

白筋多糖的分离纯化及抗氧化活性研究

程轩轩, 张旭红, 杨慧文, 张冰心, 潘育方*

广东药科大学, 国家中医药管理局岭南药材生产与开发重点实验室, 广东 广州 510006

摘要:目的 提取、分离和纯化白筋多糖(ATP), 测定单糖组成和相对分子质量(M)分布, 并进行体外抗氧化活性检测。方法 通过水提醇沉、Sevage法、DEAE-cellulose 52和Sephadex G-50柱色谱法分离、纯化ATP。采用HPLC和凝胶渗透色谱(HPGPC)法对多糖的单糖组成和相对分子质量分布进行测定。通过体外清除DPPH $\cdot$ 、ABTS $^{+}\cdot$ 、羟基自由基($\cdot$ OH)和超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)自由基的方法, 评价ATP的抗氧化活性。结果 获得1个量较高的中性均一多糖(ATP1-1)以及2个酸性多糖组分ATP2、ATP3。ATP1-1主要由葡萄糖和少量半乳糖、甘露糖、鼠李糖组成。ATP2主要由葡萄糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖和少量甘露糖、鼠李糖组成。ATP3主要由鼠李糖、葡萄糖醛酸、葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖组成。ATP1-1的重均相对分子质量(M_w)为2 310。抗氧化实验表明ATP1-1对DPPH $\cdot$ 、ABTS $^{+}\cdot$ 、 $\cdot$ OH和 $O_2^{\cdot-}$ 自由基均有明显的清除作用, 半数抑制浓度(IC $_{50}$)分别为0.042 4、0.007 9、2.313 6、1.753 0 mg/mL。结论 ATP1-1有较好的抗氧化活性并呈现出良好的量效关系。

关键词: 白筋; 多糖; 抗氧化活性; 中性均一多糖; 单糖组成

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)20-4219-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.20.015

Isolation, purification and anti-oxidant activity of polysaccharides from *Acanthopanax trifoliatum*

CHENG Xuan-xuan, ZHANG Xu-hong, YANG Hui-wen, ZHANG Bing-xin, PAN Yu-fang

Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine for Production & Development of Cantonese Medicinal Materials, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Abstract: **Objective** To extract, isolate and purify the polysaccharides from *Acanthopanax trifoliatum* (ATP), determine the monosaccharide composition and molecular weight distribution of ATP, and evaluate its anti-oxidant activity *in vitro*. **Methods** ATPs were prepared by water extraction ethanol precipitation. Sevage deproteinization, DEAE-cellulose 52, and Sephadex G-50 column chromatography were applied for the further isolation and purification of polysaccharides. Then, the monosaccharide composition and mean molecular mass of ATP were analyzed by HPLC and HPGPC. The antioxidant activity of ATP was evaluated through the scavenging capabilities of DPPH $\cdot$, ABTS $^{+}\cdot$, $\cdot$ OH and $O_2^{\cdot-}$ free radicals. **Results** A neutral homogeneous polysaccharide (ATP1-1) and two acidic polysaccharides (ATP2 and ATP3) were obtained by column chromatography. According to the HPLC analysis, ATP1-1 consists of glucose, galactose, mannose and rhamnose. ATP2 consists of glucuronic acid, glucose, galactose, arabinose, mannose, and rhamnose. ATP3 was composed of rhamnose, glucuronic acid, glucose, galactose, and arabinose. ATP1-1 with the average molecular mass of 2 310, had obvious effect on scavenging ability of DPPH $\cdot$, ABTS $^{+}\cdot$, $\cdot$ OH and $O_2^{\cdot-}$ free radicals, with IC $_{50}$ values of 0.042 4, 0.007 9, 2.313 6, and 1.753 0 mg/mL, respectively. **Conclusion** ATP1-1 displayed obvious anti-oxidant activity with a good dose-effect relationship.

Key words: *Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr.; polysaccharides; anti-oxidant activity; neutral homogeneous polysaccharide; monosaccharide composition

五加科植物白筋 *Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr., 又名鹅掌筋、三叶五加、三加皮等, 是我国华南、西南、华中等地常用的民间草药。根、茎、叶均可入药, 具有清热解毒、祛风除湿、舒筋活血

收稿日期: 2017-04-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81503217); 广东省科技计划项目(2016ZC0172); 广东省自然科学基金(2017A030313623)

作者简介: 程轩轩(1978—), 女, 博士, 副教授, 从事中药化学成分与药理活性研究。E-mail: gdyxcxx@126.com

*通信作者 潘育方(1966—), 男, 教授。E-mail: p39352353@126.com

等功效^[1-2]。其嫩叶富含抗坏血酸(Vc)、叶绿素、粗蛋白、可溶性糖、氨基酸和人体必需的矿物质元素,是一种营养和保健价值都很高的野生蔬菜^[3-4],还被加工成筍菜干和筍菜茶,具有较高的经济价值和广阔的开发前景。课题组前期研究发现白筍茎中多糖的量较其他药用部位更高。鉴于五加科植物多糖具有免疫调节、抗肿瘤、造血调控、抗炎、抗缺氧、抗衰老、抗疲劳、中枢抑制等广泛的生理活性和毒副作用低的特点,国内外学者对五加科植物多糖的研究方兴未艾^[5-7]。本研究通过对白筍多糖(*Acanthopanax trifoliatum* polysaccharides, ATP)的提取、分离和纯化,得到1个中性均一多糖 ATP1-1和2个酸性多糖组分 ATP2、ATP3,并对 ATP1-1体外抗氧化活性进行评价,为 ATP 的进一步开发利用提供理论依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

FA2204B 电子天平(上海精科天美科学仪器有限公司); UV-2450 紫外可见分光光度计(日本岛津公司); EYELA-N-1100D-WD 型旋转蒸发仪(日本东京理化公司); PH2T-92VOA 电热恒温鼓风干燥箱、DK-S26 电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司); 90-1 型恒温磁力搅拌器(上海精科仪器有限公司); HY-8 调速多用振荡摇床(金坛市友联仪器研究所); LGC-18 冷冻干燥机(北京松源华兴科技有限公司)。

1.2 材料

对照品 D-甘露糖(质量分数 99.0%, 批号 40708)、L-鼠李糖(质量分数 98.3%, 批号 30521)、D-半乳糖(质量分数 99.5%, 批号 10509)、L-阿拉伯糖(质量分数 99.0%, 批号 20601)均购自德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司; D-葡萄糖(成都普思生物科技股份有限公司, 质量分数 99%, 批号 1231-0100); D-葡萄糖醛酸(中国食品药品检定研究院, 质量分数 99%, 批号 140648-201403); Dextran 标准多糖(中国食品药品检定研究院, 批号 140639-201203); Vc(天津市大茂化学试剂厂, 质量分数≥99%); 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP, 上海亨代劳商贸有限公司); 三氟乙酸(TFA, 广州苏维化工有限公司); 1,1-二苯基-2-苦基肼自由基(DPPH)、2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS), 购自上海麦克林公司; 考马斯亮蓝 G250、邻苯三酚、邻二氮菲、磷酸二氢钾、硫酸

亚铁(国药集团化学试剂有限公司); HPD-600 大孔树脂(沧州宝恩吸附材料科技有限公司); DEAE-cellulose 52、Sephadex G-50(上海鼎国生物技术有限公司); 透析袋(上海金穗生物科技有限公司); 乙醇、乙醚、丙酮等试剂均为分析纯(天津百世试剂公司)。

白筍茎采自广东省恩平市, 经广东药科大学刘基柱副教授鉴定为五加科植物白筍 *Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr. 的干燥茎。

2 方法

2.1 ATP 的提取

取干燥的白筍茎粉碎过 20 目筛, 加 10 倍量蒸馏水, 浸泡过夜, 100 ℃提取 2 次, 每次 2 h。合并提取液, 减压浓缩至总体积的 1/10, 4 500 r/min 离心 10 min, 弃沉淀。向上清液中加 2 倍量无水乙醇, 沉淀 24 h, 离心 10 min, 收集醇沉物, 再依次用无水乙醇、乙醚、丙酮洗涤, 真空冷冻干燥后, 检测 ATP 得率, 重复 3 次取平均值。

2.2 总糖量的测定

苯酚-硫酸法^[8]测定总糖量, 以标准品无水葡萄糖的质量浓度(C , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标, 吸光度(A)值为纵坐标绘制标准曲线, 检测波长 490 nm。

2.3 Sevage 法脱蛋白

精密称取 ATP 200 mg 置于 50 mL 量瓶中, 以蒸馏水溶解、定容, 配制质量浓度为 4 mg/mL 的 ATP 水溶液。按 4 倍体积加入正丁醇-氯仿(1:4)的混合液, 剧烈振荡 20 min, 4 500 r/min 离心 15 min, 收集上层溶液, 经由 6 次脱蛋白处理, 分别测定蛋白质的量^[8], 计算蛋白脱除率和多糖保留率, 确定适宜的处理次数。

2.4 多糖的分离

2.4.1 DEAE-cellulose 52 柱色谱分离 取适量经脱蛋白处理后的 ATP, 溶于蒸馏水中, 配成质量浓度为 50 mg/mL 的溶液, 8 000 r/min 离心 10 min, 取上清液用 DEAE-cellulose 52 离子柱进行初步分离, 依次用蒸馏水、0.05 mol/L 和 0.2 mol/L 氯化钠溶液梯度洗脱, 分别收集中性多糖 ATP1, 酸性多糖 ATP2 和 ATP3。体积流量 1.3 mL/min, 以每管 10 mL 收集洗脱液, 苯酚-硫酸法检测洗脱液 490 nm 处 A 值。根据洗脱曲线合并相同流分, 浓缩、透析、冻干。

2.4.2 Sephadex G-50 柱色谱分离 称取 100 mg 经 DEAE-cellulose 52 纯化后的中性多糖 ATP1, 溶于 2 mL 蒸馏水中, 0.45 μm 滤膜滤过, 滤液经 Sephadex

G-50 色谱柱,用蒸馏水洗脱,体积流量 0.5 mL/min,以每管 5 mL 收集洗脱液。苯酚-硫酸法检测洗脱液的 A 值。根据洗脱曲线合并相同流分,浓缩、透析、冻干。得到一个中性均一多糖 ATP1-1。

2.5 HPLC 法测定多糖的单糖组成

2.5.1 色谱条件 岛津 GL Inertsil ODS-3 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相为 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲溶液 (pH 6.8, A)-乙腈 (B)。梯度洗脱: 0~30 min, 83%→81% A; 30~50 min, 81% A; 检测波长 250 nm; 体积流量 1 mL/min; 柱温 28 $^{\circ}$ C; 进样体积 20 μ L。

2.5.2 单糖混合对照品溶液的配制 精密称取适量的 8 种单糖 (D -甘露糖、 L -鼠李糖、 D -半乳糖醛酸、 D -葡萄糖醛酸、 D -葡萄糖、 D -半乳糖、 D -木糖和 L -阿拉伯糖) 对照品,用超纯水溶解并定容,配制质量浓度为 0.4 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.5.3 多糖水解样品的制备 精密称取 10 mg 的多糖样品 (ATP1-1、ATP2、ATP3) 置于具塞试管中,加入 2 mL 0.2 mol/L 的 TFA, 100 $^{\circ}$ C 水解 8 h,减压浓缩至干,加甲醇反复蒸干 5 次,除去多余的 TFA,用 2 mL 超纯水溶解待衍生化。

2.5.4 柱前衍生化处理与测定 取多糖样品 (ATP1-1、ATP2、ATP3) 溶液和混合对照品溶液各 0.2 mL,置于 10 mL 具塞试管中,依次加入 0.5 mol/L 的 PMP 甲醇溶液 0.2 mL 和 0.3 mol/L 的 NaOH 溶液 0.2 mL,涡旋混合 30 s,于 70 $^{\circ}$ C 水浴加热 60 min,冷却至室温,加入 0.3 mol/L 的 HCl 溶液进行中和,并加入适量超纯水稀释混匀,加入氯仿 1 mL 涡旋混匀 30 s,离心取上清液,氯仿重复萃取 4 次,上清液过 0.45 μ m 滤膜。取衍生化后的样品溶液和对照品溶液各 20 μ L,按“2.5.1”项下色谱条件测定。

2.6 多糖组分的紫外光谱

将各多糖组分 (ATP1-1、ATP2、ATP3) 分别制成质量浓度为 1.0 mg/mL 的溶液,200~400 nm 波长下进行紫外扫描。

2.7 中性均一多糖 ATP1-1 的相对分子质量测定

采用高效凝胶渗透色谱 (HPGPC) 系统 (包括 TSK gel G5000-3000 PWXL 串联凝胶色谱柱,2414 型示差折光检测器),流动相为 0.02 mol/L KH_2PO_4 水溶液,体积流量 1 mL/min,柱温 35 $^{\circ}$ C,进样量 20 μ L。Dextran 标准多糖按照相同条件进样,以其重均相对分子质量 (M_w) 的对数 ($\log M_w$) 对保留

时间,用 HPGPC 软件拟合得标准曲线,从而测定 ATP1-1 的相对分子质量。

2.8 ATP1-1 的体外抗氧化能力检测

将 ATP1-1 和阳性对照 Vc 分别用蒸馏水配成系列质量浓度的样品溶液,进行抗氧化活性检测。 A 值平行测定 3 次,取平均值。根据公式计算清除率,以样品质量浓度为横坐标 (X),自由基清除率为纵坐标 (Y),绘制标准曲线。根据线性方程计算半数抑制浓度 (IC_{50} ,即清除率为 50% 时所需样品浓度)。

2.8.1 DPPH $\cdot$ 自由基清除能力的测定^[9] 精密称取适量 DPPH,用无水乙醇溶解,配制质量浓度为 0.35 mg/mL 的 DPPH 储备液。取不同质量浓度的样品溶液 1 mL 和 DPPH 储备液 0.5 mL,加入具塞试管中混匀,室温避光反应 30 min,在 517 nm 下测定吸光度值 A_i ,0.5 mL DPPH 溶液加 1 mL 蒸馏水的吸光度值为 A_0 ,0.5 mL 无水乙醇加 1 mL 样品溶液吸光度值为 A_j 。根据公式计算清除率和 IC_{50} 。

$$\text{清除率} = 1 - (A_i - A_j) / A_0$$

2.8.2 ABTS $^+$ 自由基清除能力的测定 参考文献方法^[10-11],并作适当修改。配制 7 mmol/L 的 ABTS 溶液 (A) 和 7.35 mmol/L 的 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 溶液 (B)。将 A 和 B 按体积比 2:1 混合,室温下避光反应 16 h 形成 ABTS 储备液。使用之前用蒸馏水稀释,使其 A 值在 734 nm 处达到 0.70 ± 0.02 。分别吸取不同质量浓度的样品溶液 1 mL 于具塞试管中,加入 2 mL ABTS 储备液,涡流振荡 30 s 后室温暗处反应 8 min,于 734 nm 波长处测定 A 值。计算清除率和 IC_{50} 。

$$\text{清除率} = (A_0 - A_i) / A_0$$

A_0 为 ABTS $^+$ 储备液的吸光度值, A_i 为样品溶液的吸光度值

2.8.3 $\cdot\text{OH}$ 清除能力的测定^[12-13] 取 7.5 mmol/L 邻二氮菲 1 mL 和 pH 7.4 磷酸盐缓冲液 2 mL 分别加入若干 10 mL 量瓶,然后分别加入不同质量浓度的样品溶液 1 mL,充分摇匀后,加入 7.5 mmol/L 的 FeSO_4 溶液 1 mL,随后加入质量分数为 0.1% 的 H_2O_2 溶液 1 mL,并加蒸馏水定容至 10 mL。摇匀,置于 37 $^{\circ}$ C 水浴保温 60 min,于 510 nm 波长处测定 A 值。以 Vc 为阳性对照,蒸馏水为参比液,计算清除率和 IC_{50} 。

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

A_1 为样品液反应后的 A 值, A_2 为蒸馏水代替样品液的 A 值, A_0 为蒸馏水代替样品液和 H_2O_2 的 A 值

2.8.4 O_2^- 清除能力的测定^[12-13] 50 mmol/L Tris-HCl (pH 8.2) 缓冲液 4.5 mL 分别加入若干具

塞试管中, 分别加入不同质量浓度的样品溶液 1 mL, 再加入 25 mmol/L 邻苯三酚溶液 0.4 mL, 摇匀置于 25 °C 水浴中反应 5 min, 立即加入 8 mmol/L HCl 溶液 1 mL 终止反应, 于 325 nm 处测定 A 值。以 Tris-HCl 缓冲液做参比液, V_c 为阳性对照, 计算清除率和 IC_{50} 。

$$\text{清除率} = 1 - (A_x - A_{x0}) / A_0$$

A_0 为仅加邻苯三酚不加样品液的 A 值, A_x 为同时加邻苯三酚和样品液的 A 值, A_{x0} 为不加邻苯三酚仅加样品液的 A 值

3 结果

3.1 ATP 的提取及总糖量的测定

ATP 的提取率为 10.57%, 按照“2.2”项下方法测定其中总糖量为 37.6%。

3.2 标准曲线的绘制

以 A 值为纵坐标, 以对照品无水葡萄糖的质量浓度 C ($\mu\text{g/mL}$) 为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程 $A = 0.0109C - 0.0266$, $R^2 = 0.9992$, 线性范围 30~70 $\mu\text{g/mL}$ 。

3.3 Sevage 法脱蛋白

分别经由 1、2、3、4、5、6 次脱蛋白处理后, ATP 的蛋白脱除率/多糖保留率依次为 31.84%/95.44%、34.08%/93.61%、39.66%/89.14%、78.21%/84.57%、79.33%/78.28%、79.33%/77.27%。随着处理次数的增加, 多糖损失率和蛋白脱除率也随之增加, 综合考虑确定脱蛋白次数为 4 次。

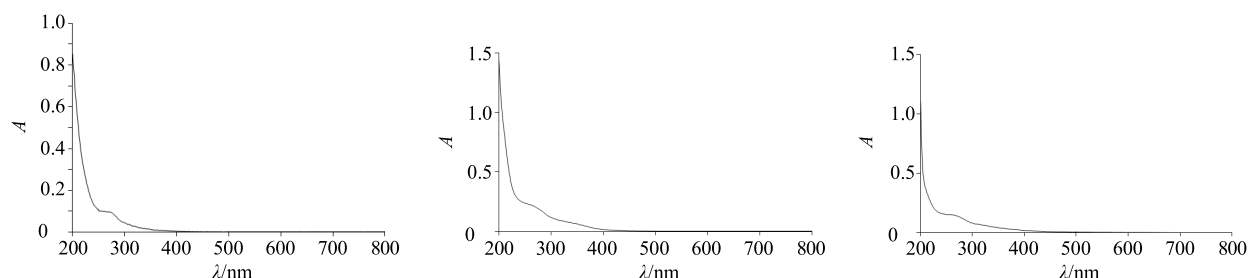


图1 ATP1-1、ATP2 和 ATP3 紫外全波长扫描图

Fig.1 Ultraviolet scanning spectrum of ATP1-1, ATP2, and ATP3

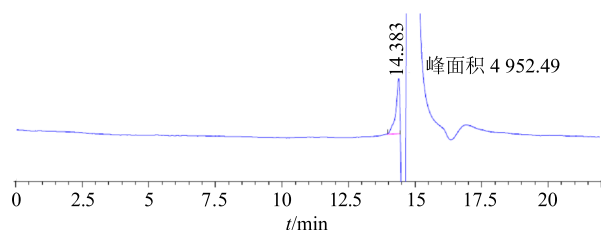


图2 ATP1-1 的 HPGPC 色谱图

Fig.2 HPGPC spectrum of ATP1-1

3.4 多糖的分离

ATP 经 DEAE-cellulose 52 离子柱色谱分离, 分别得到 3 个组分: 中性多糖 ATP1 及酸性多糖 ATP2 和 ATP3。计算各组分多糖的得率分别为 15.54%、1.48% 和 3.18%, 按照“2.2”项下方法测定 3 个组分中总糖量分别为 82.31%、73.29% 和 75.48%。ATP1 经 Sephadex G-50 柱色谱分离纯化, 洗脱曲线中只有单一对称峰 ATP1-1。

3.5 多糖的单糖组成分析

HPLC 分析结果显示, 中性均一多糖 ATP1-1 主要由葡萄糖和少量半乳糖、甘露糖、鼠李糖组成。酸性多糖 ATP2 主要由葡萄糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖和少量甘露糖、鼠李糖组成。酸性多糖 ATP3 主要由葡萄糖醛酸、半乳糖、阿拉伯糖和少量鼠李糖、葡萄糖组成。

3.6 多糖组分的紫外光谱分析

紫外光谱显示 (图 1), 在 260 nm 和 280 nm 处均无吸收, 表明纯化后的多糖组分不含核酸、蛋白质及肽类等杂质。

3.7 ATP1-1 的相对分子质量测定

ATP1-1 经高效凝胶渗透色谱鉴定, 其峰形单一, 为均一多糖 (图 2)。根据标准曲线 $\log M_w = -0.2002 t_R + 9.8105$ ($R^2 = 0.9981$)。 M_w 为 2310, 数均相对分子质量 (M_n) 为 2270, 分布系数 D (M_w/M_n) 为 1.02。

3.8 ATP1-1 的抗氧化活性分析

在 DPPH $\cdot$ 、ABTS $^{+\cdot}$ 、 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 4 种体外自由基模型中, ATP1-1 的抗氧化能力随着质量浓度的增加而明显增强, 且在实验浓度范围内, 清除率 (Y) 与质量浓度 (X) 的线性关系良好, 回归方程分别为 $Y = 674.6X + 21.423$ ($R^2 = 0.9910$)、 $Y = 1202.3X + 40.476$ ($R^2 = 0.9941$)、 $Y = 22.918X - 3.0219$ ($R^2 = 0.9977$) 和 $Y = 22.32X + 10.872$ ($R^2 = 0.9995$)。

由回归方程计算样品对4种自由基的 IC_{50} 值依次为0.042 4、0.007 9、2.313 6、1.753 0 mg/mL。阳性对照Vc对4种自由基模型的回归方程及 IC_{50} 值分别为 $Y=14\ 961\ X+12.229$ ($R^2=0.993\ 2$, $IC_{50}=0.002\ 5$ mg/mL)、 $Y=5\ 888\ X+32.197$ ($R^2=0.998\ 2$, $IC_{50}=0.003\ 0$ mg/mL)、 $Y=116.79\ X+7.812\ 9$ ($R^2=0.998\ 2$, $IC_{50}=0.361\ 2$ mg/mL)和 $Y=206.31\ X-9.456\ 9$ ($R^2=0.995\ 9$, $IC_{50}=0.288\ 2$ mg/mL)。结果表明ATP1-1对DPPH $\cdot$ 、ABTS $^{+\cdot}$ 、 $\cdot$ OH和 $O_2^{\cdot-}$ 自由基均有较明显的清除作用,其中对ABTS $^{+\cdot}$ 清除能力最强,与Vc的能力相当。

4 讨论

本研究通过水提醇沉和Sevage法,可使ATP的脱蛋白率达78.21%,多糖保留率达84.57%。经柱色谱分离、纯化得到中性均一多糖ATP1-1和酸性多糖组分ATP2、ATP3。采用柱前衍生化HPLC法分析单糖组成,结果显示ATP1-1主要由葡萄糖和少量半乳糖、甘露糖、鼠李糖组成。ATP2主要由葡萄糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖和少量甘露糖、鼠李糖组成。ATP3主要由葡萄糖醛酸、半乳糖、阿拉伯糖和少量鼠李糖、葡萄糖组成。HPGPC法测定ATP1-1的 M_w 为2 310, M_n 为2 270, D 为1.02。抗氧化实验显示ATP1-1对DPPH $\cdot$ 、ABTS $^{+\cdot}$ 、 $\cdot$ OH和 $O_2^{\cdot-}$ 均有较明显的清除作用,且抗氧化能力呈现出良好的量效关系。研究结果为合理开发白藜多糖提供理论依据。今后将深入研究ATP1-1的理化性质和结构解析,同时对酸性多糖进行分离纯化,为白藜多糖资源的深入利用和高附加

值产品开发提供有价值的参考。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [2] 蔡凌云, 黎云祥, 陈 蕉, 等. 白藜多糖的提取工艺和含量比较 [J]. 光谱实验室, 2009, 26(2): 251-257.
- [3] 张秋燕, 张福平. 野生保健蔬菜——白藜 [J]. 食品研究与开发, 2003, 24(3): 66-67.
- [4] 林春华, 乔燕春, 谭 雪, 等. 野生蔬菜白藜的安全性评价 [J]. 广东农业科学, 2014(8): 47-51.
- [5] 任玉新, 金立弟, 韩 宇. 五加科植物多糖的药理作用研究进展 [J]. 中国药业, 2012, 21(6): 83-86.
- [6] 吕晓英, 吴家群, 王双印, 等. 五加科多糖抑癌机制研究进展 [J]. 预防医学情报杂志, 2000, 16(3): 214-216.
- [7] 吕晓英, 王维祥, 郑克勤. 五加科植物多糖的生物学作用研究进展 [J]. 中国中医药信息杂志, 2000, 7(6): 46-47.
- [8] 聂永心. 黄伞子实体多糖的分离纯化、结构鉴定及生物活性的研究 [D]. 济南: 山东农业大学, 2011.
- [9] 李姝蓓, 张 东, 杨 岚, 等. 荚果蕨贯众提取物中黄酮类成分的含量测定和抗氧化活性研究 [J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(21): 1860-1863.
- [10] 孟 旭, 刘学波. 茶多酚协同荷叶碱的抗氧化活性及其对结肠癌细胞的抑制作用 [J]. 食品科学, 2014, 35(19): 119-124.
- [11] 潘乔丹, 熊圆圆, 陈文东, 等. 扁担藤不同极性成分抗氧化活性研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1): 232-235.
- [12] 徐望龙, 李云贵, 孙林军, 等. 山银花黄酮粗提物抗氧化活性的体外观察 [J]. 中成药, 2014, 36(6): 1292-1294.
- [13] 蔡丹燕, 祁龙凯, 林 励. 佛手叶总黄酮超声提取工艺优化及其抗氧化活性研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2015, 32(2): 308-312.