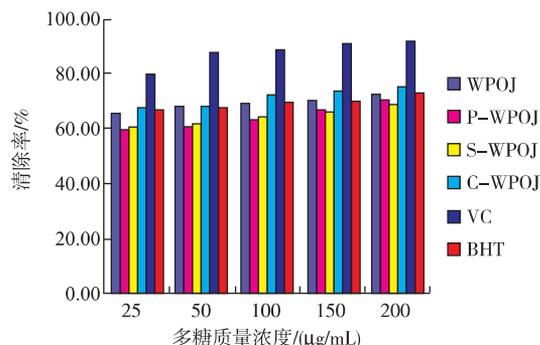


图 3 WPOJ、S、P、C-WPOJ-清除 DPPH 能力

Fig. 3 Scavenging activities of *Ophiopogon japonicus* polysaccharide WPOJ、S、P、C-WPOJ on DPPH radicals

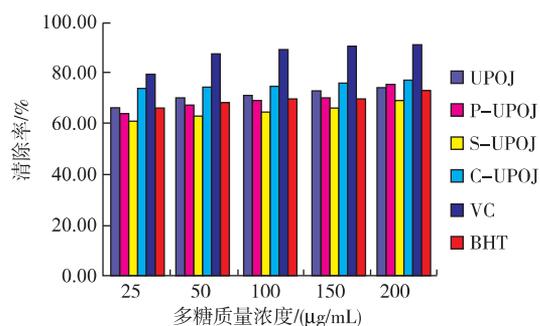


图 4 UPOJ、S、P、C-UPOJ-清除 DPPH 能力

Fig. 4 Scavenging activities of *Ophiopogon japonicus* polysaccharide UPOJ、S、P、C-UPOJ on DPPH radicals

## 2.4 体外清除羟自由基 ( $\cdot\text{OH}$ )

从图 5、6 中可以看出,这几种多糖对羟基自由基都有一定程度的清除作用,且随着浓度的增加,它们的清除作用随之增加,依然是超声的清除作用强于水提的。它们的清除作用都弱于 VC 的,但它们对该自由基的清除作用却都强于 BHT 的。其中,磷酸化的清除作用最强,粗品的清除作用次之,而硫酸化的清除作用最弱。

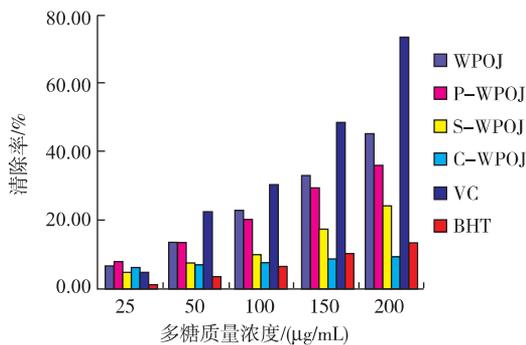


图 5 WPOJ、S、P、C-WPOJ-清除羟基自由基能力

Fig. 5 Scavenging activities of *Ophiopogon japonicus* polysaccharide WPOJ, S, P, C -WPOJ on hydroxyl radicals

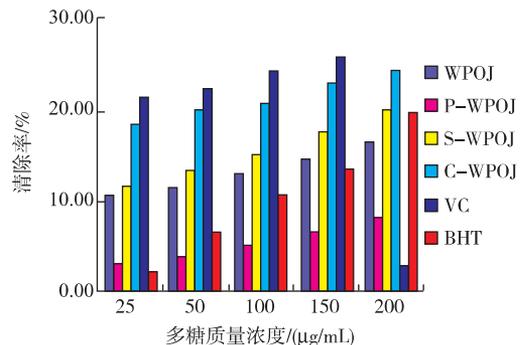


图 7 WPOJ、S、P、C-WPOJ-清除超氧阴离子

Fig. 7 Scavenging activities of *Ophiopogon japonicus* polysaccharide WPOJ, S, P, C -WPOJ on superoxide anion

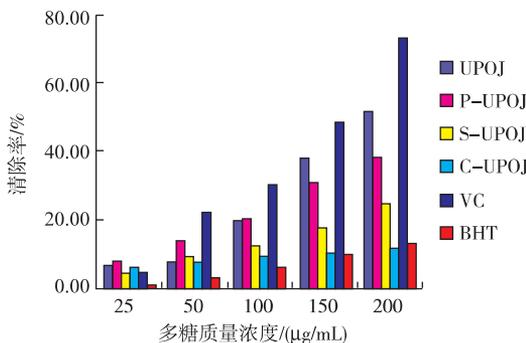


图 6 UPOJ、S、P、C-UPOJ-清除羟基自由基

Fig. 6 Scavenging activities of *Ophiopogon japonicus* polysaccharide UPOJ, S, P, C-UPOJ on hydroxyl radicals

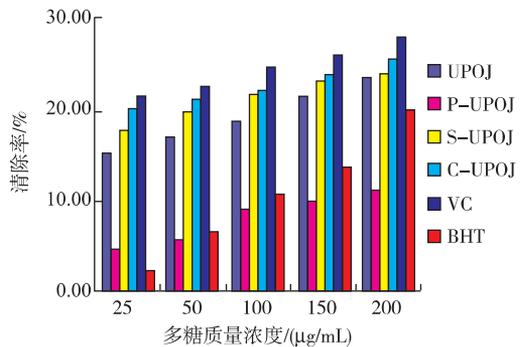


图 8 UPOJ、S、P、C-UPOJ-清除超氧阴离子

Fig. 8 Scavenging activities of *Ophiopogon japonicus* polysaccharide UPOJ, S, P, C -UPOJ on superoxide anion

### 2.5 体外清除超氧阴离子

从图 7、8 中可以看出,以上各种糖对超氧阴离子自由基都有一定的清除作用。而且它们的清除作用与浓度有一定的量效关系,都是随着浓度的增加,其清除效果显著增强。可以看出,它们的清除作用都弱于 VC 的,其中,只有磷酸化的清除效果弱于 BHT 的,而其它的清除效果都好于 BHT 的。由此可以看出麦冬多糖对清除超氧阴离子自由基的效果能明显一点,可以在以后进一步深入研究。

### 2.6 刚果红实验结果

刚果红与多糖形成的络合物,在一定的 NaOH 浓度下,与纯刚果红溶液进行比较,用紫外测得的最大吸收波长会发生一定的红移。如果多糖具有 3 股螺旋结构,那么络合物在一定 NaOH 浓度范围内就会出现亚稳区。

图 9 中不同碱浓度下水提麦冬多糖与刚果红形成的络合物与纯的刚果红溶液在最大吸收波长处的比较中,可以看到 S-WPOJ 的多糖在氢氧化钠浓度为 0.05 mol/L 时紫外波长发生了 17 nm 的红移,而随着氢氧化钠浓度增大,最大吸收波长逐渐下降,说明在硫酸化修饰的多糖中存在着多股螺旋结构,在低碱浓度下,多股螺旋结构保持稳定,当碱浓度增大时,多股螺旋结构被破坏,随之最大吸收波长减小。羧甲基化的多糖同样在氢氧化钠浓度为 0.05 mol/L 时紫外波长发生了 7 nm 的红移,而磷酸化修饰的多糖在氢氧化钠浓度为 0.15 mol/L 时紫外吸收发生了 13 nm 的红移。但是未修饰的多糖虽然发生了一定的红移,却没有极剧的增大或极剧的减小,所以可以认为未修饰的多糖中没有 3 股螺旋结构,而经过修饰的多糖之中含有 3 股螺旋结构。

图 10 中不同碱浓度下超声提取麦冬多糖与刚

果红形成的络合物与纯的刚果红溶液在最大吸收波长处的比较中,可以看到硫酸化修饰的多糖在氢氧化钠浓度为 0.05 mol/L 时紫外波长发生了 15 nm 的红移,而随着氢氧化钠浓度增大,最大吸收波长逐渐下降,说明在硫酸化修饰的多糖中存在着多股螺旋结构,在低碱浓度下,多股螺旋结构保持稳定,当碱浓度增大时,多股螺旋结构被破坏,随之最大吸收波长减小。羧甲基化的多糖同样在氢氧化钠浓度为 0.05 mol/L 时紫外波长发生了 12 nm 的红移,而磷酸化修饰的多糖在氢氧化钠浓度为 0.2 mol/L 时紫外吸收发生了 12 nm 的红移。但是未修饰的多糖虽然发生了一定的红移,但没有极剧的增大或极剧的减小,所以可以认为未修饰的多糖中没有 3 股螺旋结构,而经过修饰的多糖之中含有 3 股螺旋结构。由此可以看出多糖经过硫酸化、磷酸化、羧甲基化修饰之后,其空间结构发生了一定的变化。

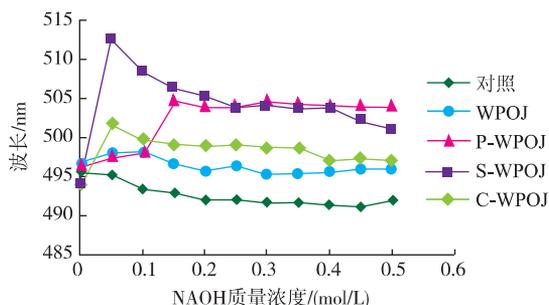


图 9 不同碱浓度下 WPOJ、S、P、C-WPOJ 与刚果红混合液的波长变化

Fig. 9 Absorption wavelength change of Congo red - polysaccharide WPOJ、S、P、C-WPOJ complex at different NaOH solutions

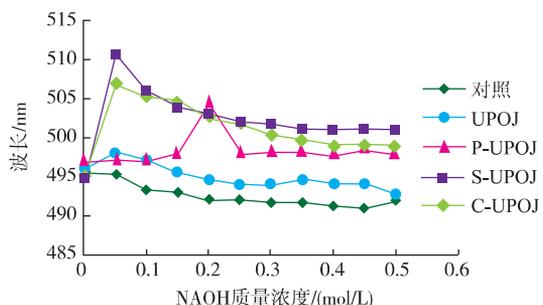


图 10 不同碱浓度下 UPOJ、S、P、C-UPOJ 与刚果红混合液的波长变化

Fig. 10 Absorption wavelength change of Congo red - polysaccharide UPOJ、S、P、C-UPOJ complex at different NaOH solutions

### 3 结 语

对两种麦冬多糖分别进行了 3 种修饰,即磷酸化修饰、羧甲基化修饰和硫酸化修饰,经过傅里叶变换红外光谱(IR)检测,证实两种麦冬多糖的 3 种修饰均已成功。并对它们的体外抗氧化活性进行了测定。从整体上来看,体外抗氧化活性中超声提取的多糖效果好于热水浸提的多糖,这可能是由于超声对多糖的结构造成的,超声的机械振动以及空化效应使得大分子物质进行降解,可能会使多糖中的一些具有抗氧化活性的物质或基团得以暴露出来,使得其具有更高的抗氧化活性,这个问题有待进一步深入探究。

从总还原力的测定中可以看到,磷酸化多糖的抗氧化能力最强,而硫酸化和磷酸化修饰之后多糖的抗氧化活性反而变弱,这可能与硫酸基团和磷酸基团在多糖中取代的位置有关,可能它们取代的位置刚好是多糖的活性位点,或者它们连接到多糖的活性位点上,使多糖的活性不能很好的表现出来,从而降低了它们的抗氧化活性,这些都有待进一步更深入的研究。从以上实验中可以看出,各种多糖对 DPPH 自由基、羟基自由基以及超氧阴离子自由基都有一定的抑制作用,而且抑制效果与 BHT 的相当,但都弱于 VC 的。

对麦冬多糖和修饰过的多糖进行 3 股螺旋的测定,将其与刚果红试剂进行混合测定,得出的结论是,两种麦冬多糖在未进行修饰之前,都没有 3 股螺旋结构,但经过 3 种化学修饰之后,都有了 3 股螺旋结构,只是它们对氢氧化钠的依赖程度不同,所以化学修饰确实对麦冬多糖的空间结构有一定的影响。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [2] 杨文双, 陈家春. 湖北麦冬的研究及展望[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(10): 1939.  
YANG Wenshuang, CHEN Jiachun. Study and prospect of Hubei Radix [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medic*, 2006, 17(10): 1939. (in Chinese)
- [3] 韩凤梅, 程伶俐, 李路军, 等. 山麦冬多糖的分离纯化及单糖组成研究[J]. 中草药, 2007, 38(1): 30.  
HAN Fengmei, CHENG Lingli, LI Lujun, et al. Research on the purification and monosaccharide composition of liniopes lour polysaccharide[J]. *Chinese Herbal Medicines*, 2007, 38(1): 30. (in Chinese)
- [4] 王丽娟, 王勇. 麦冬药理作用与临床应用研究进展[J]. 中华医学研究杂志, 2005, 5(9): 885-887.  
Wang Lijuan, WANG Yong. Research on the pharmacological effects and clinical application of Radix [J]. *Journal of Chinese Medicine Research*, 2005, 5(9): 885-887. (in Chinese)
- [5] 范俊, 张旭. 麦冬多糖药理研究进展[J]. 中医学, 2006, 24(4): 626.  
FAN Jun, ZHANG Xu. Research on the pharmacological of radix polysaccharide [J]. *Chinese Archmes of Tranitdnl Chinese Medicine*, 2006, 24(4): 626. (in Chinese)
- [6] Marx J L1 Oxygen free Radical is linked to many disease[J]. *Science*, 1987, 235: 529-5311.
- [7] Ram arathnam N, O saw a T, Och i H, et al. The contribution of plant food antioxidants to human health [J]. *1 T rends in Food Science and Technology*, 1995, 6: 75-821.
- [8] Mao C F, Hsu M C, Huang W H. *Carbohydrate Polymers*, 2007, 68(3): 502-510.
- [9] Wolfrom ML, Han TMS. The sulfonation of chitosan[J]. *J Am Chem Soc*, 1959, 81: 1764-1766.
- [10] DURCILENE A S, REGINA C M, JUDITH P A, et al. Carboxymethylation of cashew tree exudate polysaccharide [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2004, 58(2): 163-171.
- [11] Muhammad K, Hussin F, Man Y C, et al. Effect of pH on phosphorylation of sago starch [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2000, 42(1): 85-90.
- [12] 姚倩, 孙涛, 徐轶霞, 等. 壳聚糖/壳寡糖衍生物的制备及其抗氧化性能研究[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(2): 188-191.  
YAO Qian, SUN Tao, XU Yixia, et al. Preparation of chitosan/chitosan ol igosaccharide derivatives and their antioxidant activities [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2009, 28(2): 188-191. (in Chinese)
- [13] Mbaebie BO, Edeoga HO, Afolayan AJ. Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq[J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2012, 2(2): 118-124.
- [14] Phoency Lai, Ken Yuon Li, Shin Lu, et al. Phytochemicals and antioxidant properties of solvent extracts from Japonica rice bran [J]. *Food Chemistry*, 2009, 117(3): 538-544.
- [15] 张化鹏, 张静, 梁涛, 等. 桦褐孔菌活性物质的提取工艺及体外抗糖尿病活性[J]. 生物加工过程, 2012, 10(4): 30-34.  
ZHANG Hua-peng, ZHANG Jing, LIANG-Tao et al. Extraction of active substances from inonotus obliquus (fr) pila and their anti-diabetic activity in vitro[J]. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering*, 2012, 10(4): 30-34. (in Chinese)
- [16] 赵杰, 官守涛, 孙设宗, 等. 半枝莲多糖清除氧自由基及抗脂质过氧化作用[J]. 中成药, 2012, 34(7): 1361-1364.  
ZHAO Jie, GUAN Shou-tao, SUN She-zong, et al. Scavenging oxygen free radicals and lipid peroxidation of scuteliaria barbata polysaccharide[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2012, 34(7): 136. (in Chinese)
- [17] Ogawa K, Tsurugi J, Watanabe T. Complex of gel forming  $\beta$ 21,32 glucan with congo red in alkaline solution [J]. *Chem Lett*, 1972: 6892-6921.