佟伟霜,麦延群,王梦帅,等. 牡丹皮多糖硫酸化修饰及其抗氧化和降血糖活性研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(13): 215−225. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070316

TONG Weishuang, MAI Yanqun, WANG Mengshuai, et al. Sulfation Modification of Moutan Cortex Polysaccharides and Its Antioxidant and Hypoglycemic Activities[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(13): 215−225. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070316

· 工艺技术 ·

牡丹皮多糖硫酸化修饰及其抗氧化和降血糖活性研究

佟伟霜,麦延群,王梦帅,张　弛,王张之,冯文坡,范卫卫,邱渊皓*,高华山*

（平顶山学院,河南省伏牛山药用资源利用与分子医学工程技术研究中心,河南平顶山 467000）

摘　要: 目的：优化牡丹皮多糖（MCP）硫酸化修饰工艺，系统评价硫酸化牡丹皮多糖（S-MCP）的结构特征、抗氧化活性及降血糖作用。方法：采用浓硫酸法对 MCP 进行硫酸化修饰，基于单因素实验与响应面法，以取代度为指标优化工艺参数；采用 FTIR、DLS 和 SEM 对产物 S-MCP 进行结构表征；体内外评估其抗氧化和降血糖活性。结果：最优硫酸化工艺条件为：酯化时间 39 min、浓硫酸用量 1.45 mL、硫酸铵用量 30 mg，所得 S-MCP 取代度为 0.07391±0.0020。结构表征证实了 S-MCP 成功引入硫酸酯基，其粒径（294.44±40.62 nm）小于 MCP（356.32±26.07 nm），显微特征由疏松多孔变为破碎层状。体外活性实验表明，S-MCP 对 DPPH、$ABTS^{+}$及羟基自由基的清除率（3.0 mg/mL 时分别为 64.85%、82.42%、71.34%）显著高于 MCP，且呈浓度依赖性；对 α-葡萄糖苷酶的抑制率（1.0 mg/mL 时为 43.92%）优于 MCP（31.31%）。细胞毒性结果分析表明，硫酸化后的牡丹皮多糖对细胞无显著的毒副作用。小鼠糖耐量实验显示，S-MCP 可显著降低淀粉和蔗糖负荷后的血糖水平，减小曲线下面积。结论：硫酸化修饰能有效增强 MCP 的抗氧化及降血糖活性，为其在功能食品和医药领域的开发应用提供科学依据。

关键词: 响应面,牡丹皮多糖,硫酸化修饰,抗氧化,降血糖

中图分类号: R151　　**文献标识码:** B　　**文章编号:** 1002−0306(2026)13−0215−11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070316

本文网刊:

Sulfation Modification of Moutan Cortex Polysaccharides and Its Antioxidant and Hypoglycemic Activities

TONG Weishuang，MAI Yanqun，WANG Mengshuai，ZHANG Chi，WANG Zhangzhi，FENG Wenpo，FAN Weiwei，QIU Yuanhao*，GAO Huashan*

（Pingdingshan University, Henan Funiu Mountain Medicinal Resources Utilization and Molecular Medicine Engineering Technology Research Center, Pingdingshan 467000, China）

Abstract: Objective: We optimized the sulfation modification process of Moutan cortex polysaccharide (MCP) and systematically evaluated the structural characteristics, antioxidant activity, and hypoglycemic potency of sulfated MCP (S-MCP). Methods: MCP were sulfated using concentrated sulfuric acid method. The process parameters were optimized using single-factor experiments, response surface methodology, and using degree of substitution (DS) as an index. S-MCP structure was characterized by FTIR, DLS, and SEM. Its antioxidant and hypoglycemic activities were evaluated *in vitro* and *in vivo*. Results: Optimal sulfation conditions for MCP included 39 min esterification time, 1.5 mL concentrated sulfuric acid, and 30 mg of ammonium sulfate. Under these conditions, the DS of S-MCP was 0.07391±0.0020. Structural characterization con-

收稿日期: 2025−07−28

基金项目: 河南省国际科技合作项目（252102521091）;河南省自然科学基金（222300420508）;河南省高校重点研究项目（23A550020）;河南省高校青年骨干教师培养计划（2021GGJS147）;河南省高等学校重点科研项目（23B350003）。

作者简介: 佟伟霜（1983−）,女,博士,副教授,研究方向:资源植物开发与利用研究,E-mail:xiaoshuang1210@163.com。

*** 通信作者:** 邱渊皓（1987−）,男,博士,副教授,研究方向:糖化学及其药理学活性研究,E-mail:qiuyhvip@163.com。

高华山（1983−）,男,博士,副教授,研究方向:微生物与生化药学研究,E-mail:guoqiang1206@163.com。

firmed successful introduction of sulfate groups onto S-MCP. The S-MCP particle size (294.44±40.62 nm) was smaller than that of MCP (356.32±26.07 nm), and its microscopic characteristics changed from loose and porous to fragmented and layered. *In vitro* activity experiments showed respective scavenging rates of S-MCP against DPPH, $ABTS^{+}$, and hydroxyl radicals of 64.85%, 82.42%, and 71.34% at 3.0 mg/mL significantly higher than those of MCP. Scavenging was also shown to be concentration-dependent. S-MCP displayed more potent inhibition of α-glucosidase (43.92% at 1.0 mg/mL) than MCP (31.31%). The mouse glucose tolerance test results showed that S-MCP significantly reduced the blood glucose levels after starch and sucrose loading, and decreased the area under the curve. Conclusion: Sulfation can effectively enhance MCP antioxidant and hypoglycemic activities, providing a scientific basis for their development and application in functional foods and pharmaceuticals.

Key words: response surface methodology; Moutan cortex polysaccharide; sulfation modification; antioxidant; hypoglycemic

牡丹皮为芍药科植物牡丹(*Paeonia suffruticosa* Andr.)的干燥根皮,又称丹皮、粉丹皮、洛阳花等[1]。其性微寒,味苦辛,具有清热解毒、活血化瘀的功效,常用于治疗跌打损伤、闭经痛经等症状[2]。牡丹皮始载于《神农本草经》,用药历史悠久,是一种兼具药用与食用价值的药材,适用于制作功能饮料、保健品以及日用食品。牡丹皮广泛分布于中国,尤以安徽、四川、甘肃、陕西等地为主[3]。安徽铜陵凤凰山的凤丹皮品质上乘,南陵产者则称瑶丹皮;四川的重庆垫江、灌县盛产川丹皮,康定、泸定等地则出产西丹皮[4]。牡丹皮富含多糖、萜类、有机酸、黄酮及香豆素等活性物质,药理研究显示其具有心血管调节、免疫增强、抗肿瘤、保肝及抗菌抗炎等诸多活性作用[5−6]。其中,牡丹皮多糖是牡丹皮重要的活性成分之一,具有抗炎[7]、肠道菌群调节[8] 以及免疫调节[9] 等多种生物活性,且生物活性强、安全性高,广泛应用于保健食品、化妆品、医药领域。

天然多糖是自然界中普遍存在的生物大分子,由单糖连接而成,因其良好的生物特性和活性,在畜牧、食品、医药和化妆品等领域具有广泛应用前景[10]。天然多糖因生物活性有限,通常使用化学修饰增强其活性。根据相关文献报道,硫酸化、磷酸化、乙酰化及羧甲基化等方法常用于多糖的改性[11−12]。特别是硫酸化修饰,通过添加硫酸基团至糖基中,改变结构以提升活性,赋予多糖抗炎、提高免疫、抗凝血等新的药理作用[13]。同时,修饰后的多糖不仅可以作为抗肿瘤、抗病毒的候选化合物,还可作为免疫增强剂、抗氧化添加剂,以及用于保湿抗衰老的活性成分[14−15]。目前,针对牡丹皮多糖硫酸化修饰研究尚不足。

以牡丹皮为研究对象,采用浓硫酸法对牡丹皮多糖(MCP)进行硫酸化修饰,通过单因素实验结合响应面法获得最佳酯化条件,利用 FTIR、DLS 和 SEM 初步鉴定修饰前后的多糖结构,比较硫酸化修饰前后牡丹皮多糖的抗氧化活性、降血糖活性及细胞毒性,旨在明确牡丹皮多糖的硫酸化修饰工艺,进一步提高其生物活性,为牡丹皮多糖在功能食品和医药领域的进一步开发与利用提供参考依据和数据支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

牡丹皮 购于张仲景大药房(平顶山市新华区),经平顶山学院范卫卫老师鉴定,质量符合 2020 年版《中国药典》规定;SPF 级 ICR 雄性小鼠 45 只,8 周龄,体质量 30±4 g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司,动物许可证号 SCXK(辽)2025-0001。动物实验经平顶山学院生物医学伦理委员会批准(批准号 2025-014),动物饲养于平顶山学院动物实验中心,温度 25±2 ℃,相对湿度为 55%±5%,间隔 12 h 交替照明;小鼠巨噬细胞 RAW264.7 南京凯基生物科技发展有限公司,培养条件:DMEM 完全培养基(含体积分数为 10% 的胎牛血清、体积分数为 1% 的青霉素-链霉素溶液),置于 37 ℃、5% CO_2、相对湿度>95% 的恒温培养箱中培养;氢氧化钠、硫酸铵 郑州派尼化学试剂厂;30% 过氧化氢、三氯乙酸、Na_2CO_3 天津市致远化学试剂有限公司;DPPH 福州飞净生物科技有限公司;维生素 C(V_C) 合肥博美生物科技有限公司;过硫酸钾、氯化钡 天津市大茂化学试剂厂;硫酸亚铁、明胶 国药集团化学试剂有限公司;水杨酸、ABTS 酷尔化学科技有限公司;硫酸钾 天津市科密欧化学试剂有限公司;正丁醇 天津市德恩化学试剂有限公司;阿卡波糖、α-葡萄糖苷酶、PNPG 上海麦克林生化科技股份有限公司。

TG16G 高速离心机 湖南凯达科学仪器有限公司;XT-350 高速万能粉碎机 浙江永康红太阳机电有限公司;RE-2000A 旋转蒸发仪 巩义科技有限公司;FA1104 电子天平 上海舜宇恒平科学仪器有限公司;DHG-9202-1S 电热恒温干燥箱 上海鸿都电子科技有限公司;SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵 河南省予华仪器有限公司;Bio Tek Synergy H1 全功能微孔板检测仪 美国伯腾仪器有限公司;SCIENTZ-10ND 冷冻干燥机 宁波新芝生物科技股份有限公司;KH-100 超声波清洗仪 昆山禾创超声仪器有限公司;PHS-3C 酸度计 上海晶磁仪器有限公司;XL-30 环场扫描电镜 荷兰 Philips 公司;TENSOR-37 傅里叶变换红外光谱仪 德国 Bruker 公司;Mastersizer-2000 激光粒度仪 山东耐克特分析仪器有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　牡丹皮多糖的提取　将牡丹皮打粉，过 80 目筛，置于索氏提取器中进行脱脂预处理，在 65 ℃ 条件下用石油醚脱脂 24 h，蒸发有机溶剂后烘干备用。称取 300.0 g 加入 3000 mL 蒸馏水，加热回流提取 2 h，过滤，滤渣重复上述操作 1 次，合并滤液，加入 1% 活性炭进行脱色处理，搅拌均匀 30 min 过滤即可。经浓缩后，加入 4 倍体积 95% 乙醇，置 4 ℃ 冰箱，静置过夜，弃去滤液，经真空冷冻干燥得到牡丹皮粗多糖（Moutan cortex polysaccharide，MCP）。

1.2.2　硫酸化牡丹皮多糖的制备　取 0.02 g 牡丹皮粗多糖和适量硫酸铵置于离心管中，加入 1.5 mL 正丁醇，在冰浴中加入适量浓硫酸，温和搅拌均匀使多糖充分溶解，待反应完成后，以氢氧化钠调节溶液 pH 至中性。加入 3 倍体积的 95% 乙醇，搅拌后进行醇沉，常温放置并静置过夜；经 10000 r/min 离心 10 min，收集沉淀，加入蒸馏水溶解；随后转入到 3.5 kDa 透析袋中，透析 48 h，再次以 10000 r/min 离心 10 min，取上清进行旋蒸浓缩；最后通过冷冻干燥获得硫酸化修饰的牡丹皮多糖（Sulfated Moutan cortex polysaccharide，S-MCP）。

1.2.3　牡丹皮多糖硫酸化修饰单因素实验

1.2.3.1　酯化时间　固定取浓硫酸 1.0 mL，硫酸铵用量为 10 mg，酯化时间分别为 10、20、30、40、50 min，测定取代度。

1.2.3.2　浓硫酸用量　固定取硫酸铵 10 mg，酯化时间为 40 min，浓硫酸用量分别为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL，测定取代度。

1.2.3.3　硫酸铵用量　固定取浓硫酸 1.0 mL，酯化时间为 40 min，硫酸铵用量分别为 10、20、30、40、50 mg，测定取代度。

1.2.4　响应面优化　在单因素实验基础上，采用 Design-Expert 13 软件，以酯化时间（A）、浓硫酸用量（B）和硫酸铵用量（C）为影响因子，以取代度为响应值，进行 3 因素 3 水平响应面试验（表 1）。

表 1　响应面 Box-Benhnken（BBD）试验设计因素与水平
Table 1　Factors and levels of response surface Box-Behnken (BBD) experimental design

水平	因素		
	A酯化时间（min）	B浓硫酸用量（mL）	C硫酸铵用量（mg）
−1	30	1.0	20
0	40	1.5	30
1	50	2.0	40

1.2.5　取代度的测定　参照李瑶等[16] 的方法，并稍作修改，采用硫酸钡比浊法测定硫酸根离子含量。称取 108.75 mg 硫酸钾粉末，加入 1 mol/mL 盐酸定容至 100 mL，即得 0.6 mg/mL 硫酸基标准贮存液。量取 400 μL 硫酸钾溶液（0.01875、0.0375、0.075、0.15、0.3、0.6 mg/mL）于离心管中，再加入 3% 三氯乙酸 7.6 mL 和 0.5% 氯化钡-明胶溶液 400 μL 后充分混匀，静置 15 min，在 360 nm 波长处测定吸光度值 A_i，用明胶溶液代替氯化钡-明胶溶液测吸光度值 A_j，使用（A_i−A_j）对硫酸根的质量绘制标准曲线，最终得到硫酸基标准溶液标准曲线回归方程为 Y=0.2611X+0.0071，相对系数为 R^2=0.9983，说明拟合度良好。

利用 1 mol/L 盐酸与硫酸化牡丹皮多糖充分摇匀制备 2 mg/mL 储存液，并置于沸水浴下反应 1 h，吸取 200 μL 反应液按照标准曲线法测定 A_i、A_j。根据测得的标准曲线计算硫酸基含量（S）并计算取代度（DS）。取代度的计算公式为：

$$DS(\%) = \frac{1.62 \times S}{32 - 1.02 \times S} \times 100 \qquad 式（1）$$

式中：DS 为样品取代度（%）；S 为硫酸根的百分含量（%）。

1.2.6　硫酸化牡丹皮多糖的表征

1.2.6.1　傅里叶红外光谱仪（FTIR）表征　将经过干燥处理的 KBr 粉末与 MCP 或 S-MCP 粉末混合后进行研磨并压制成片，随后在室温条件下，利用 FTIR 在 500~4000 cm^{-1} 的波数范围内对其进行扫描分析。

1.2.6.2　马尔文动态光散射（DLS）表征　采用无水乙醇将 MCP、S-MCP 稀释至 2~3 mg/mL，倒入塑料比色皿约 2/3 处，使用马尔文粒径分析仪进行扫描分析。

1.2.6.3　扫描电镜（SEM）表征　采用 SEM 观察 MCP 和 S-MCP 的分子形态。将冻干多糖样品均匀铺于碳导电双面胶上，去除过量样品后喷金处理，在 1.0 kV 加速电压下聚焦成像。

1.2.7　抗氧化活性研究

1.2.7.1　DPPH 自由基清除率测定　参照高华山等[17] 实验方法，并稍作修改，配制 0.04 mg/mL DPPH 无水乙醇溶液。量取 100 μL MCP 或 S-MCP 溶液（0.00293、0.00586、0.0117、0.0234、0.0469、0.0938、0.188、0.375、0.75、1.50、3.00 mg/mL）于 96 微孔板中，并加入 100 μL 0.04 mg/mL DPPH 记为 A_i；100 μL 无水乙醇代替 DPPH 记为 A_j；将 100 μL S-PMCP 溶液替换为无水乙醇为 A_o。避光静置 30 min，在分光光度计 517 nm 处测定各自吸光度，以 V_C 作为阳性对照。DPPH 自由基清除率计算如下：

$$DPPH自由基清除率(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_o}\right) \times 100 \qquad 式（2）$$

式中：A_i 是样品组的吸光度值；A_j 是对照组的吸光度值；A_o 是空白组的吸光度值。

1.2.7.2　$ABTS^+$ 自由基清除率测定　参照李国巍等[18] 实验方法，并稍作修改。将 7 mmol/L ABTS 溶液和 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液同等体积混合均匀，避光过夜反应 12 h，并用无水乙醇稀释 ABTS 母液

使其吸光度在 0.7±0.1 范围内，得到 ABTS 储存液。取 100 μL MCP 或 S-MCP 溶液（0.00293、0.00586、0.0117、0.0234、0.0469、0.0938、0.188、0.375、0.75、1.50、3.00 mg/mL）于 96 微孔板中，并加入 100 μL ABTS 储存液记为 A_i；100 μL 无水乙醇代替 ABTS 储存液记为 A_j；将 100 μL S-PMCP 溶液替换为无水乙醇为 A_o。室温静置 10 min，在分光光度计 734 nm 处测定各自吸光度，以 V_C 作为阳性对照。$ABTS^+$自由基清除率计算如下：

$$ABTS^+自由基清除率(\%)=\left(1-\frac{A_i-A_j}{A_o}\right)\times 100 \quad 式（3）$$

式中：A_i 是样品组的吸光度值；A_j 是对照组的吸光度值；A_o 是空白组的吸光度值。

1.2.7.3 羟基自由基清除率测定 参照李洁茹等[19]实验方法，并稍作修改。取 1 mL MCP 或 S-MCP 溶液(0.00293、0.00586、0.0117、0.0234、0.0469、0.0938、0.188、0.375、0.75、1.50、3.00 mg/mL）于离心管中，依次加入 3.0 mmol/L 硫酸亚铁溶液 1 mL，3.0 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液 1 mL，2.5 mmol/L H_2O_2 溶液 1 mL 进行反应记为 A_i；将 1 mL H_2O_2 溶液替换为 1 mL 蒸馏水为 A_j；将 1 mL S-PMCP 溶液替换为 1 mL 的无水乙醇溶液记为 A_o。充分摇匀并置于 37 ℃ 恒温水浴锅中反应 50 min，在分光光度计 510 nm 处测定各自吸光度，以 V_C 作为阳性对照。羟基自由基清除率计算如下：

$$羟基自由基清除率(\%)=\left(1-\frac{A_i-A_j}{A_o}\right)\times 100 \quad 式（4）$$

式中：A_i 是样品组的吸光度值；A_j 是对照组的吸光度值；A_o 是空白组的吸光度值。

1.2.8 α-葡萄糖苷酶活性抑制测定 参照潘玥等[20]试验方法，并稍作修改。采用二倍稀释法将 MCP、S-MCP 和阿卡波糖进行梯度稀释至 1.0~0.00001 mg/mL。设置样品组 A、样品空白组 a、对照组 B 和对照组 b，试剂加入量见表 2。向离心管依次加入 MCP/S-MCP/阿卡波糖溶液、pH6.8 磷酸钠缓冲液（PBS 溶液）和 0.2 U/mL α-葡萄糖苷酶溶液，混匀后于 37 ℃ 水浴反应 10 min。随后加入 1% PNPG 溶液，再次混匀并 37 ℃ 水浴反应 25 min。最后加入 80 μL 1.0 mol/L 碳酸钠溶液混匀，用酶标仪于 405 nm 测定 OD 值，每组做 3 个平行实验。抑制率计算公式如下：

$$抑制率(\%)=\left(1-\frac{OD_A-OD_a}{OD_B-OD_b}\right)\times 100 \quad 式（5）$$

式中：OD_A 为实验组吸光值；OD_a 为实验空白组吸光值；OD_B 为对照组吸光值；OD_b 为对照空白组吸光值。

表 2 牡丹皮多糖、硫酸化牡丹皮多糖、阿卡波糖对 α-葡萄糖苷酶抑制活性测试加样表

Table 2 Sample addition table for α-glucosidase inhibitory activity test of MCP, S-MCP and acarbose

项目	加入量(μL)				
	PBS 溶液	PNPG 溶液	Na_2CO_3 溶液	α-糖苷酶	MCP/S-MCP/阿卡波糖
样品组A	80	20	80	20	20
样品空白组a	100	20	80	/	20
对照组B	100	20	80	20	/
对照空白组b	120	20	80	/	/

注："/"表示反应体系不存在该物质或不需要该条件。

1.2.9 MCP 和 S-MCP 对小鼠巨噬细胞 RAW264.7 细胞毒性测定 将小鼠巨噬细胞 RAW264.7，分散吹打混匀，吸取 90 μL 加入新培养基的细胞混悬液以 5×10^4 个/mL 的密度接种于 96 孔板，培养 24 h 后采用不同终浓度的 MCP 和 S-MCP（100、250、500 μg/mL）作用 48 h，采用 MTT 法检测 MCP 和 S-MCP 对小鼠巨噬细胞 RAW264.7 的细胞毒性，并通过公式计算细胞存活率。使用酶标仪于 450 nm 波长下测定吸光度值，以评估两种多糖对细胞活性的影响。细胞存活率按以下公式计算：

$$细胞存活率(\%)=\left(1-\frac{OD_A-OD_a}{OD_B-OD_b}\right)\times 100 \quad 式（6）$$

式中：OD_A 为实验组吸光值；OD_a 为实验细胞调零组吸光值；OD_B 为对照组吸光值；OD_b 为对照细胞调零组吸光值。

1.2.10 正常小鼠糖耐量试验（OGTT）评价 选取血糖范围在 4.0~9.0 mmol/L 的小鼠 45 只雄性小鼠，按体重随机分为 9 组。每 3 组对应一种糖负荷类型（葡萄糖组、蔗糖组、淀粉组），每种糖负荷类型含 4 个处理组（每组 n=5）：生理盐水组、阿卡波糖组、MCP 组和 S-MCP 组。适应性饲养 7 d 后，禁食 3 h，尾静脉采血测定空腹血糖基础值。各组分别给予生理盐水、阿卡波糖（0.5 mg/kg）、MCP（0.5 mg/kg）、S-MCP（0.5 mg/kg），随后灌胃葡萄糖（2.0 g/kg）、蔗糖（4.0 g/kg）、淀粉（6.0 g/kg）作为负荷做糖耐量实验，并分别于 15、30、60、120、180 min 测定血糖值。

1.3 数据处理

所有实验均设置三次重复，数据以均值±标准差表示。采用 Excel 软件进行数据整理与基本分析，并通过 Design-Expert 13 软件完成响应面分析。利用 Origin 2021 或 GraphPad Prism 10.1.2 进行作图并计算半数清除浓度（IC_{50}）。多组比较（空白组、阿卡波糖组、MCP 组及 S-MCP组）采用 GraphPad Prism 10.1.2 进行单因素方差分析（one-way ANOVA），设定 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

实验结果表明，硫酸化牡丹皮多糖的酯化时间在 10~40 min 范围内，取代度随酯化时间延长逐渐上升，40 min 时达峰值为 0.0600±0.0023，这是因为

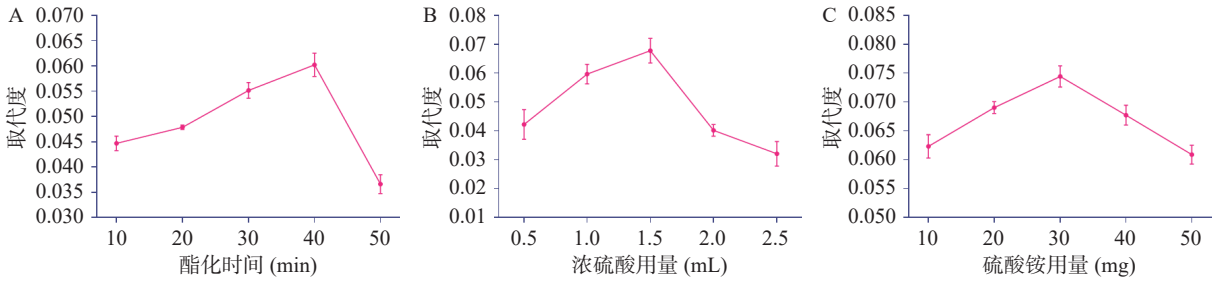


图 1　不同因素对硫酸化牡丹皮多糖取代度的影响

Fig.1　Effects of different factors on the degree of substitution of sulfated MCP

注：A 酯化时间；B 浓硫酸用量；C 硫酸铵用量。

浓硫酸作为核心磺化剂，可提供硫酸基团（-SO_3H）与多糖羟基（-OH）发生亲电取代反应，直接推动多糖链上硫酸基的引入[21−22]；但浓硫酸兼具强酸性与水解性，反应初期“促磺化”占主导，超过 40 min 后，浓硫酸会催化糖苷键断裂引发多糖主链降解，导致取代度下降[16]，如图 1A 所示。

浓硫酸用量从 0.5~1.5 mL 时，产物取代度持续上升，并于 1.5 mL 时达到 0.06678±0.0043 的峰值。然而过量浓硫酸用量（>1.5 mL）反而导致取代度下降，推测原因可能是过量硫酸破坏了多糖分子结构[23]，如图 1B 所示。这进一步体现浓硫酸“促磺化”与“促降解”的双重作用，即适量时驱动硫酸基团与多糖羟基结合，过量则引发多糖结构破坏。

硫酸铵用量在 10~30 mg 范围内，产物取代度随用量增加而升高，并于 30 mg 时达到 0.07463±0.0026 的峰值，如继续增加硫酸铵用量（>30 mg）则导致取代度下降，可能是由于硫酸铵溶解后产生过量 NH_4^+会改变体系离子强度及局部酸碱环境，这不仅易引起多糖分子水解降解及板结现象，还会干扰硫酸基团与多糖羟基的有效结合，并诱发分子聚集和副反应，最终致使硫酸化反应不充分，取代度下降[16,24]，如图 1C 所示。硫酸铵作为反应微环境调节剂，通过溶解后产生的 NH_4^+与浓硫酸电离出的离子共同形成特定离子环境，促进硫酸基团向多糖羟基的转移，从而提高磺化效率[25]。最终确定较优工艺为酯化时间 40 min、浓硫酸用量 1.5 mL、硫酸铵用量 30 mg。

2.2　响应面优化试验

采用 Design-Expert 13 软件对试验结果进行回归拟合分析，建立模型，结果如表 3 所示，得到酯化时间（A）、浓硫酸用量（B）和硫酸铵用量（C）3 个因素的回归方程为：

$$Y=0.0748-0.0014A-0.0037B+0.0008C+0.0035AB+0.0015AC+0.0036BC-0.0121A^2-0.0229B^2-0.0100C^2$$

该回归方程的决定系数 R^2=0.9889，表明模型可解释响应值中约 98.89% 由试验因素引起的变化，拟合效果良好。校正系数 R^2_{Adj}=0.9747，说明在考虑自变量个数后，模型仍能稳定解释约 97.47% 的响应变异。该模型的 F=69.37，P<0.0001，说明模型极显著。如表 4 所示，对方差结果进行分析得出，酯化时间与浓硫酸用量的交互作用（AB）对取代度的影响显著（P<0.05）；酯化时间与硫酸铵用量的交互作用（AC）对取代度的影响不显著；浓硫酸用量与硫酸铵用量的交互作用（BC）对取代度的影响显著（P<0.05）；通过参照 F 值的大小可得出 3 个因素对 S-MCP 的取代度的影响程度为：浓硫酸用量（B）>酯化时间（A）>硫酸铵用量（C）。

表 3　响应面试验设计及结果

Table 3　Response surface experimental design and results

试验号	A酯化时间（min）	B浓硫酸用量（mL）	C硫酸胺用量（mg）	取代度
1	40	2.0	20	0.03323
2	30	1.5	20	0.05586
3	50	2.0	30	0.03672
4	30	1.5	40	0.05133
5	40	1.5	30	0.07524
6	50	1.0	30	0.03896
7	30	2.0	30	0.03368
8	40	2.0	40	0.04491
9	40	1.5	30	0.07494
10	40	1.5	30	0.07788
11	50	1.5	20	0.05089
12	50	1.5	40	0.05253
13	40	1.0	40	0.04338
14	40	1.0	20	0.04611
15	30	1.0	30	0.04981
16	40	1.5	30	0.07318
17	40	1.5	30	0.07267

表 4　回归模型的方差分析

Table 4　Analysis of variance results of the regression model

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	0.0038	9	0.0004	69.37	<0.0001	**
A酯化时间	0.0000	1	0.0000	2.76	0.1409	
B浓硫酸用量	0.0001	1	0.0001	18.15	0.0037	**
C硫酸铵用量	4.590×10^{-6}	1	4.590×10^{-6}	0.7546	0.4138	
AB	0.0000	1	0.0000	7.93	0.0259	*
AC	9.517×10^{-6}	1	9.517×10^{-6}	1.56	0.2512	
BC	0.0001	1	0.0001	8.53	0.0223	*
A^2	0.0006	1	0.0006	101.71	<0.0001	**
B^2	0.0022	1	0.0022	361.93	<0.0001	**
C^2	0.0004	1	0.0004	69.32	<0.0001	**
残差	0.0000	7	6.083×10^{-6}			
失拟项	0.0000	3	8.574×10^{-6}	2.03	0.2517	
纯误差	0.0000	4	4.215×10^{-6}			
总离差	0.0038	16				

注：*P<0.05显著，**P<0.01极显著。

2.2.1　响应曲面分析　响应曲面的坡度直观体现了各因素对 S-MCP 取代度的影响。坡度越陡，等高线越接近椭圆且离心率越大，表明该因素的影响越显著；坡度平缓则影响较小[26]。此外，等高线的形状和分布能揭示因素间的交互作用，其椭圆形且密集的等高线说明交互作用较强，而圆形或稀疏的等高线则表明交互作用较弱[27]。

通过对图 2 分析得出，AB、BC 的交互作用响应曲面坡度较陡，等高线呈明显椭圆形，说明这些因素间的交互作用显著（P<0.05）；AC 交互作用响应曲面坡度较缓，说明该因素间的交互作用不显著。从方差分析数据可以看出，BC 交互效应的影响最为显著，其次是 AB 交互效应，最后是 AC 交互效应。这一影响程度排序与回归方程的方差分析结果相互印证，证实了所建模型的可靠性。

2.2.2　最佳实验条件验证　基于单因素实验结果，通过响应面分析法优化得到 S-MCP 最佳硫酸化条件为：酯化时间（A）为 39.2928 min，浓硫酸用量（B）为 1.4575 mL，硫酸铵用量（C）为 30.1738 mg，预测硫酸化多糖的取代度为 0.07500。实际操作中将参数调整为酯化时间（A）为 39 min，浓硫酸用量（B）为 1.45 mL，硫酸铵用量（C）为 30 mg 进行验证。经三次平行实验测得 S-MCP 的取代度为 0.07391±0.0020，与理论预测值相比相对误差较小，证实回归模型可靠性及牡丹皮多糖硫酸化工艺参数的合理性，说明模型拟合良好。

2.3　硫酸化牡丹皮多糖的性能表征分析

2.3.1　傅里叶变换红外光谱表征分析　如图 3 所示，对 MCP 及其 S-MCP 的 FTIR 数据分析发现未修饰的 MCP 在 3400~3200 cm^{-1} 处显示羟基（-OH）的伸缩振动宽峰，2930~2850 cm^{-1} 处为 C-H 的弱峰，1050~1000 cm^{-1} 处为糖环骨架的 C-O-C 和 C-O-H 强峰。研究发现，硫酸化修饰后的多糖在 1250~1220 cm^{-1} 和 850~800 cm^{-1} 处出现新峰，分别对应硫酸酯基（-OSO^{3-}）的 S=O 不对称伸缩振动和 C-O-S 对称伸缩振动，810 cm^{-1} 附近的峰提示硫酸酯基可能优先取代在半乳糖的 C-6 位[16]。经实验发现，S-MCP 在 832.74 cm^{-1} 处有吸收峰，推测可能是硫酸酯基（-OSO^{3-}）的 C-O-S 对称伸缩振动，表明硫酸化反应成功。此外，S-MCP 在 1132.62 cm^{-1} 处的吸收峰与李瑶等[16]报道的硫酸化紫菜多糖在 1123.29 cm^{-1} 处的特征吸收峰位置接近。根据该研究，该峰可归属于 S=O 键的不对称伸缩振动，进一步支持硫酸基团的成功引入。

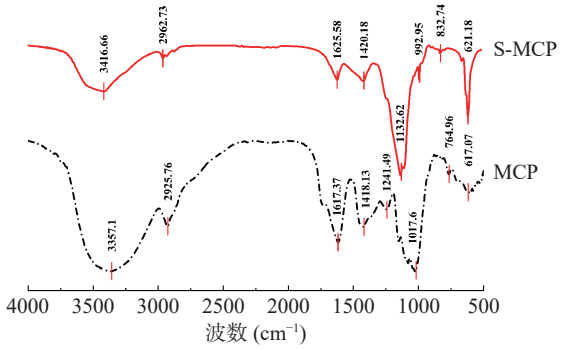


图 3　牡丹皮多糖与硫酸化牡丹皮多糖的红外光谱

Fig.3　FTIR spectroscopy of MCP and S-MCP

2.3.2　马尔文动态光散射表征分析　多分散性指数（Polymer dispersity index，PDI）是评估颗粒均匀性的关键指标，通常情况下，PDI 介于 0.1~0.5 之间，表示分散体系良好。MCP 的 PDI 为 0.510±0.32，表明其颗粒溶液存在粒径差异，但整体稳定；S-MCP 的

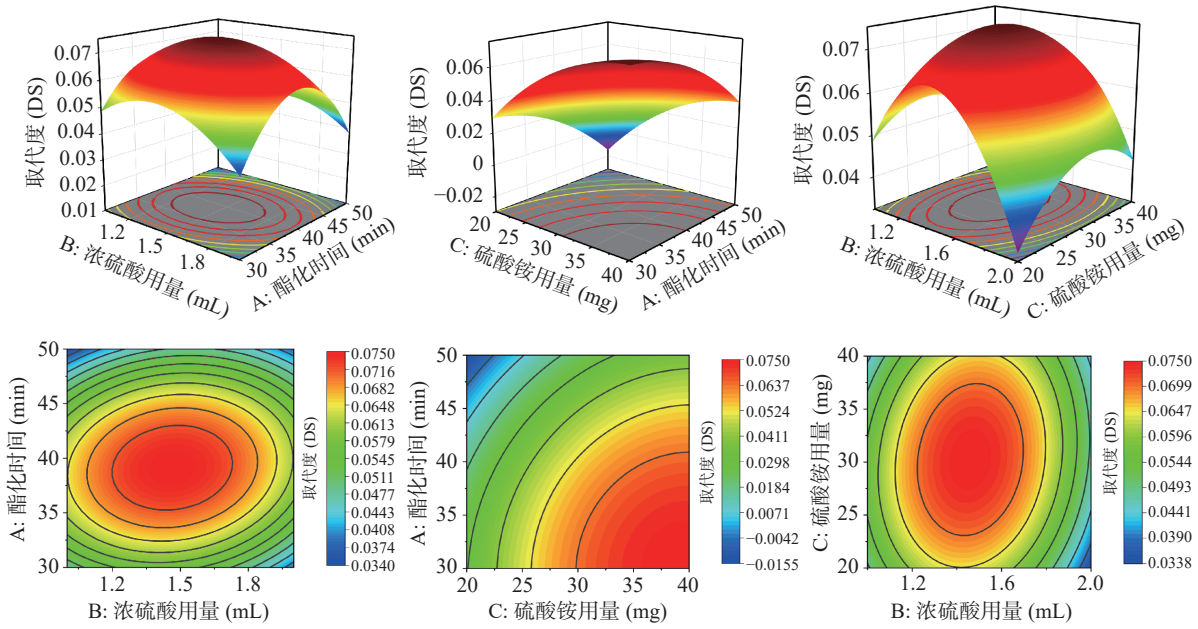


图 2　酯化时间、浓硫酸用量、硫酸铵用量之间的交互作用对 MCP 硫酸化取代度影响的响应曲面及等高线图

Fig.2　Response surface and contour plots of the effects of interactions among esterification time, dosage of concentrated sulfuric acid, and dosage of ammonium sulfate on the degree of sulfation of MCP

PDI 为 0.391±0.24，说明该颗粒均一性优于 MCP。DLS 显示 MCP 流体力学尺寸为 356.32±26.07 nm，而 S-MCP 为 294.44±40.62 nm，如图 4 所示。实验结果表明，硫酸化修饰可使多糖颗粒尺寸减小，降低了 MCP 的多分散性指数。

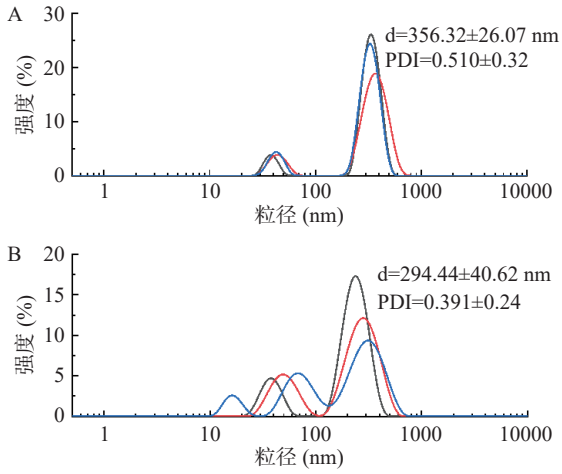


图 4　牡丹皮多糖与硫酸化牡丹皮多糖的 DLS 粒径分布和多分散性指数

Fig.4　DLS particle size distribution and polydispersity index of MCP and S-MCP

注：A：MCP，B：S-MCP。

2.3.3　扫描电镜表征分析　不同倍率电镜观察显示，MCP 与 S-MCP 形貌差异显著。MCP 表现为粗糙、不规则的块状团聚体，表面凹凸不平，多孔隙褶皱，如图 5A 所示。这种形貌是天然多糖分子链通过氢键等作用缠绕聚集的结果，进而形成松散但复杂的聚集体。经硫酸化改性后，微观形貌有明显变化，整体更分散舒展，表面相对平滑，团聚减少，如图 5B 所示。硫酸基团的引入改变了分子间相互作用，破坏原有氢键网络并引入静电斥力，削弱了分子链间的缔合作用[28]。这使得分子链更容易分散开，最终形成更规整、细化的微观结构。

2.4　硫酸化牡丹皮多糖的抗氧化试验

通过对比 MCP 和 S-MCP 抗氧化实验结果，分析得出，S-MCP 对 DPPH、$ABTS^+$及羟基自由基均表现出浓度依赖的清除能力，即抗氧化效果随着多糖

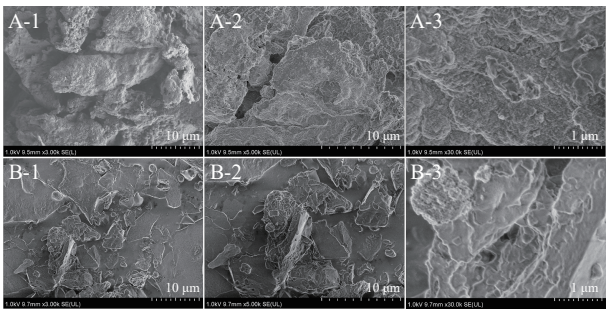


图 5　牡丹皮多糖与硫酸化牡丹皮多糖的扫描电镜视野图像

Fig.5　Scanning electron microscope images of MCP and S-MCP

注：A：MCP，A-1：3000 倍，A-2：5000 倍，A-3：30000 倍；B：S-MCP，B-1：3000 倍，B-2：5000 倍，B-3：30000 倍。

浓度的增加而不断增高。在 DPPH 自由基体系中，溶液褪色程度随多糖浓度升高而增强，浓度从 0.00293 mg/mL 增至 3.0 mg/mL 时，清除率由初始值提升至 64.85%±3.25%，但浓度超过 1.5 mg/mL 后增速减缓，如图 6A 所示。$ABTS^+$自由基体系中，同等浓度梯度下清除率最高达 82.42%±1.15%，低浓度阶段清除效率提升更显著，如图 6B 所示。羟基自由基清除实验体系中，3.0 mg/mL 浓度时清除率可达 71.34%±2.56%，且在 0.00293~3.0 mg/mL 范围内随浓度增加呈上升趋势，如图 6C 所示。通过实验对比发现，S-MCP 的清除效果明显优于 MCP，但仍弱于抗坏血酸（V_C），推测可能与不同自由基的作用机制及分子结构差异有关。

通过 GraphPad Prism 10.6.1 分析添加浓度（X）与抑制率（Y）的线性关系，得出 IC_{50} 值和 Top 值，如表 5 所示，MCP 清除 DPPH、$ABTS^+$和羟基自由基的 IC_{50} 值分别为 0.362、0.158 和 0.109 mg/mL，Top 值分别为 38.96%、70.08%、59.47%。MCP 进行硫酸化修饰后，其清除 DPPH、$ABTS^+$和羟基自由基的能力均得到较大提升，IC_{50} 值降低，Top 值显著升高，分别为 64.85%、82.42%、71.34%，抗氧化活性显著增强。这种提升可能源于硫酸化引入的负电荷基团改变了多糖结构，提供了更多活性位点或优化了空间构象，从而更有效地清除自由基。

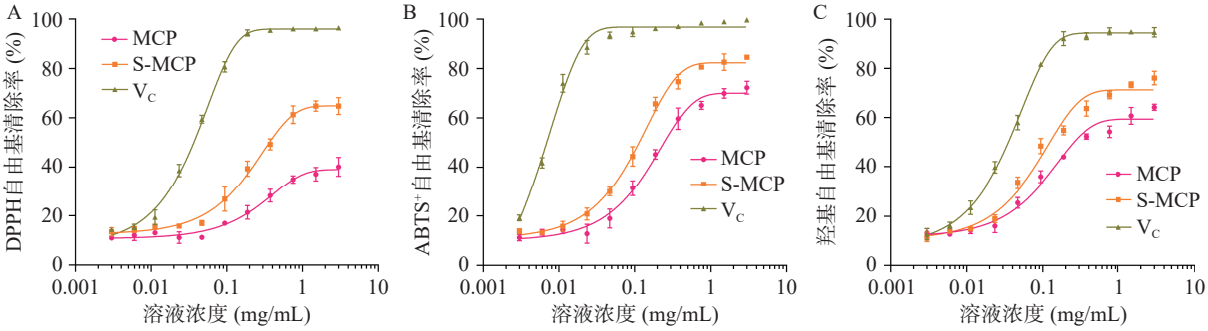


图 6　牡丹皮多糖、硫酸化牡丹皮多糖和 V_C 的体外抗氧化活性对比

Fig.6　Comparison of *in vitro* antioxidant activities of MCP, S-MCP and V_C

注：A-DPPH 自由基清除率；B-$ABTS^+$自由基清除率；C-羟基自由基清除率。

表 5 牡丹皮多糖、硫酸化牡丹皮多糖和 V_C 的 IC_{50} 线性回归方程与计算结果

Table 5 IC_{50} linear regression equations and calculation results of MCP, S-MCP and V_C

样品	DPPH·		$ABTS^{+}$·		·OH	
	IC_{50}(mg/mL)	Top	IC_{50}(mg/mL)	Top	IC_{50}(mg/mL)	Top
MCP	0.362	38.96%	0.158	70.08%	0.109	59.47%
S-MCP	0.244	64.85%	0.112	82.42%	0.084	71.34%
V_C	0.041	95.98%	0.0078	96.80%	0.028	94.44%

2.5 牡丹皮多糖硫酸化修饰前后对 α-葡萄糖苷酶的抑制活性分析

由图 7 可知，随浓度增加，MCP、S-MCP 及阿卡波糖对 α-葡萄糖苷酶的抑制率持续上升，1.0 mg/mL 时抑制率分别为 31.31%±1.76%、43.92%±2.18% 和 87.07%±3.42%。结果表明，阿卡波糖抑制作用效果最佳，而 S-MCP 抑制活性明显优于 MCP。

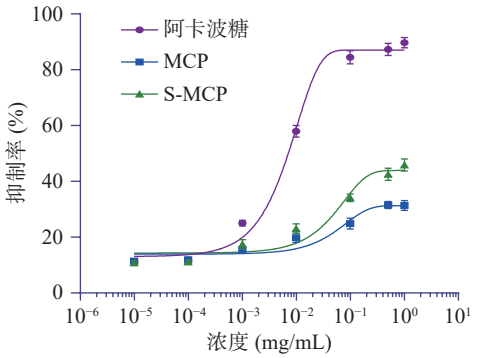


图 7 牡丹皮多糖硫酸化修饰前后的降血糖活性

Fig.7 Hypoglycemic activity of MCP before and after sulfation modification

通过 GraphPad Prism 10.6.1 分析添加浓度(X)与抑制率(Y)的线性关系，计算 IC_{50} 值和 Top 值，如表 6 所示。MCP 对 α-葡萄糖苷酶的 IC_{50} 值为 0.086 mg/mL，Top 值 31.31%，经硫酸化得到的 S-MCP 的 IC_{50} 值变化不大，Top 值明显提高(43.92%)，而阳性对照阿卡波糖的 IC_{50} 值为 0.0067 mg/mL，Top 值为 87.07%。这表明硫酸化增强了 MCP 的抑制活性，可能源于硫酸根基团改善了与酶活性位点的相互作用，但是 S-MCP 的活性仍明显低于阿卡波糖。

表 6 牡丹皮多糖、硫酸化牡丹皮多糖和阿卡波糖对 α-葡萄糖苷酶的抑制率的 IC_{50} 线性回归方程与计算结果

Table 6 IC_{50} linear regression equations and calculation results of the inhibition rates of MCP, S-MCP and acarbose on α-glucosidase

样品	IC_{50}(mg/mL)	Top(%)
阿卡波糖	0.0067	87.07
MCP	0.086	31.31
S-MCP	0.076	43.92

2.6 牡丹皮多糖硫酸化修饰前后对 RAW264.7 细胞毒性结果分析

由图 8 可知，在 100、250 与 500 μg/mL 的测试浓度下，MCP 及 S-MCP 对小鼠巨噬细胞 RAW264.7 的存活率均未产生显著影响，说明硫酸化改性后的牡丹皮多糖对细胞无明显毒副作用。

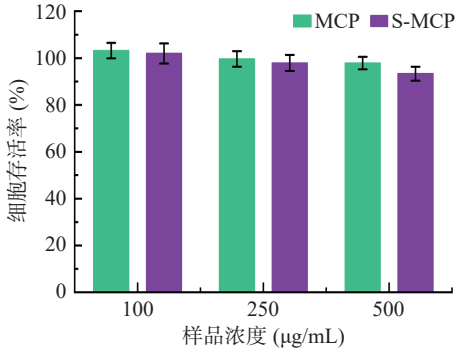
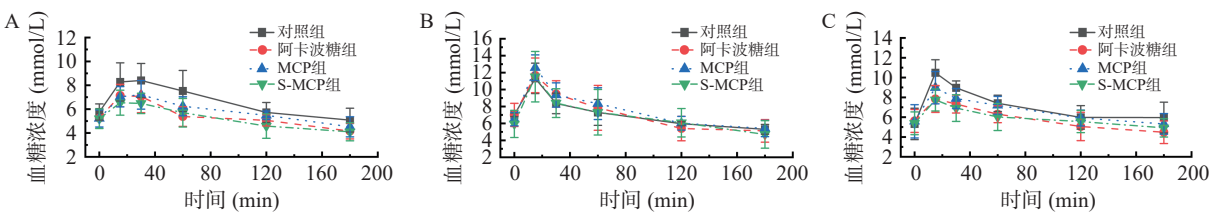


图 8 不同浓度的牡丹皮多糖、硫酸化牡丹皮多糖对 RAW264.7 细胞存活率的影响

Fig.8 Effects of different concentrations of MCP, S-MCP on the survial rate of RAW264.7 cells

2.7 正常小鼠糖耐量试验（OGTT）实验结果分析

以阿卡波糖为阳性对照，将 MCP、S-MCP 进行糖耐量试验，结果如图 9A、图 9C 所示，以淀粉和蔗糖为底物，阿卡波糖、MCP 和 S-MCP 给药后 15、30、60 min，均能够降低血糖(与对照组比较)，曲线下面积计算结果显示(图 9D、图 9F)，阿卡波糖和 S-MCP 的曲线下面积显著降低(P<0.05，与对照组比较)，MCP 组能够降低曲线下面积，但是无显著性差异。以葡萄糖为底物，阿卡波糖、MCP 和 S-MCP 给药后，均不能够降低血糖(与对照组比较)，曲线下面积计算结果显示(图 9B、图 9E)，各组的曲线下面积无显著性(与对照组比较)。以上结果说明 S-MCP 能够抑制 α-葡萄糖苷酶，从而降低小鼠血糖水平。



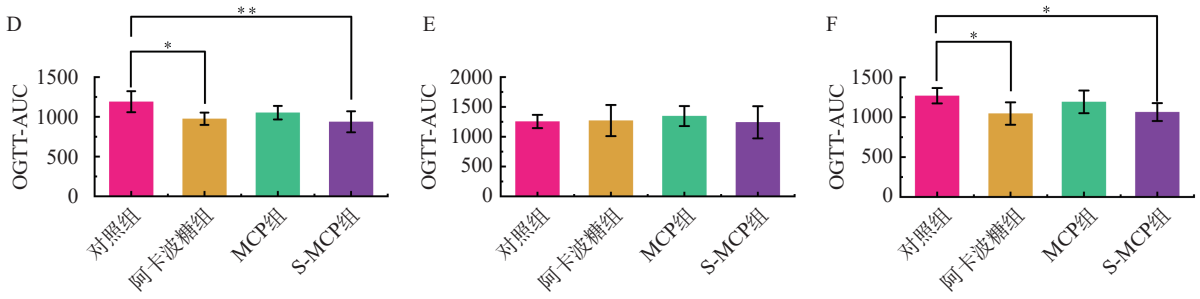


图 9　不同碳水化合物组(淀粉、葡萄糖、蔗糖)对 OGTT 血糖波动及曲线下面积的影响

Fig.9　Effects of different carbohydrate groups (starch, glucose, sucrose) on OGTT blood glucose fluctuations and area under the curve

注：A、B、C 分别为淀粉、葡萄糖、蔗糖组正常小鼠 OGTT 血糖变化；D、E、F 分别为淀粉、葡萄糖、蔗糖组相应曲线下面积结果及统计分析。*P<0.05 显著，**P<0.01 极显著。

3　讨论与结论

多糖的化学修饰是改变生物分子特性、提高生物活性的重要手段，其中硫酸化修饰是重要的手段之一[29]。该修饰能够显著影响多糖的生物活性，而取代度(DS)则是评价修饰效果的关键指标[30]。本研究通过响应面法确定最佳工艺条件为：酯化时间 39 min、浓硫酸用量 1.45 mL、硫酸铵用量 30 mg，此时取代度达 0.07391±0.0020。单因素分析表明，各因素(酯化时间、浓硫酸与硫酸铵用量)对 DS 的影响均呈现先上升后下降的趋势，可能由于反应初期，酯化剂充分扩散促进硫酸基取代，而过量反应时间或试剂会导致多糖糖苷键断裂，这与李瑶等[16]在紫菜多糖硫酸化中观察到的“过量试剂导致多糖降解”现象相吻合[16]。MCP 的取代度低于椰子吸器多糖[31](DS=0.79)和鸡油菌多糖[32](DS=1.23)，可能与 MCP 的单糖组成、糖苷键类型、羟基活性及修饰方法有关[33−34]。

FTIR 光谱显示，S-MCP 在 1250~1220 cm^{-1}(源于 S=O 不对称伸缩振动)和 850~800 cm^{-1}(源于 C-O-S 对称伸缩振动)出现新峰，与紫菜多糖[16]在 801.47、1123.29 cm^{-1} 处有硫酸基团的特征吸收峰及青钱柳多糖在 820 cm^{-1} 的硫酸基信号相接近[35]，进一步印证 MCP 成功引入了硫酸基。SEM 显示 S-MCP 从 MCP 的疏松多孔结构转变为破碎层状，表明硫酸化修饰改变了 MCP 的表面结构，该结果支持硫酸化修饰会改变蛹虫草培养物多糖的理化性质和结构的观点[36]。

多糖的抗氧化活性主要源于其多糖链提供氢原子的能力，硫酸基团的存在能够增强氢原子的供给能力，从而促进多糖的抗氧化作用[14,37]。体外抗氧化结果显示，S-MCP 对 DPPH、$ABTS^+$和羟基自由基的清除率(3.0 mg/mL 时分别为 64.85%、82.42%、71.34%)显著高于 MCP，呈现浓度依赖性，这与硫酸化修饰增强多糖抗氧化活性的普遍规律相吻合[38−40]，其机制可能与硫酸基的强电负性有关，硫酸基可通过电子转移或氢原子捐赠中和自由基，促进其与自由基的接触[13,33]。S-MCP 对 $ABTS^+$自由基清除率(82.42%)高于 DPPH，可能因 $ABTS^+$自由基为水溶性，硫酸化多糖的亲水性增强使其更易发挥作用，这与 Xie 等[41]提出的“硫酸化多糖对水溶性自由基清除更高效”的结论相一致。

α-葡萄糖苷酶是调节餐后高血糖的治疗靶点，抑制 α-淀粉酶和 α-葡萄糖苷酶等消化酶活性是调节餐后高血糖的有效方法[42]。许多研究表明，多糖的硫酸化修饰(黑加仑多糖的硫酸化修饰[43]、羊栖菜多糖的硫酸化修饰[44]、大麦多糖硫酸化修饰[45]等)可以提高多糖的 α-葡萄糖苷酶抑制活性。体外 α-葡萄糖苷酶抑制实验结果显示，S-MCP 对 α-葡萄糖苷酶的抑制率(1.0 mg/mL 时 43.92%)显著高于 MCP(31.31%)。体内糖耐量实验中，S-MCP 可显著降低淀粉/蔗糖负荷小鼠的血糖曲线下面积，对葡萄糖负荷小鼠的血糖调节无显著差异，说明其通过抑制 α-葡萄糖苷酶的作用，从而抑制碳水化合物的水解减少葡萄糖吸收，这一结果与苍耳水提物通过抑制 α-葡萄糖苷酶降低血糖的机制相吻合[46]。体内与体外实验结果对比发现，体内的糖苷酶抑制活性与阿卡波糖接近，可能与 S-MCP 在体内经过降解，进一步增强了其糖苷酶抑制活性相关。

本研究采用浓硫酸法对牡丹皮多糖(MCP)进行硫酸化修饰，通过单因素实验结合响应面法优化获得最佳工艺条件，并成功制备出硫酸化牡丹皮多糖(S-MCP)。结构表征显示 S-MCP 引入硫酸基，粒径减小，显微结构改变；活性实验表明，其抗氧化(对 DPPH、$ABTS^+$、羟基自由基清除率)和降血糖(抑制 α-葡萄糖苷酶、改善小鼠糖耐量)活性显著强于 MCP，且对细胞无显著毒副作用。后续可进一步分析修饰后多糖的结构特征变化，包括硫酸基取代位点及取代度稳定性等关键参数阐明其生物活性增强的结构机制，为牡丹皮多糖作为医药保健品天然成分的开发应用提供理论依据。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 夏昀卿, 朱毛毛, 李如, 等. 牡丹皮道地性物质基础组分结构特征研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(14): 3351−3359. [XIA Y

Q, ZHU M M, LI R, et al. Structural characteristics of pharmacodynamical components in genuine Moutan cortex[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(14): 3351−3359.]
[2] 王彩虹, 邱智东, 王永春, 等. 牡丹皮的现代研究进展及质量标志物预测分析[J]. 中药材, 2023, 46(9): 2361−2369. [WANG C H, QIU Z D, WANG Y C, et al. Research progress of modern studies on cortex Moutan and predictive analysis of quality markers [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2023, 46(9): 2361−2369.]
[3] 刘洋, 郭庆梅, 宋艳梅. 牡丹皮采收加工方法和质量控制研究进展[J]. 中国药房, 2022, 33(23): 2940−2944. [LIU Y, GUO Q M, SONG Y M. Research progress on harvesting and processing methods and quality control of Moutan cortex[J]. China Pharmacy, 2022, 33(23): 2940−2944.]
[4] 邓爱平. 牡丹皮质量评价及商品规格研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2018. [DENG A P. Research on quality evaluation and commodity specifications of cortex Moutan[D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2018.]
[5] 李方军. 牡丹皮化学成分及药理作用研究进展[J]. 安徽医药, 2004(1): 9−10. [LI F J. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of cortex Moutan[J]. Anhui Medical and Pharmaceutical Journal, 2004(1): 9−10.]
[6] 杨小龙, 张珂, 许俊锋, 等. 牡丹皮药理作用的研究进展[J]. 河南科技大学学报(医学版), 2012, 30(2): 157−158. [YANG X L, ZHANG K, XU J F, et al. Research progress on pharmacological effects of cortex Moutan[J]. Journal of Henan University of Science and Technology (Medical Science), 2012, 30(2): 157−158.]
[7] WEN Y, YAN W, LIU M, et al. Anti-inflammation and intestinal flora modulation ability of Moutan cortex polysaccharide and its interaction with soybean protein isolate[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 308(P3): 142785.
[8] MENG Z, LICHENG Y, MAOMAO Z, et al. Moutan cortex polysaccharide ameliorates diabetic kidney disease via modulating gut microbiota dynamically in rats[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 206: 849−860.
[9] 万京华, 李坤珍, 陈鹏英. 牡丹皮多糖对免疫抑制小鼠的免疫调节作用[J]. 中国中医药信息杂志, 2006(7): 25−26. [WAN J H, LI K Z, CHEN P Y. Immunoregulatory effect of cortex Moutan polysaccharides on immunosuppressed mice[J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2006(7): 25−26.]
[10] YU Y, SHEN M, SONG Q, et al. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 183: 91−101.
[11] LIU T, REN Q, WANG S, et al. Chemical modification of polysaccharides: A review of synthetic approaches, biological activity and the structure-activity relationship[J]. Molecules, 2023, 28(16): 6073.
[12] TING Z, MIN Y, LINA M, et al. Structural modification and biological activity of polysaccharides[J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2023, 28(14): 5416.
[13] ZITONGHAO, SHASHADAI, JIAQITAN, et al. Modification, structural characterizations, and biological activities of sulfated polysaccharides: A review[J]. Starch - Stä rke, 2023, 76(5−6): 5−6.
[14] WANG Z, XIE J, SHEN M, et al. Sulfated modification of polysaccharides: Synthesis, characterization and bioactivities[J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 74: 147−157.
[15] WENJING L, ZHIFENG Y, JUAN C, et al. Recent advances in antiviral activities and potential mechanisms of sulfated polysaccharides[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 272: 118526.
[16] 李瑶, 熊欣琪, 徐畅, 等. 紫菜多糖硫酸化修饰及生物活性分析[J]. 食品工业科技, 2024, 45(1): 192−198. [LI Y, XIONG X Q, XU C, et al. Sulfation modification and biological activity analysis of porphyra polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(1): 192−198.]
[17] 高华山, 陈明辉, 齐光, 等. 金钗石斛总黄酮提取工艺优化及抗氧化活性[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(24): 194−199. [GAO H S, CHEN M H, QI G, et al. Extraction process optimization and antioxidant activity of total flavonoids from *Dendrobium nobile*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(24): 194−199.]
[18] 李国巍, 石雨, 张正海, 等. 黑海棠果多酚提取工艺优化及抗氧化活性分析[J]. 中国食品添加剂, 2024, 35(12): 19−30. [LI G W, SHI Y, ZHANG Z H, et al. Extraction process optimization and antioxidant activity analysis of polyphenols from black begonia fruits[J]. China Food Additives, 2024, 35(12): 19−30.]
[19] 李洁茹, 米雪, 潘美美, 等. 超声波辅助低共熔溶剂提取高粱麸皮多酚的工艺优化及其抗氧化活性[J]. 现代食品科技, 2025, 41(1): 240−250. [LI J R, MI X, PAN M M, et al. Process optimization of ultrasonic-assisted deep eutectic solvent extraction of polyphenols from sorghum bran and its antioxidant activity[J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(1): 240−250.]
[20] 潘玥, 刘小莉, 王英, 等. 蓝莓叶多酚对 *α*-淀粉酶和 *α*-葡萄糖苷酶的体外抑制活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(4): 579−587. [PAN Y, LIU X L, WANG Y, et al. Study on *in vitro* inhibitory activity of blueberry leaf polyphenols on *α*-amylase and *α*-glucosidase[J]. Natural Product Research and Development, 2022, 34(4): 579−587.]
[21] PRADHAN B, BHUYAN P P, KI J S. Immunomodulatory, antioxidant, anticancer, and pharmacokinetic activity of ulvan, a seaweed-derived sulfated polysaccharide: An updated comprehensive review[J]. Mar Drugs, 2023, 21(5): 300.
[22] YU Y, SONG Q, HUANG L, et al. Immunomodulatory activities of sulfated *Cyclocarya paliurus* polysaccharides with different degrees of substitution on mouse spleen lymphocytes[J]. Journal of Functional Foods, 2020, 64: 103706.
[23] 高爽, 王鑫, 马永强, 等. 硫酸酯化甜玉米芯多糖的制备[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2016, 32(5): 537−541. [GAO S, WANG X, MA Y Q, et al. Preparation of sulfated sweet corn cob polysaccharides[J]. Journal of Harbin University of Commerce (Natural Sciences Edition), 2016, 32(5): 537−541.]
[24] 李思雨. 小球藻多糖提取纯化及其改性研究[D]. 南宁: 广西民族大学, 2022. [LI S Y. Extraction, purification and modification of *Chlorella* polysaccharides[D]. Nanning: Guangxi University for Nationalities, 2022.]
[25] GUNASEKARAN S, GOVINDAN S, RAMANI P. Sulfated modification, characterization and bioactivities of an acidic polysaccharide fraction from an edible mushroom *Pleurotus eous* (Berk.) Sacc[J]. Heliyon, 2021, 7: e05964.
[26] WEREMFO A, ABASSAH-OPPONG S, ADULLEY F, et al. Response surface methodology as a tool to optimize the extraction of bioactive compounds from plant sources[J]. J Sci Food Agric, 2023, 103(1): 26−36.
[27] 徐源, 谷清义, 闫婷婷, 等. 香茅草多糖提取工艺的优化及抗氧化活性分析[J]. 饲料研究, 2025, 48(3): 120−125. [XU Y, GU Q Y, YAN T T, et al. Optimization of extraction process and analysis of antioxidant activity of *Cymbopogon citratus* polysaccharides [J]. Feed Research, 2025, 48(3): 120−125.]
[28] 马笑笑, 王兵, 刘会平, 等. 响应面法优化茭白多糖硫酸化工艺及其抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2024, 45(7): 25−34.

［MA X X, WANG B, LIU H P, et al. Optimization of sulfation process of *Zizania latifolia* polysaccharides by response surface methodology and analysis of antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(7): 25−34.］

［29］张娜, 刘扬, 陈小强, 等. 化学修饰植物多糖的生物活性及其在食品领域中的应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2025, 46(7): 375−384. ［ZHANG N, LIU Y, CHEN X Q, et al. Research progress on biological activities of chemically modified plant polysaccharides and their applications in food industry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(7): 375−384.］

［30］江和栋, 李龚龙, 董欢欢, 等. 化学修饰植物多糖的生物活性及其应用[J/OL]. 精细化工, 1−16[2026-04-21]. https://doi.org/10.13550/j.jxhg.20250126. ［JIANG H D, LI G L, DONG H H, et al. Biological activities of chemically modified plant polysaccharides and their applications[J]. Fine Chemicals, 1−16[2026-04-21]. https://doi.org/10.13550/j.jxhg.20250126.］

［31］阚金涛, 皮正林, 杨锴莉, 等. 硫酸化修饰对椰子吸器多糖结构和抗氧化活性的影响[J]. 食品工业科技, 2024, 45(20): 114−123. ［KAN J T, PI Z L, YANG K L, et al. Effects of sulfation modification on structure and antioxidant activity of coconut haustorium polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(20): 114−123.］

［32］靳文娟, 鲁晓翔. 硫酸化鸡油菌多糖对 α-葡萄糖苷酶活性的影响[J]. 食品科技, 2012, 37(8): 168−172. ［JIN W J, LU X X. Effect of sulfated cantharellus cibarius polysaccharides on α-glucosidase activity[J]. Food Science and Technology, 2012, 37(8): 168−172.］

［33］刘波, 袁利鹏, 熊波, 等. 多糖的硫酸酯化及其对结构和功能活性的影响研究进展[J]. 食品工业科技, 2015, 36(22): 372−375. ［LIU B, YUAN L P, XIONG B, et al. Research progress on sulfation of polysaccharides and their effects on structure and functional activities[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(22): 372−375.］

［34］赵艳艳, 宗爱珍, 周鹏程, 等. 多糖的硫酸化与磷酸化修饰及其活性研究进展[J]. 粮食与油脂, 2024, 37(10): 1−6. ［ZHAO Y Y, ZONG A Z, ZHOU P C, et al. Research progress on sulfation and phosphorylation modifications of polysaccharides and their activities[J]. Cereals & Oils, 2024, 37(10): 1−6.］

［35］HAN Y, OUYANG K, LI J, et al. Sulfated modification, characterization, immunomodulatory activities and mechanism of the polysaccharides from *Cyclocarya paliurus* on dendritic cells[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 159(prepublish): 108−116.

［36］YONGSHUAI J, JIANHUA Z, TING L, et al. Structural characterization and biological activities of a novel polysaccharide from cultured *Cordyceps militaris* and its sulfated derivative[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(13): 3464−3471.

［37］WANG X, ZHANG Z, YAO Z, et al. Sulfation, anticoagulant and antioxidant activities of polysaccharide from green algae *Enteromorpha linza*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 58: 225−230.

［38］朱影, 屠洁, 赵静, 等. 硫酸酯化修饰对白背三七多糖抗氧化性能的影响[J]. 中国食品添加剂, 2017(11): 64−70. ［ZHU Y, TU J, ZHAO J, et al. Effect of sulfation modification on antioxidant properties of *Gynura divaricata* polysaccharides[J]. China Food Additives, 2017(11): 64−70.］

［39］AGRICULTURE F O, FOOD K U O S, TECHNOLOGY K, et al. Sulfated modification, characterization, and potential bioactivities of polysaccharide from the fruiting bodies of *Russula virescens*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 154: 1438−1447.

［40］ZHAO B, TAO F, WANG J, et al. The sulfated modification and antioxidative activity of polysaccharides from *Potentilla anserine* L[J]. New Journal of Chemistry, 2020, 44(12): 4726−4735.

［41］XIE J H, WANG Z J, SHEN M Y, et al. Sulfated modification, characterization and antioxidant activities of polysaccharide from *Cyclocarya paliurus*[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 53: 7−15.

［42］WU X, LI N, DONG Z, et al. Extraction, purification, sulfated modification, and biological activities of dandelion root polysaccharides[J]. Foods (Basel, Switzerland), 2024, 13(15): 2393−2393.

［43］XU Y, GAO Y, LIU F, et al. Sulfated modification of the polysaccharides from blackcurrant and their antioxidant and α-amylase inhibitory activities[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 109: 1344−1354.

［44］XIAO H, FU X, CAO C, et al. Sulfated modification, characterization, antioxidant and hypoglycemic activities of polysaccharides from *Sargassum pallidum*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 121: 407−414.

［45］QIAN J Y, BAI Y Y, TANG J, et al. Antioxidation and α-glucosidase inhibitory activities of barley polysaccharides modified with sulfation[J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 64(1): 104−111.

［46］郭凤霞, 曾阳, 李锦萍. 苍耳水提物抑制 α-葡萄糖苷酶活性及降低小鼠血糖的作用[J]. 浙江大学学报(医学版), 2013, 42(6): 632−637,665. ［GUO F X, ZENG Y, LI J P. Effect of water extract from *Xanthium sibiricum* on inhibiting α-glucosidase activity and reducing blood glucose in mice[J]. Journal of Zhejiang University(Medical Sciences), 2013, 42(6): 632−637,665.］