

• 药剂与工艺 •

高山红景天多糖的硫酸化修饰及 DPPH 自由基清除活性研究

宋见喜¹, 任 婷², 王 贺², 牟莹莹², 冯丽娟¹, 孙 新^{2*}, 佟海滨^{3,4*}

1. 北华大学 分析测试中心, 吉林 吉林 132013

2. 北华大学 吉林省分子老年医学重点实验室生命科学研究中心, 吉林 吉林 132013

3. 温州大学生命与环境科学学院, 浙江 温州 325035

4. 中国中医科学院 博士后科研流动站 中药资源中心, 北京 100700

摘要: 目的 优选高山红景天多糖(RSP)的最佳硫酸化修饰条件, 提高RSP的抗氧化活性。方法 利用氯磺酸-吡啶法对RSP进行了硫酸化修饰, 并通过单因素实验确定了硫酸化反应的最佳工艺条件; 应用红外光谱(IR)和扫描电子显微镜(SEM)对RSP和硫酸化高山红景天多糖(S-RSP)的理化性质进行了分析; 通过测定RSP和S-RSP对1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基的清除能力, 考察了S-RSP的取代度(DS)与多糖抗氧化活性之间的关系。结果 当氯磺酸与吡啶的体积比为1:4、反应时间为2 h、反应温度为60 ℃时, 制得的S-RSP的含硫量最大值为18.83%, 取代度最大值为2.38。RSP经硫酸化修饰后, 增强了其抗氧化活性, S-RSP的DS与DPPH自由基清除能力存在一定的正比例关系。结论 氯磺酸与吡啶的体积比影响S-RSP的DS大小; RSP经硫酸化修饰后通过改变多糖的极性而增加了其抗氧化能力。

关键词: 高山红景天; 多糖; 硫酸化修饰; DPPH 自由基; 抗氧化; 氯磺酸-吡啶法; 单因素实验; 取代度

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)24-5125-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.24.011

Sulfated modification and DPPH free radical scavenging ability of polysaccharide from *Rhodiola sachalinensis*SONG Jian-xi¹, REN Ting², WANG He², MU Ying-ying², FENG Li-juan¹, SUN Xin², TONG Hai-bin^{3,4}

1. Analytical and Testing Center, Beihua University, Jilin 132013, China

2. Jilin Provincial Key Laboratory of Molecular Geriatric Medicine, Life Science Research Center, Beihua University, Jilin 132013, China

3. College of Life and Environmental Sciences, Wenzhou University, Wenzhou 325035, China

4. Center for Post-doctoral Research, Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: Objective To optimize the sulfated modification conditions of *Rhodiola sachalinensis* polysaccharide (RSP) and improve the anti-oxidant activity of RSP. **Methods** RSP were sulfated by chlorosulfonic acid-pyridine method, and the optimal conditions for the sulfated modification were determined by single factor experiments. The physical and chemical properties of RSP and sulfated RSP (S-RSP) were analyzed by infrared spectroscopy (IR) and scanning electron microscopy (SEM). The relation between substituting degree (DS) of S-RSP and anti-oxidative activity of polysaccharide was investigated by testing the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging ability of RSP and S-RSP. **Results** When the volume ratio of chlorosulfonic acid to pyridine was 1:4, the reaction time was 2 h and the reaction temperature was 60 ℃, the maximum sulfur content of S-RSP was 18.83% and the DS

收稿日期: 2017-07-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31401203); 中国博士后科学基金项目(2017M610155); 吉林省分子老年医学重点实验室(20130624003 JC); 吉林省教委科研基金(吉教科合字【2016】第53号)

作者简介: 宋见喜(1981—), 男, 甘肃天水人, 讲师, 博士, 主要从事天然产物方面的研究。Tel: (0432)64608369 E-mail: 03sjx@163.com

*通信作者 佟海滨 Tel: 18604498917 E-mail: tonghaibin@gmail.com

孙 新 Tel: (0432)64608351 E-mail: sunxinbh@126.com

was the highest for 2.38. Moreover, the anti-oxidant activity of RSP was enhanced by the sulfated modification, and there was a certain positive proportional relationship between DS and DPPH free radical scavenging ability of S-RSP. **Conclusion** The volume ratio of chlorosulfonic acid to pyridine affects the DS of S-RSP, and the sulfated modification can increase the anti-oxidant capacity of RSP by changing its polarity.

Key words: *Rhodiola sachalinensis* A. Boriss; polysaccharide; sulfation; DPPH free radical; anti-oxidant; chlorosulfonic acid-pyridine method; single factor experiments; substituting degree

高山红景天 *Rhodiola sachalinensis* A. Boriss. 又名库页红景天, 为景天科 (Crassulaceae) 红景天属 *Rhodiola* L. 多年生草本植物^[1]。高山红景天为重要的药用植物, 有“东方神草”之称, 经过近几十年的研究已经从高山红景天当中分离出数十种化学成分, 包括苷类、黄酮类、香豆素类、挥发油、酚类、多糖类等成分。研究较为深入的药用成分有红景天苷 (salidroside)^[2-5]、酪醇 (tyrosol)^[6-7]、酪萨维 (rosavin)^[8-9]。近些年来国内外对高山红景天的研究主要集中在上述小分子化合物的药效学功能, 而对高山红景天多糖这一生物活性大分子的研究报道较少。天然植物多糖是重要的高分子化合物, 主要是由 10 个以上单糖通过糖苷键连接而成的天然大分子物质, 具有抗肿瘤、抗病毒、抗凝血和免疫调节等多种生物活性^[10-12]。近年来, 多糖的硫酸化修饰是一个研究热点^[13], 其中最重要的原因就是硫酸化产物具有比原形更好的生物活性。例如, 来自褐藻、红藻和绿藻等藻类的多糖, 经硫酸化修饰后, 具有更好的抗肿瘤、抗炎、免疫调节、抗凝血等多种生物学活性^[14]。焦中高等^[15]研究表明, 红枣多糖经硫酸化修饰后, 其抗氧化活性显著增强。

同其他植物多糖类似, 高山红景天多糖 (RSP) 本身具有良好的药理作用, 如抗氧化^[16]、抗辐射^[17]、增强机体免疫力^[18]、抗肿瘤^[19]、抗缺氧作用^[20]等。目前, 对 RSP 的硫酸化修饰研究鲜有报道。因此, 本实验主要优化了 RSP 的硫酸化修饰条件, 并考察了 RSP 硫酸化修饰前后抗氧化能力的变化, 旨在为 RSP 的应用提供参考。

1 仪器与材料

1.1 试药与试剂

RSP 提取于高山红景天地下根部, 苯酚-硫酸法测定质量分数为 94.6%, 由北华大学生命科学研究中心制备; 维生素 C (VC)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 购自 Sigma 公司; DMSO、无水乙醇、*N,N*-二甲基甲酰胺、氯磺酸、吡啶、氢氧化钠、硫酸钾、明胶、氯化钡均为分析纯, 天津永大化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

25 mL 反应釜, 上海霍桐仪器有限公司; 高温干燥箱, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; 水浴超声波, 昆山市超声仪器有限公司; 傅里叶红外光谱仪, 德国布鲁克公司; 紫外可见分光光度计, 美国瓦里安公司; 扫描电子显微镜 (SEM), 美国 FEI 公司。

2 方法与结果

2.1 硫酸化 RSP (S-RSP) 的制备

2.1.1 硫酸化酯化剂的配制 先将三颈烧瓶、冷凝管连在能搅拌、能加热的水浴锅上, 冷凝管通水。在水浴锅中放入冰块后, 将吡啶按照硫酸化试剂的比例 (氯磺酸与吡啶的体积比如表 1 所示) 用带有玻璃枪头的移液枪转移到三颈烧瓶中, 打开搅拌机搅拌 5 min。用带有玻璃枪头的移液枪根据硫酸化试剂的比例再吸取一定量的氯磺酸逐滴加入到正在搅拌的三颈烧瓶中, 加完后, 将冰块从水浴锅中拿出, 然后将温度调节成 20 °C, 实验中保持搅拌状态, 30 min 后, 备用。

表 1 氯磺酸-吡啶试剂与 RSP 的反应比例

Table 1 Experimental design of chlorosulfonic acid-pyridine reagents and RSP

产物	氯磺酸-吡啶	酯化试剂加入量/mL	RSP/mg
S-RSP ₁₋₂	1 : 2	10	100
S-RSP ₁₋₄	1 : 4	10	100
S-RSP ₁₋₈	1 : 8	10	100

2.1.2 S-RSP 的制备 用电子天平精确称取 100 mg RSP, 放入小烧杯中。量取 20 mL 无水 *N,N*-二甲基甲酰胺, 倒入盛有 RSP 的小烧杯中, 搅拌 30 min 使完全溶解后, 将其转移至装有硫酸酯化剂的三颈烧瓶中。

调节温度至 60 °C, 反应 2 h, 通过不同体积比 (1 : 2、1 : 4、1 : 8) 的氯磺酸-吡啶酯化试剂得到具有不同取代度的 S-RSP。反应结束后, 温度恢复至室温, 加入约 15 mL 蒸馏水至分层反应液不再继续分层, 静置, 用 4 mol/L 的氢氧化钠溶液将反应

液的 pH 值调节至 7.0。在 3 500 r/min 下离心 10 min，收集上清液，再用 3 倍体积的乙醇沉降过夜，在 3 500 r/min 下离心 10 min，收集沉淀。沉淀用蒸馏水复溶后，将其转移至透析袋中，分别用自来水、蒸馏水、超纯水各透析 1 d，冻干得到 S-RSP 粉末。

2.1.3 标准曲线的绘制 采用硫酸钡浊度法测定硫酸基浓度^[21]。准确称量明胶 2 g 溶于 400 mL 蒸馏水中，充分搅拌使之完全溶解，溶解完全后放入 4 ℃ 的冰箱中保存；再配制氯化钡明胶溶液：准确称取 4 g 氯化钡溶于 400 mL 明胶溶液中，充分搅拌使之完全溶解，溶解完全后放入 4 ℃ 的冰箱中保存。用移液枪分别量取 0.6 mg/mL 的标准 K₂SO₄ 溶液 0.02、0.06、0.10、0.14、0.18、0.20 mL 于小离心管中，离心管标号，然后向其中加蒸馏水补至 1.0 mL，按照顺序依次加入稀盐酸 1 mL、氯化钡-明胶溶液 0.5 mL，充分摇匀，在室温下放置 20 min。然后用紫外可见分光光度计在 360 nm 处测定硫酸钾-氯化钡-明胶溶液的吸光度(A)，同时做对比实验，以 0.5 mL 的明胶溶液代替氯化钡明胶试剂，测定硫酸钾-明胶溶液的吸光度(A₁)，以硫酸基团的质量浓度为横坐标(X)，A-A₁为纵坐标(Y)绘制标准曲线，并进行线性回归，得线性回归方程为 $Y=3.025\ 2\ X$ ， $R^2=0.997\ 3$ ，硫酸基团在 12~120 μg 线性关系良好。

2.1.4 取代度(DS)的测定 用电子天平准确称取样品 5 mg，放入反应釜，向反应釜中加入 6 mL 的 1 mol/L HCl，在 105 ℃ 的烘箱中反应 12 h，得到游离态的硫酸根离子。反应完后温度恢复至室温，反应液用氮气吹干，吹干完成后加入 1 mL 水，制成待测样品，用移液枪取 0.1 mL，按照“2.1.3”项方法测定，计算硫酸基团的量，并按照下列公式计算 DS。

$$\text{硫酸基团量} = CV/W$$

$$DS = 1.62 \times S / (32 - 1.02 \times S)$$

C 为样品测定质量浓度，V 为样品溶液的体积，W 为样品质量，S 为含硫量

硫酸基团的量转变成含硫量以及测得的 DS 结果如表 2 所示。以硫酸基团 DS 为指标，可以较为直观地看出 RSP 的酯化情况。分析氯磺酸与吡啶的体积比对酯化反应的影响，当体积比为 1:4、反应时间为 2 h、反应温度为 60 ℃ 时^[22]，测定其含硫量最高值为 18.83%，DS 最大值为 2.38。

2.2 RSP 及 S-RSP 的理化性质分析

2.2.1 红外光谱(IR)分析

分别取 1~2 mg RSP 和 S-RSP，用溴化钾压片，在 4 000~400 cm⁻¹ 内用傅里叶变换红外光谱仪扫描，得到的 IR 谱图如图 1 所示。

表 2 RSP 硫酸化修饰实验结果
Table 2 Experiment results of S-RSP

产物	$A-A_1$	被测溶液质量 浓度/(mg·mL ⁻¹)	含硫量/%	DS
S-RSP ₁₋₂	1.26	0.098	16.38	1.74
S-RSP ₁₋₄	1.44	0.113	18.83	2.38
S-RSP ₁₋₈	0.87	0.069	11.43	0.91

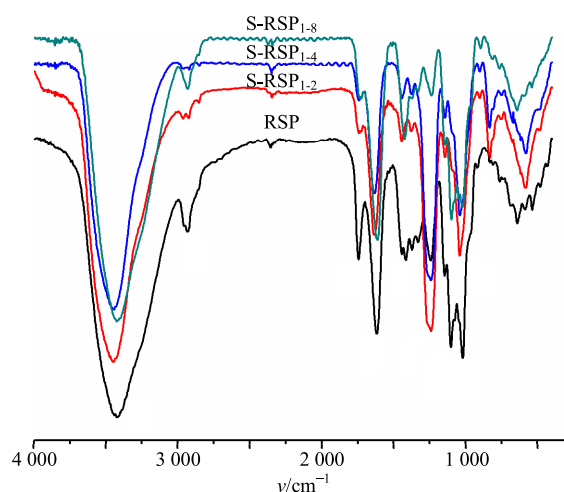


图 1 RSP 和 S-RSP 的 IR 谱图

Fig. 1 IR spectrum of RSP and S-RSP

分析 RSP 的 IR 谱图，3 411 cm⁻¹ 处为缔合 O-H 的伸缩振动吸收峰，也可能包含 N-H 伸缩振动吸收峰；2 922 cm⁻¹ 处为 C-H 伸缩振动吸收峰；1 745 cm⁻¹ 处为 C=O 伸缩振动吸收峰；1 609 cm⁻¹ 处可能为 N-H 变形振动吸收峰；1 099 cm⁻¹ 处为 C-OH 中 C-O 的伸缩振动吸收峰；845、890 cm⁻¹ 处没有吸收峰，以及 1 100~1 010 cm⁻¹ 只有 2 个吸收峰，说明 RSP 含有呋喃糖苷键。

分析 S-RSP₁₋₄ 的 IR 谱图，3 411 cm⁻¹ 处的吸收峰变小，1 099 cm⁻¹ 处的吸收信号几乎消失，同时在 1 235 cm⁻¹ 和 828 cm⁻¹ 处新出现了吸收峰，1 235 cm⁻¹ 处是 S=O 的伸缩振动吸收峰，828 cm⁻¹ 是 C-O-S 的拉伸振动吸收峰，这说明 RSP 经硫酸化修饰后形成了硫酸酯。

对比 S-RSP₁₋₂、S-RSP₁₋₄ 和 S-RSP₁₋₈ 的 IR 谱图，S-RSP₁₋₄ 的 IR 谱图中在 1 235 cm⁻¹ 和 828 cm⁻¹ 处吸收峰信号比较强，在 3 411 cm⁻¹ 吸收峰信号最弱，这也说明了氯磺酸与吡啶的比例为 1:4 时，RSP 的硫酸化程度最高，与此条件下计算得到的 DS 最

高的结果是一致的。

2.2.2 SEM 分析 分别用导电胶将 RSP 和 S-RSP 样品固定在样品座上, 然后用喷金仪对其表面喷金之后, 直接放入电镜中进行测试, 得到的 SEM 图如图 2 所示。从图 2 可以看出, 4 张图的放大倍数都是 1 000 倍, RSP 的 SEM 图中, RSP 基本上以密密麻麻的空心球状形式存在, 部分团聚成带状形式;

经硫酸化修饰后, 密密麻麻的空心球状 RSP 几乎消失, 多糖呈片状、片状形状进一步卷曲成条形状, 表面相对平滑; 随着所采用的酯化试剂不同, 片状、条形状的比例以及大小也不同, 特别是在 S-RSP₁₋₄ 中, 片状多糖基本上都卷曲成条形, 而在 S-RSP₁₋₂ 和 S-RSP₁₋₈ 中, 大部分硫酸化多糖仍然以片状形式存在。

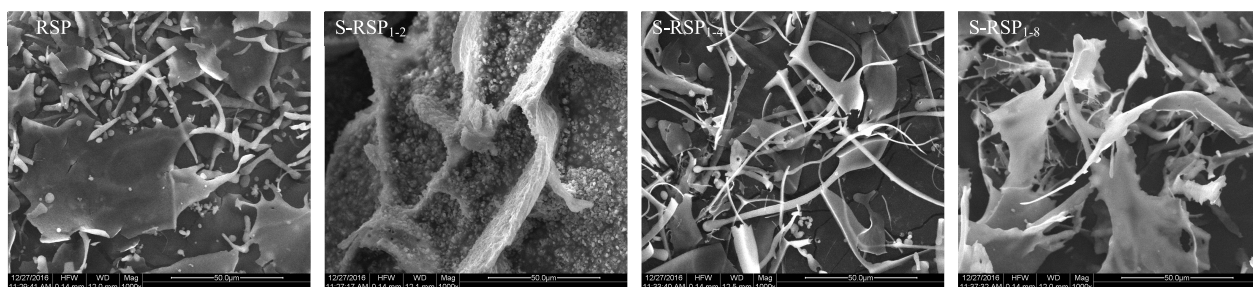


图 2 RSP 和 S-RSP 的 SEM 图

Fig. 2 SEM of RSP and S-RSP

2.3 DPPH 自由基清除活性研究

在 96 孔板中依次加入 100 μL 不同质量浓度的 RSP、S-RSP 溶液或 VC 溶液, 加入 0.2 mmol/L 的 DPPH 无水乙醇溶液 100 μL , 室温反应 30 min, 于波长 517 nm 处测定 A , 按照公式计算 DPPH 自由基的清除率。

$$\text{清除率} = 1 - (A_1 - A_2) / A_0$$

A_0 为水的 A 值, A_1 为多糖溶液的 A 值, A_2 为乙醇的 A 值

RSP 和 S-RSP 对 DPPH 自由基的清除能力如图 3 所示。由图 3 可以看出, RSP 和 S-RSP 均展现出 DPPH 自由基清除的能力。在 0.05~0.80 mg/mL, 随着质量浓度的增加, 清除率也随之增加, 呈明显量效关系。当质量浓度为 0.05 mg/mL 时, RSP 和

S-RSP 的自由基清除能力差别不显著; 当质量浓度大于 0.1 mg/mL 时, S-RSP 的清除能力明显优于 RSP, 并且差别逐渐增大。

比较 S-RSP₁₋₂ 和 S-RSP₁₋₄ 的自由基清除活性, 当质量浓度低于 0.8 mg/mL 时, 两者基本相同, 当质量浓度高于 0.8 mg/mL 时, 前者要大于后者。同时, S-RSP₁₋₈ 的自由基清除活性要低于 S-RSP₁₋₂ 和 S-RSP₁₋₄。当质量浓度达到 1.6 mg/mL 时, RSP、S-RSP₁₋₂、S-RSP₁₋₄ 和 S-RSP₁₋₈ 对 DPPH 自由基的清除率分别为 58.2%、78.9%、73.2% 和 67.1%、均小于对照组 VC 对 DPPH 自由基的清除率 95.2%。

3 讨论

硫酸化修饰多糖的酯化反应条件有: 氯磺酸与吡啶的体积比、反应时间、反应温度。本实验在合理的反应时间和反应温度下, 优化了影响酯化反应的最主要因素, 即磺酸与吡啶的体积比, 当氯磺酸与吡啶的体积比分别为 1:2、1:4、1:8 时, 制得的 S-RSP 的含硫量分别为 16.38%、18.83%、11.43%, DS 分别为 1.74、2.38、0.91。相对于张丽萍等^[23]制备出的硫酸化红景天多糖的最高含硫量 11.01%, DS 为 0.85, 本实验优化的多糖硫酸化制备工艺取代度最高能达到 2.38, 说明 RSP 中羟基上的氢大部分被磺酸基所取代。这样的结果通过 S-RSP IR 谱图中 1 099 cm^{-1} 处为 C-OH 中 C-O 的伸缩振动吸收峰明显减小加以证明。S-RSP IR 谱图中新出现的 1 235 cm^{-1} 处 S=O 的伸缩振动吸收峰, 828 cm^{-1} 处 C-O-S

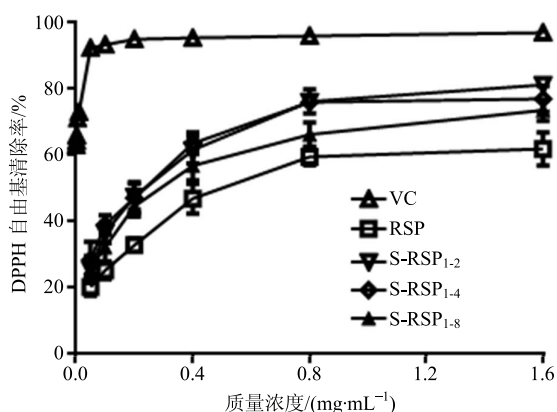


图 3 RSP 和 S-RSP 对 DPPH 自由基清除能力

Fig. 3 DPPH free radical scavenging ability of RSP and S-RSP

的拉伸振动吸收峰,说明了RSP经硫酸化修饰后形成了硫酸酯。随着氯磺酸与吡啶体积比的减小,意味着在相同体积的酯化试剂中,氯磺酸的绝对含量一直在减小;而制得的硫酸化多糖的DS先增加后减小,这是因为当氯磺酸的绝对含量过高时,会将部分多糖水解^[24],当氯磺酸的绝对含量比较低,磺酸基的数量又不足以取代多糖羟基中的氢,导致取代度又降低。

DPPH自由基清除活性初步研究结果表明,RSP和S-RSP均具有一定的抗氧化活性,且RSP经硫酸化修饰后抗氧化能力有所增加。这是因为RSP链中羟基上的氢逐渐被磺酸基取代后,使多糖分子极性降低,脂溶性增加,黏度降低,从而增强了与DPPH自由基的结合能力。同时,S-RSP₁₋₈的自由基清除活性要低于S-RSP₁₋₂和S-RSP₁₋₄,说明RSP的硫酸化DS与其对DPPH自由基清除能力存在一定的正比关系。这说明,RSP经硫酸化修饰后,随着DS的增加,形成的S-RSP的构象更加有利于与DPPH结合。这种构象的变化,也反映在其表面形貌的变化,利用SEM观察其形貌,RSP的表面由密密麻麻的空心球状,经硫酸化修饰后变成了卷曲状的片状,而且表面更加光滑,这种形貌可能更有利于与DPPH充分地结合。

参考文献

- [1] 中国植物志编撰委员会. 中国植物志 (第三十四卷第一分册) [M]. 北京: 科学出版社, 1984.
- [2] 薛海萍, 高婷婷, 杨 骏, 等. 红景天苷磷脂复合物的制备及表征 [J]. 中草药, 2015, 46(22): 3333-3337.
- [3] 宋向军, 陈 晨. 红景天苷对链脲佐菌素诱导糖尿病大鼠血糖、血脂和抗氧化能力的影响 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(8): 933-937.
- [4] 张明发, 沈雅琴. 红景天苷心脏保护药理作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(1): 125-132.
- [5] 赵红斌, 甄英丽, 田 蓉, 等. Notch和BMP信号通路介导红景天苷促进小鼠骨髓间充质干细胞向神经元细胞定向分化研究 [J]. 中草药, 2016, 47(13): 2294-2300.
- [6] 张明发, 沈雅琴. 红景天苷及其苷元酪醇的抗炎、抗肿瘤和免疫调节作用 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(3): 228-234.
- [7] 邹 亮, 王战国, 胡慧玲, 等. HPLC-小粒径色谱柱法测定红景天提取物中红景天苷、酪醇和络赛维 [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1334-1337.
- [8] 南京中医药大学. 中药大辞典 (上册) [M]. 第2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
- [9] 倪付勇, 陈 重, 许琼明, 等. 高山红景天化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(7): 798-802.
- [10] 李尔春. 天然植物多糖的结构及活性研究进展 [J]. 食品工程, 2007, 9(1): 44-46.
- [11] 董 莉, 蒋金珩, 郭 菲, 等. 复方库拉索芦荟多糖凝胶剂处方工艺研究及其体外释药特性评价 [J]. 中草药, 2016, 47(24): 4345-4350.
- [12] 陈 冠, 赵振宇, 傅 予, 等. 苦豆子多糖SAP的结构表征及其对CT26抗肿瘤活性研究 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1103-1107.
- [13] 谢明勇, 王之珺, 谢建华. 多糖的硫酸化修饰及其结构与生物活性关系研究进展 [J]. 中国食品学报, 2015, 15(2): 1-8.
- [14] 李晓萌, 汲晨锋, 季宇彬. 硫酸化海藻多糖及其生物活性研究 [J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2017, 33(1): 11-14.
- [15] 焦中高, 刘杰超, 周红平, 等. 硫酸化修饰对红枣多糖自由基和亚硝基清除活性的影响 [J]. 中国食品学报, 2007, 7(2): 17-22.
- [16] Lee M W, Lee Y A, Park H M, et al. Antioxidative phenolic compounds from the roots of *Rhodiola sachalinensis* A. Bor [J]. *Arch Pharm Res*, 2000, 23(5): 455-458.
- [17] 王振华, 张 红. 红景天苷对X射线辐射损伤防护作用 [J]. 生物物理学报, 2009, 25(S1): 479-480.
- [18] Lu L, Yuan J, Zhang S. Rejuvenating activity of salidroside (SDS): Dietary intake of SDS enhances the immune response of aged rats [J]. *Age*, 2013, 35(3): 637-646.
- [19] 宋汉君, 吕少春, 李丽疆, 等. 红景天苷的抗肿瘤作用 [J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(20): 3991-3992.
- [20] 龙 怡, 李佳川, 孟宪丽. 红景天有效成分对缺氧缺糖心肌细胞损伤的保护作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2010, 26(1): 24-25.
- [21] 陈 乾, 马天翔, 郭宏举, 等. 硫酸钡-比浊法测定褐藻糖胶中硫酸根的含量 [J]. 药学实践杂志, 2012, 30(2): 118-120.
- [22] 谢建华. 青钱柳多糖的分子修饰及其生物活性研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2014.
- [23] 张丽萍, 汉丽萍, 王月秋, 等. 硫酸化高山红景天多糖(RSASL)的制备及鉴定 [J]. 分子科学学报, 1999, 15(4): 205-209.
- [24] 王 莉, 陈正行. 米糠多糖的硫酸酯化工艺的研究 [J]. 粮食加工, 2010, 35(2): 66-69.